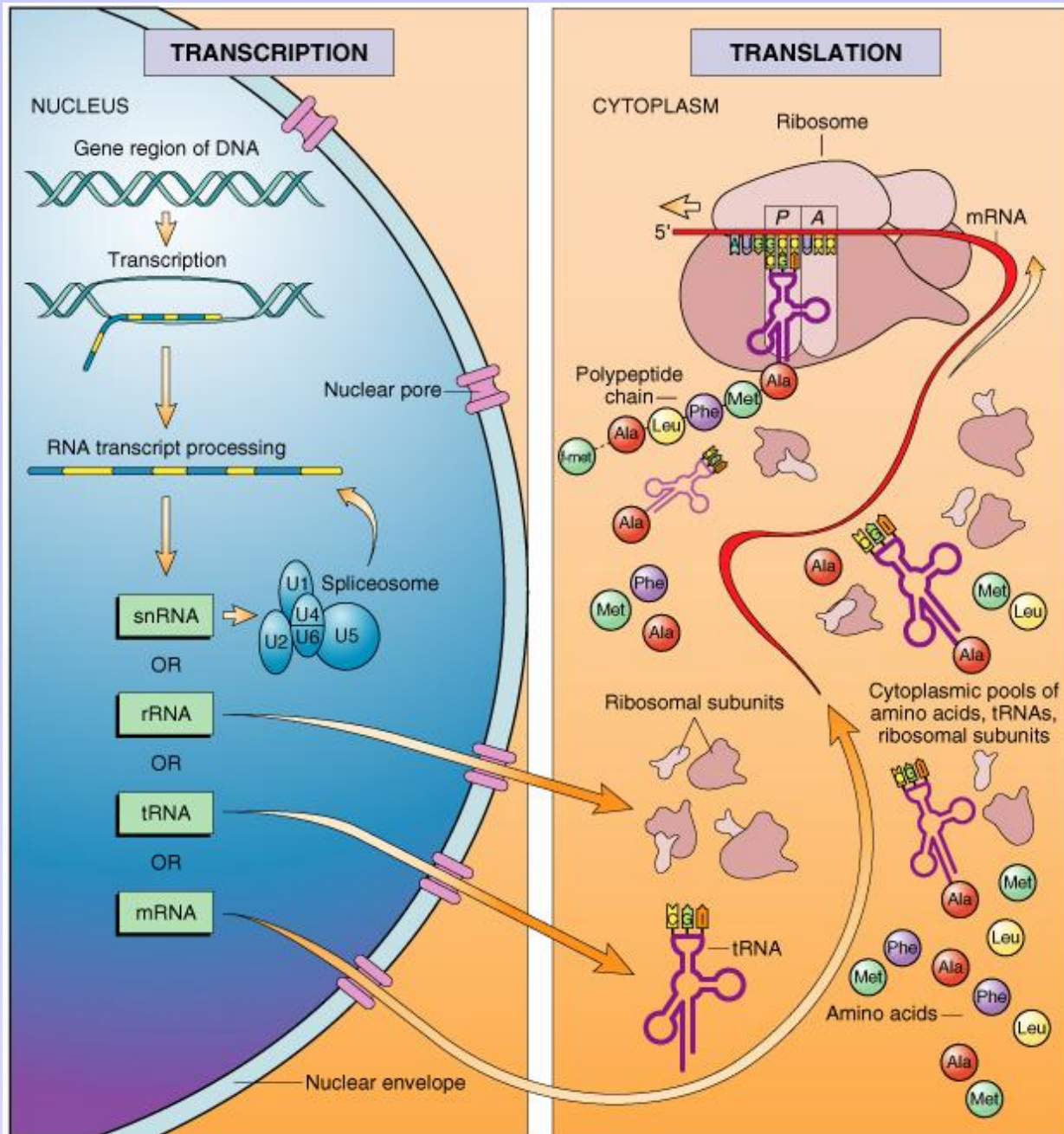


Traduzione del codice genetico

La sintesi proteica

# La traduzione

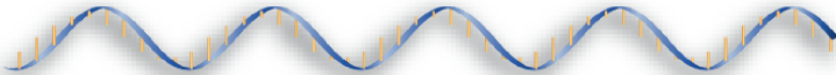
- Il tasso di sintesi è basso (15/18 aminoacidi per secondo, 10 volte meno negli eucarioti)
- Nei procarioti trascrizione traduzione avvengono contemporaneamente. Appena l'estremità 5' dell'mRNA è sintetizzata la traduzione può iniziare
- Negli eucarioti i due processi sono temporalmente separati perchè avvengono in compartimenti cellulari differenti e inoltre l'RNA è processato.



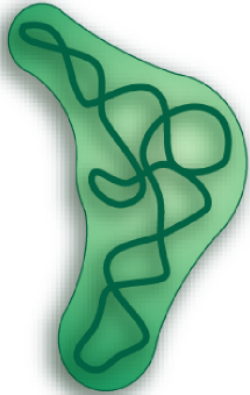
# COMPONENTI DELLA SINTESI PROTEICA

## RNA

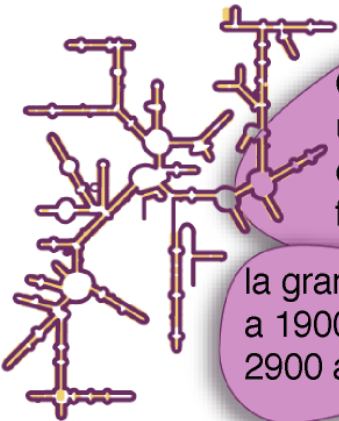
L'mRNA ha una sequenza di basi che rappresenta la proteina



Lunghezza variabile da 500 a 10000 basi



Il tRNA è un piccolo RNA con estesa struttura secondaria; grandezza variabile da 74 a 95 basi



Gli rRNA principali hanno un'estesa struttura secondaria e si associano a proteine per formare il ribosoma;

la grandezza varia da 1500 a 1900 basi (rRNA piccolo) e da 2900 a 4700 basi (rRNA grande)

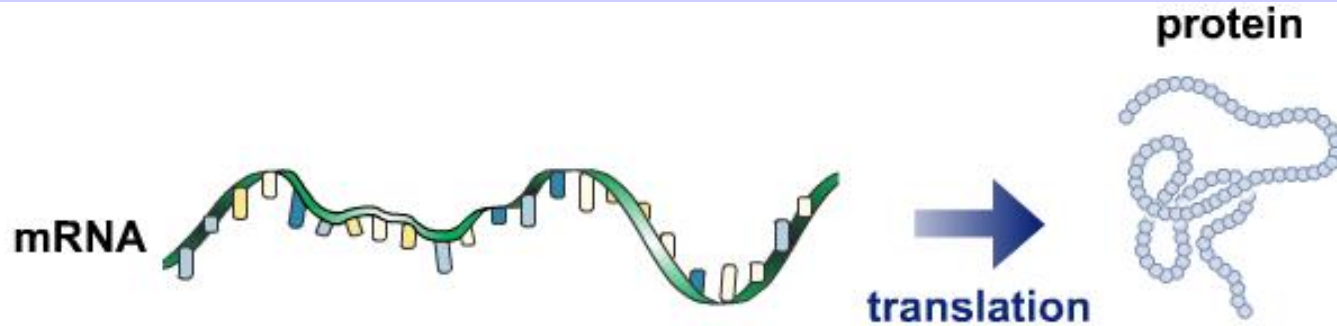
## Proteine

Proteine che legano l'mRNA

Amminoacil-tRNA sintetasi

Proteine ribosomali  
Fattori di traduzione

# COMPONENTI DELLA SINTESI PROTEICA PROCARIOTI



ribosome

charged  
tRNA

uncharged  
tRNA

IF1

IF2

IF3

G

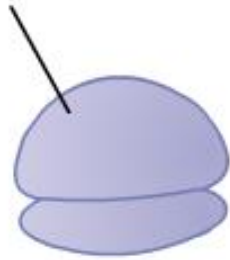
Tu

EF-Ts

RF1

RF3

RRF



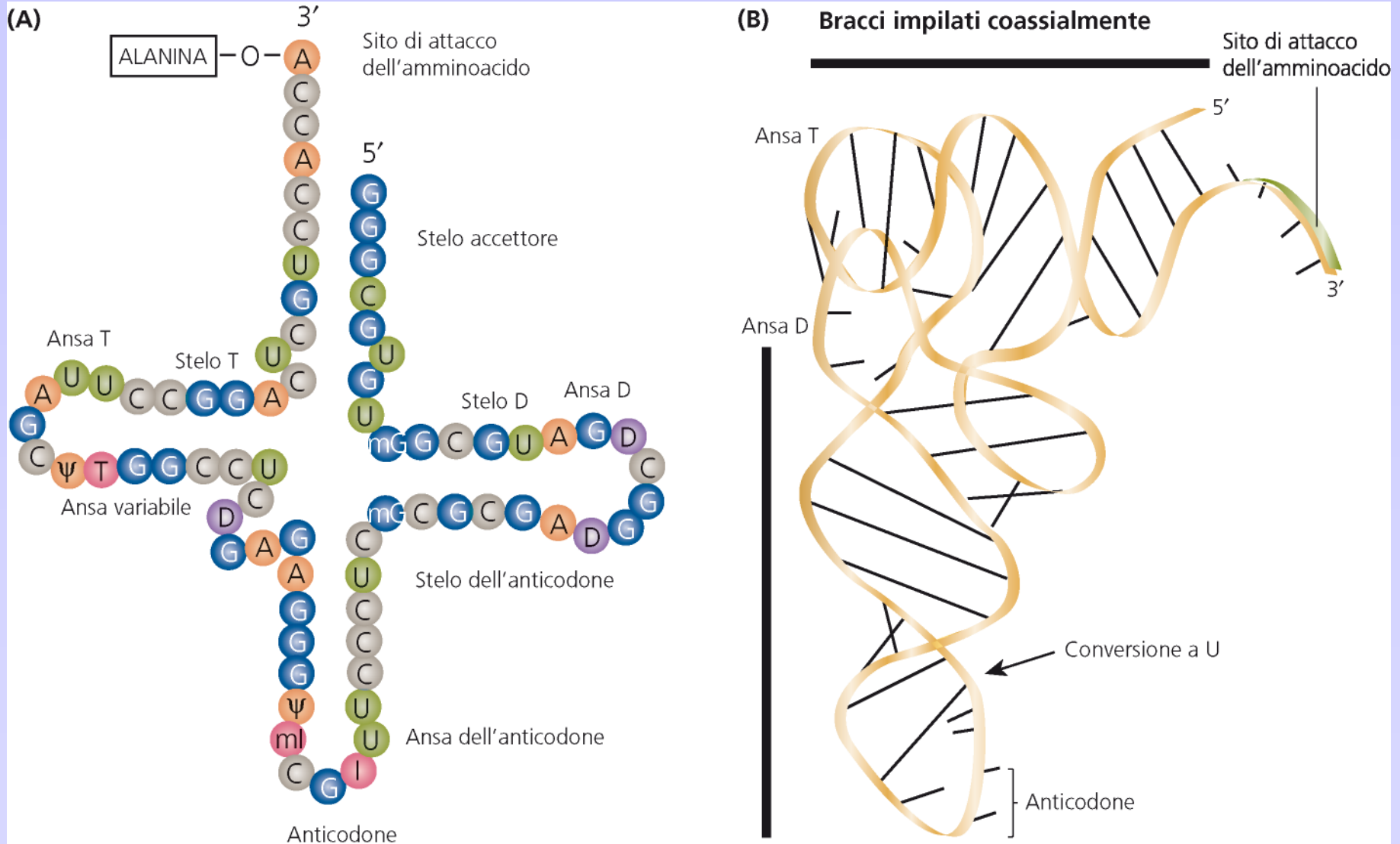
# IL CODICE GENETICO

GCA	AGA									
GCC	AGG									
GCG	CGA						GGA			
GCU	CGC						GGC		AUA	
	CGG	GAC	AAC	UGC	GAA	CAA	GGG	CAC	AUC	
	CGU	GAU	AAU	UGU	GAG	CAG	GGU	CAU	AUU	
Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Ile	
A	R	D	N	C	E	Q	G	H	I	
UUA										
UUG										
CUA				CCA	AGC					
CUC				CCC	AGU	ACA				
CUG	AAA		UUC	CCG	UCA	ACC			GUA	
CUU	AAG	<b>AUG</b>	UUU	CCU	UCC	ACG		UAC	GUC	<b>UAA</b>
					UCG	ACU	UGG	UAU	GUG	<b>UAG</b>
					UCU				GUU	<b>UGA</b>
Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val	stop
L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V	

# I tRNA

- I tRNA sono responsabili della traduzione
- Ogni tRNA riconosce un codone e porta uno specifico aminoacido
- L'attivazione dei tRNA è catalizzata dalle aminoacil-tRNA sintetasi

# IL tRNA





# Aminoacil tRNA sintetasi

Una sintetasi per ogni aminoacido

una singola sintetasi può riconoscere più tRNA che codificano per lo stesso aminoacido

Due classi di sintetasi

Struttura tridimensionale differente

Differiscono nel lato del tRNA riconosciuto e da come legano l'ATP

Classe I – monomeriche, trasferiscono l'aminoacido sul 2'OH del ribosio terminale

Arg, Cys, Gln, Glu, Ile, Leu, Met, Trp, Tyr, Val

Classe II - dimeriche, trasferiscono l'aminoacido sul 3'OH del ribosio terminale

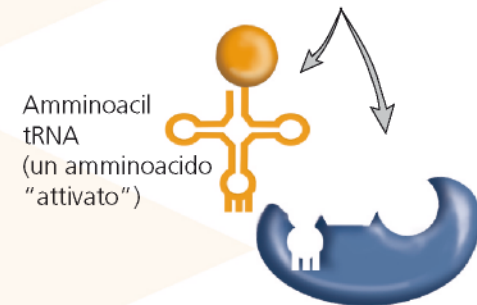
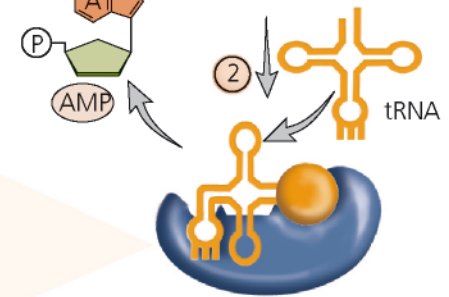
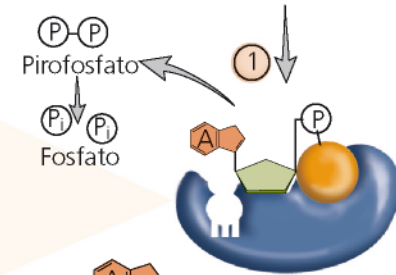
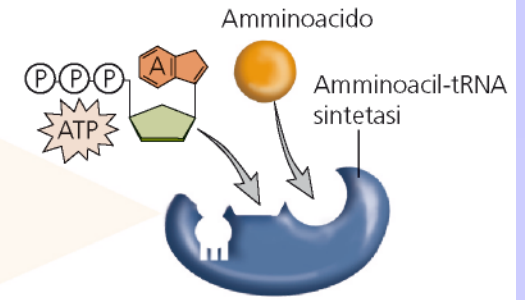
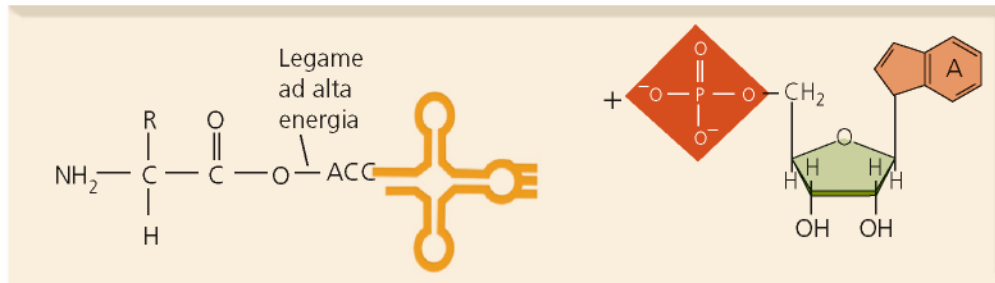
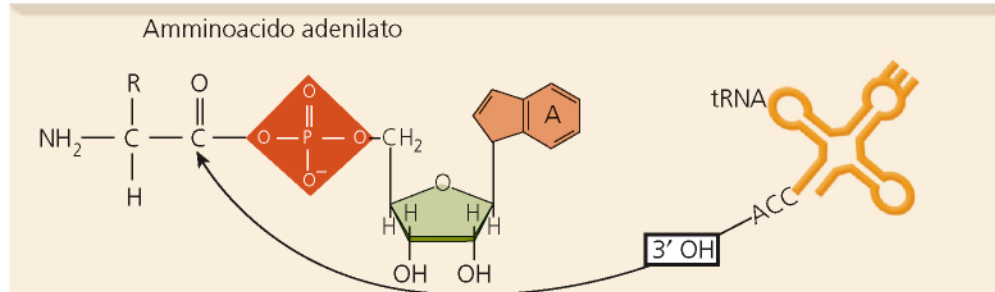
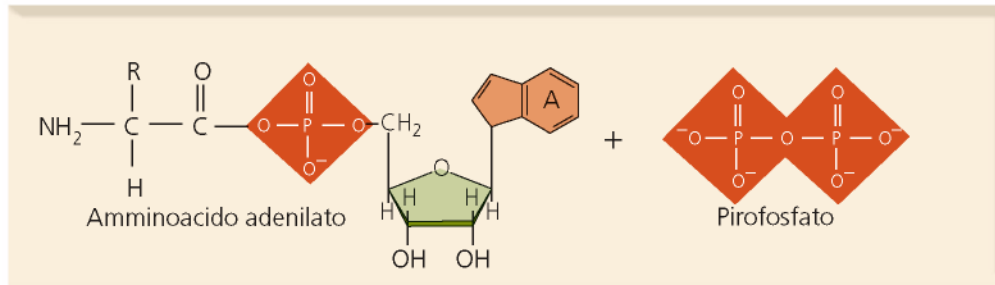
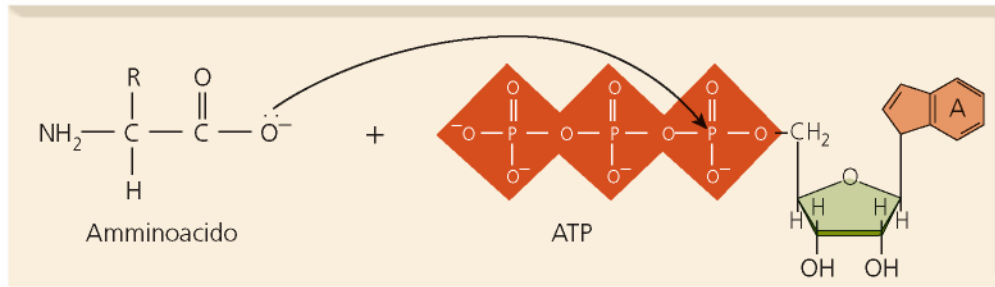
Ala, Asn, Asp, Gly, His, Lys, Phe, Ser, Pro, Thr

**Classe I**  
**(Glu-tRNA sintetasi)**



**Classe II**  
**(Asp-tRNA sintetasi)**

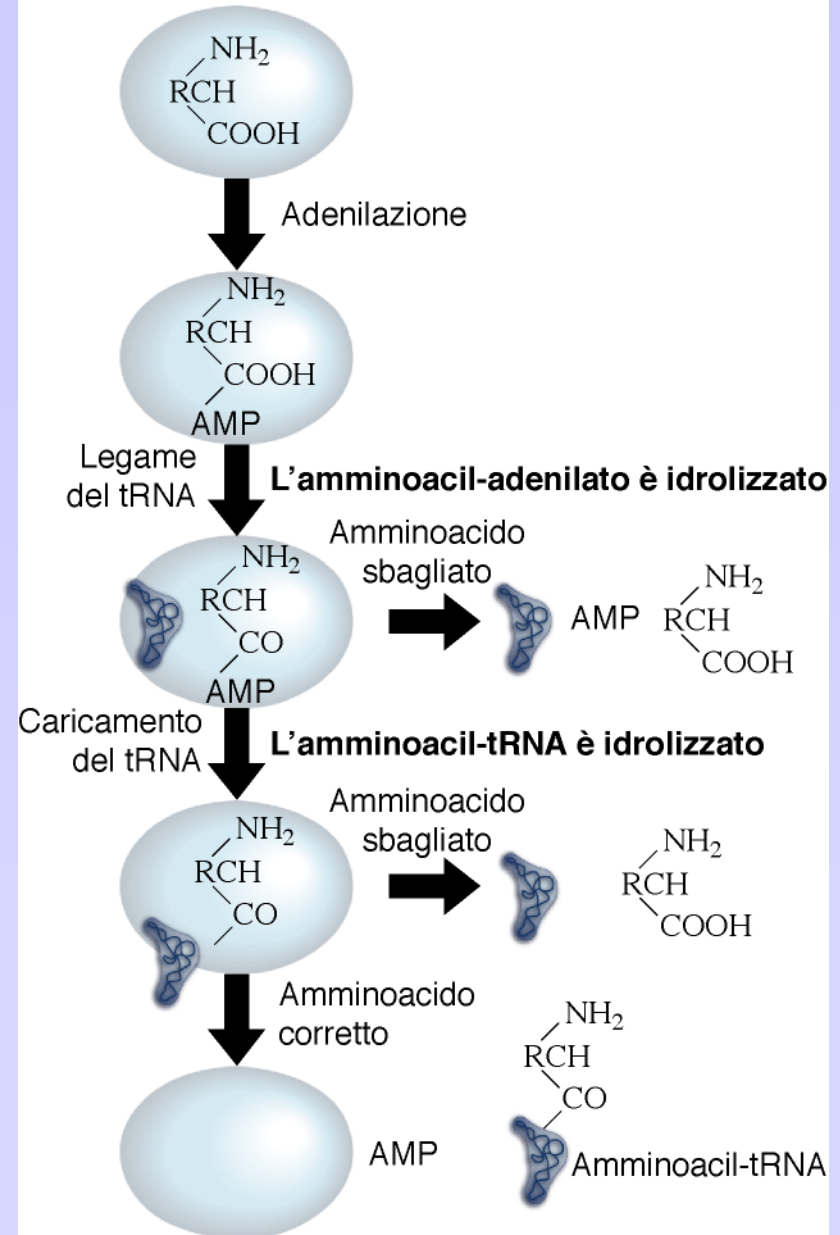




Il riconoscimento dell'a.a. corretto da parte della a.a.-tRNA sintetasi è verificato con un meccanismo di “correzione di bozze” innescato dal legame con il giusto tRNA:

- un cambiamento conformazionale può causare l'idrolisi dell' a.a.-adenilato
- il trasferimento dell'a.a. sul tRNA può essere seguito da idrolisi

## Le sintetasi usano una correzione chimica delle bozze



La accuratezza del caricamento del tRNA<sup>Ile</sup> da parte della corrispondente sintetasi dipende da un meccanismo di controllo degli errori che agisce in due diverse fasi

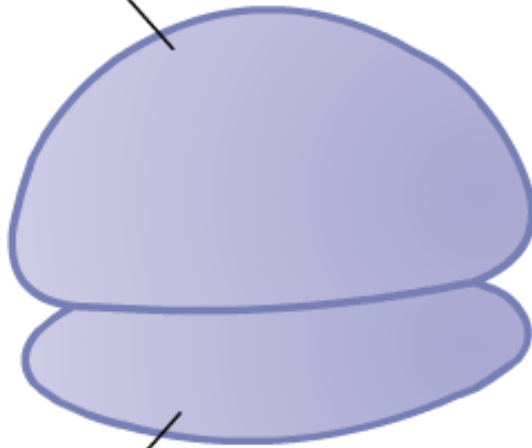
## Gli errori sono controllati a ogni stadio

Passaggio	Frequenze di errore
Attivazione della valina a Val-AMP <sup>Ile</sup>	1/225
Rilascio del Val-tRNA	1/270
Frequenza di errore complessiva	$1/225 \times 1/270$ $= 1/60000$

# Il ribosoma

# IL RIBOSOMA

large subunit



small subunit

small subunits

large subunits

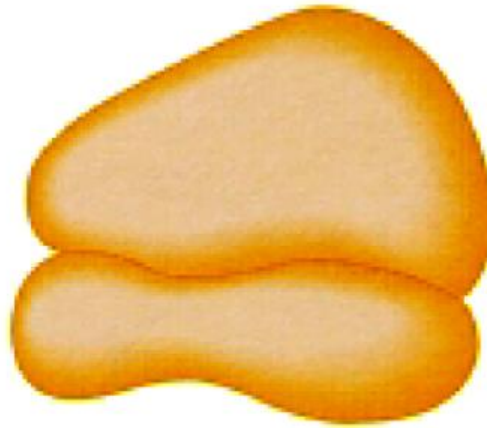
whole ribosome

	PROKARYOTES	EUKARYOTES
small subunits	30S	40S
large subunits	50S	60S
whole ribosome	70S	80S

**Svedberg (S):** a unit of sedimentation velocity; sedimentation in an ultracentrifuge depends on both the mass and shape of a molecule, and is *not* simply a measure of molecular mass

# PROCARIOTI

**70S**



23S rRNA (2904 nt)  
5S rRNA (120 nt)

**50S**

34 proteine

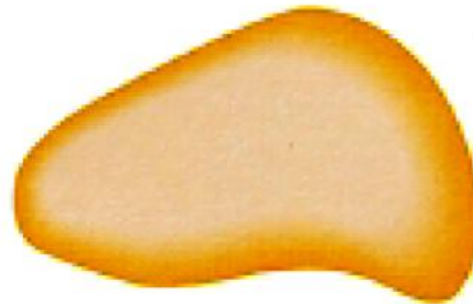
16S rRNA (1541 nt)

**30S**

21 proteine

# EUCARIOTI

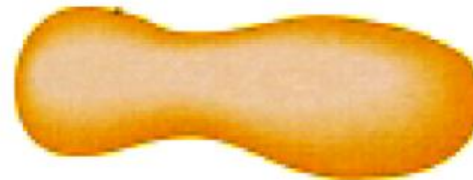
**80S**



**60S**

28S rRNA (4718 nt)  
5,8S rRNA (160 nt)  
5S rRNA (120 nt)

