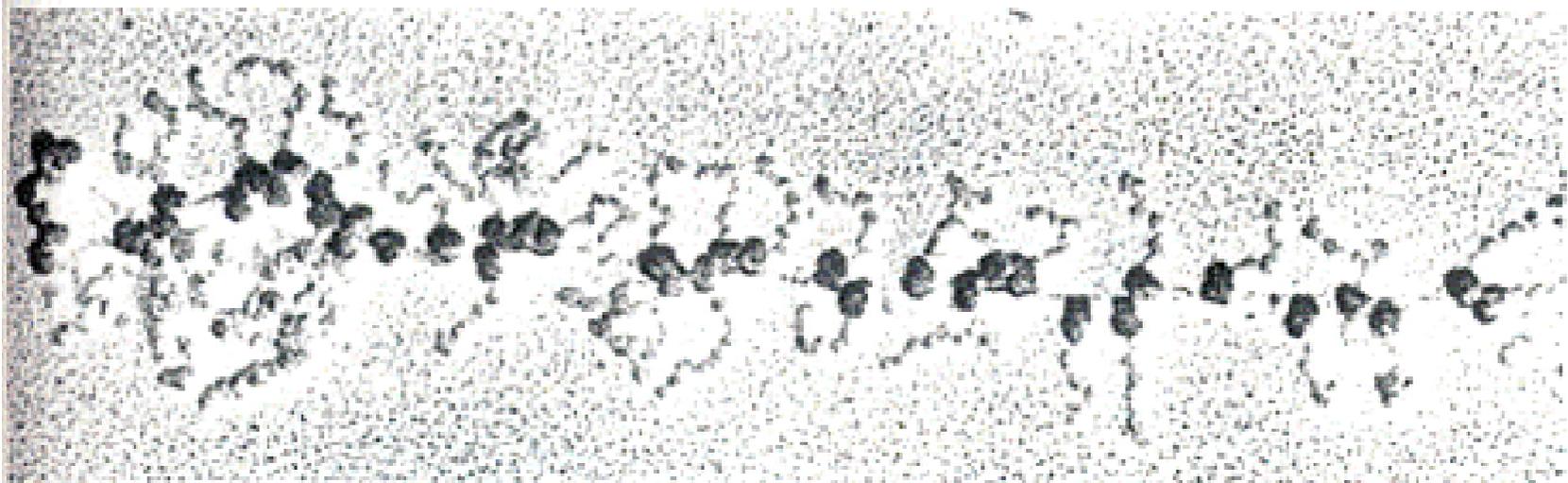


I poliribosomi (polisomi)

mRNA tradotti
contemporaneamente da più
ribosomi



5 ribosomes
reading same RNA
sequentially

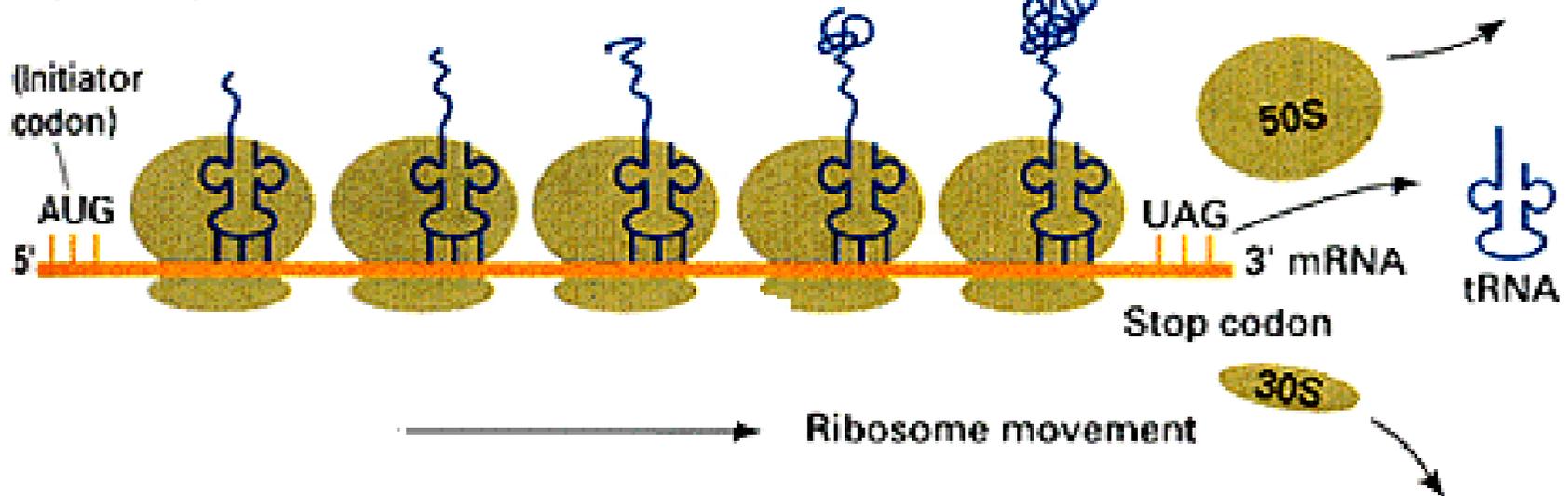
Growing
polypeptide
chains

Complete
polypeptide

(Initiator
codon)

AUG

5'



Stop codon

30S

Ribosome movement

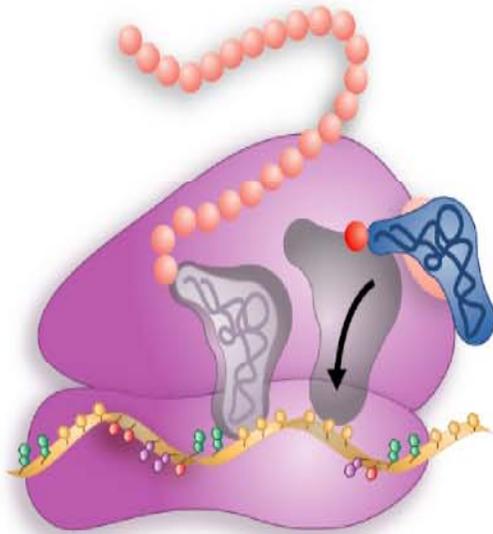
50S

3' mRNA

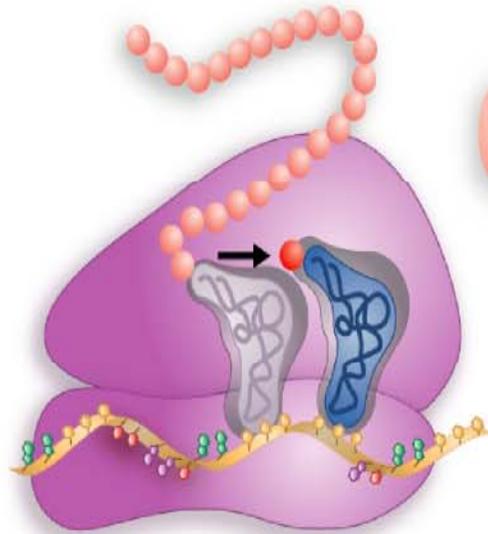
tRNA

La sintesi del legame peptidico comporta il trasferimento del polipeptide all'amminoacil-tRNA

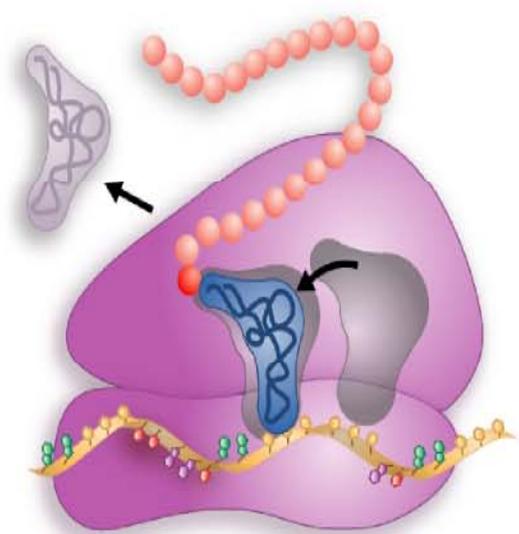
L'amminoacil-tRNA
entra nel sito A



La catena polipeptidica viene
trasferita sull'amminoacil-tRNA



La traslocazione sposta
il peptidil-tRNA nel sito P

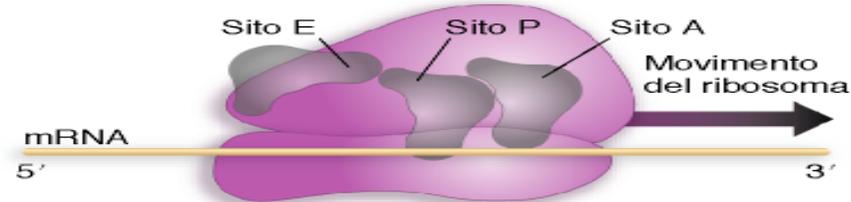


HHMI

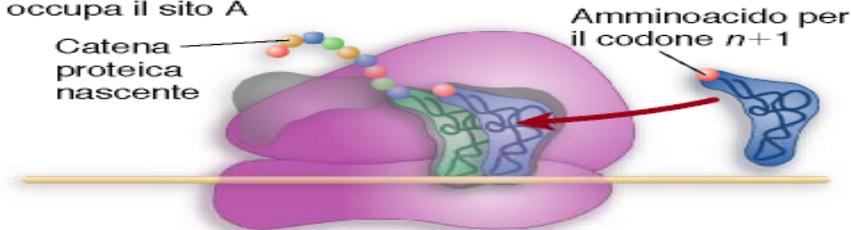
**La traduzione
(sintesi proteica)**

tRNA amminoacilati occupano i siti P e A

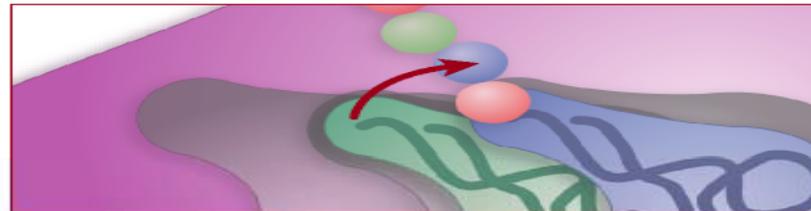
Il codone " n " (sito P) è legato al peptidil-tRNA
Il codone " $n + 1$ " (sito A) è legato all'amminoacil-tRNA



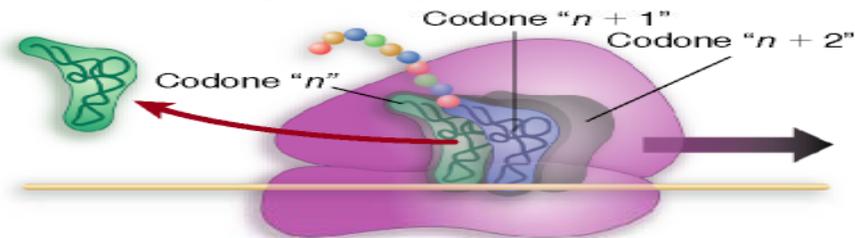
1. Prima della formazione del legame peptidico il peptidil-tRNA occupa il sito P, l'amminoacil-tRNA occupa il sito A