50 proteine



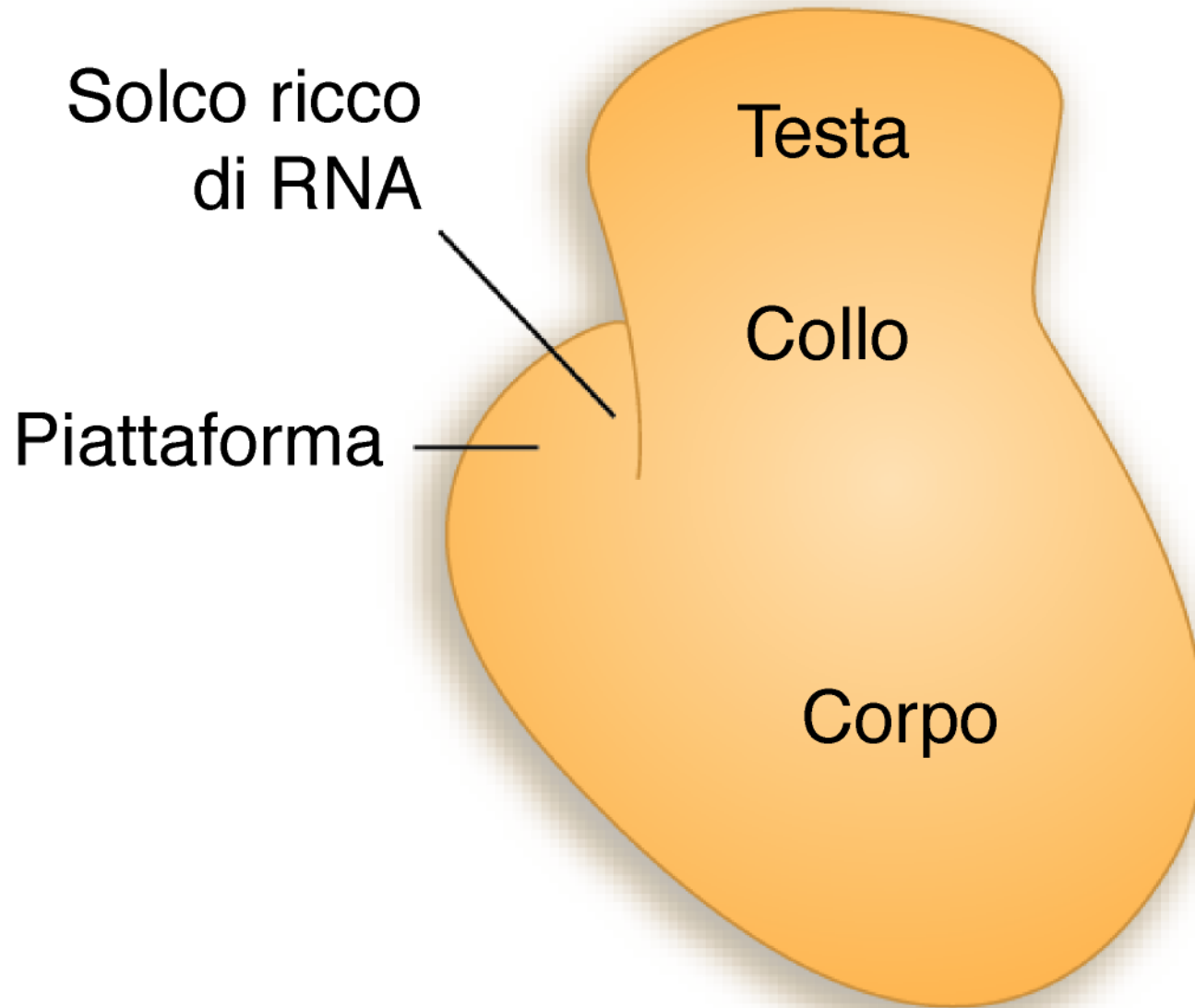
**40S**

18S rRNA (1874 nt)

33 proteine

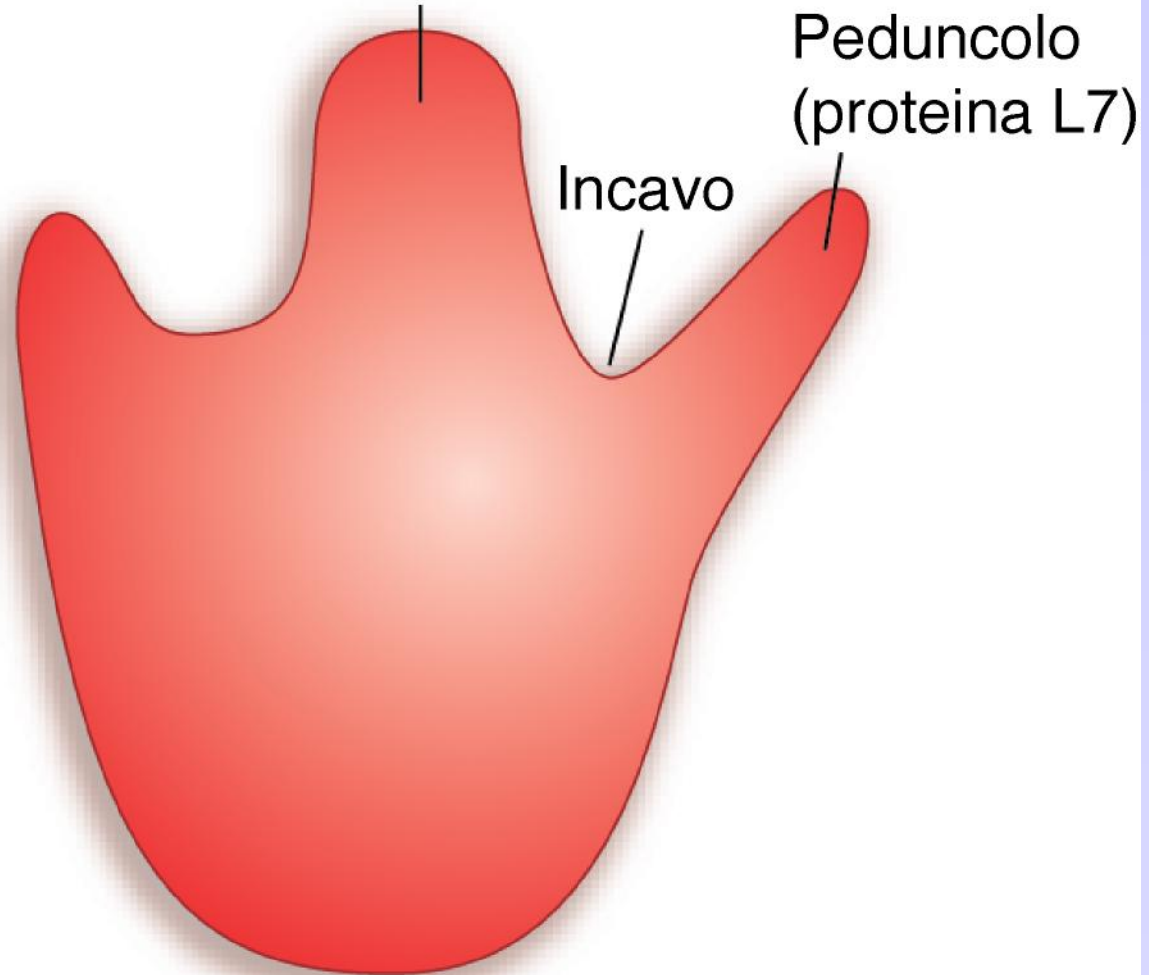


# La subunità 30S è dotata di una piattaforma

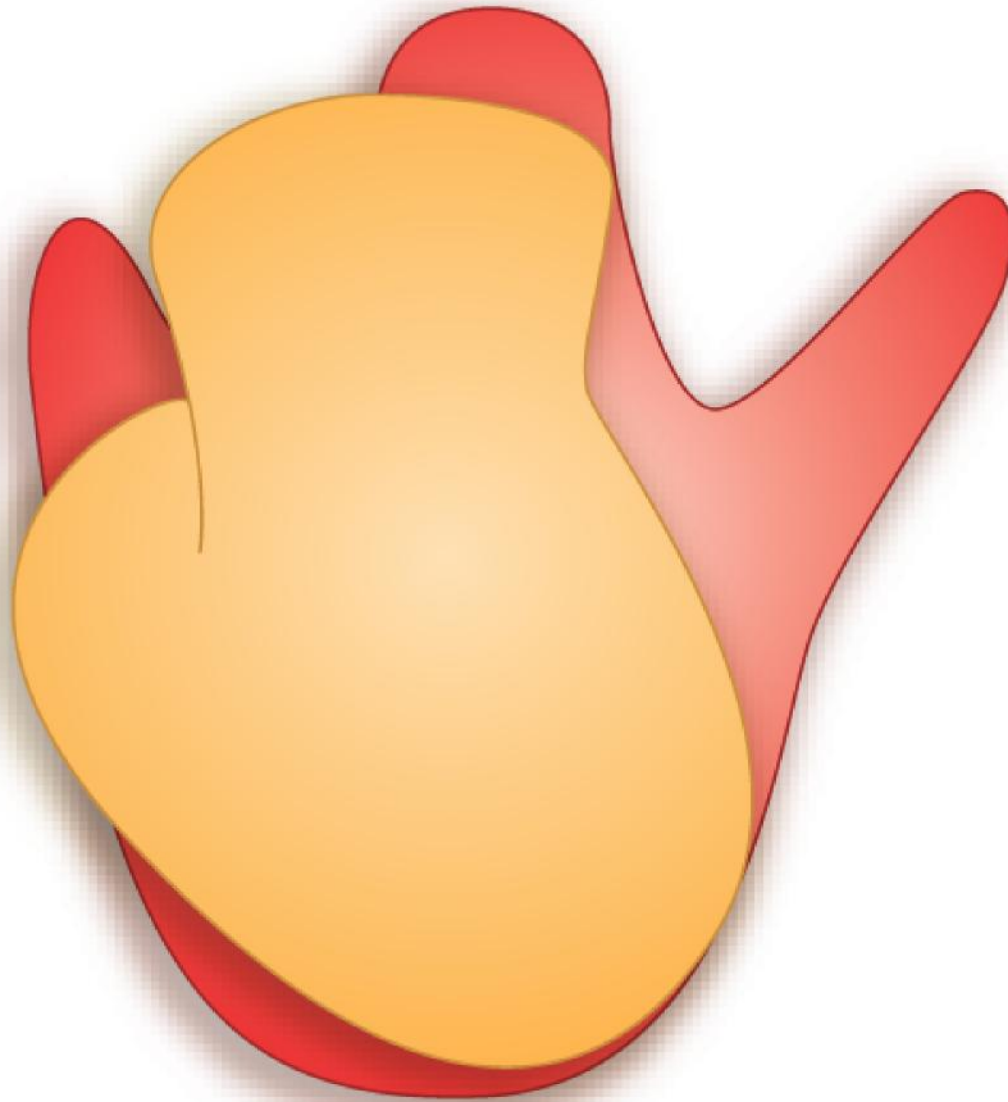


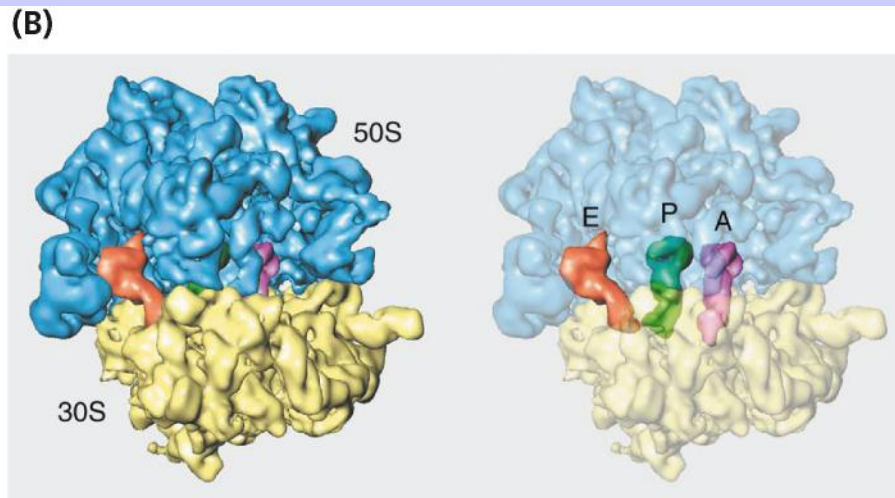
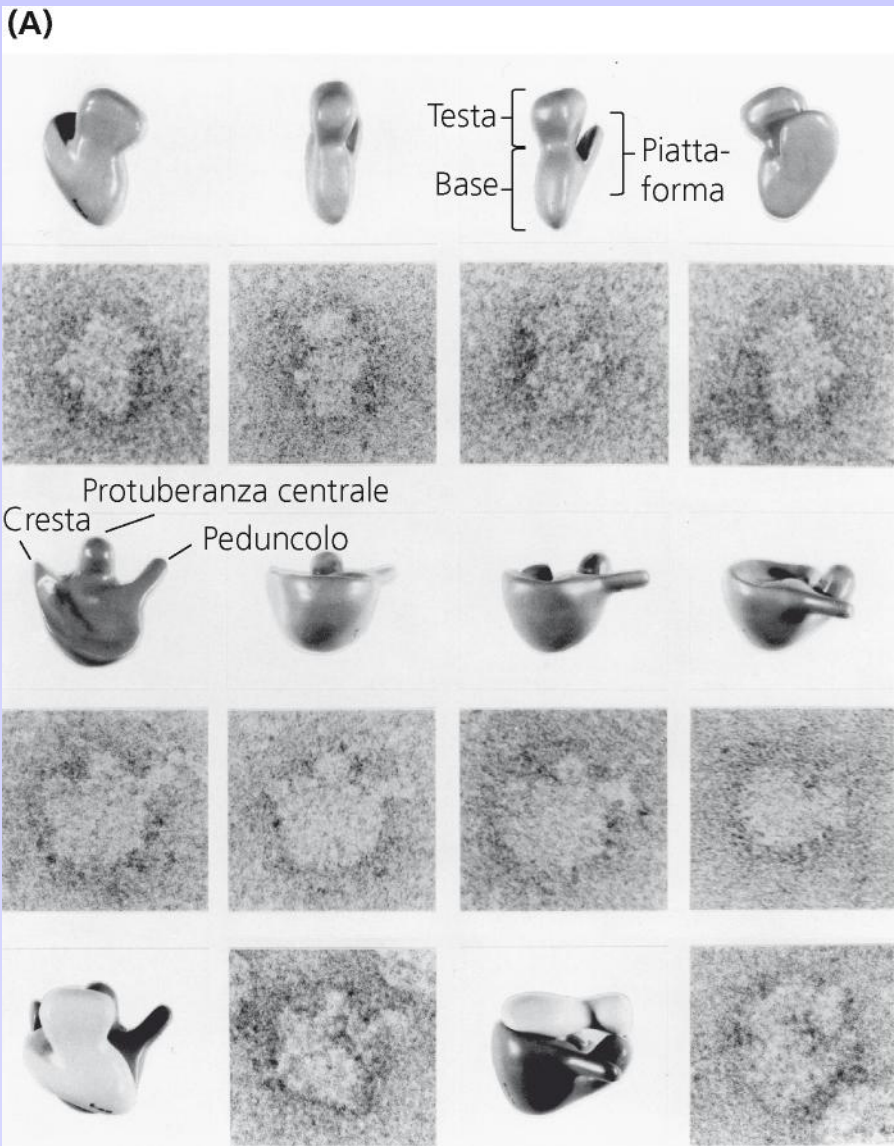
## La subunità 50S ha tre caratteristiche prominenti

Protuberanza centrale (RNA 5S)



$$30S + 50S = 70S$$





# Nel nucleolo la RNAPol-I trascrive i geni ripetuti per l'rRNA (rDNA) generando il precursore RNA 45S

Il precursore 45S è modificato chimicamente e tagliato nei prodotti maturi che si associano con le proteine ribosomiali a formare le due subunità ribosomiali

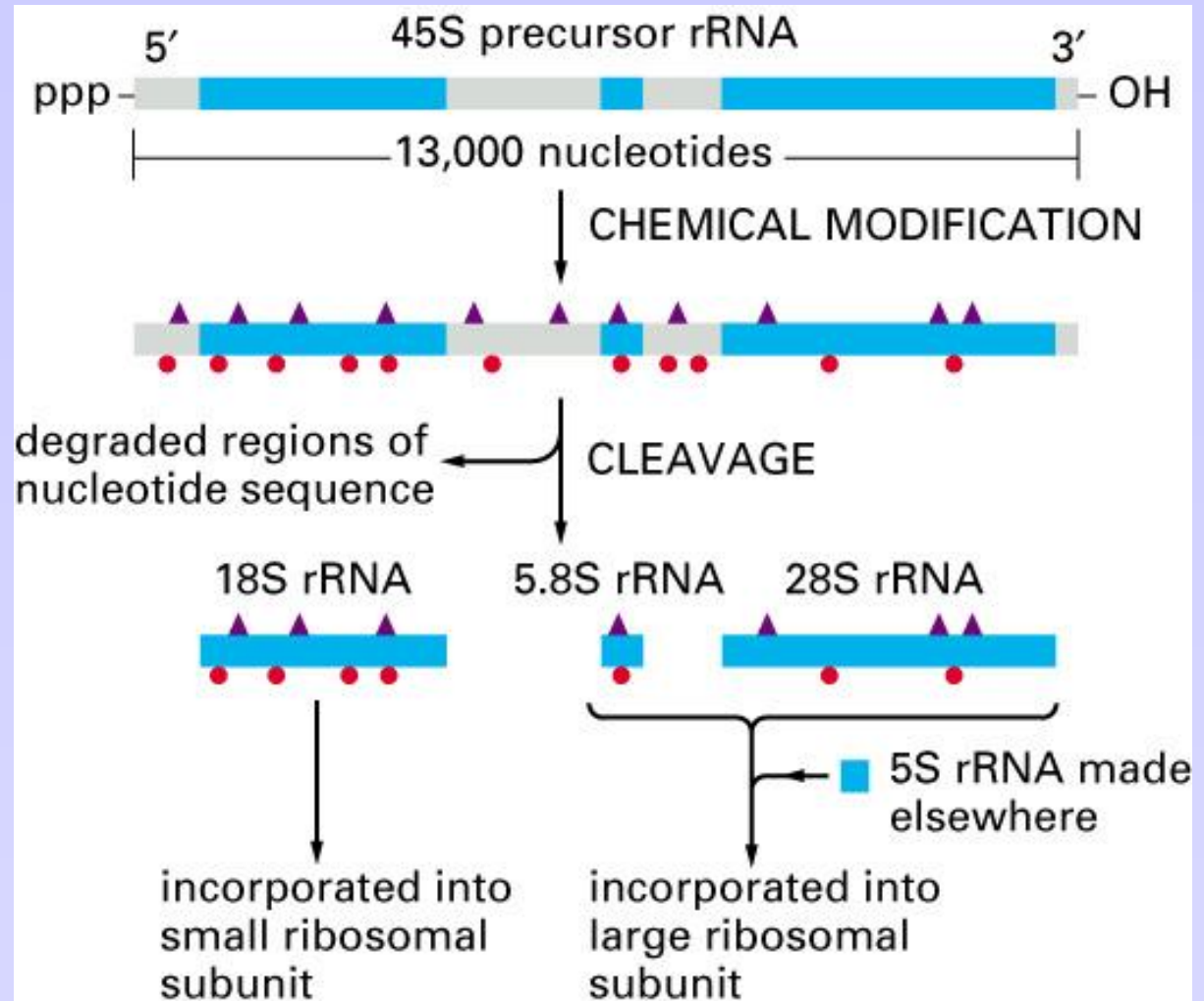
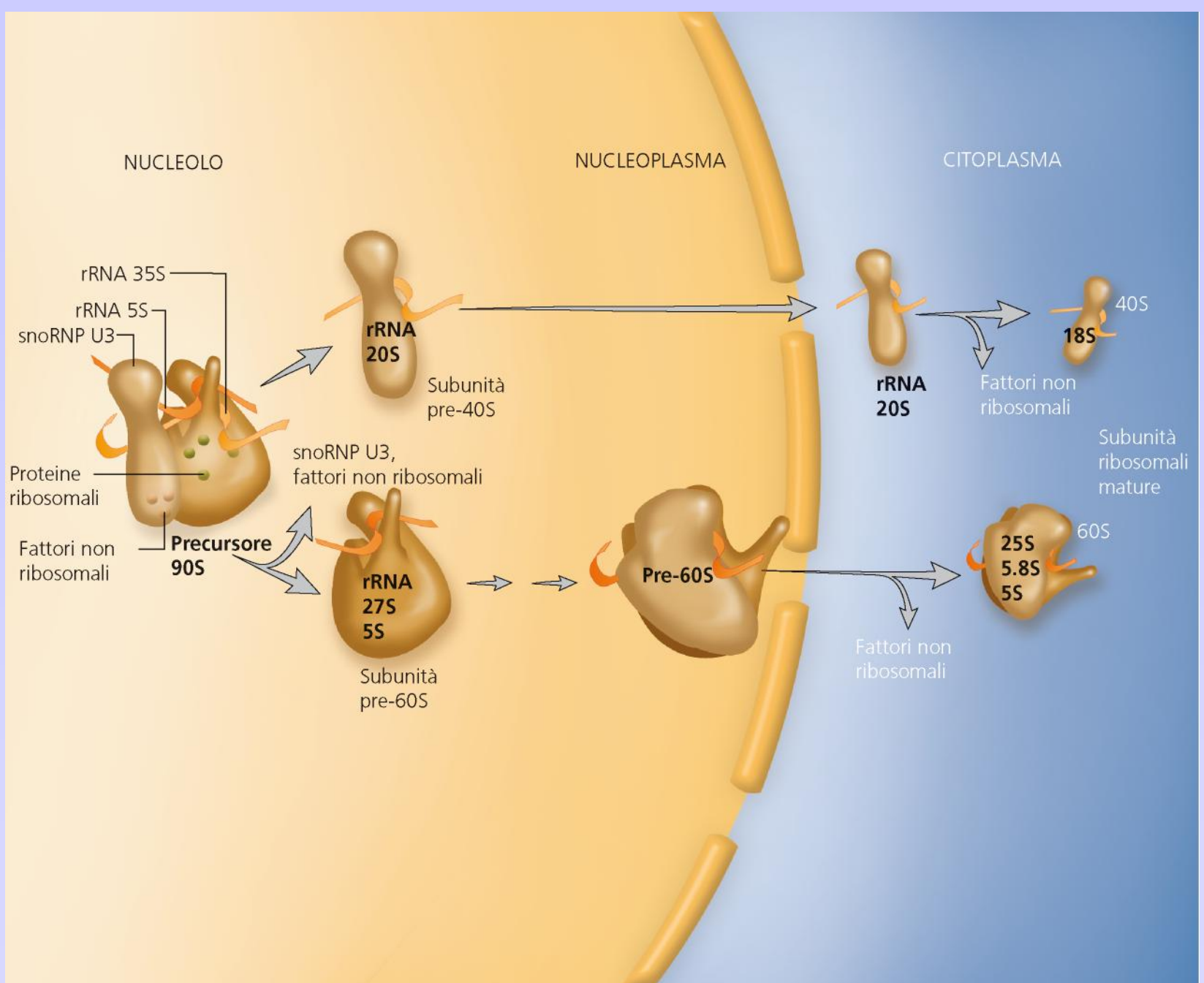
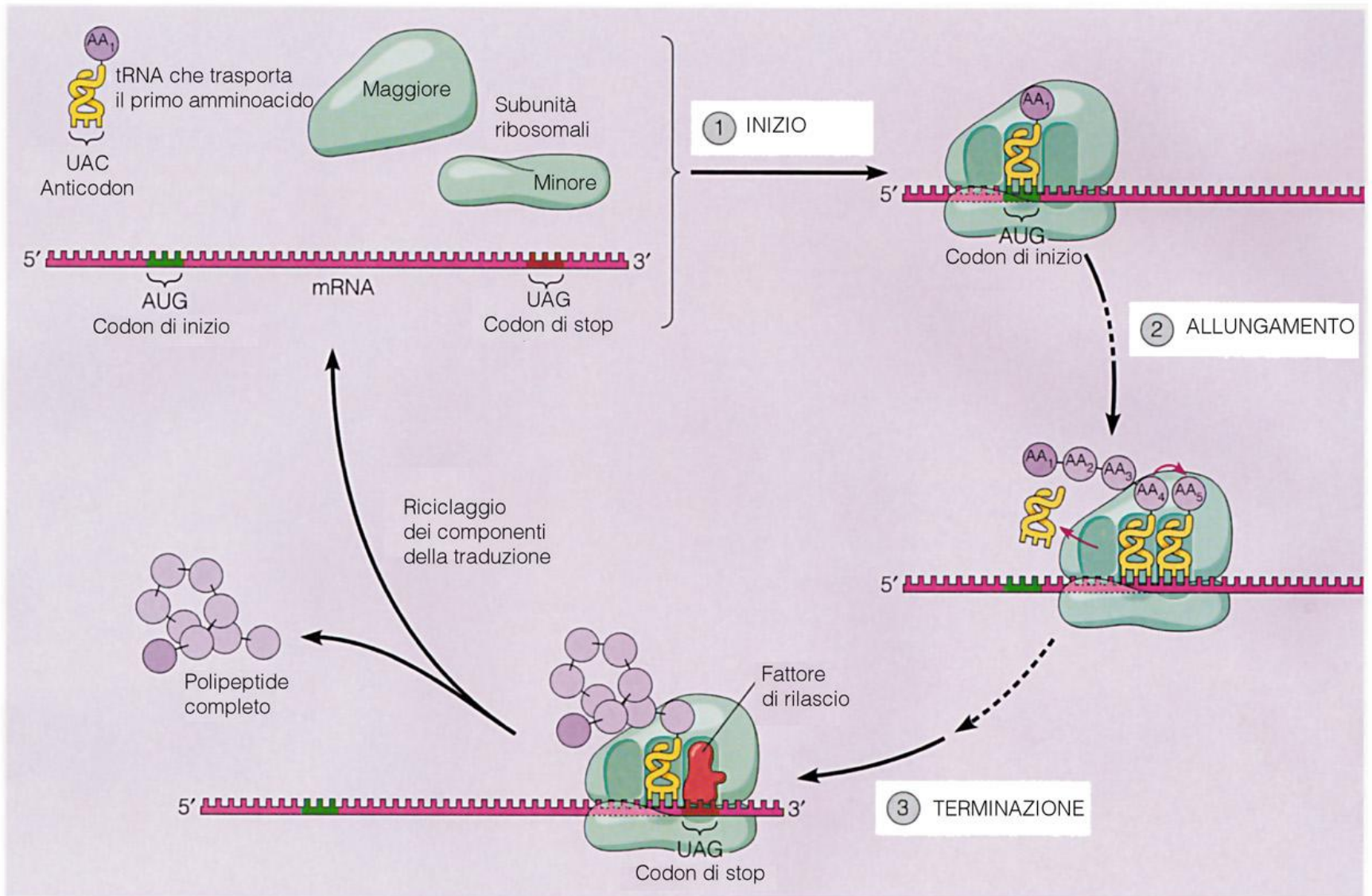


Figure 6-42. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



# Visione d'insieme della traduzione



# I fattori traduzionali

	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-1 $\alpha$ , eEF-1 $\beta\gamma$ , eEF-2
Terminazione	RF-1, RF-2, RF-3	eRF-1, eRF-3

Codone inizio

AUG, GUG, UUG

AUG

AA inizio

formil-metionina

metionina

tRNA inizio

tRNA<sup>f-met</sup>

tRNA<sup>met</sup>



TRADUZIONE

INIZIO

PROCARIOTI/EUCARIOTI

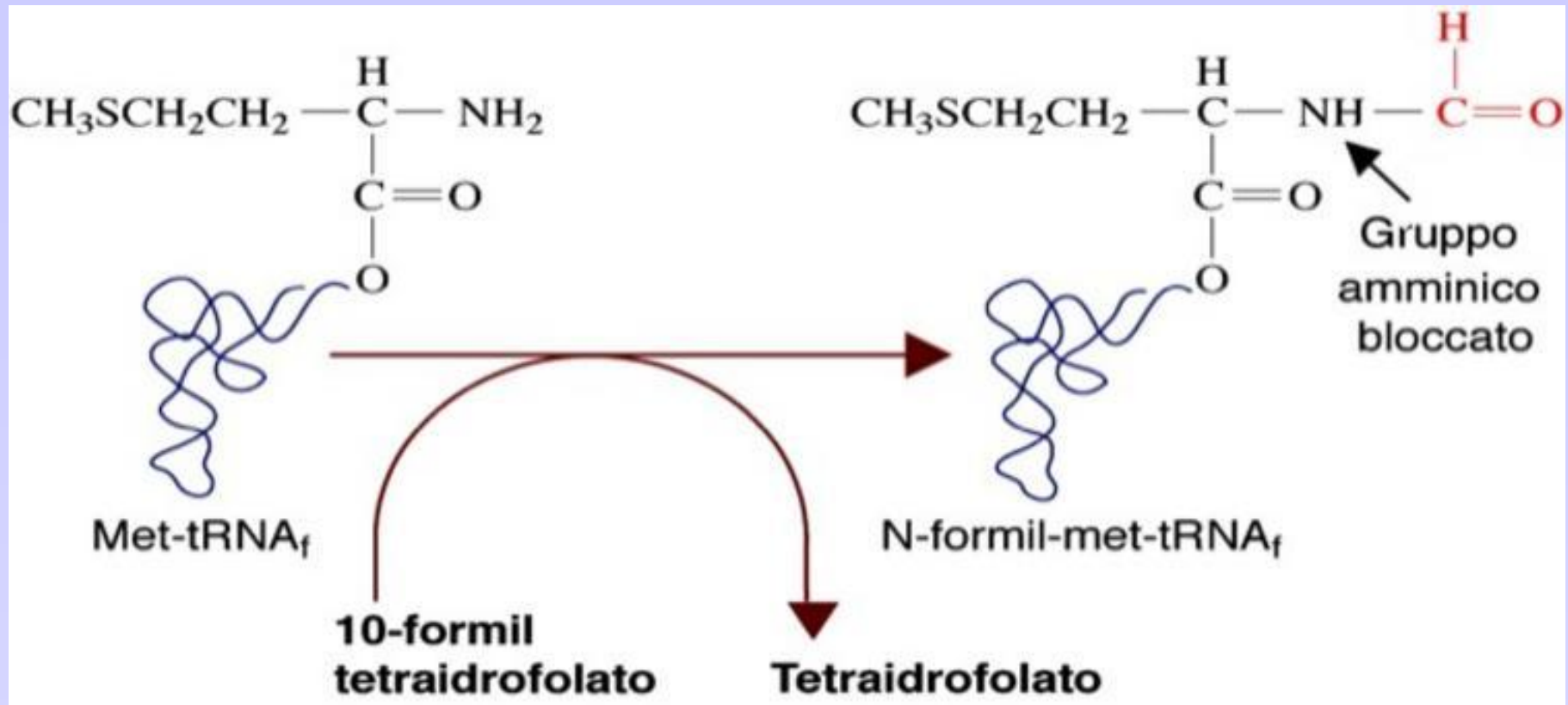
<i>Initiation Factors</i>		<i>Activity</i>
<i>prokaryotes</i>	<i>eukaryotes</i>	
<b>IF3</b>	<b>eIF-1</b>	<b>Fidelity of AUG codon recognition</b>
<b>IF1</b>	<b>eIF-1A</b>	<b>Facilitate Met-tRNA<sup>iMet</sup> binding to small subunit</b>
	<b>eIF-2</b>	<b>Ternary complex formation</b>
	<b>eIF-2B (GEF)</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>