2. La formazione del legame peptidico comporta il trasferimento del polipeptide dal peptidil-tRNA nel sito P all'amminoacil-tRNA nel sito A

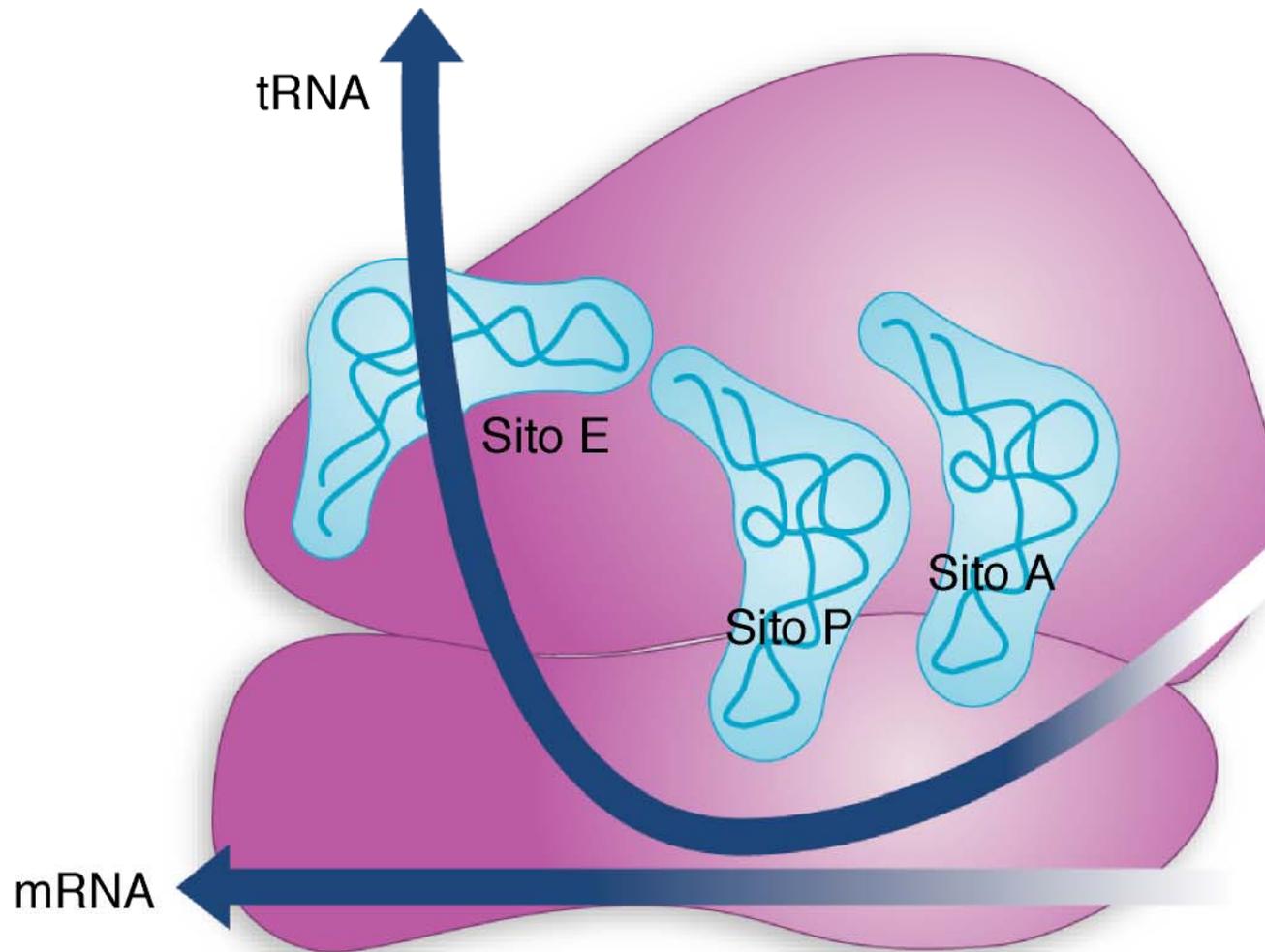


3. La traslocazione sposta il ribosoma di un codone, il peptidil-tRNA si sposta nel sito E, il tRNA deacilato esce attraverso il sito E, il sito A è vuoto e pronto a ricevere l'amminoacil-tRNA successivo