# Fasi Della Traduzione: inizio

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

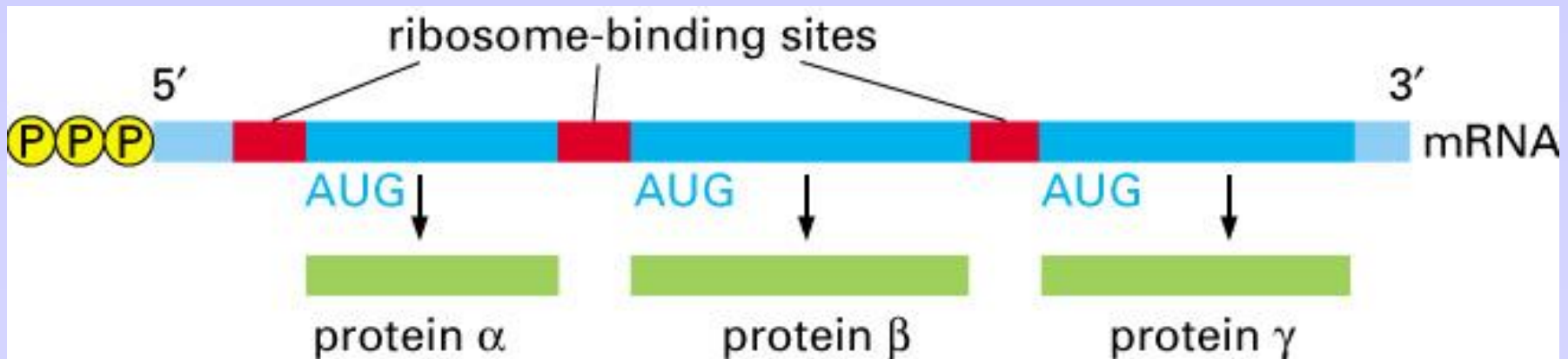
	<b>PROCARIOTI</b>	<b>EUCARIOTI</b>
<b>Subunità</b>	<b>30S/50S</b>	<b>40S/60S</b>
<b>Fattori d'inizio</b>	<b>Sì</b>	<b>Sì</b>
<b>tRNA iniziatore</b>	<b>formilmetionina</b>	<b>metionina</b>
<b>Fonte di Energia</b>	<b>GTP</b>	<b>ATP/GTP</b>

# Formilazione del met-tRNA



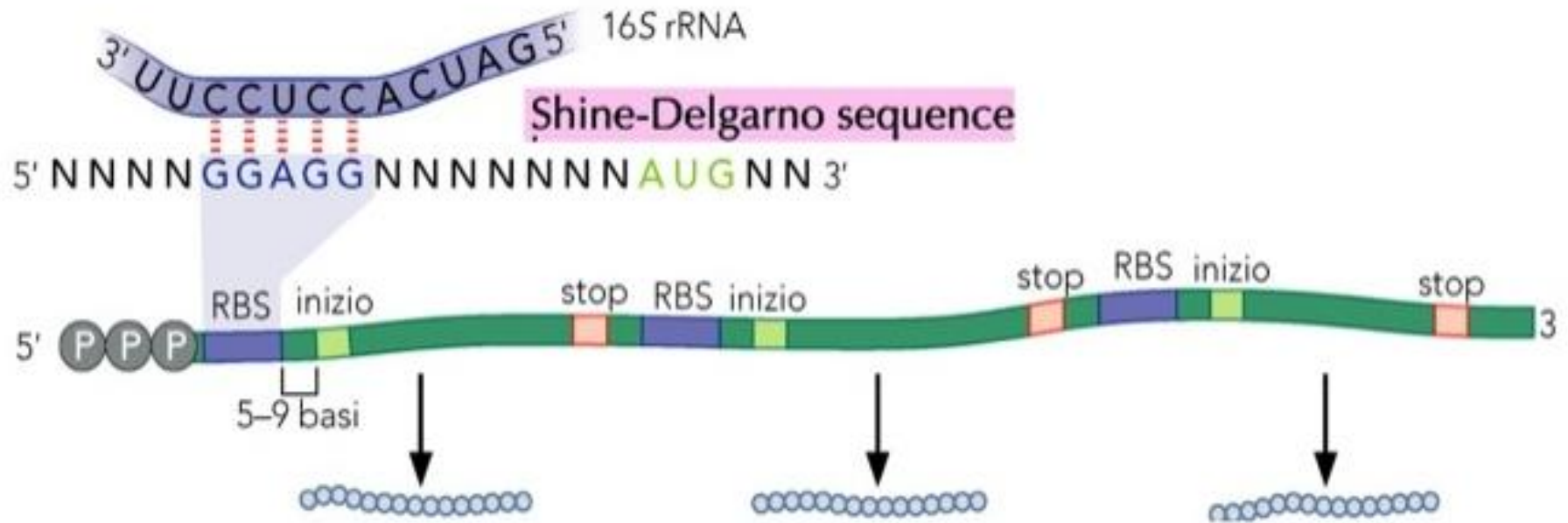
# Inizio della traduzione

L'inizio della traduzione è differentemente controllato nei procarioti rispetto agli eucarioti



Nei procarioti l'mRNA policistronico codifica per più proteine

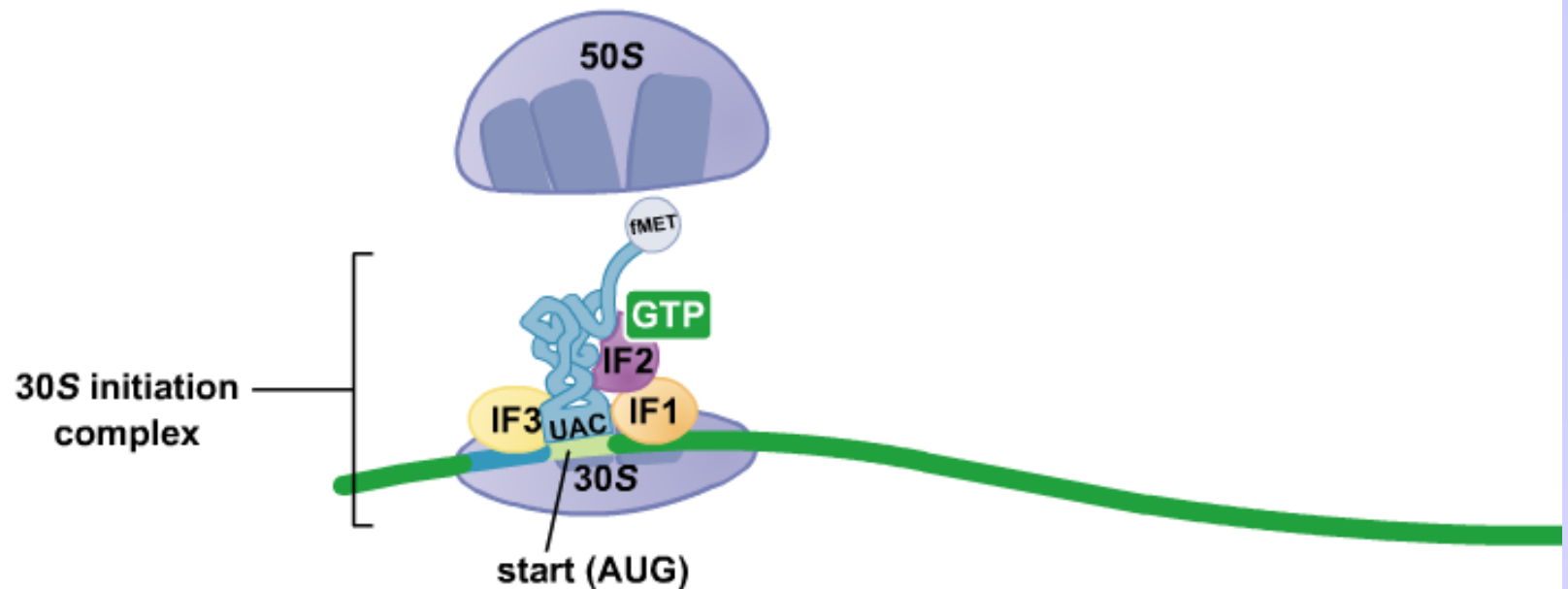
# Inizio della traduzione nei procarioti: sequenze di controllo



Nei procarioti delle specifiche sequenze presenti sull'mRNA vicino ai codoni di inizio AUG, chiamate sequenze di **Shine-Delgarno**, sono riconosciute da un complesso proteico costituito dal fMet-tRNA, i Fattori di Inizio (IFs) e la subunità minore del ribosoma (30S)

## Translation Initiation in Prokaryotes

- ▶ mRNA start codon and fMet-tRNA<sub>i</sub><sup>fMet</sup> anticodon are aligned to start translation



- ▶ **IF1**, **IF2**, and **IF3** bind 30S subunit
- ▶ **IF1** prevents tRNAs from entering A site
- ▶ **IF2** binds IF1 and guides fMet-tRNA<sub>i</sub><sup>fMet</sup> to P site
- ▶ **IF3** prevents association of large subunit

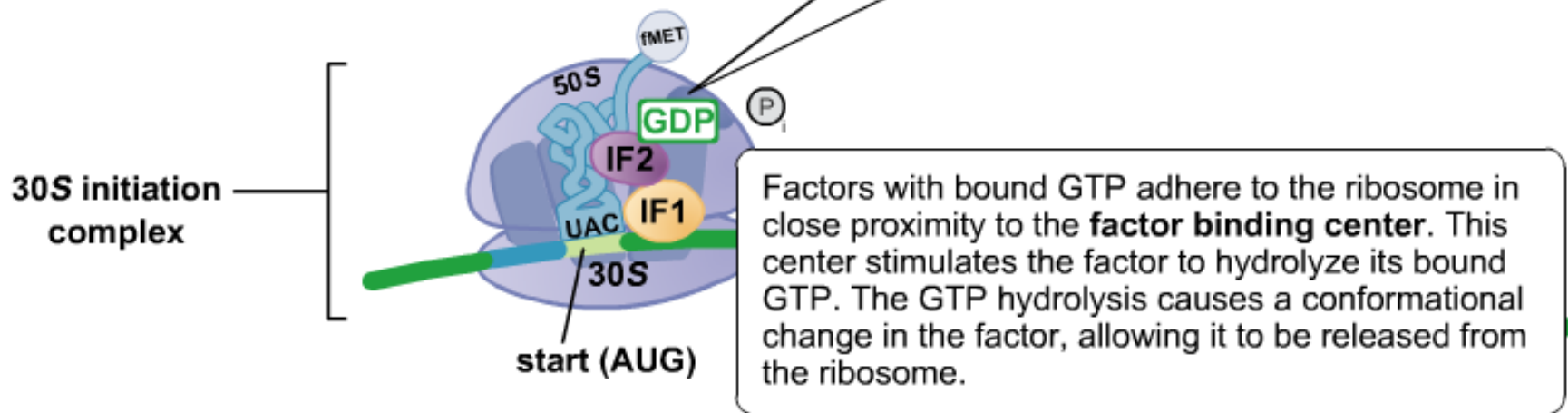
IF1

IF2

IF3

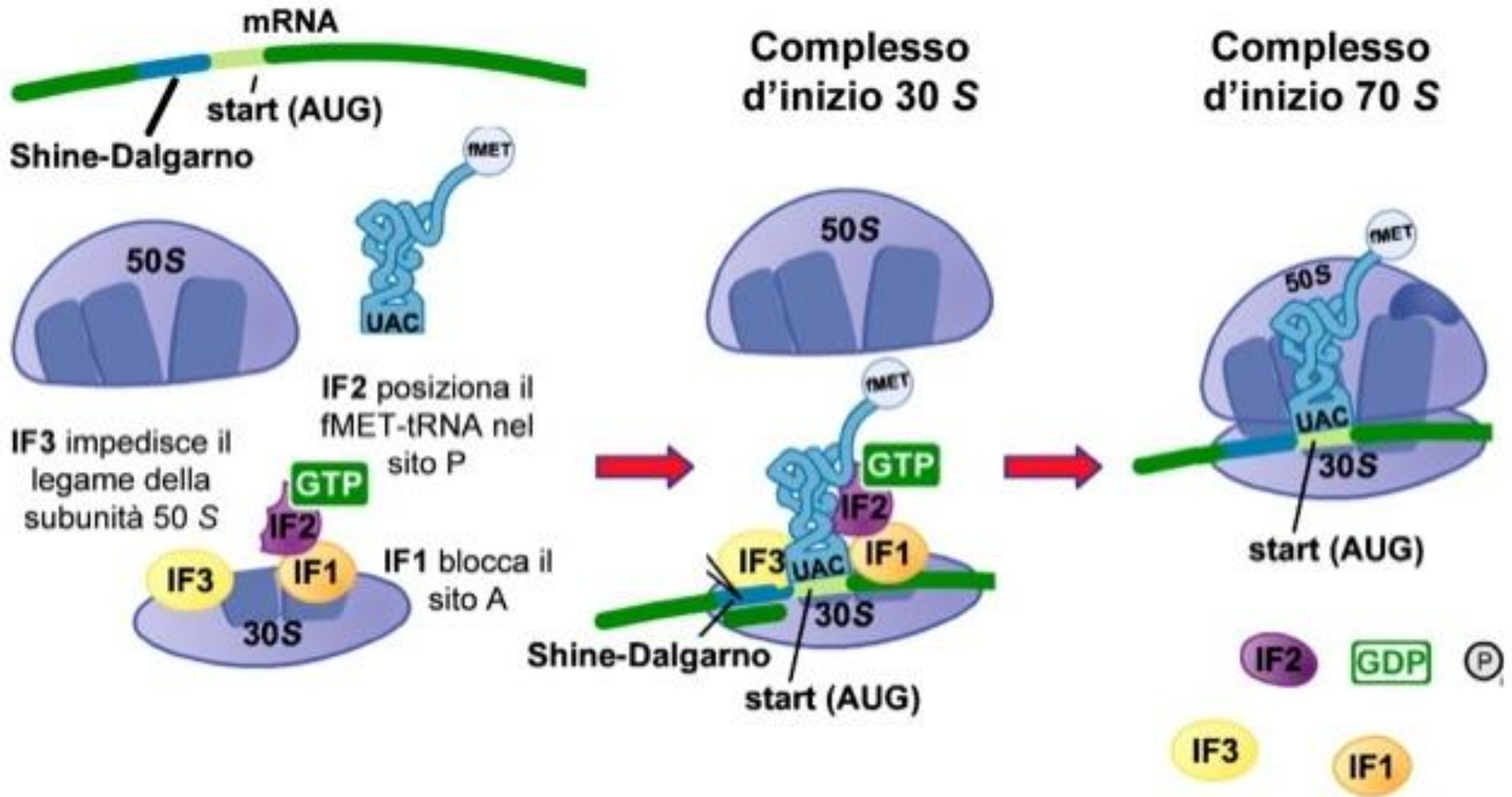
## Translation Initiation in Prokaryotes

- ▶ Base-pairing of mRNA start codon and fMet-tRNA<sup>fMet</sup> initiates reaction cascade to form 70S initiation complex:
  - ▶ **IF3** dissociates
  - ▶ Large subunit binds
  - ▶ **GTP** is hydrolyzed by **IF2**



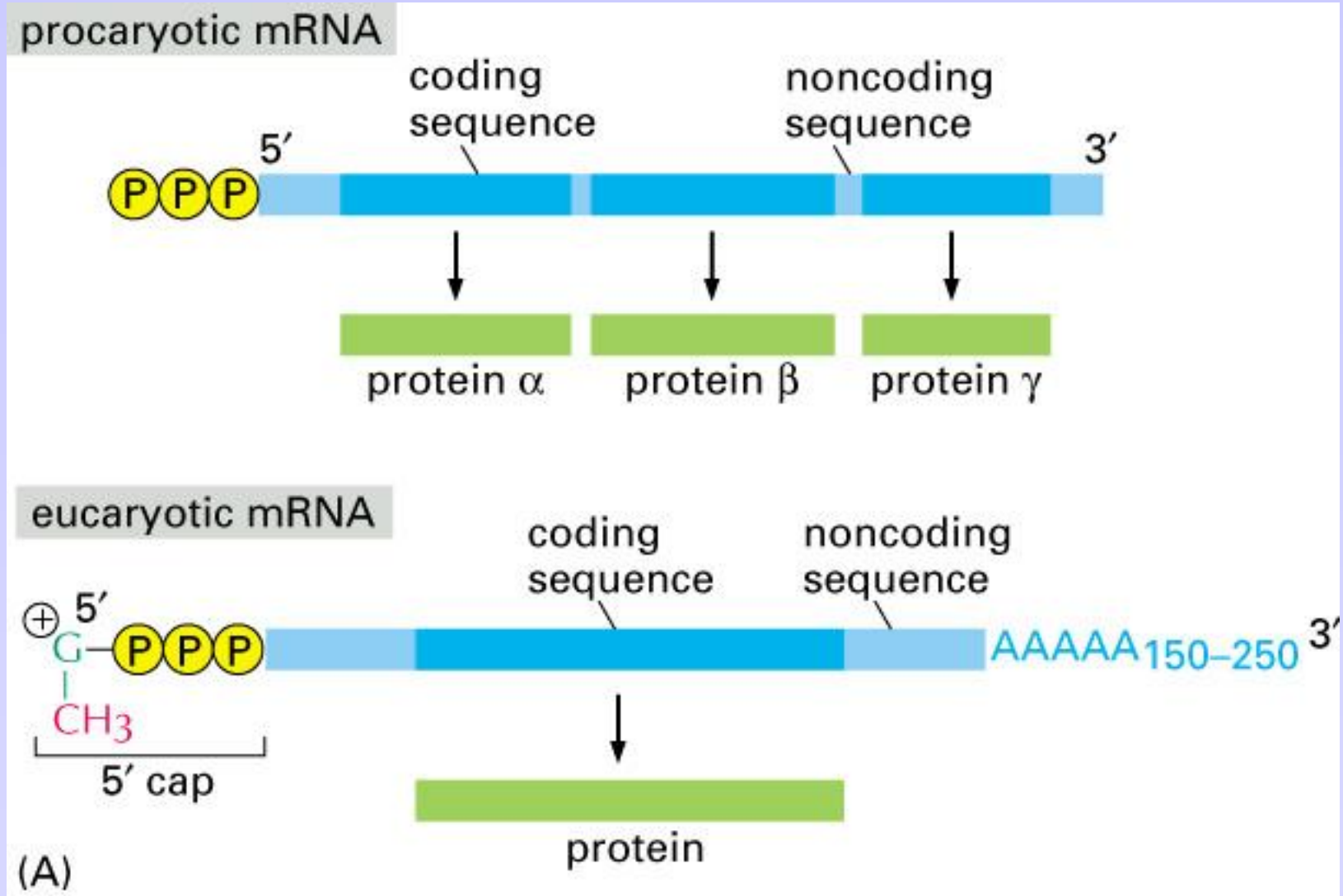


# La fase di inizio nei procarioti



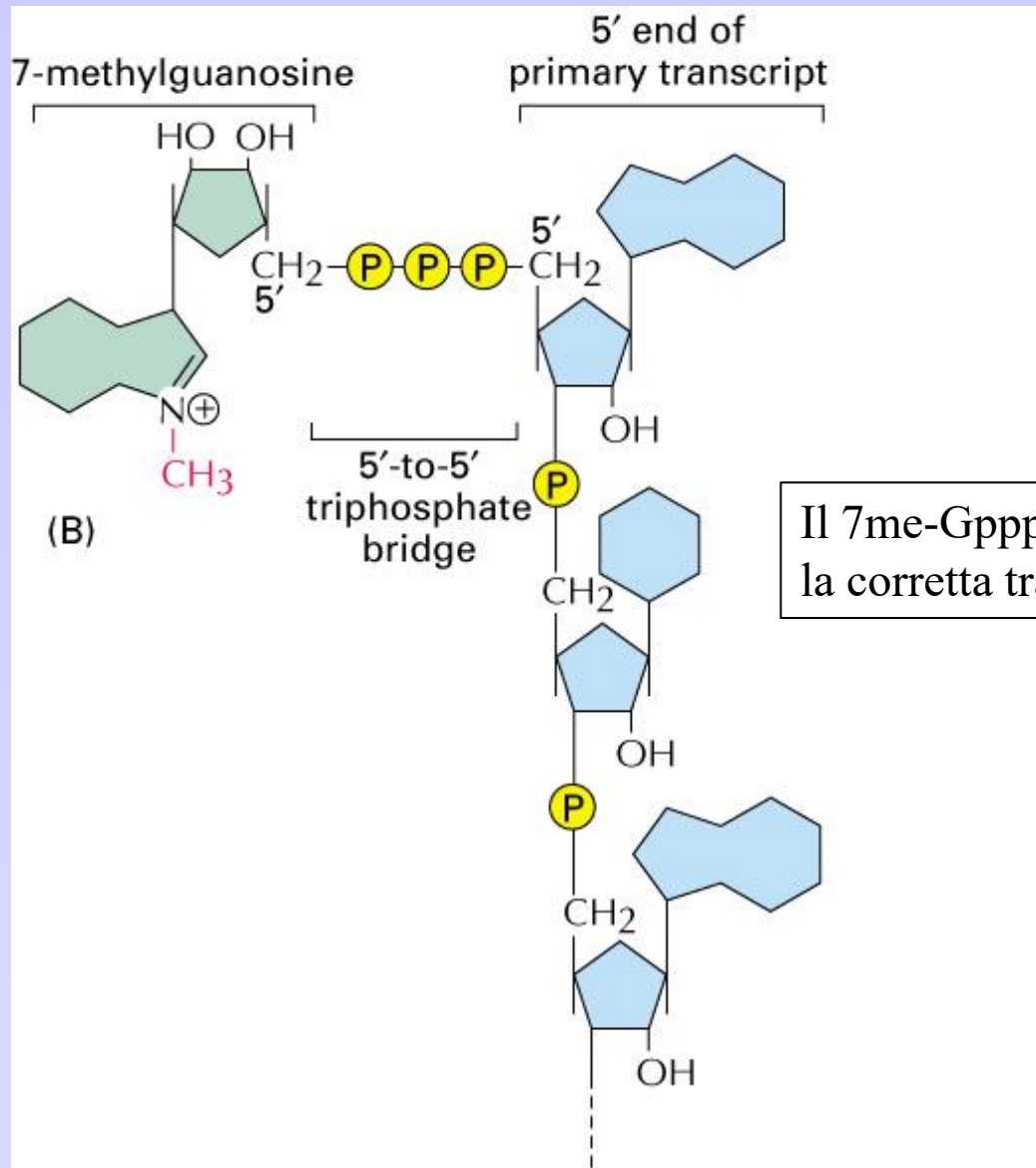
L'idrolisi del GTP da parte del fattore IF2 porta al rilascio dei vari fattori e l'associazione della subunità maggiore del ribosoma (50S) con la formazione del complesso 70S pronto a iniziare la traduzione

# Inizio della traduzione negli eucarioti



Gli mRNA eucariotici hanno una diversa struttura raramente policistronici - 5' e 3' modificati

# Struttura del 5'CAP



Il 7me-GpppN cap è necessario per la corretta traduzione dell'mRNA

# Fattori di inizio negli eucarioti

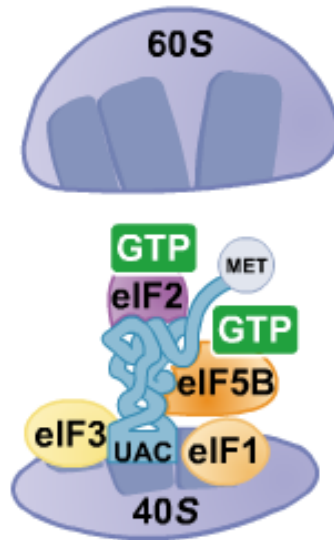
## Translation Initiation in Eukaryotes

Prokaryotic Initiation Factor	Eukaryotic Initiation Factors	Function
IF1	eIF1A	blocks ribosome A site
IF2	eIF2, eIF5b	facilitate initiator tRNA binding to the P-site of 40S subunit
IF3	eIF3	prevents ribosomal subunit association
	eIF1, eIF4A, eIF4E, eIF4G, eIF4B	prepare mRNA template for ribosome binding

# La fase di inizio negli eucarioti

## Translation Initiation in Eukaryotes

- ▶ 43S pre-initiation complex formed by:
  - ▶ 40S subunit
  - ▶ Initiation factors **eIF1A**, **eIF3**, **eIF5B•GTP** and **eIF2•Met-tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup>•GTP**



Formazione del complesso di pre-inizio 43S

43S pre-initiation complex

# Translation Initiation in Eukaryotes

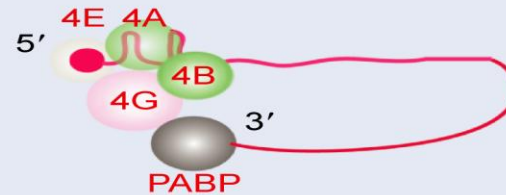
## Fattori di inizio si legano all'estremità 5' dell'mRNA

eIF4F è un eterotrimerico composto da:

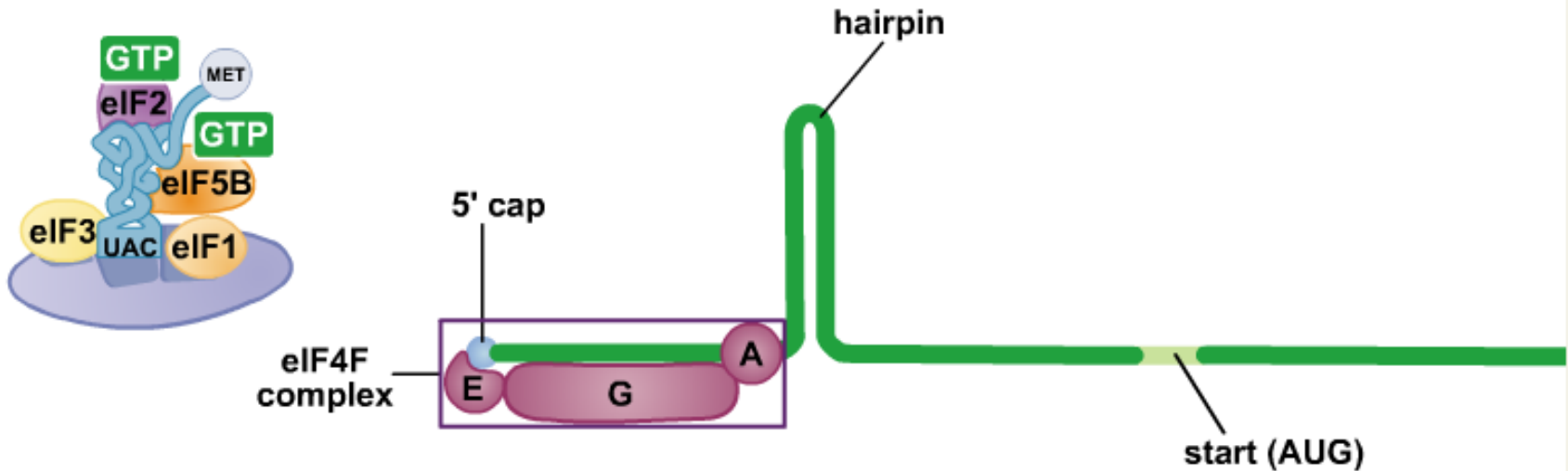
eIF4G è una proteina che serve da impalcatura

eIF4E si lega al cappuccio metilato al 5'

eIF4A è una elicasi che svolge la struttura 5'