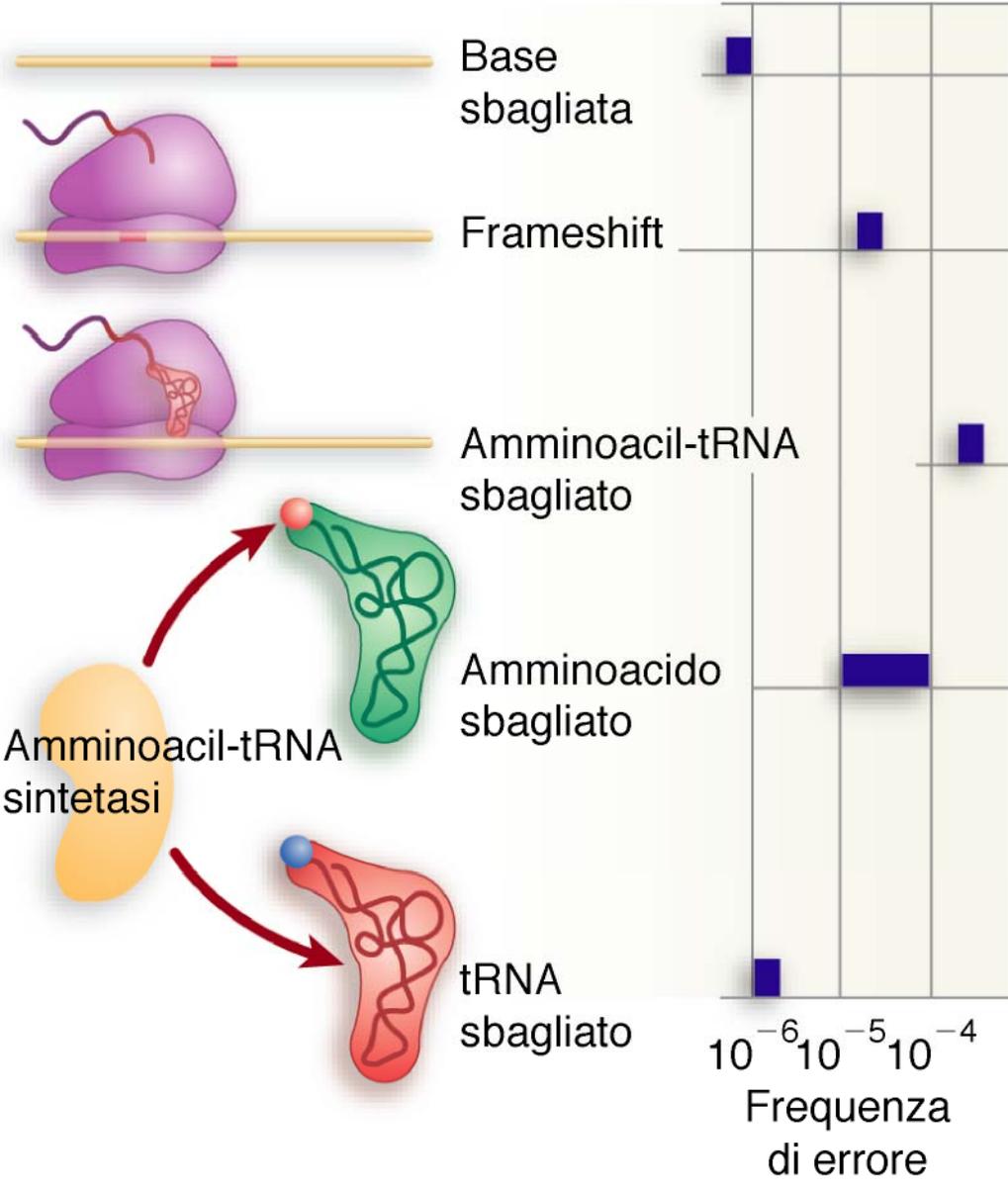


I passaggi dall'uno al tre vengono ripetuti fino a che non viene raggiunto un codone di stop

Il tRNA e l'mRNA si spostano attraverso il ribosoma



La frequenza di errore varia nei diversi stadi dell'espressione genica

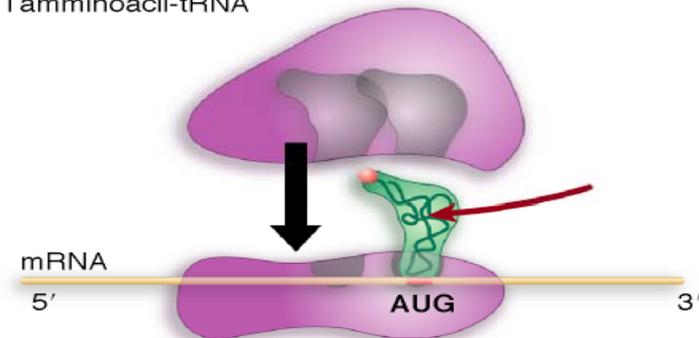


I tre stadi della traduzione:

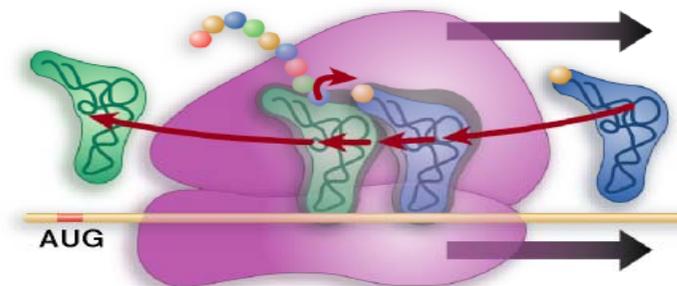
- inizio
- allungamento
- terminazione

La sintesi proteica avviene in 3 fasi

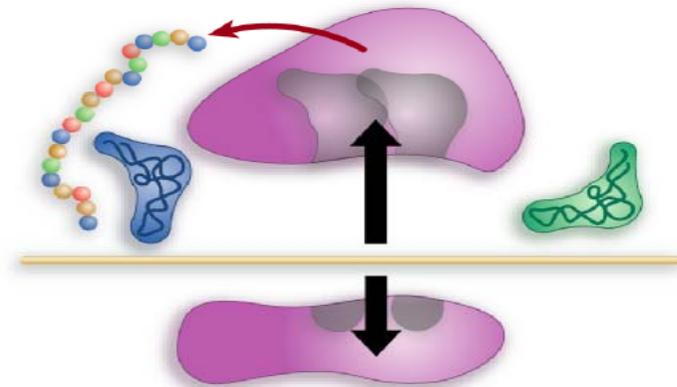
Inizio La subunità 30S unita al sito di legame nell'mRNA è raggiunta da una subunità 50S; si lega l'amminoacil-tRNA



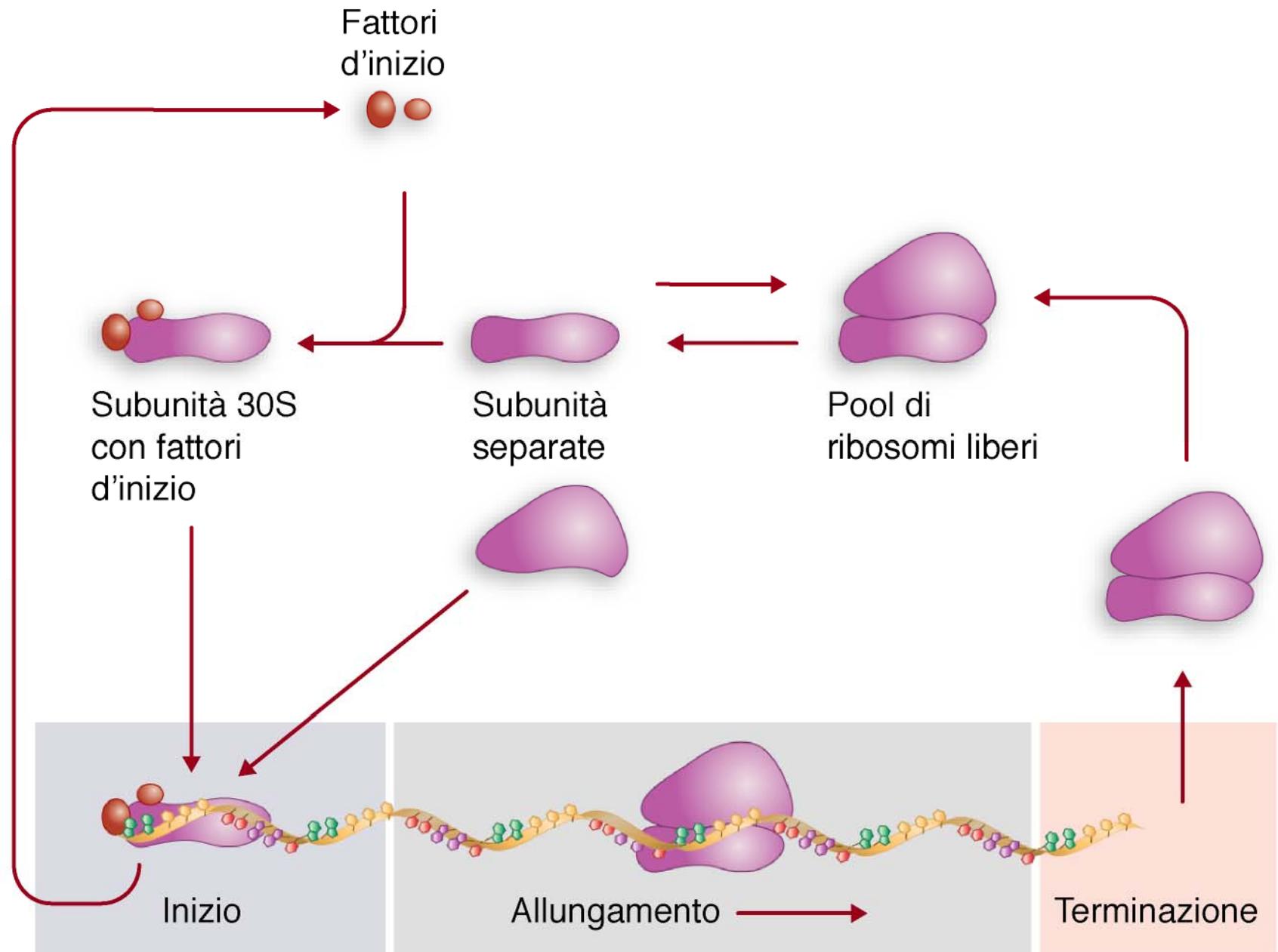
Allungamento Il ribosoma si sposta lungo l'mRNA; la catena proteica si allunga di un residuo in seguito al trasferimento dal peptidil-tRNA all'amminoacil-tRNA



Terminazione La catena polipeptidica viene rilasciata dal tRNA e il ribosoma si dissocia dall'mRNA



Il ciclo delle subunità ribosomali



Inizio della traduzione nei procarioti

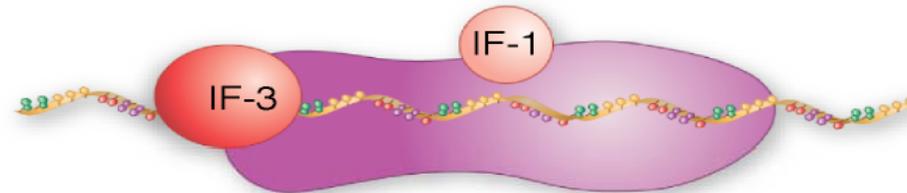
Fattori di inizio in E.coli:

- IF1
- IF2
- IF3

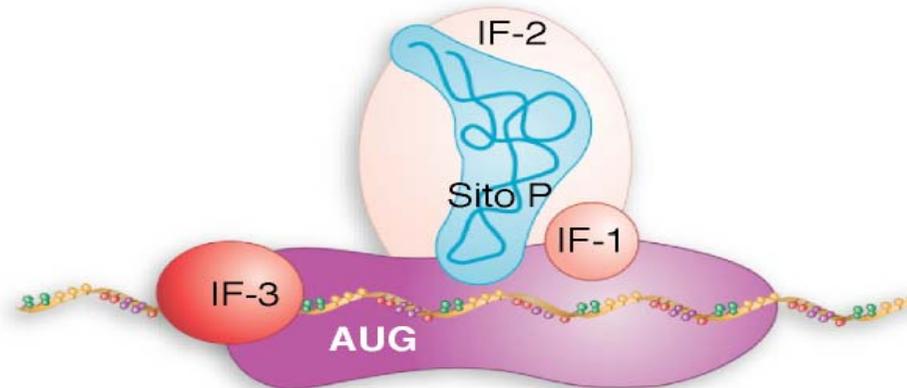
(IF = Initiation Factor)