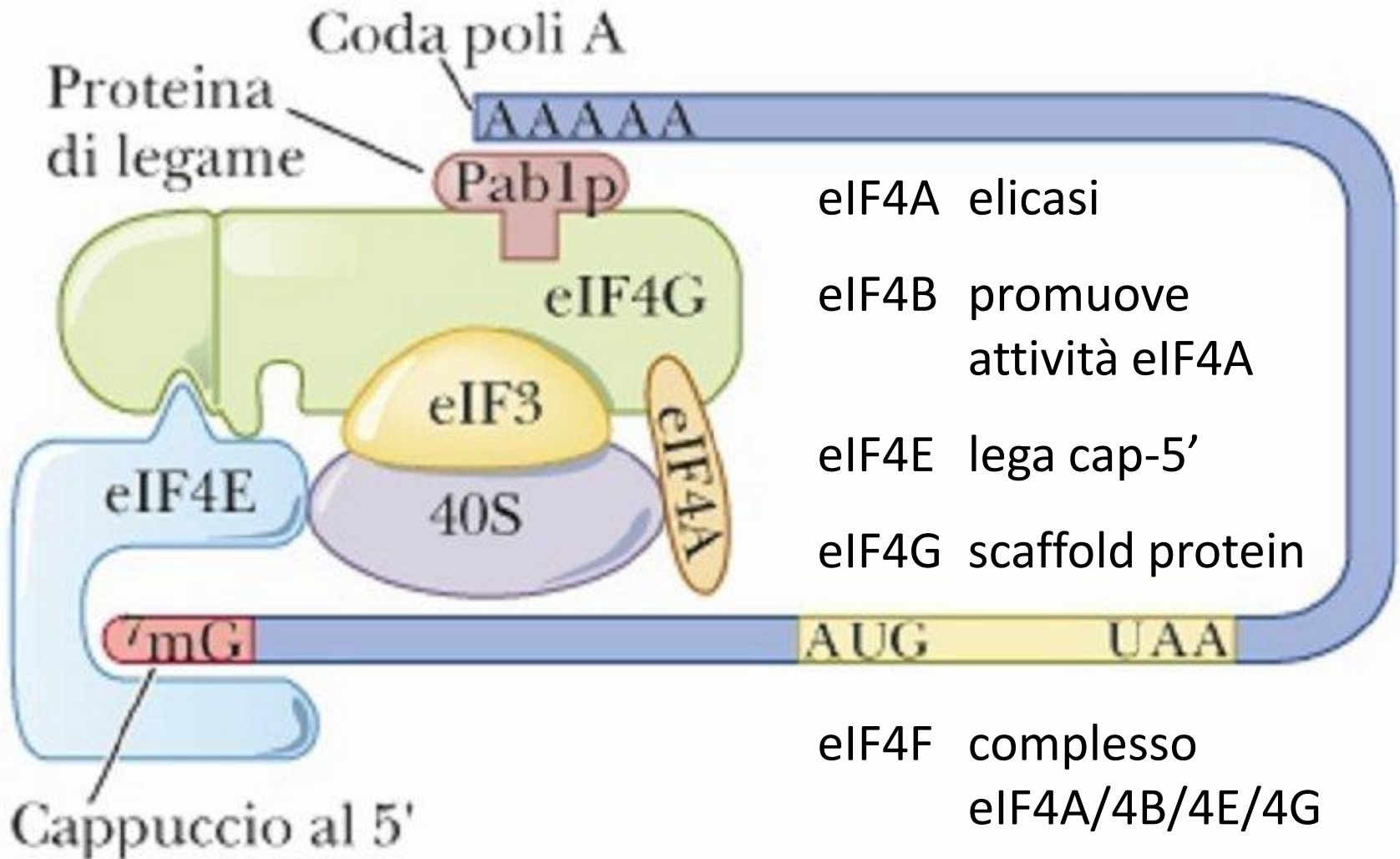


eIF4G lega altri due fattori  
eIF4B stimola l'elicasi eIF4A  
PABP si lega al poli(A) al 3'

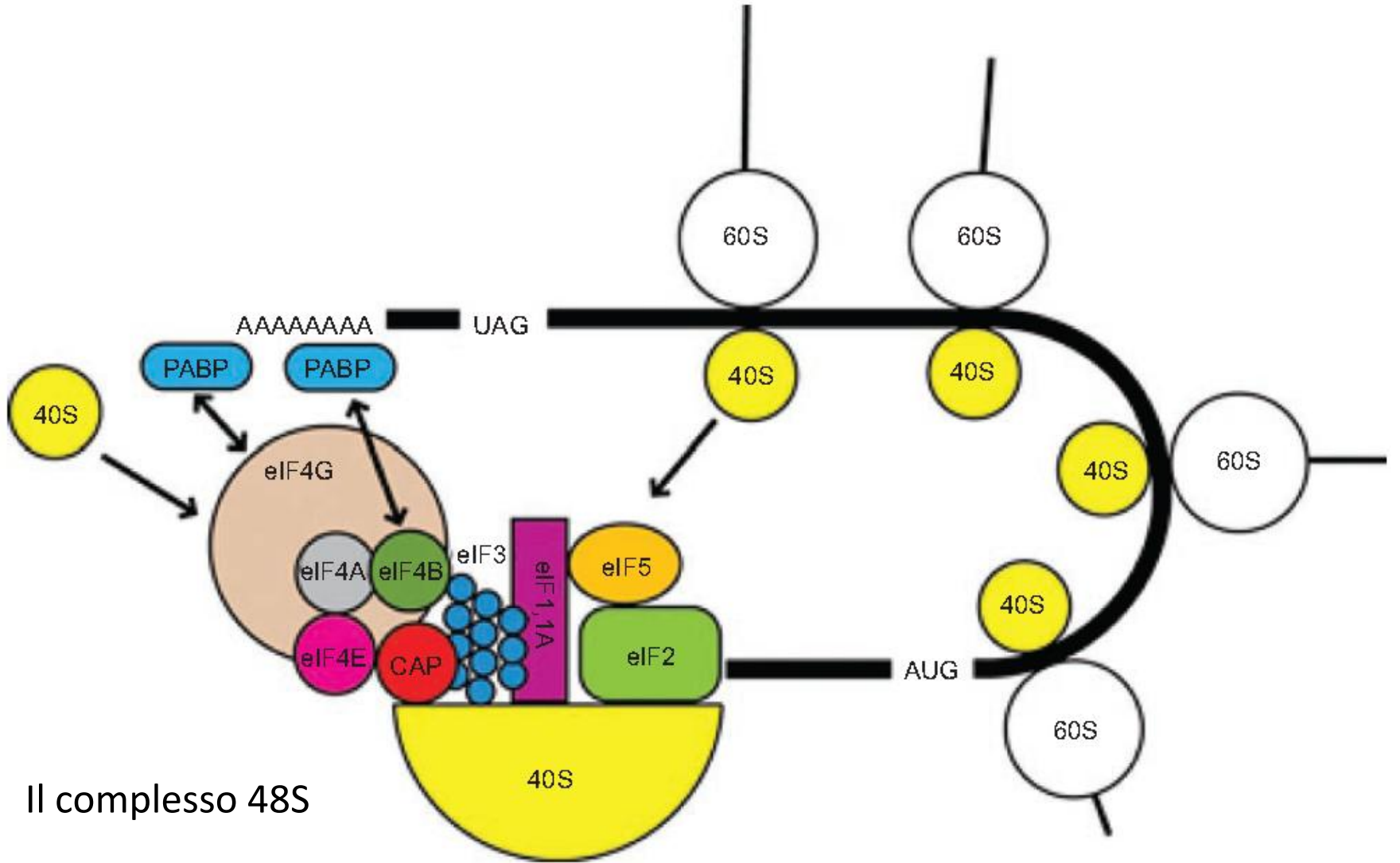


Formazione del complesso eIF4(A,E,G)/PABP e l'mRNA

# IL COMPLESSO eIF4F

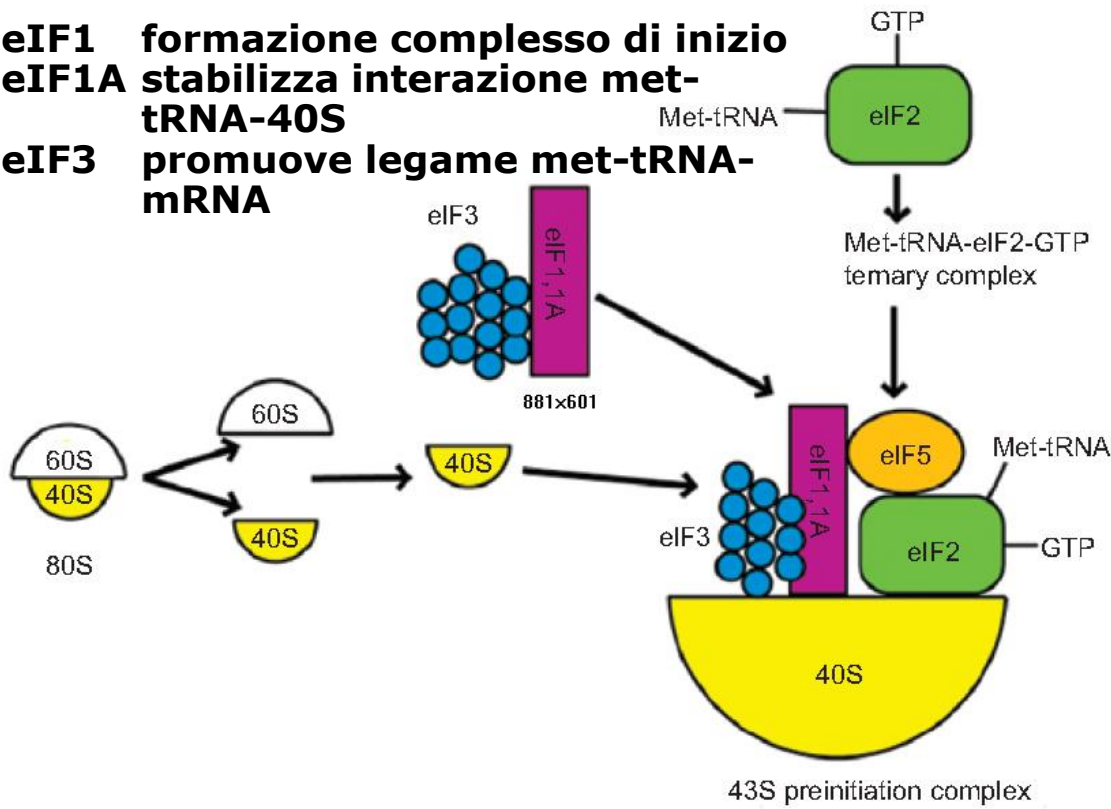


# Ricoscimento dell'mRNA da parte del complesso eIF4F e associazione con il complesso 43S mediata da eIF3



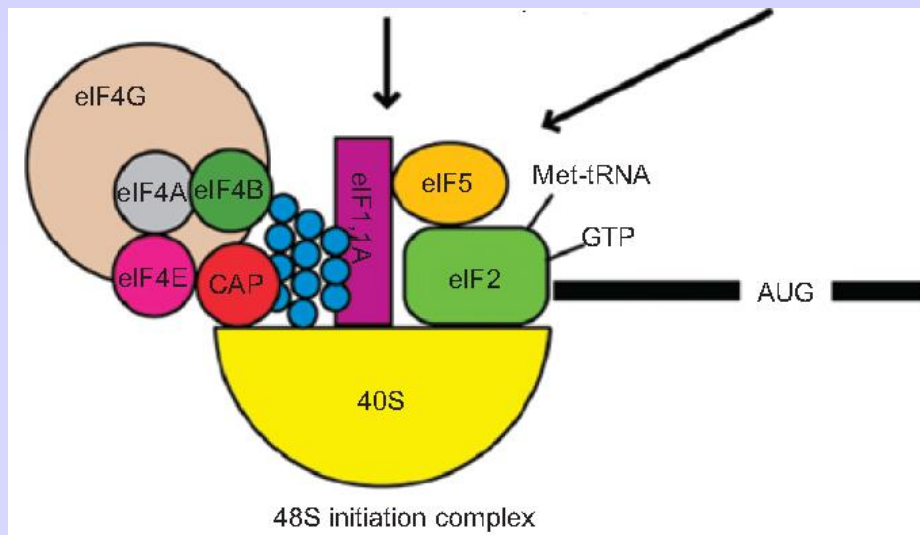
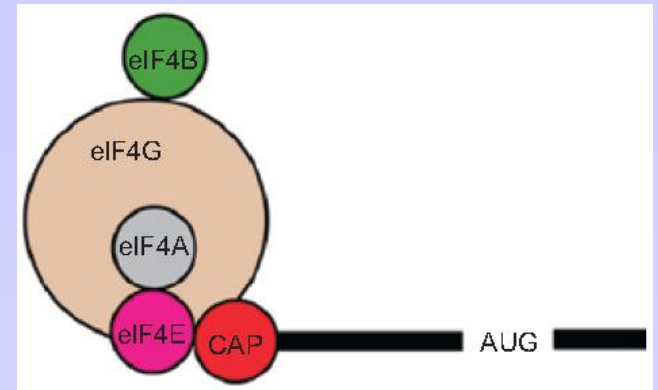


**eIF1** formazione complesso di inizio  
**eIF1A** stabilizza interazione met-tRNA-40S  
**eIF3** promuove legame met-tRNA-mRNA



**eIF2** legame GTP-dipendente met-tRNA-40S

**eIF4A** elicasi  
**eIF4B** promuove attività eIF4A  
**eIF4E** lega cap5'  
**eIF4G** scaffold protein  
**eIF4F** eIF4A/4B/4E/4G

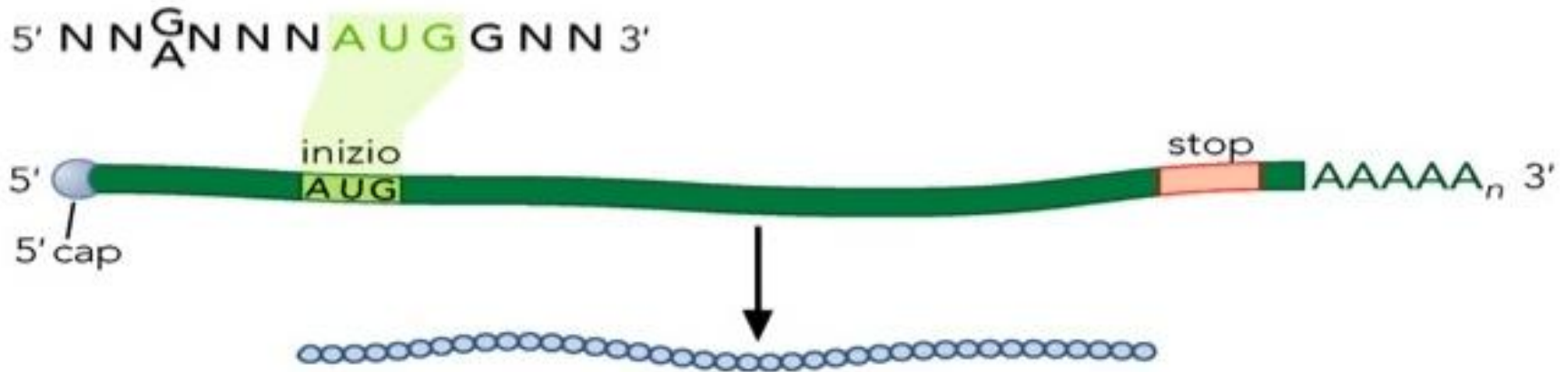
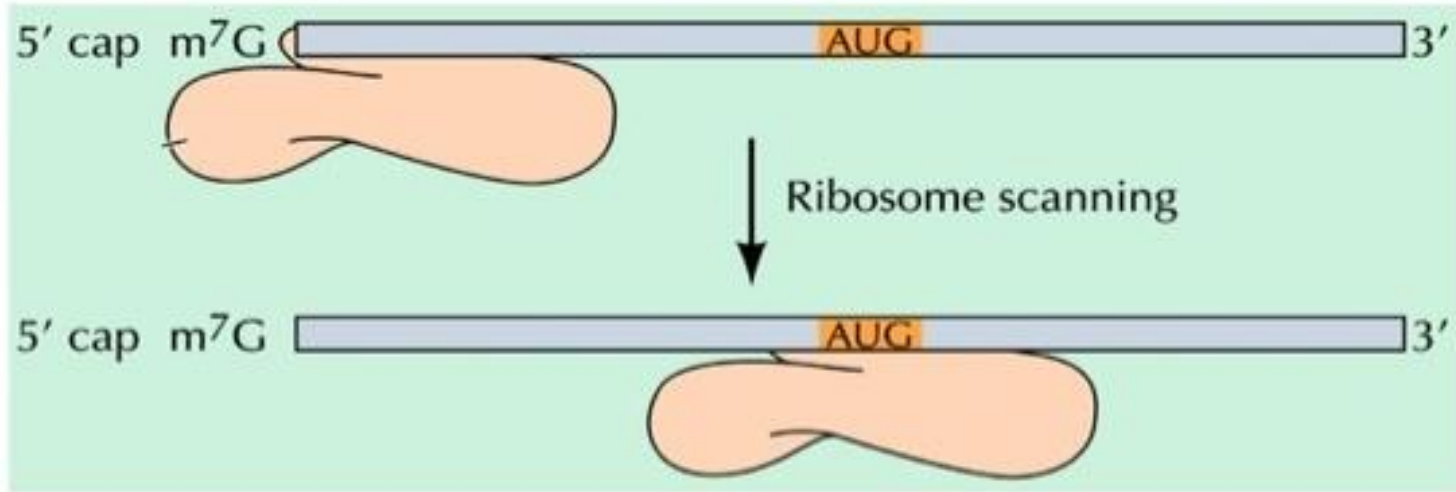


**eIF5** promuove attività GTPasica di eIF2

**eIF2B** scambio GDP-GTP  
**eIF2C** stabilizza complesso ternario (mRNA, met-tRNA, 40s)

# La fase di inizio negli eucarioti

Scansione dell'RNA alla ricerca del codone di inizio

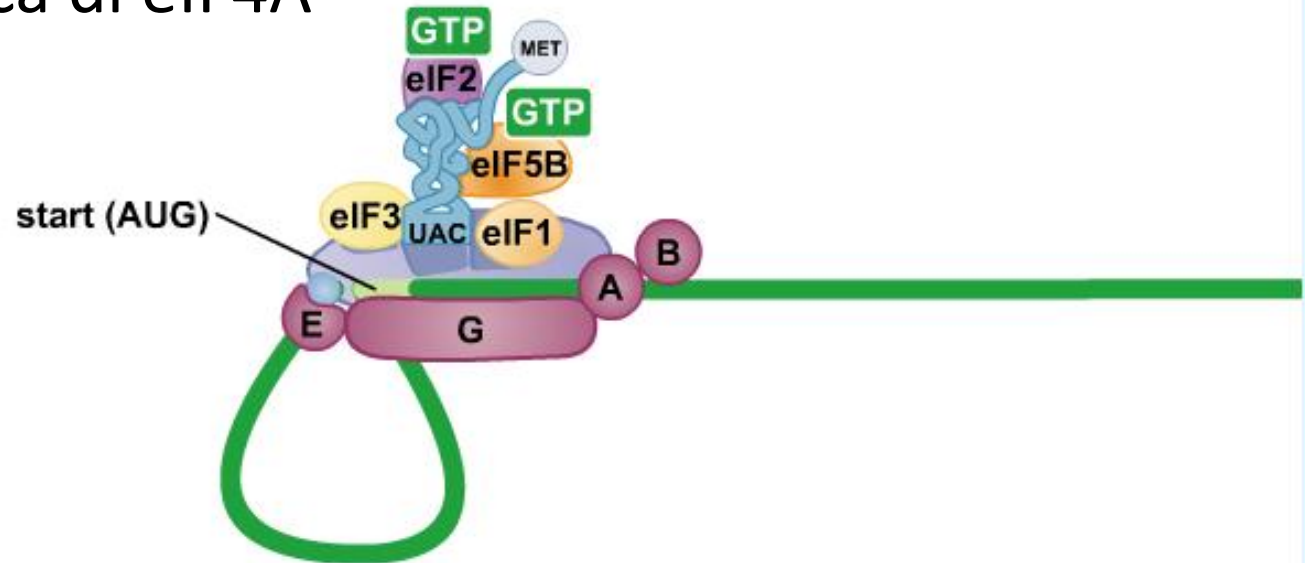


# Scansione dell'RNA alla ricerca del codone di inizio

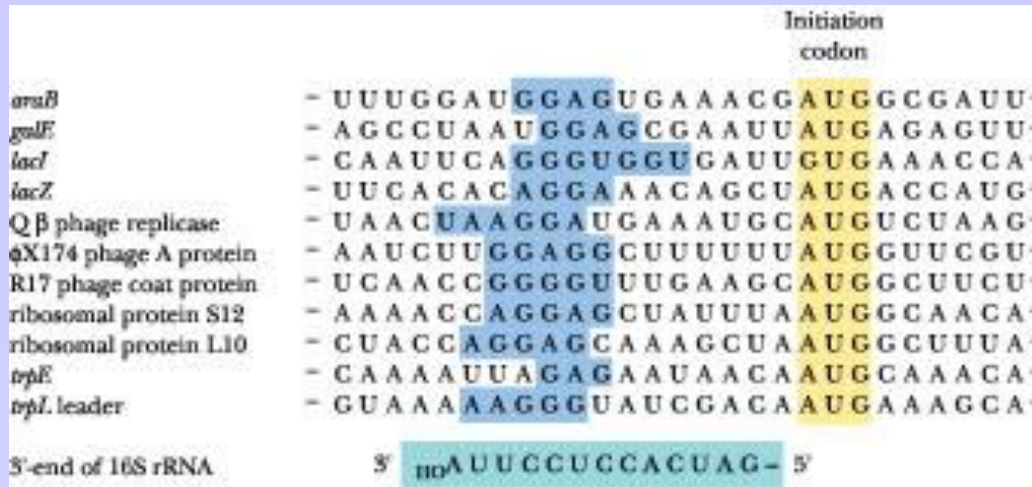
## Translation Initiation in Eukaryotes

- ▶ Helicase activity of **eIF4** family helps 40S subunit seat on the start codon

## Attività elicastica di eIF4A

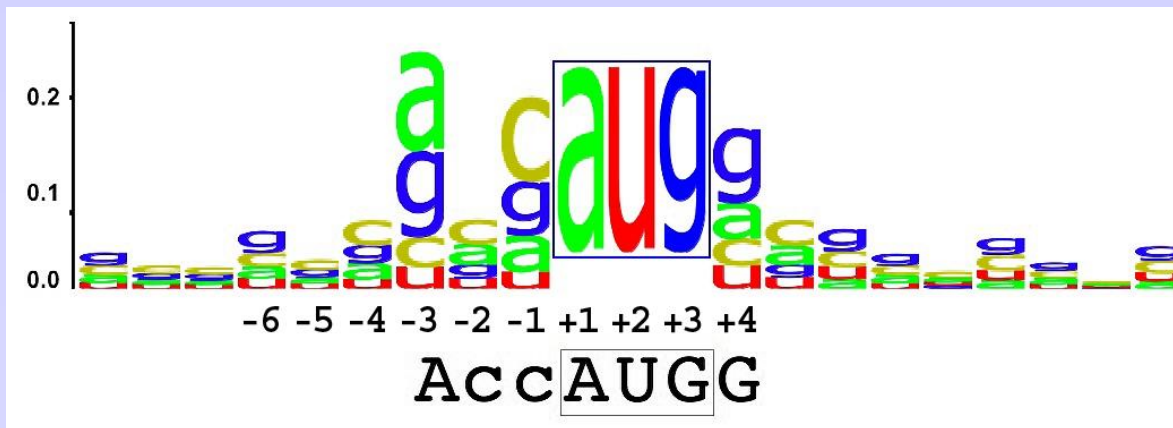


# Scansione dell'RNA alla ricerca del codone di inizio



Procarioti

Sequenza consenso  
 Shine-Dalgarno  
 Complementare a rRNA 16S



Eucarioti

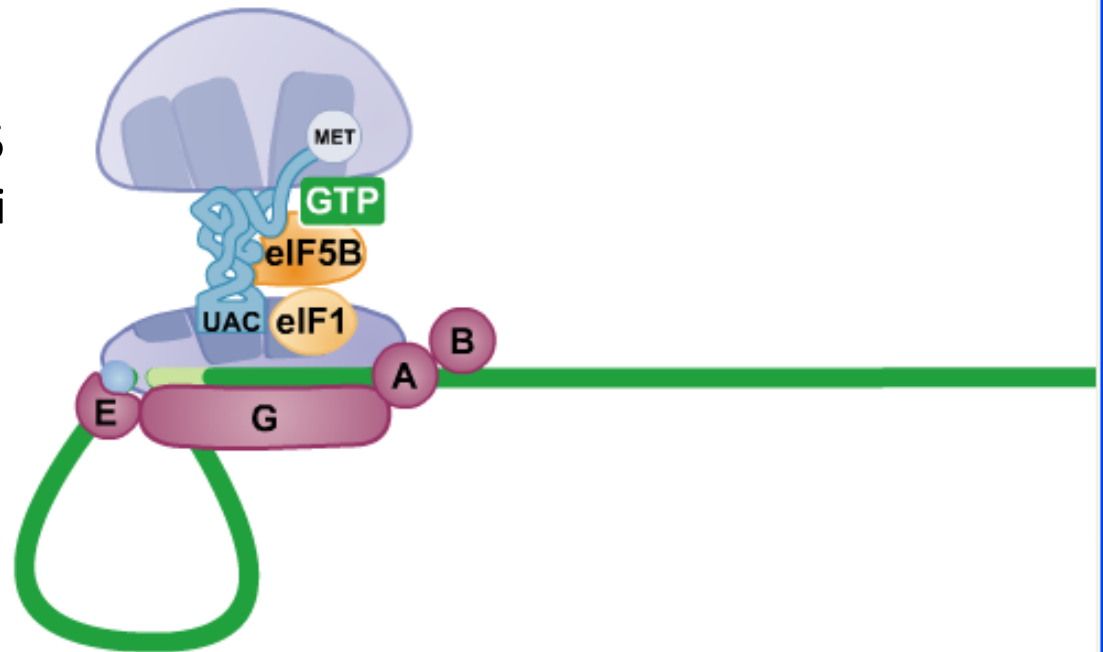
Sequenza consenso  
**Kozak**  
 Riconosciuta dai fattori eIF1,  
 eIF4A, eIF4B e eIF4E

# Aggancio della subunità maggiore

## Translation Initiation in Eukaryotes

- ▶ Helicase activity of **eIF4** family helps 40S subunit seat on the start codon
- ▶ **eIF2** and **eIF3** are released from the complex
- ▶ 60S subunit binds 40S subunit, and initiation factors are released

Identificato il codone di inizio  
l'attività GTPasica di eIF2 e eIF5  
favoriscono la dissociazione dei  
vari fattori di traduzione (eIF2)  
e l'aggancio della subunità  
maggiore del ribosoma (eIF5)