L'inizio richiede fattori speciali e subunità libere

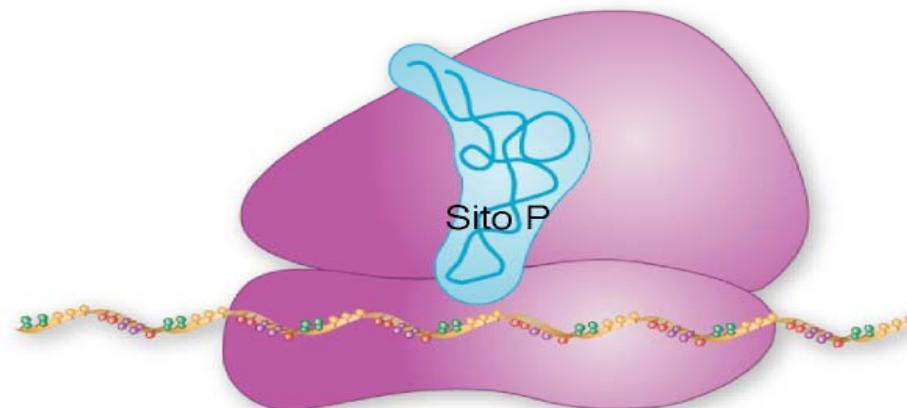
1. La subunità 30S si lega all'mRNA



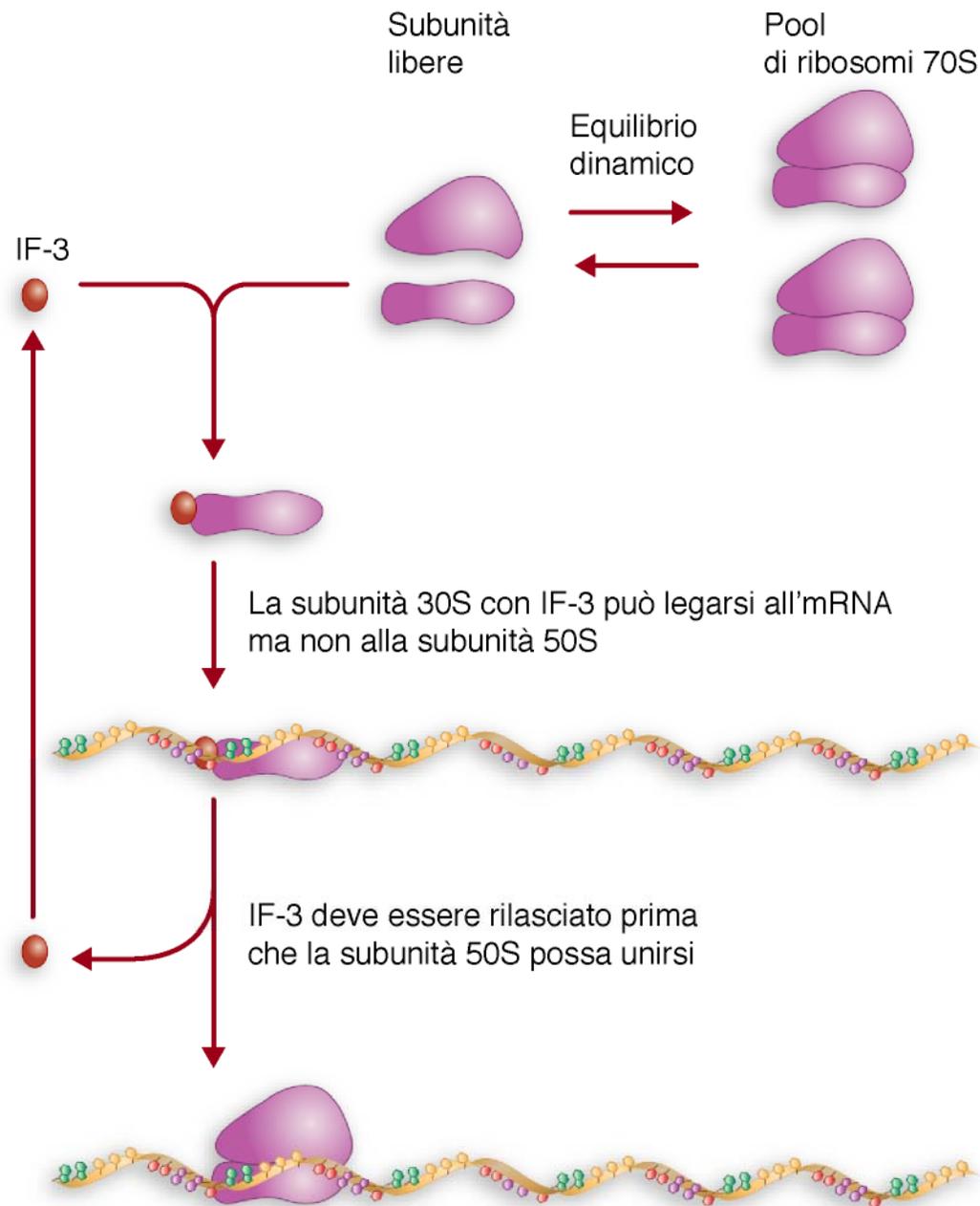
2. IF-2 porta il tRNA al sito P



3. I fattori sono rilasciati e si unisce la subunità 50S