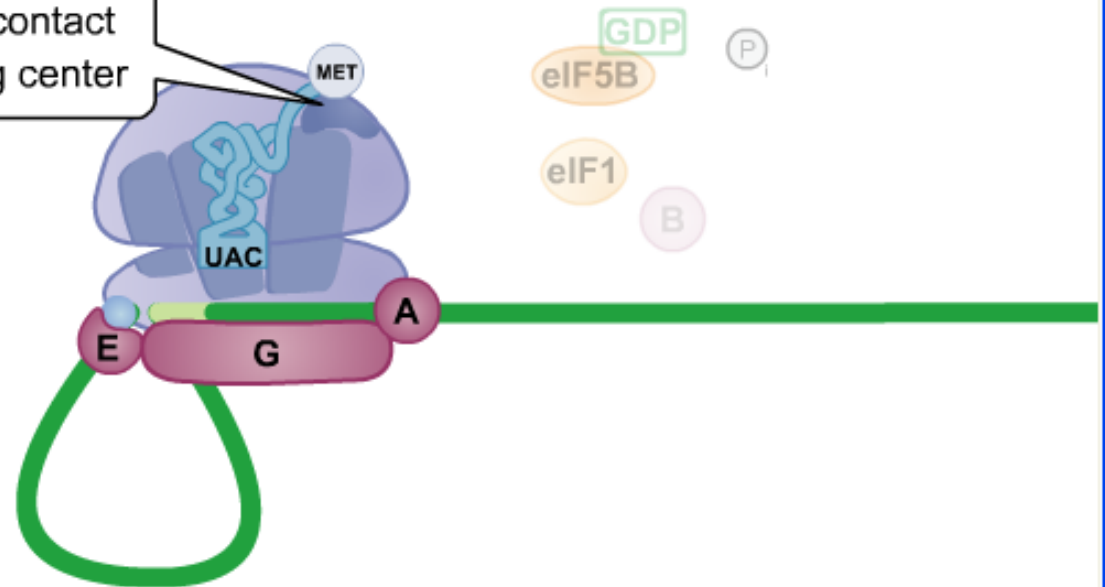


# Rilascio dei fattori di inizio

## Translation Initiation in Eukaryotes

- ▶ Helicase activity of **eIF4** family helps 40S subunit seat on the start codon
- ▶ **eIF2** and **eIF3** are released from the complex
- ▶ 60S subunit binds 40S subunit, and initiation factors are released

**eIF5B GTPase** is activated by contact with the ribosome factor binding center

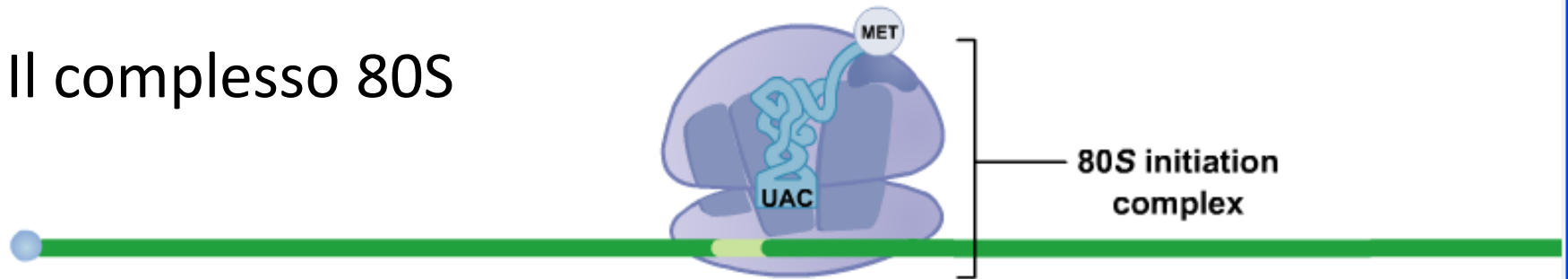


# Formazione del complesso 80S

## Translation Initiation in Eukaryotes

- ▶ Helicase activity of **eIF4** family helps 40S subunit seat on the start codon
- ▶ **eIF2** and **eIF3** are released from the complex
- ▶ 60S subunit binds 40S subunit, and initiation factors are released
- ▶ Ribosome is now ready to begin protein synthesis

Il complesso 80S



# La fase di inizio negli eucarioti

Il legame del tRNA-met al ribosoma precede il legame dell'mRNA

Al contrario dei procarioti il complesso 48S scorre sull'mRNA alla ricerca del codone di inizio

Il riconoscimento del codone AUG promuove l'attività GTPasica di eIF2

L'idrolisi del GTP da parte di eIF2 è il segnale per il rilascio dei fattori di inizio, il legame della subunità maggiore e l'inizio della traduzione

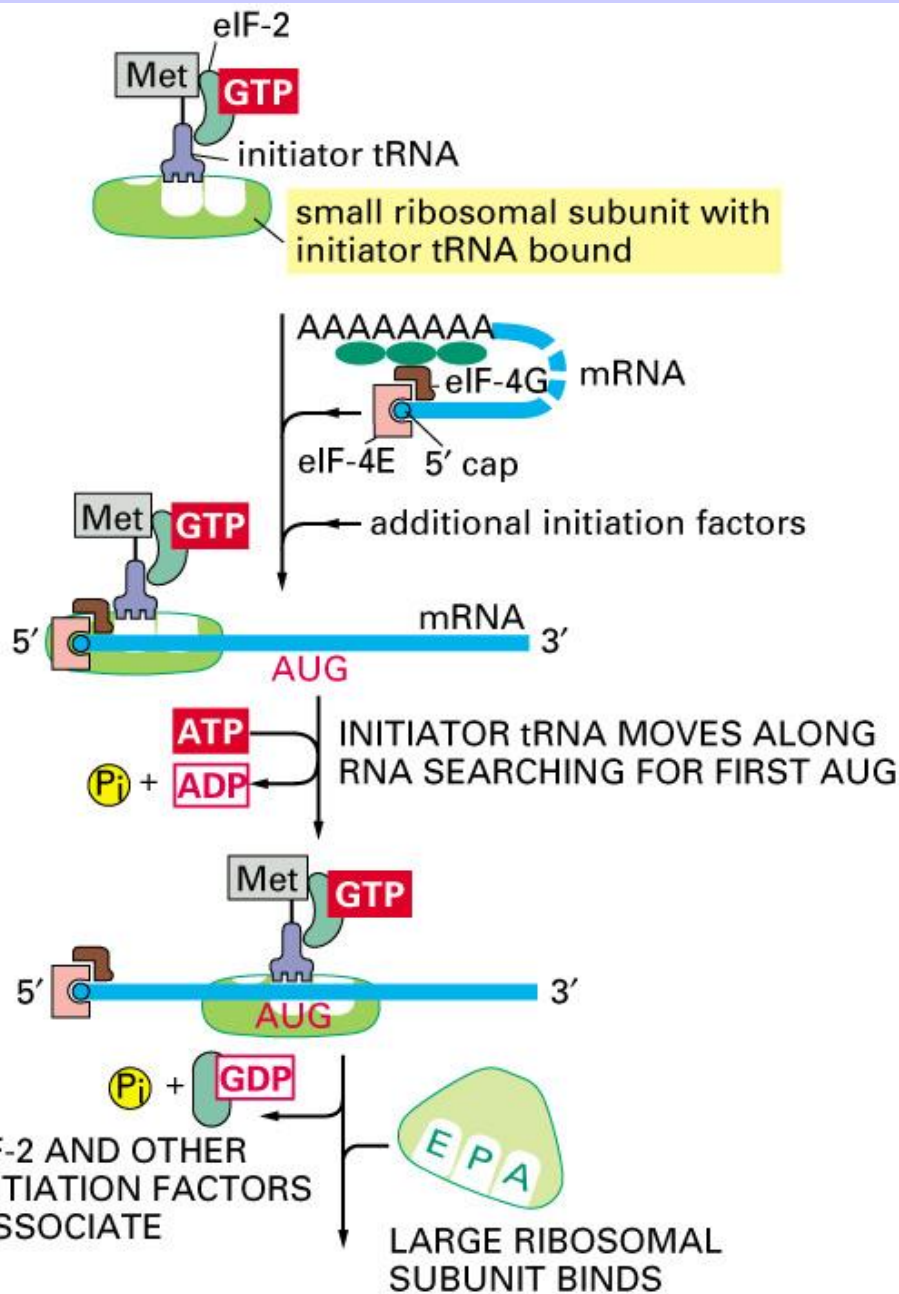


Figure 6-71 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



TRADUZIONE

FASE DI ALLUNGAMENTO

PROCARIOTI/EUCARIOTI

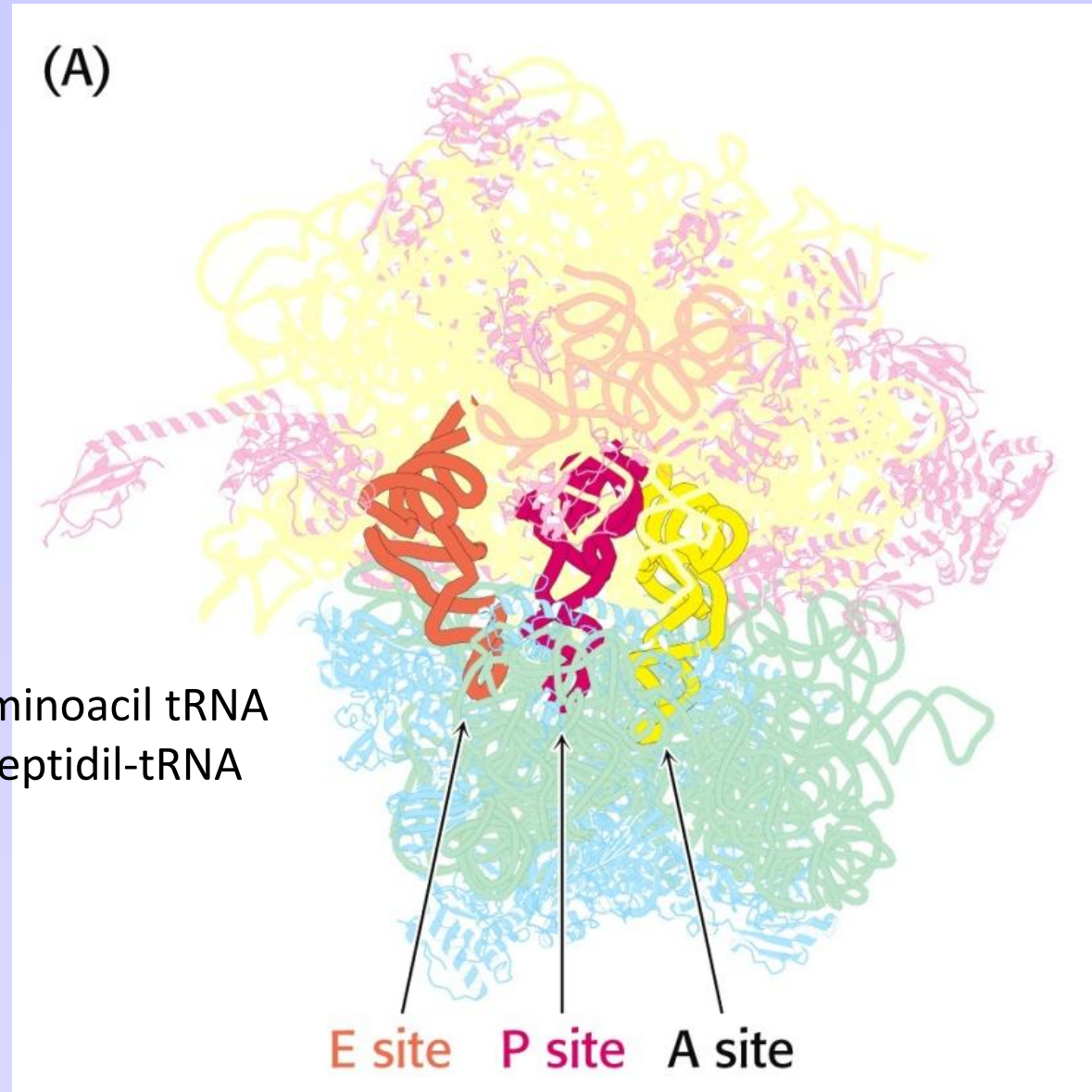
# Fasi Della Traduzione: allungamento

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

L'associazione tra le subunità maggiore e minore del ribosoma crea un ambiente essenziale per la sintesi della proteina

Tre siti di legame per i tRNA:  
sito A = sito di legame per l'aminoacil tRNA  
sito P = sito di legame per il peptidil-tRNA  
sito E = sito di uscita



# Fase di allungamento

Processo in tre step:

Corretto posizionamento dell'aminoacil-tRNA nel sito accettore

Formazione del legame peptidico tra il peptidil-tRNA nel sito P e l'aminoacil-tRNA nel sito A

Spostamento dell'mRNA all'interno del ribosoma di un codone

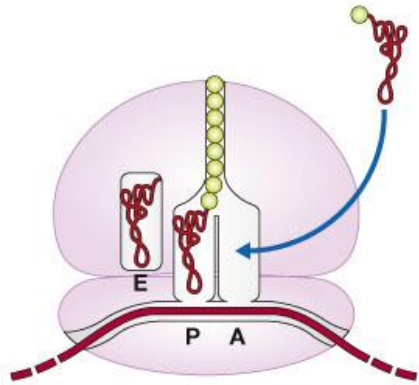
Fattori coinvolti

EF-Tu → posiziona il tRNA nel sito A

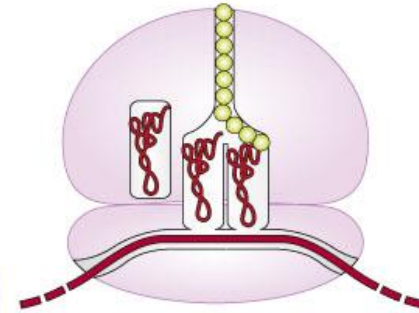
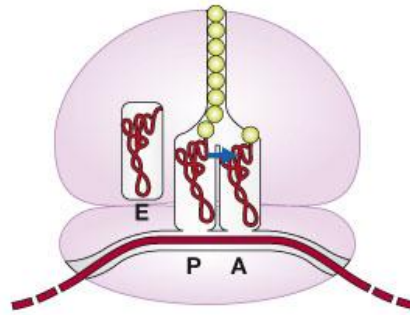
EF-Ts → riciclo del fattore EF-Tu

EF-G → traslocazione del ribosoma

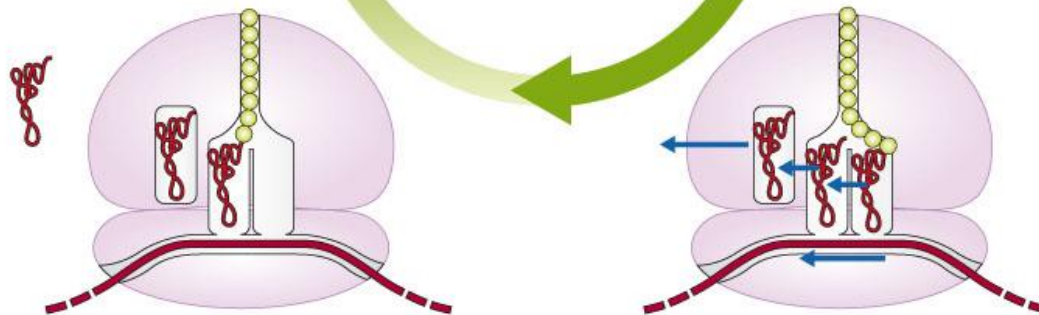
(A) Entrata del nuovo aa-tRNA



(B) Formazione del legame peptidico

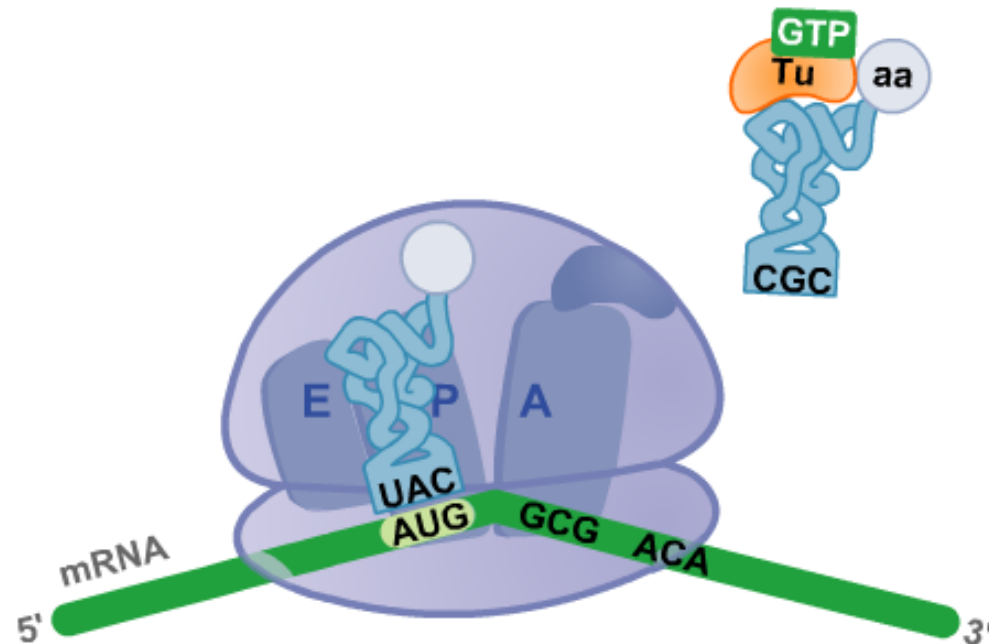


(C) Traslocazione



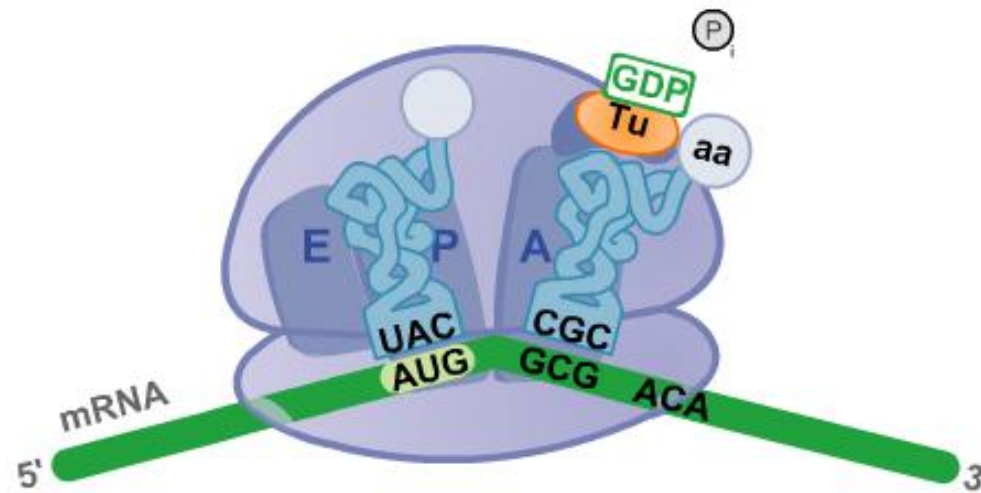
Rappresentazione schematica del ciclo di allungamento

- The aminoacyl-tRNA is escorted to the A site by the elongation factor **EF-Tu**



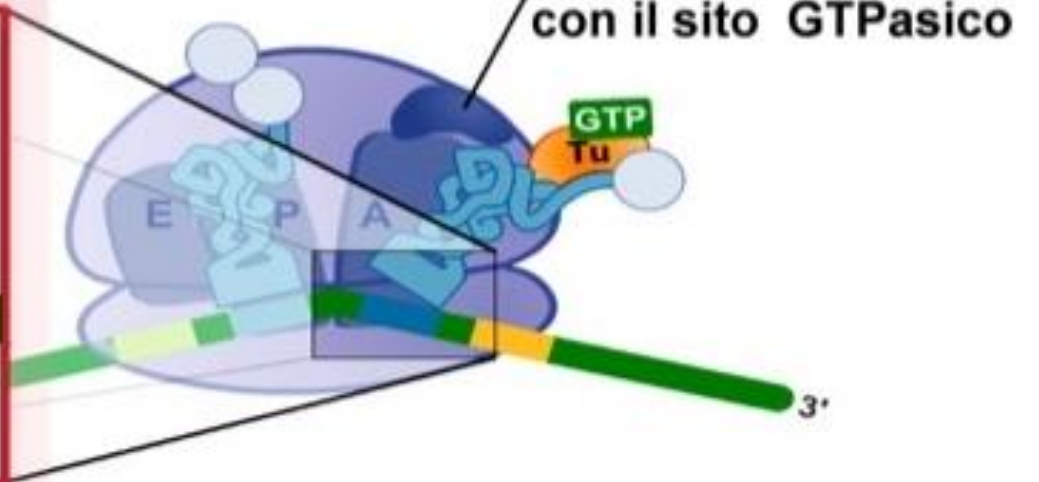
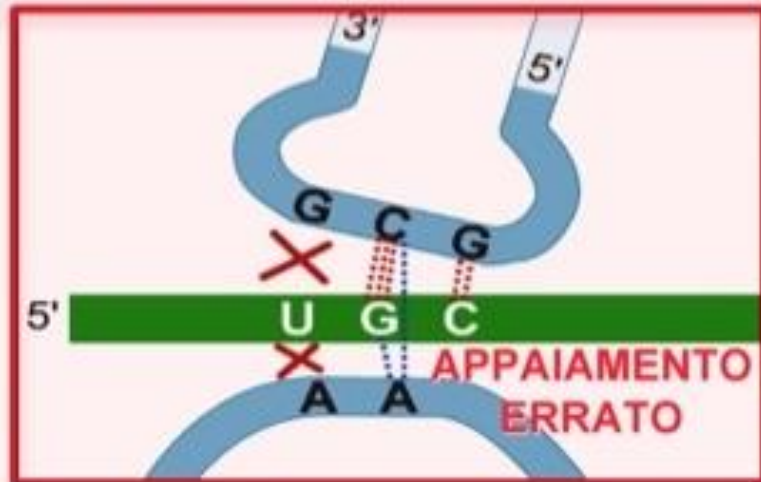
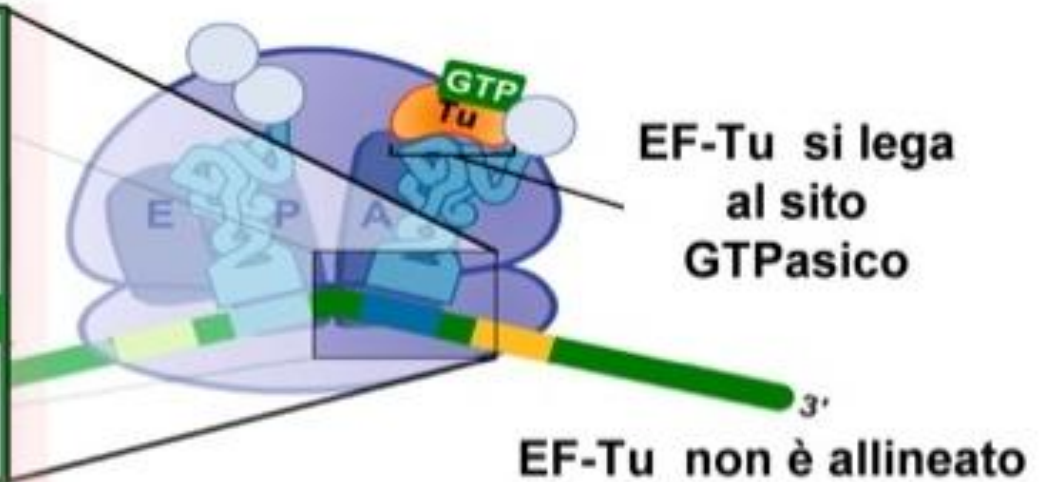
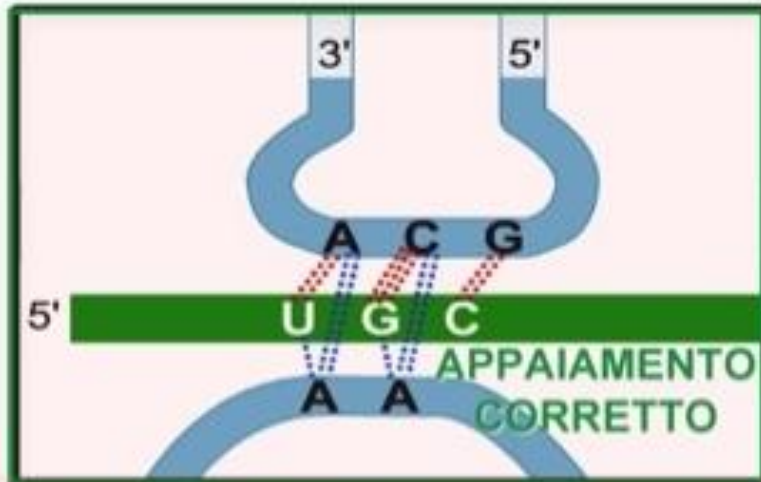
EF-Tu GTP si lega all'estremita 3' del tRNA carico per mascherare l'aminoacido

- The aminoacyl-tRNA is escorted to the A site by the elongation factor **EF-Tu**



Il corretto posizionamento del tRNA è accompagnato dall'idrolisi del GTP da parte di EF-Tu GTP

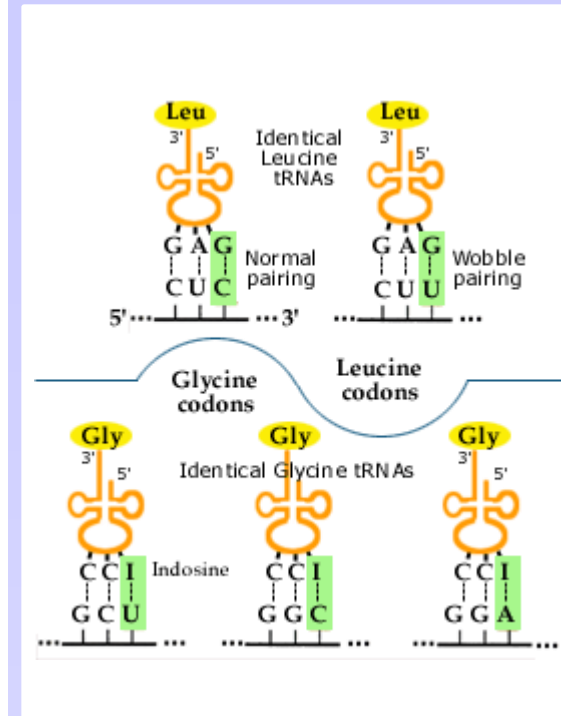
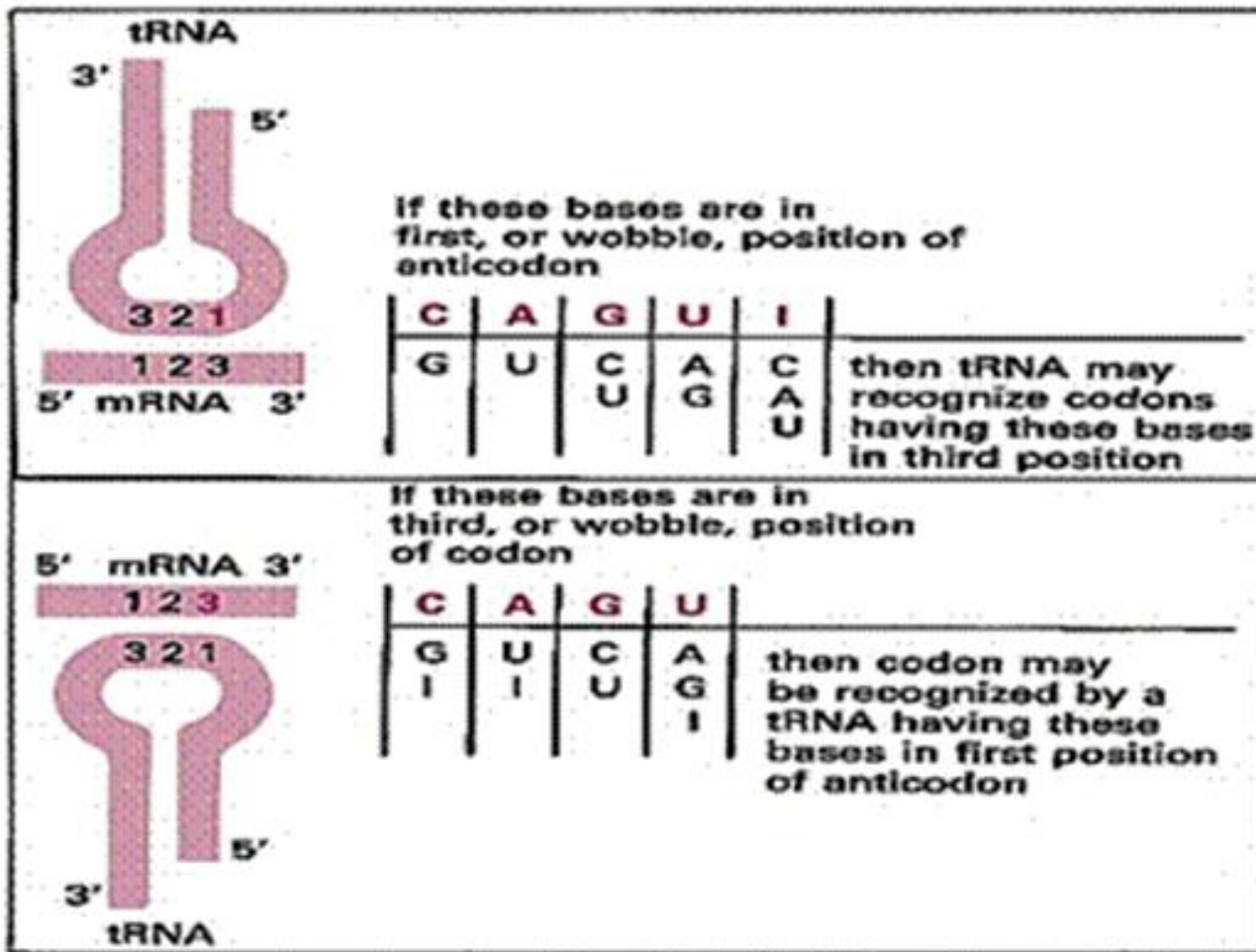
# Controllo dell'appaiamento codon-anticodon



L'idrolisi di GTP e il rilascio di EF-Tu avvengono solo se il tRNA è correttamente posizionato. Uscito EF-Tu può avvenire la formazione del legame peptidico

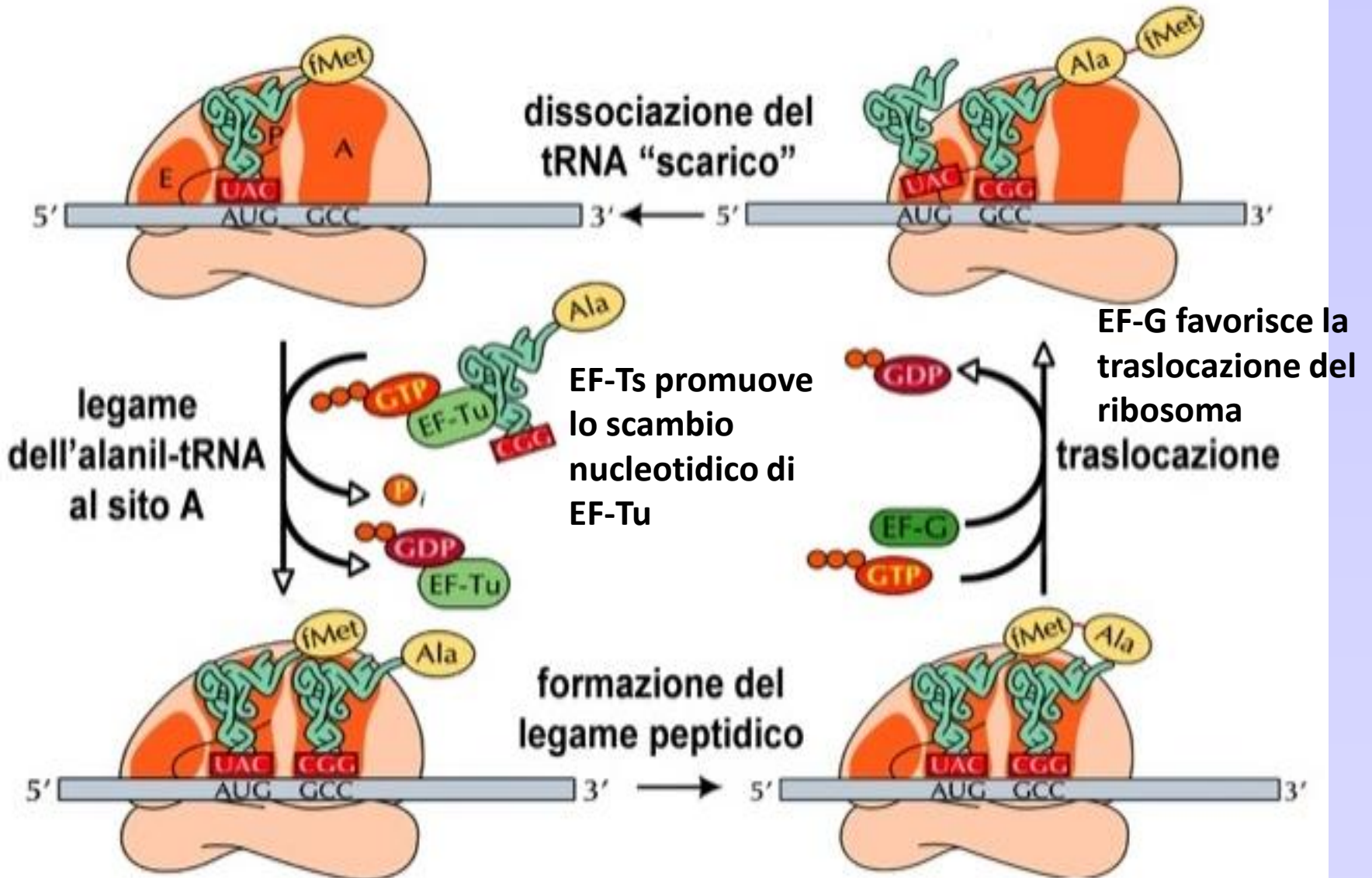


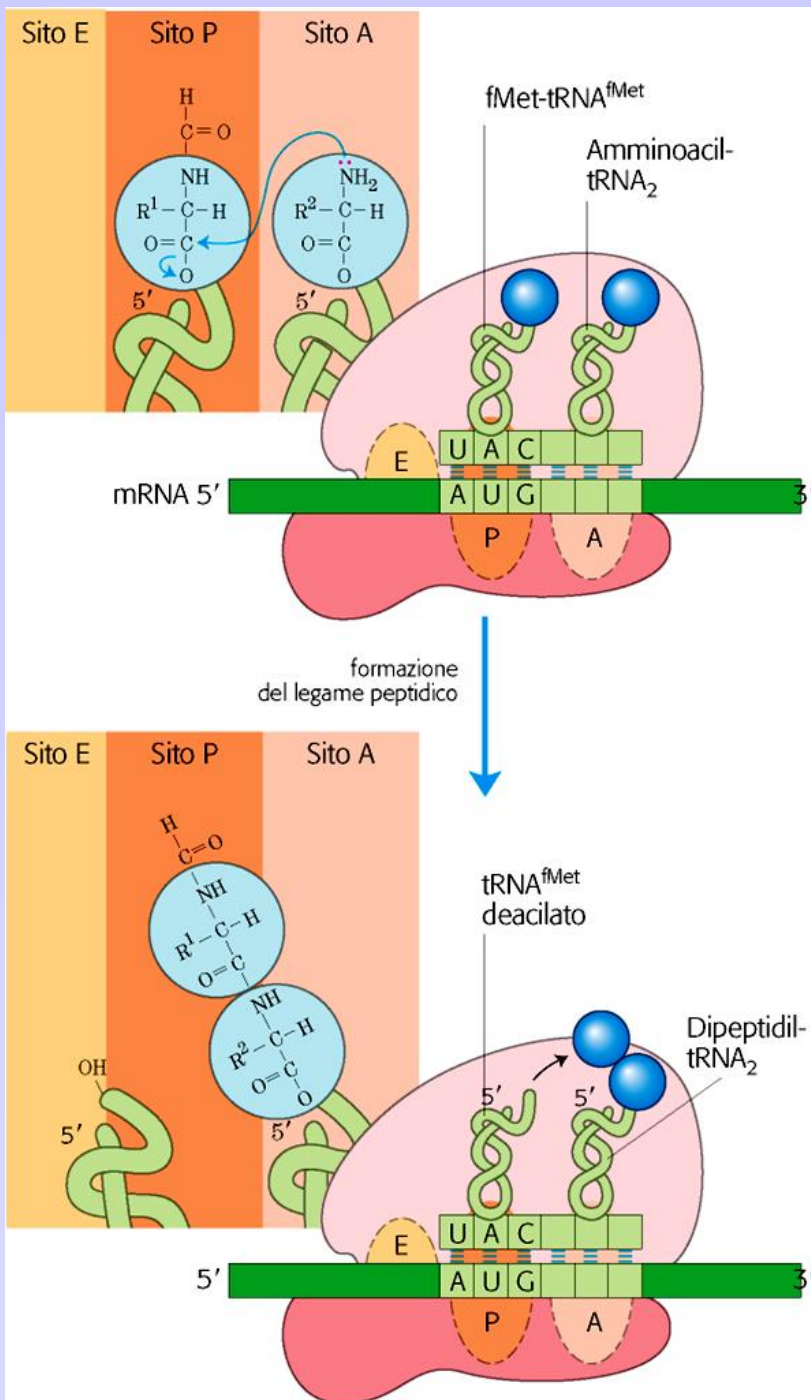
# Wobble o tentennamento



Grazie al tentennamento e alla presenza di basi modificate (inosina) uno stesso tRNA può riconoscere più codoni (solo ~30 tRNA per coprire i 61 codoni)

# Fase di allungamento nei procarioti





# Formazione del legame peptidico

## Reazione di transpeptidazione

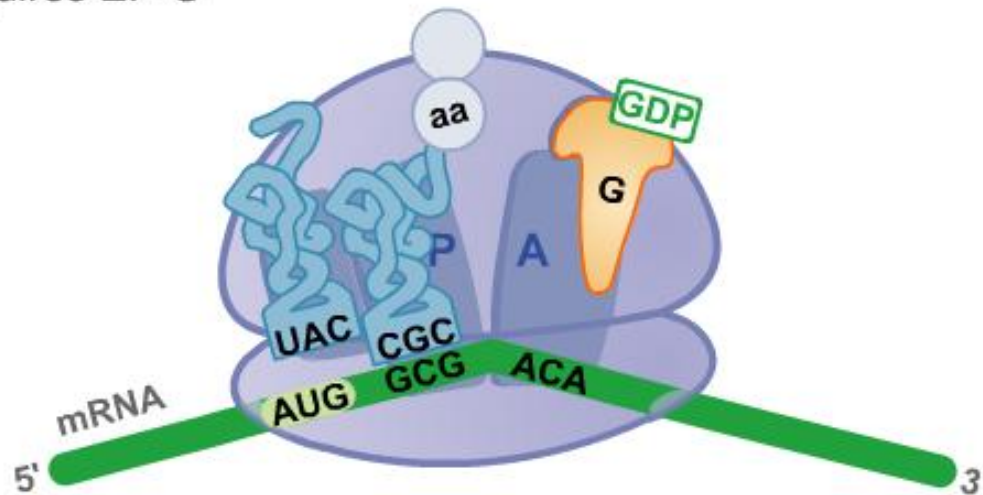
Il gruppo NH<sub>2</sub> dell'aminoacido legato al tRNA nel sito A attacca il gruppo C=O dell'ultimo aminoacido legato al tRNA del sito P

La catena polipeptidica viene trasferita dal tRNA del sito P a quello del sito A

# Traslocazione del ribosoma

## During translocation:

- ▶ Ribosome moves one codon down mRNA
- ▶ tRNA with growing protein chain moves into P site
- ▶ Spent tRNA moves into E site
- ▶ Translocation requires EF-G



Il ribosoma si sposta lungo l'mRNA

Il tRNA con la catena polipeptidica dal sito A passa al sito P mentre il tRNA scarico del sito P passa al sito E

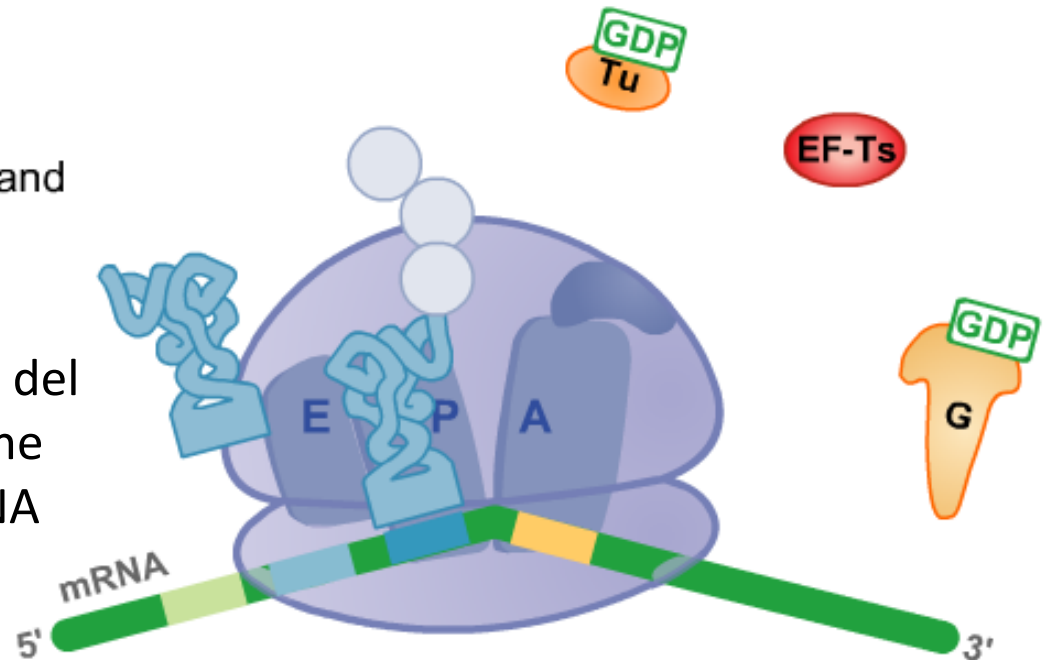
(se il sito E è occupato il tRNA in esso presente esce)

# Traslocazione del ribosoma

## Elongation requires:

- ▶ Placement of charged tRNA in the A site
- ▶ Peptide bond formation
- ▶ Translocation
- ▶ Elongation factors **EF-Tu**, **EF-G**, and **EF-Ts**

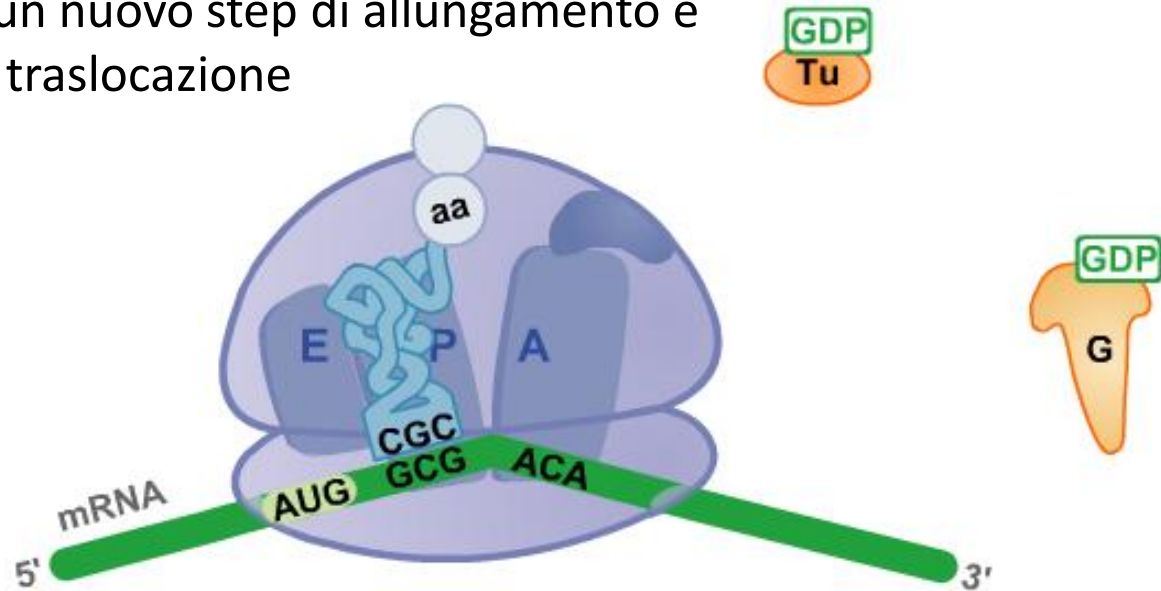
La traslocazione richiede l'idrolisi del GTP da parte del fattore EF-G che legandosi al sito A spinge il tRNA verso il sito P



# Riciclo dei fattori EF-Tu e EF-G

## EF-Tu and EF-G Recycling

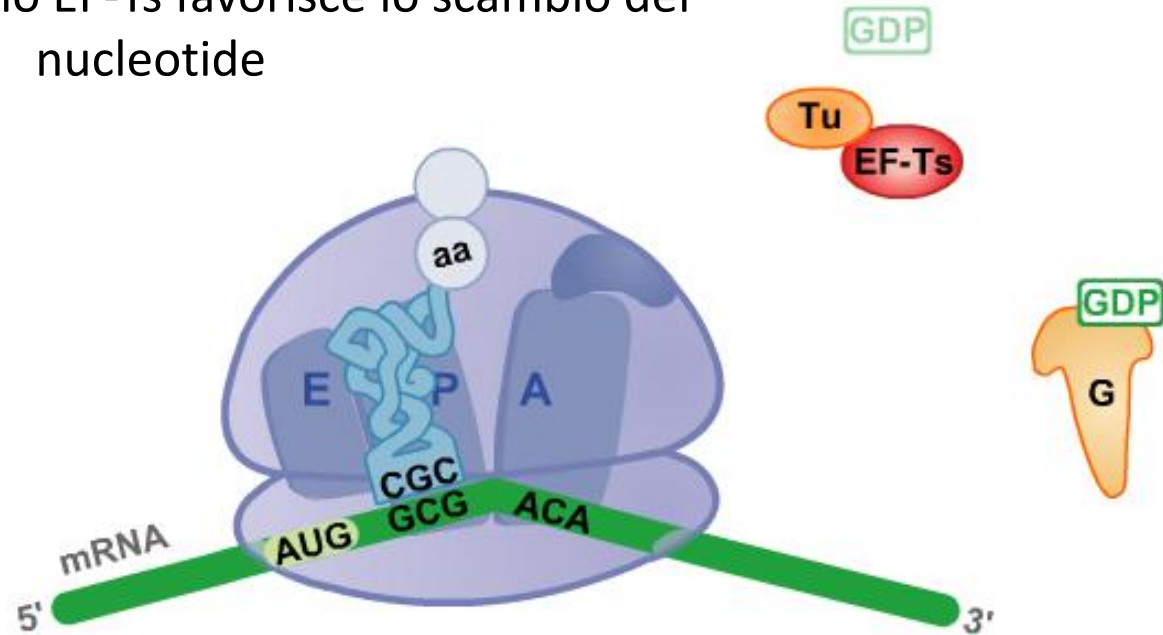
EF-Tu e EF-G dopo l'idrolisi del GTP devono scambiare il nucleotide per tornare nella forma GTP legante e operare un nuovo step di allungamento e traslocazione



# Riciclo dei fattori EF-Tu e EF-G

## EF-Tu and EF-G Recycling

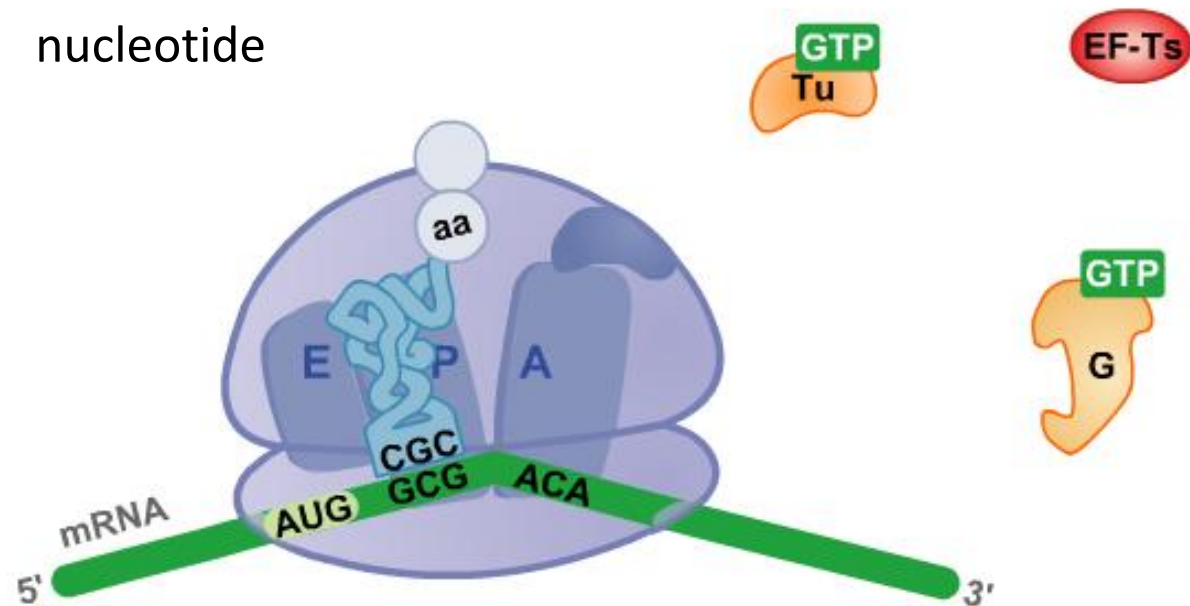
Il fattore di scambio EF-Ts favorisce lo scambio del nucleotide



# Riciclo dei fattori EF-Tu e EF-G

## EF-Tu and EF-G Recycling

Il fattore di scambio EF-Ts favorisce lo scambio del nucleotide

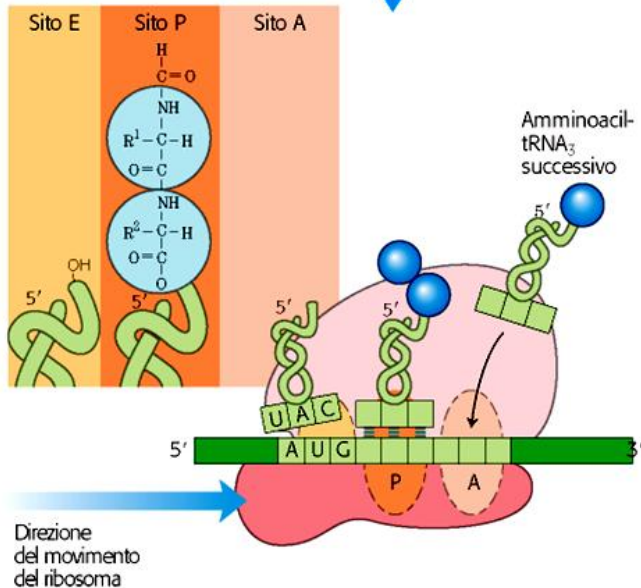
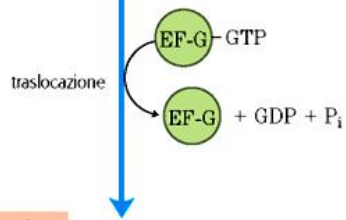
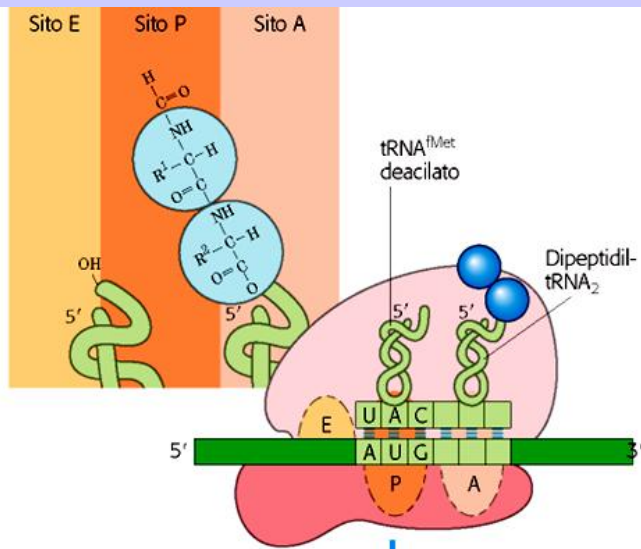




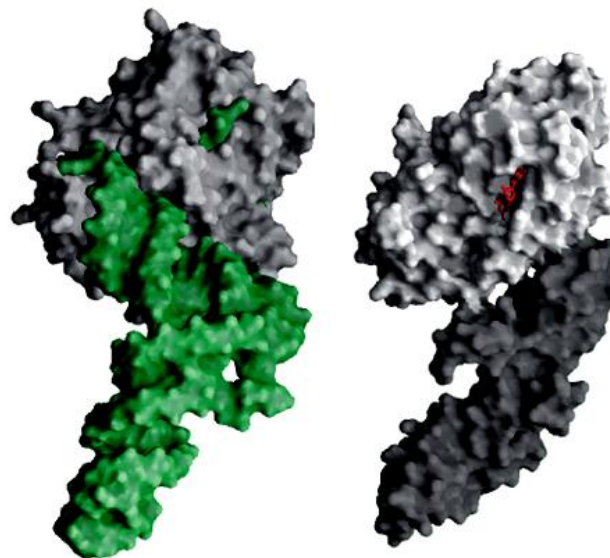
# Traslocazione

EF-G mima il tRNA premettendo lo spostamento del peptidil-tRNA dal sito A al sito P

struttura di EF-Tu unito al tRNA e EF-G unito al GDP

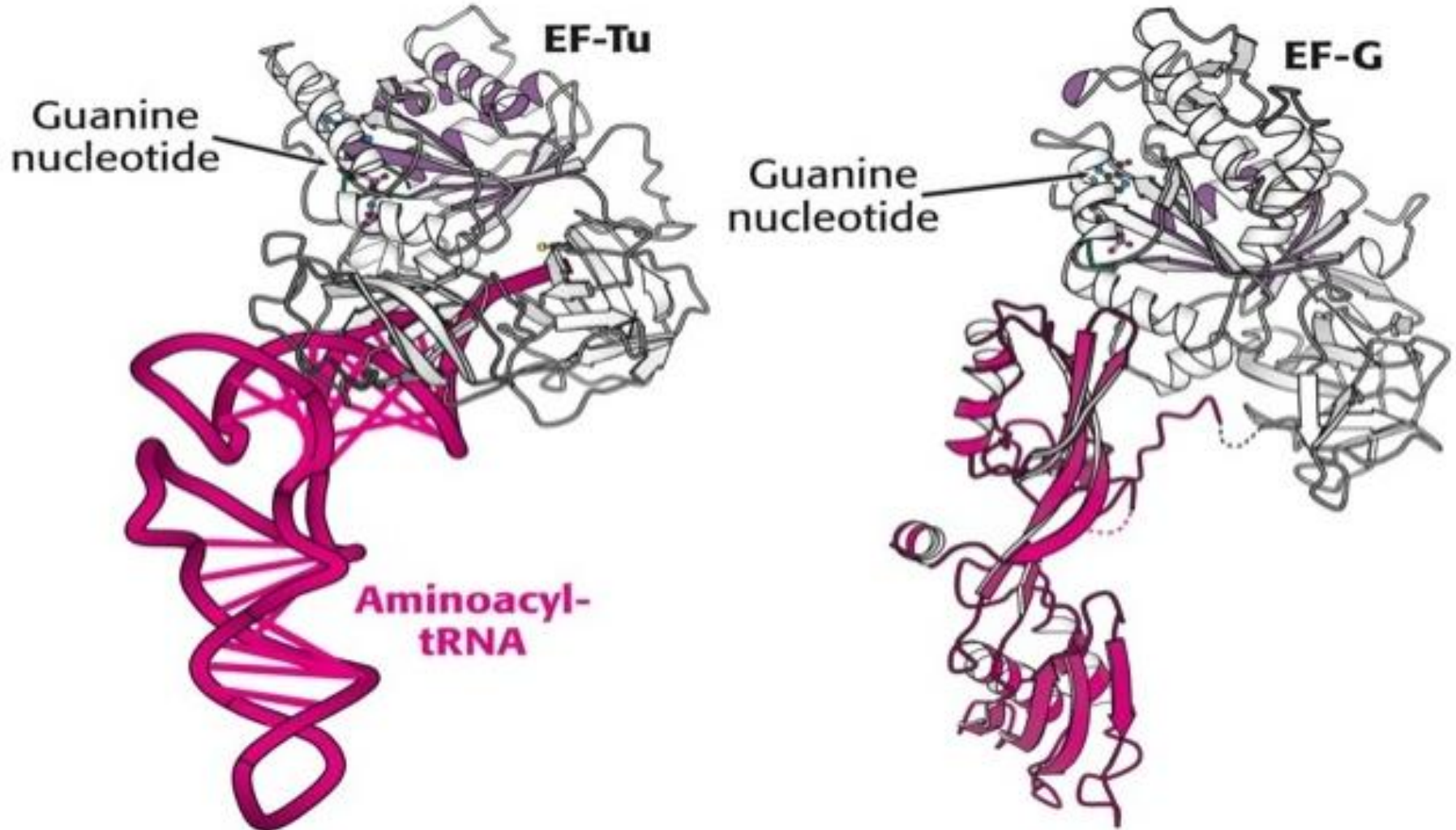


(a)