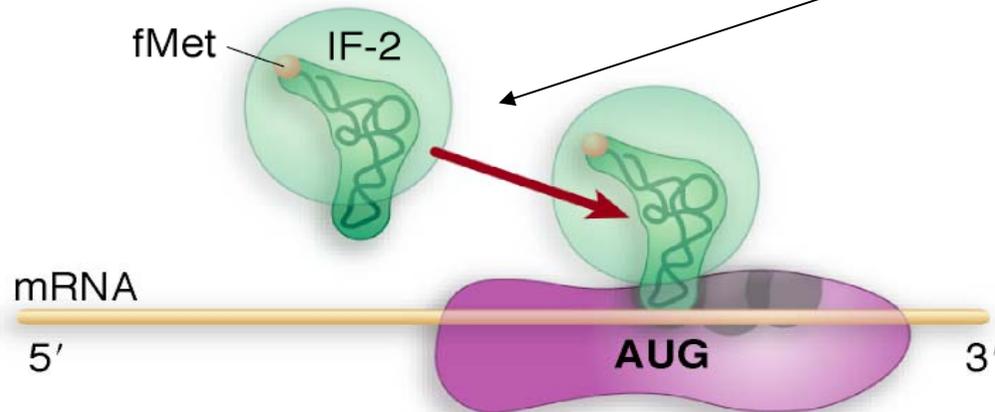


IF-3 controlla l'equilibrio subunità-ribosomi

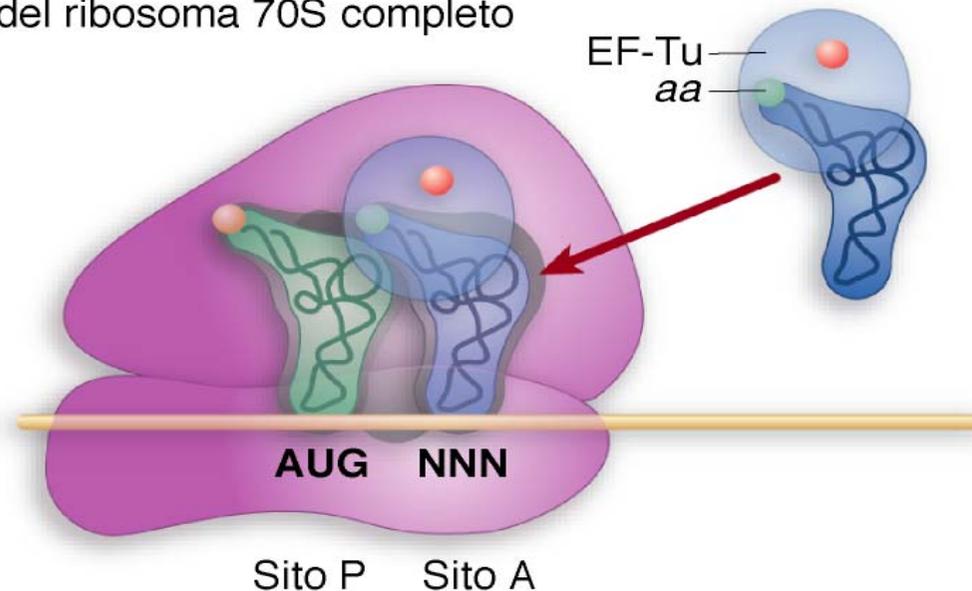


**La subunità 30S è responsabile dell'inizio,
il ribosoma dell'allungamento**

Soltanto l'*fMet-tRNA_f* entra nel sito P parziale
sulla subunità 30S legata all'mRNA