(b)

## Mimetismo tra i fattori EF-TU EF-G

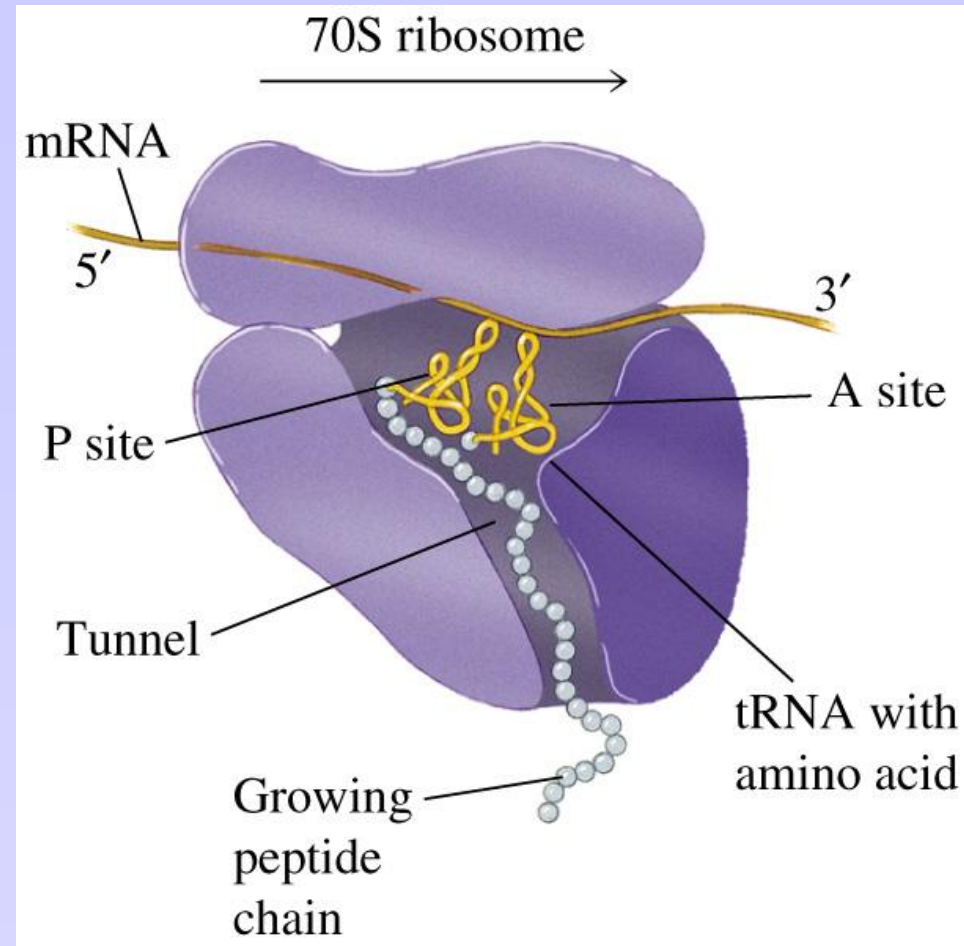


EF-Tu copre l'aminoacido per impedire la traspeptidazione finché il giusto tRNA non è correttamente appaiato al codone.

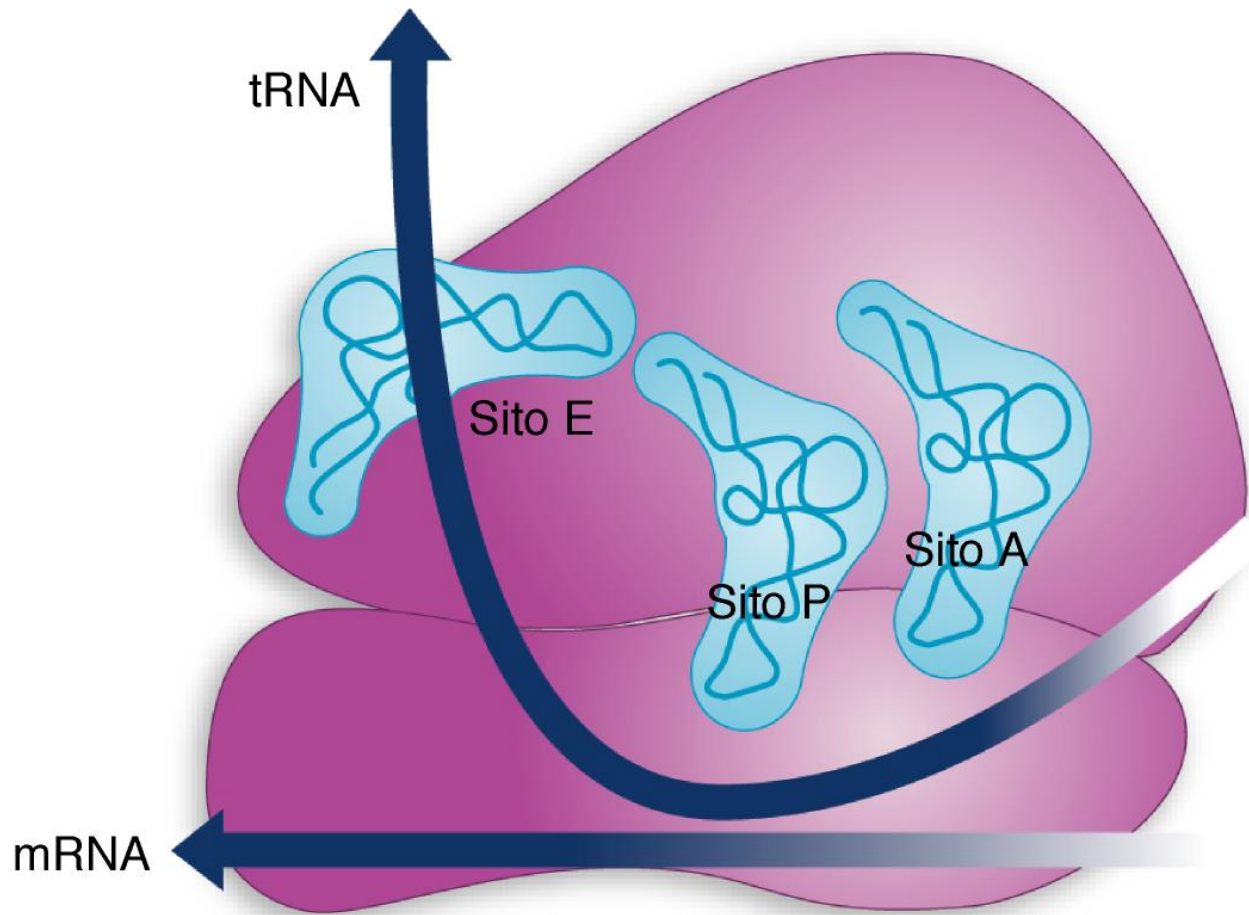
EF-G mima il tRNA premettendo lo spostamento del peptidil-tRNA dal sito A al sito P

# Fase di allungamento

- La catena peptidica in crescita si estende all'interno di un "tunnel" nella subunità 50S
- Il ripiegamento della catena polipeptidica inizia solo dopo che è fuoriuscita dal "tunnel"
- Il processo di folding è facilitato da attività chaperone associate al ribosoma
- Per assicurare l'entrata corretta del tRNA nel sito A, l'rRNA 16S è coinvolto nel determinare il giusto orientamento nelle prime due posizioni dell'appaiamento codone/anticodone



## Il tRNA e l'mRNA si spostano attraverso il ribosoma



Durante la traslocazione il tRNA scarico viene spostato nel sito E e poi fuoriesce dal ribosoma

# Processo di allungamento negli eucarioti

- Simile a quello dei procarioti
- Fattori di allungamento analoghi
- EF-1a = EF-Tu → posiziona il tRNA nel sito A
- EF-1b = EF-Ts → riciclo del fattore EF-Tu
- EF-2 = EF-G → coinvolto nel processo di traslocazione

TRADUZIONE

FASE DI TERMINE

PROCARIOTI/EUCARIOTI

# 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

# Termine della sintesi proteica

- La presenza di fattori di rilascio che si legano al sito A in presenza di un codone di stop trasforma l'attività peptidil-trasferasica del ribosoma in attività idrolasica che taglia la catena polipeptidica dal tRNA
- L'idrolisi del GTP è richiesta per la dissociazione dei fattori di rilasci (RFs), del ribosoma e della catena polipeptidica

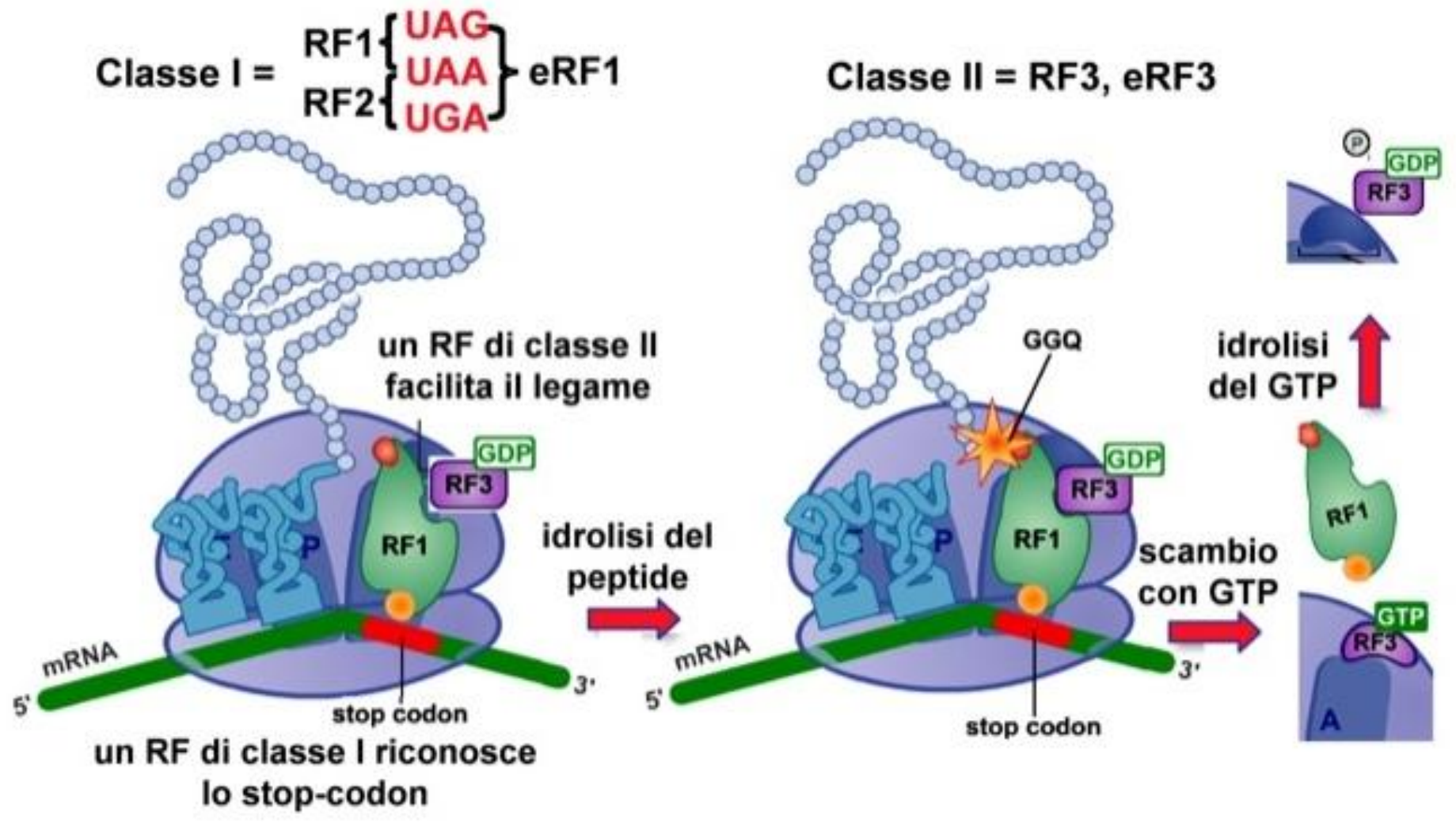


## Fattori di terminazione

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

RF:release factor

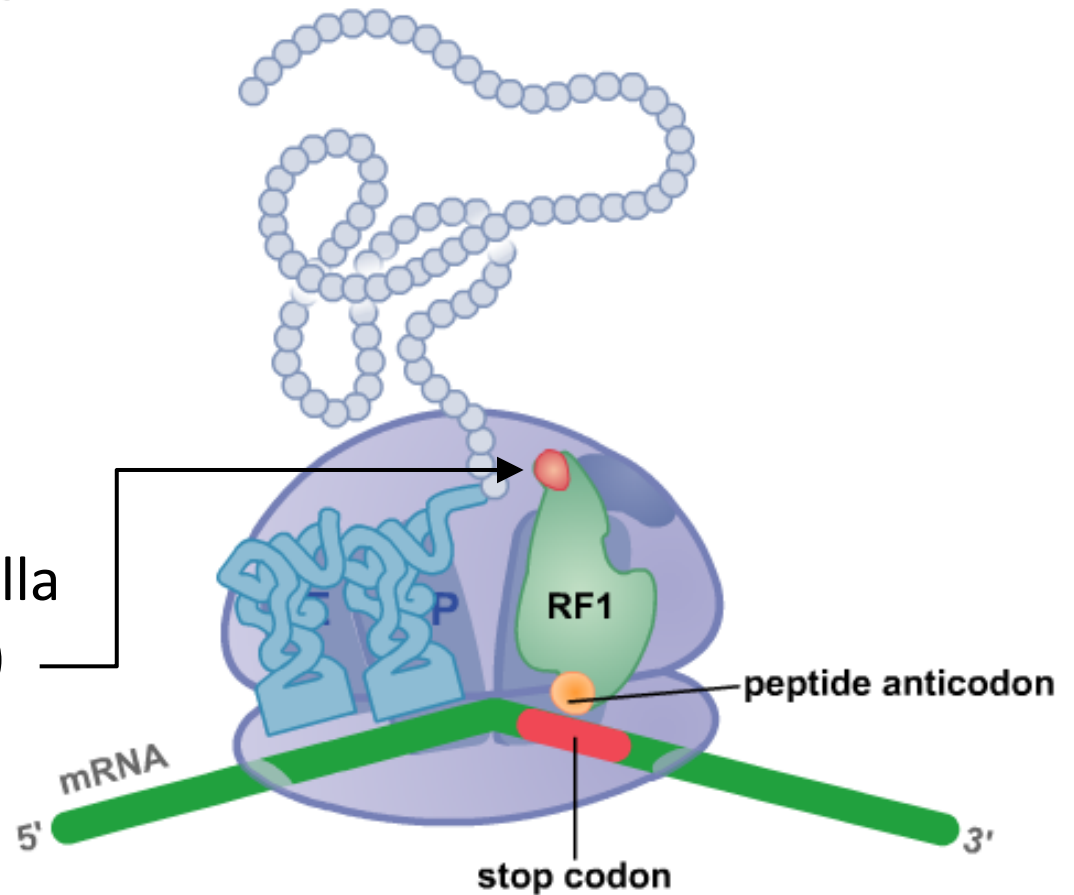
RRF:ribosome recycling factor



Terminazione della traduzione  
 fattori di classe 1 anticodone peptidico e motivo GGQ (gly gly gln)

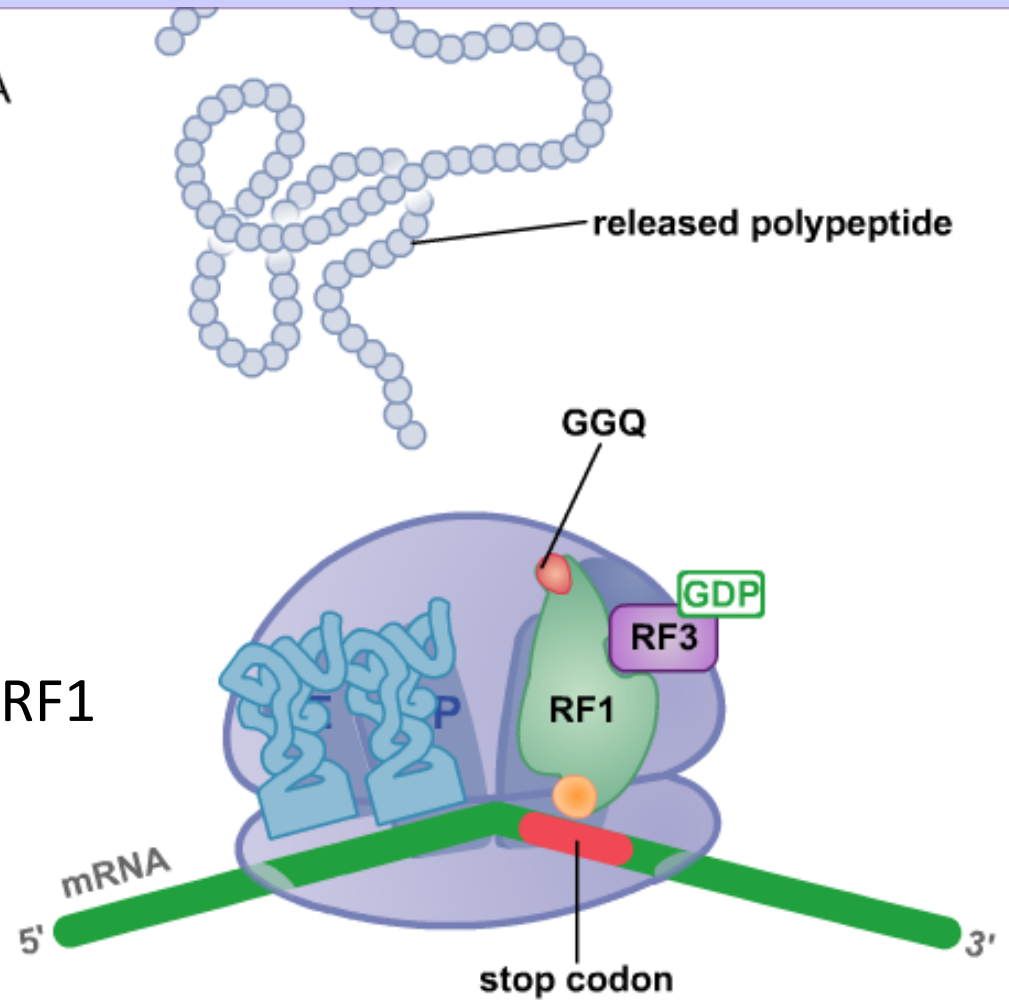
- ▶ Class I release factors bind to A site and facilitate release of completed protein

RF1 promuove il rilascio della catena polipeptidica (GGQ)



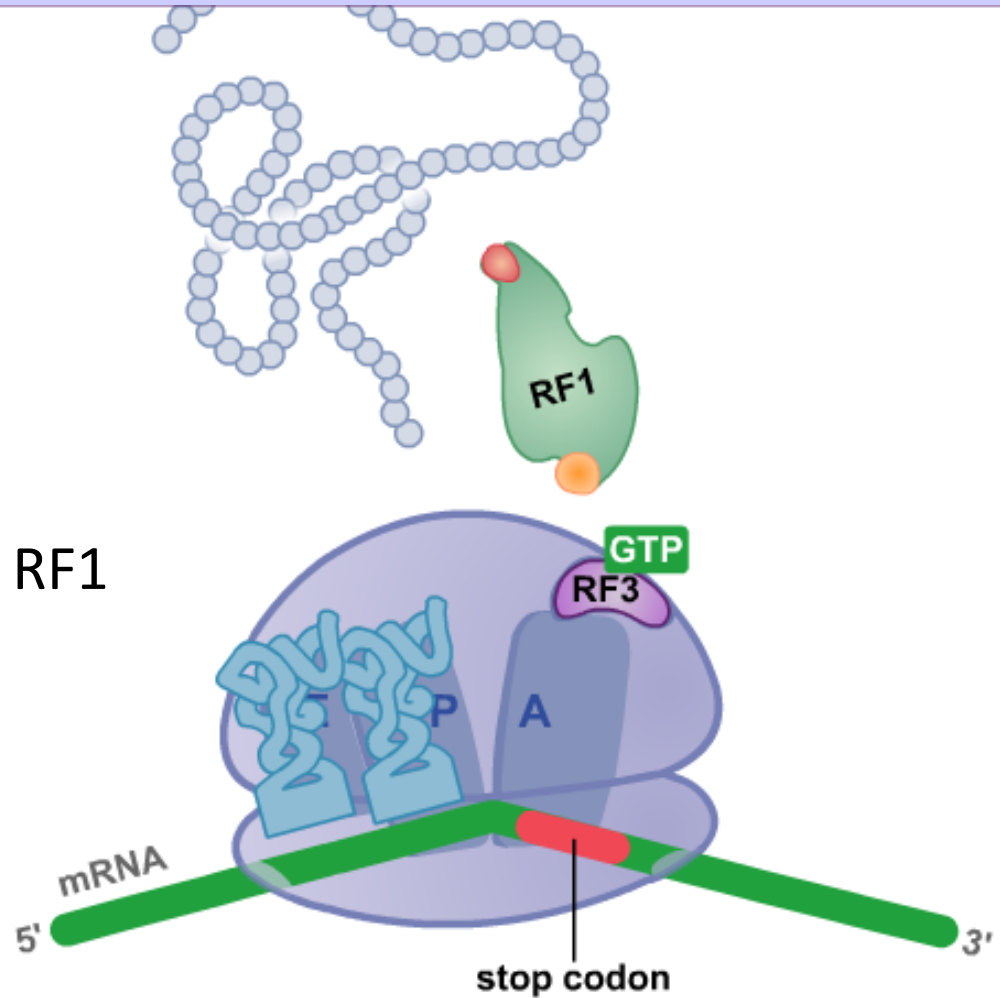
- ▶ Class I release factors bind to A site and facilitate release of completed protein
- ▶ Class II release factors recycle Class I release factors

RF3 promuove il rilascio di RF1

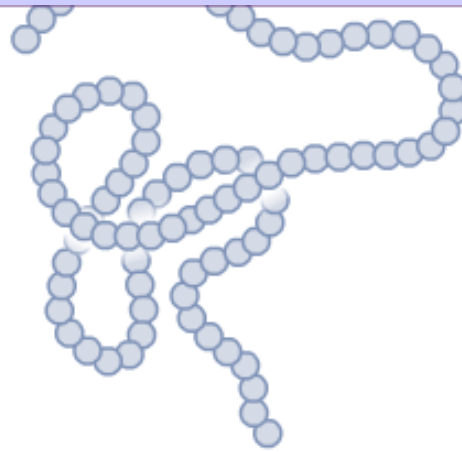


- Release factors are recycled to participate in another round of translation termination

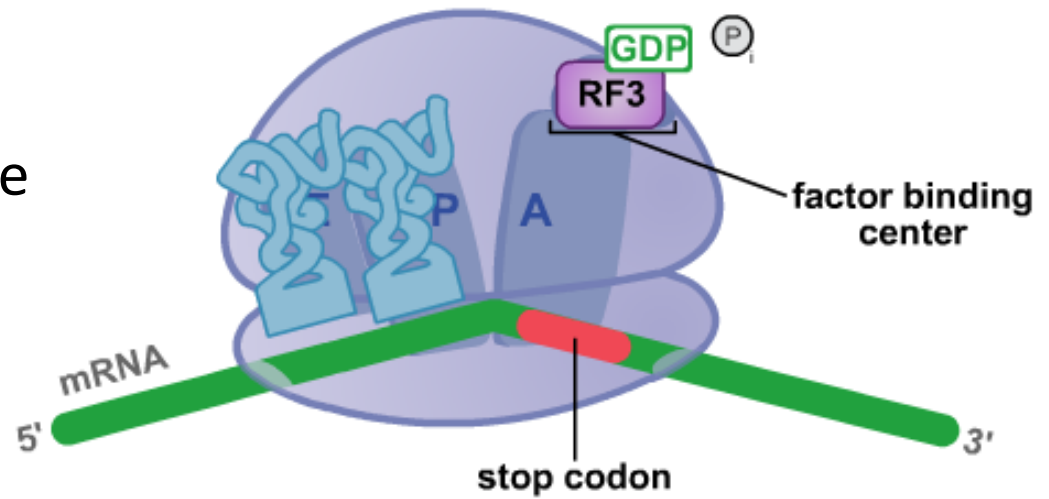
RF3 promuove il rilascio di RF1  
Cambio conformazionale  
attraverso lo scambio del  
nucleotide guanilico



- Release factors are recycled to participate in another round of translation termination



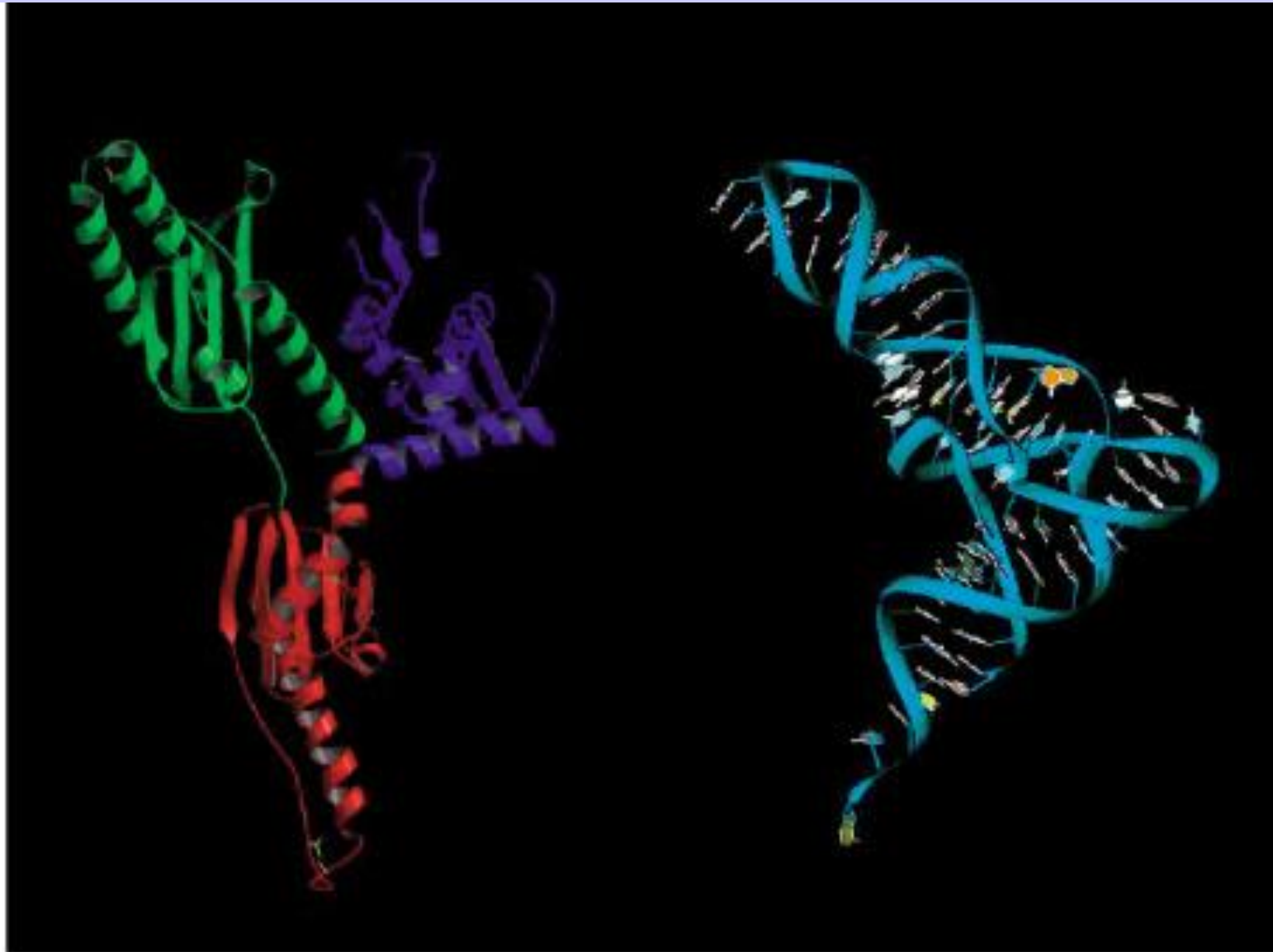
RF3 dissocia dal ribosoma con l'idrolisi del nucleotide guanilico



# RF1 imita il tRNA (molecular mimic)

eRF1

tRNA

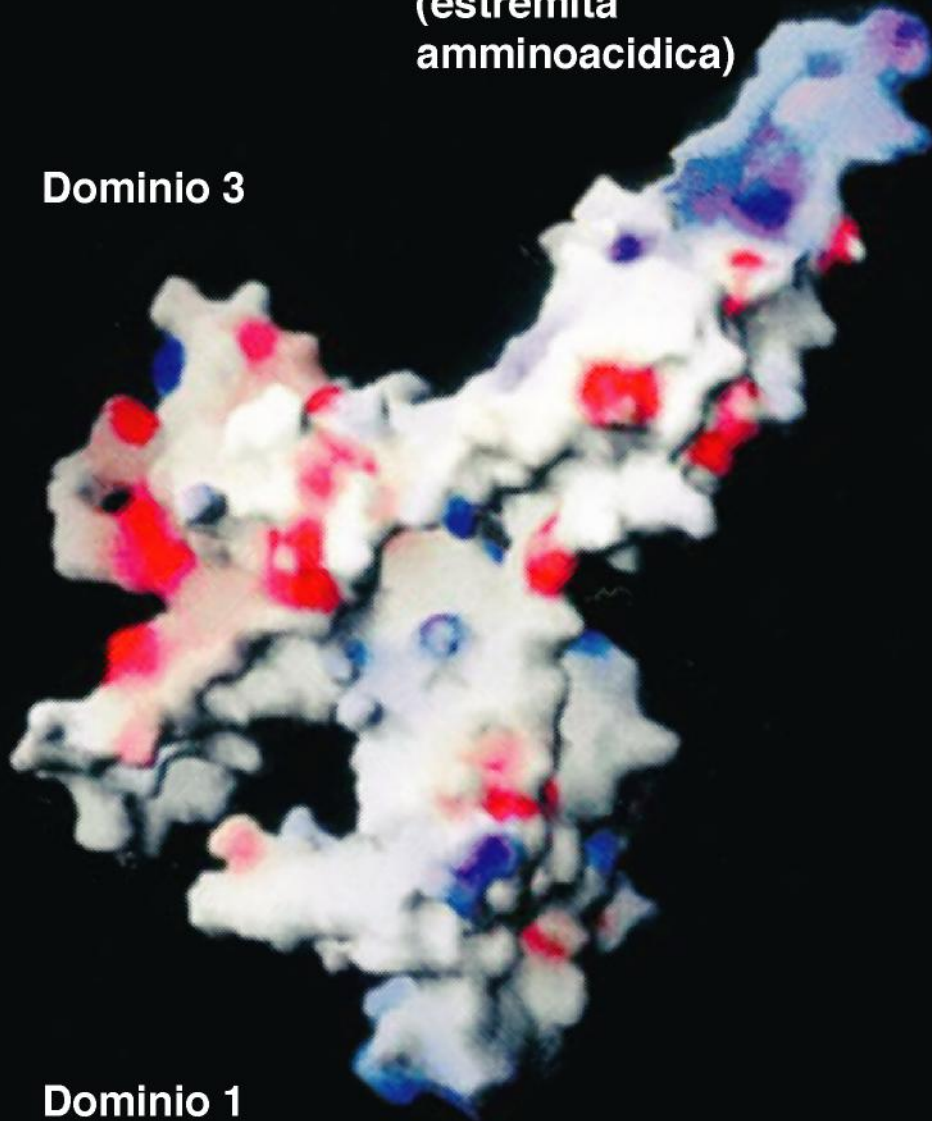


## eRF1 imita il tRNA

Dominio 2  
(estremità  
amminoacidica)

GGQ

Dominio 3



Dominio 1  
(estremità dell'anticodone)

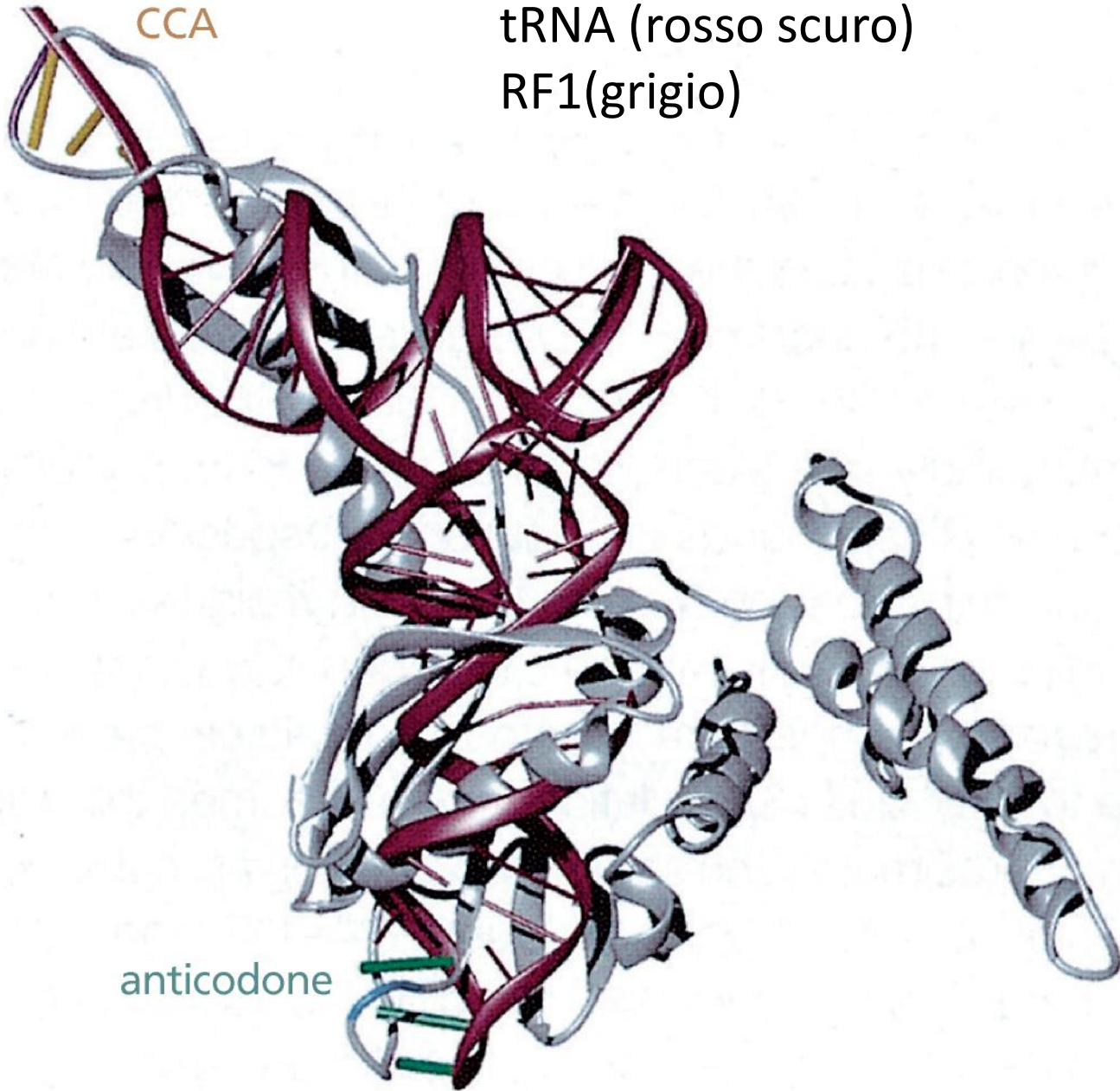
La sequenza GGQ  
posiziona la molecola  
d'acqua per l'idrolisi del  
peptide



CCA

tRNA (rosso scuro)  
RF1 (grigio)

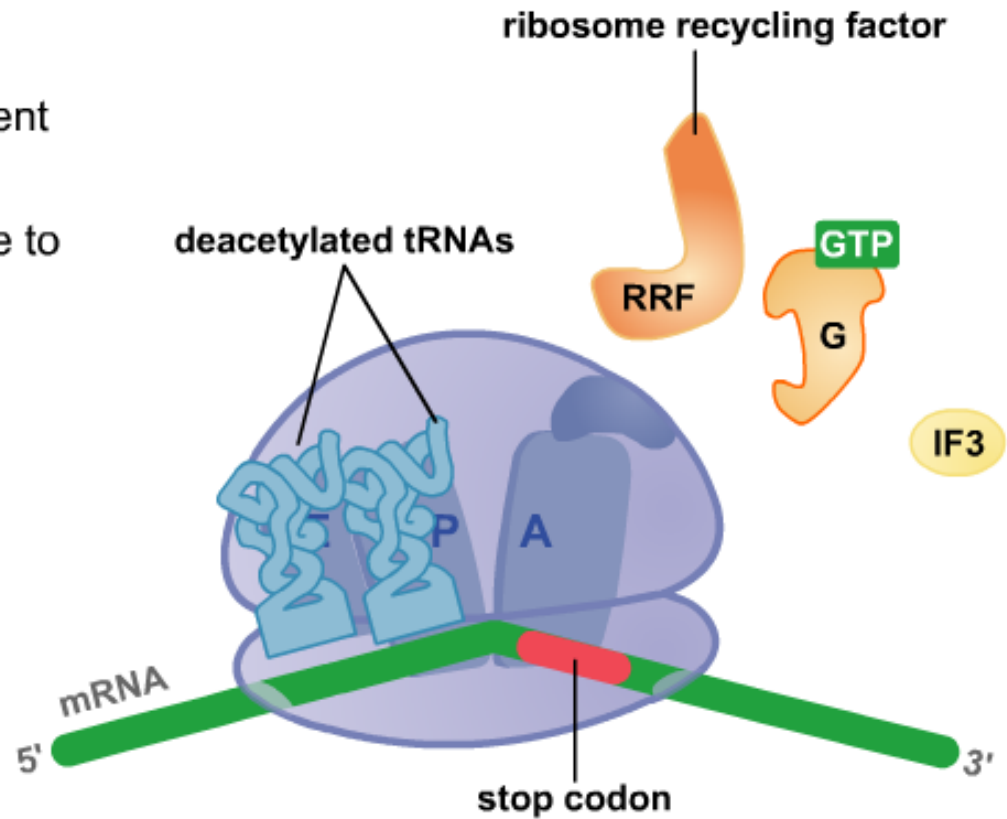
anticodone



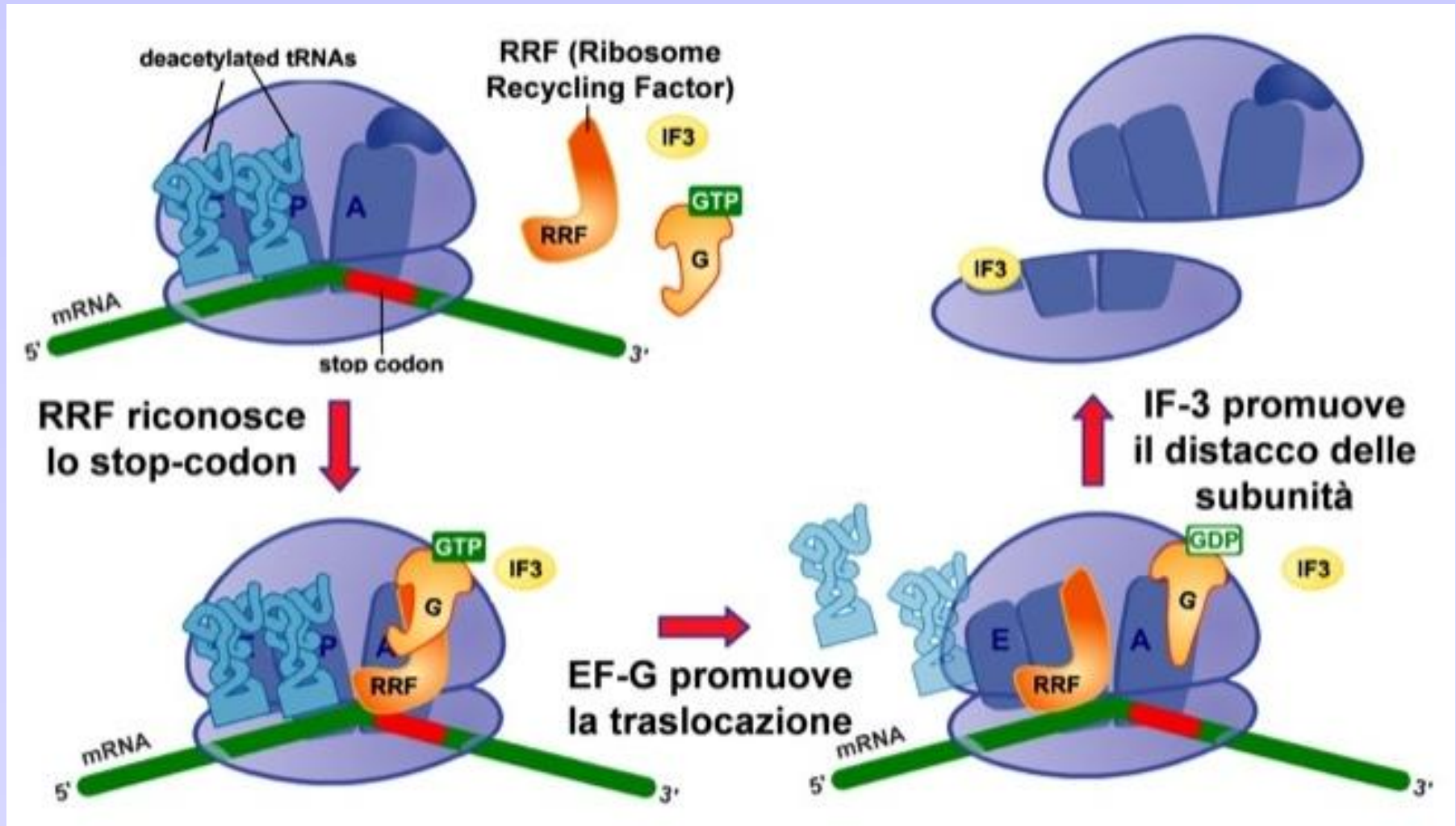
# Riciclo del ribosoma

- ▶ Ribosome recycling is a critical last step in translation
- ▶ Without recycling:
  - ▶ Cell would be littered with spent and useless ribosomes
  - ▶ Protein synthesis would come to a halt

La dissociazione del ribosoma richiede il fattore RRF



# Il riciclaggio del ribosoma

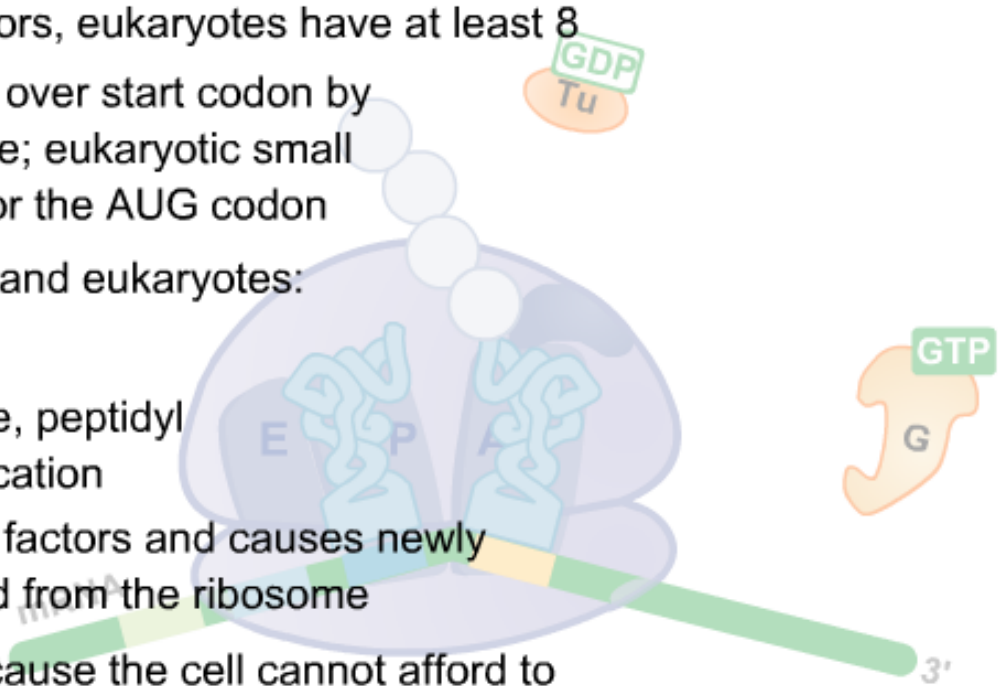


RRF si lega al sito A come un normale tRNA e il fattore EF-G favorisce la traslocazione del ribosoma spostando RRF sul sito P. Il tRNA sul sito P viene espulso e il fattore IF3 può legarsi al ribosoma vuoto. Questo porta alla dissociazione delle due subunità.

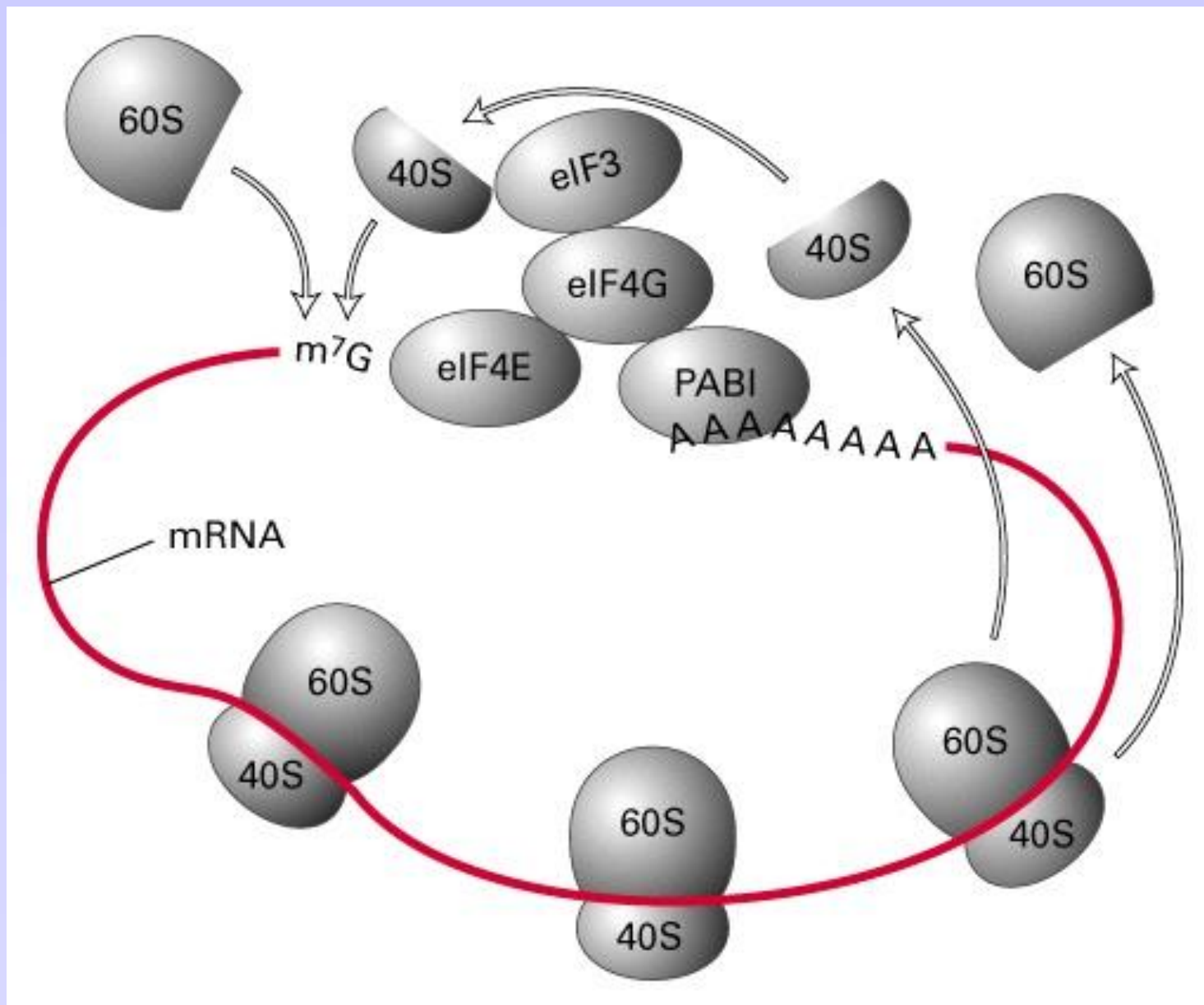
# La traduzione

**Translation: a complex process whereby a ribosome produces the protein coded for by the mRNA:**

- ▶ Initiation is markedly different in prokaryotes and eukaryotes:
  - ▶ Prokaryotes have 3 initiation factors, eukaryotes have at least 8
  - ▶ Prokaryotic ribosome assembles over start codon by binding Shine-Dalgarno sequence; eukaryotic small subunit binds 5' cap and scans for the AUG codon
- ▶ Elongation is similar in prokaryotes and eukaryotes:
  - ▶ Requires ~3 elongation factors
  - ▶ Consists of placing tRNA in A site, peptidyl transferase reaction, and translocation
- ▶ Termination is mediated by release factors and causes newly synthesized protein to be uncoupled from the ribosome
- ▶ Ribosome recycling is essential because the cell cannot afford to make new ribosomes after only using each one once



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



# L'mRNA è tradotto da poliribosomi

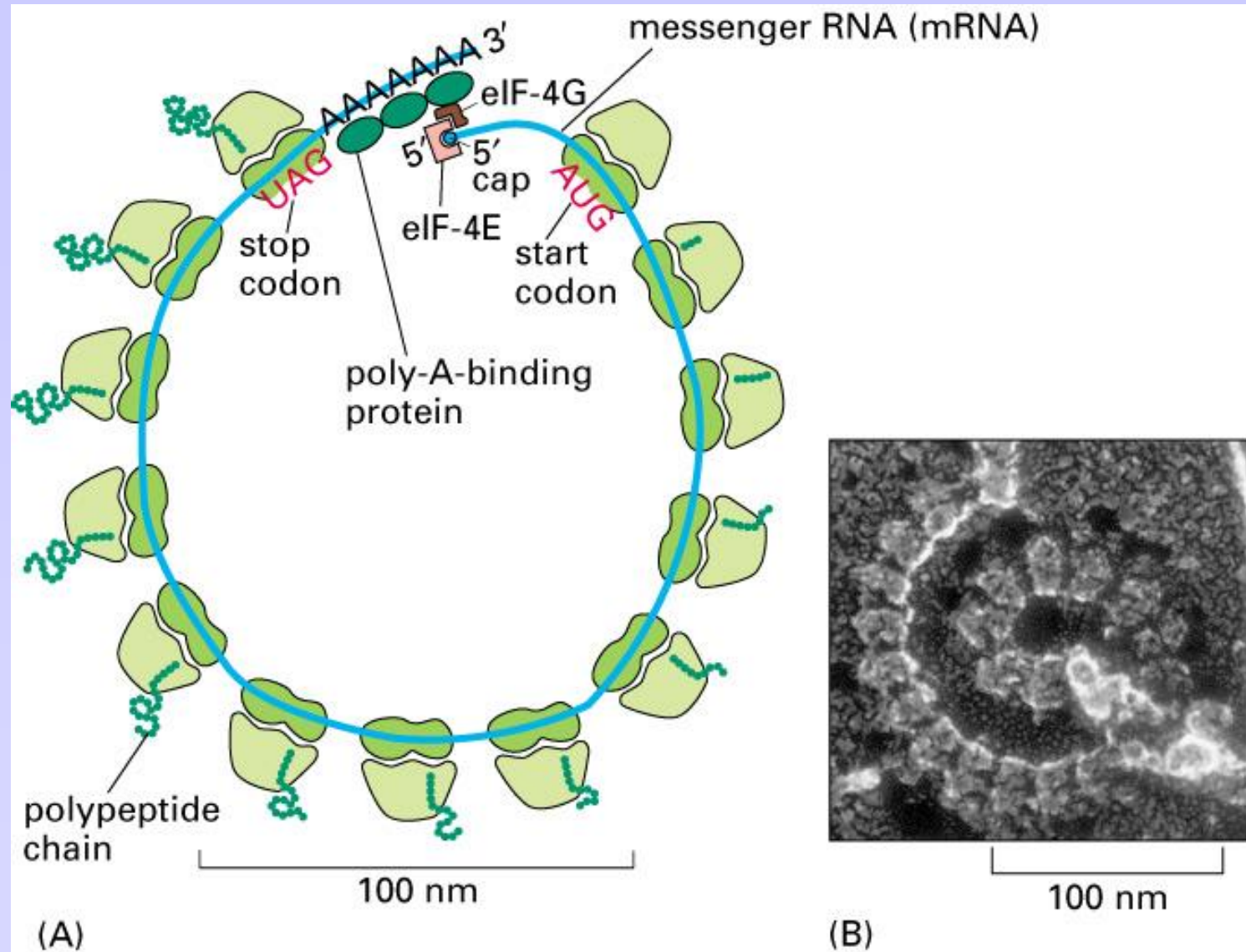


Figure 6-75. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

# Il costo energetico della sintesi proteica

- Per ogni aminoacido aggiunto alla catena polipeptidica vengono consumate 3 molecole di GTP (GTP→GDP) più una di ATP (ATP→AMP nella attivazione dell'aminoacido)
- L'energia richiesta è molto maggiore rispetto a quella del legame peptidico formato
- La maggior parte dell'energia consumata serve a compensare la perdita di entropia del sistema (sintesi di una specifica sequenza aminoacidica)



# Il controllo della traduzione negli eucarioti

Controllo attraverso la presenza di strutture secondarie nell'mRNA

Regolazione metabolica del ferro

Controllo attraverso fattori di inizio della traduzione

eIF-2 (suo riciclo)

Vari stress cellulari

eIF-4E (disponibilità e affinità per il 5' cap)

Stimolazione mitogenica