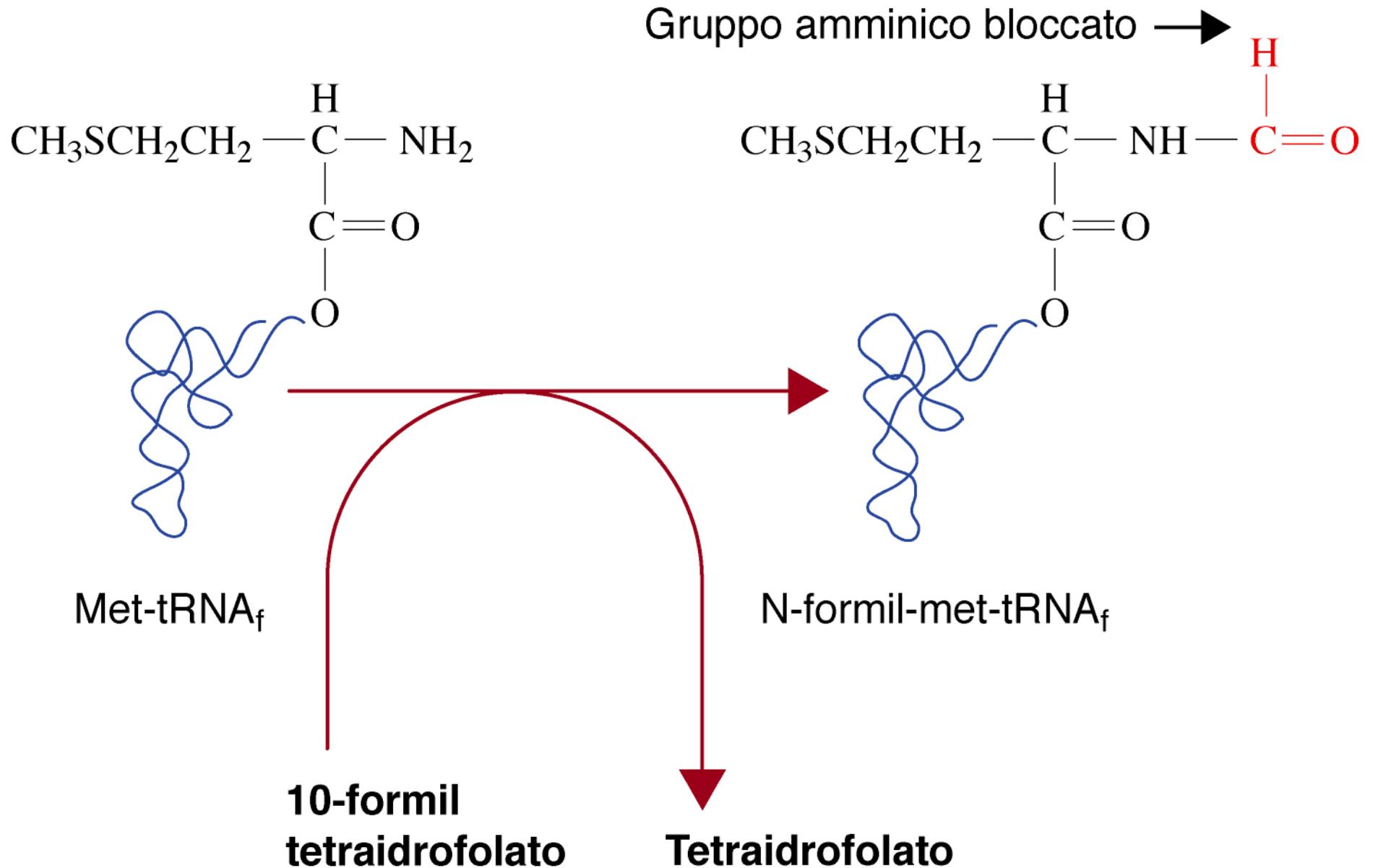


Soltanto un *aa-tRNA* entra nel sito A
del ribosoma 70S completo



fMet-tRNA:
speciale tRNA
necessario per
l'inizio della
traduzione negli
eucarioti, legge
AUG o GUG
(Met o Val all'interno)

Il Met-tRNA iniziatore è formilato



Il tRNA iniziatore ha caratteristiche distinte

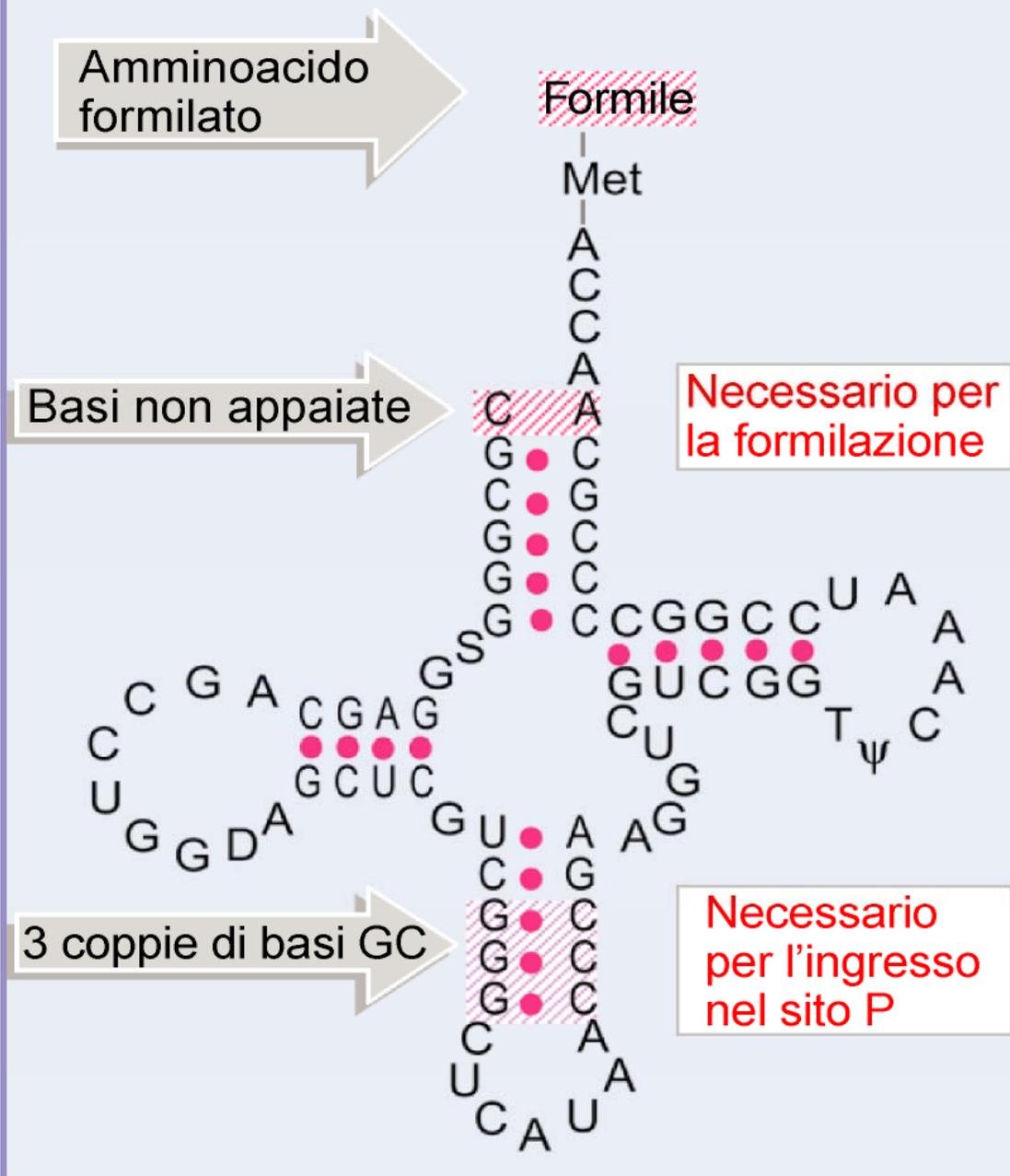
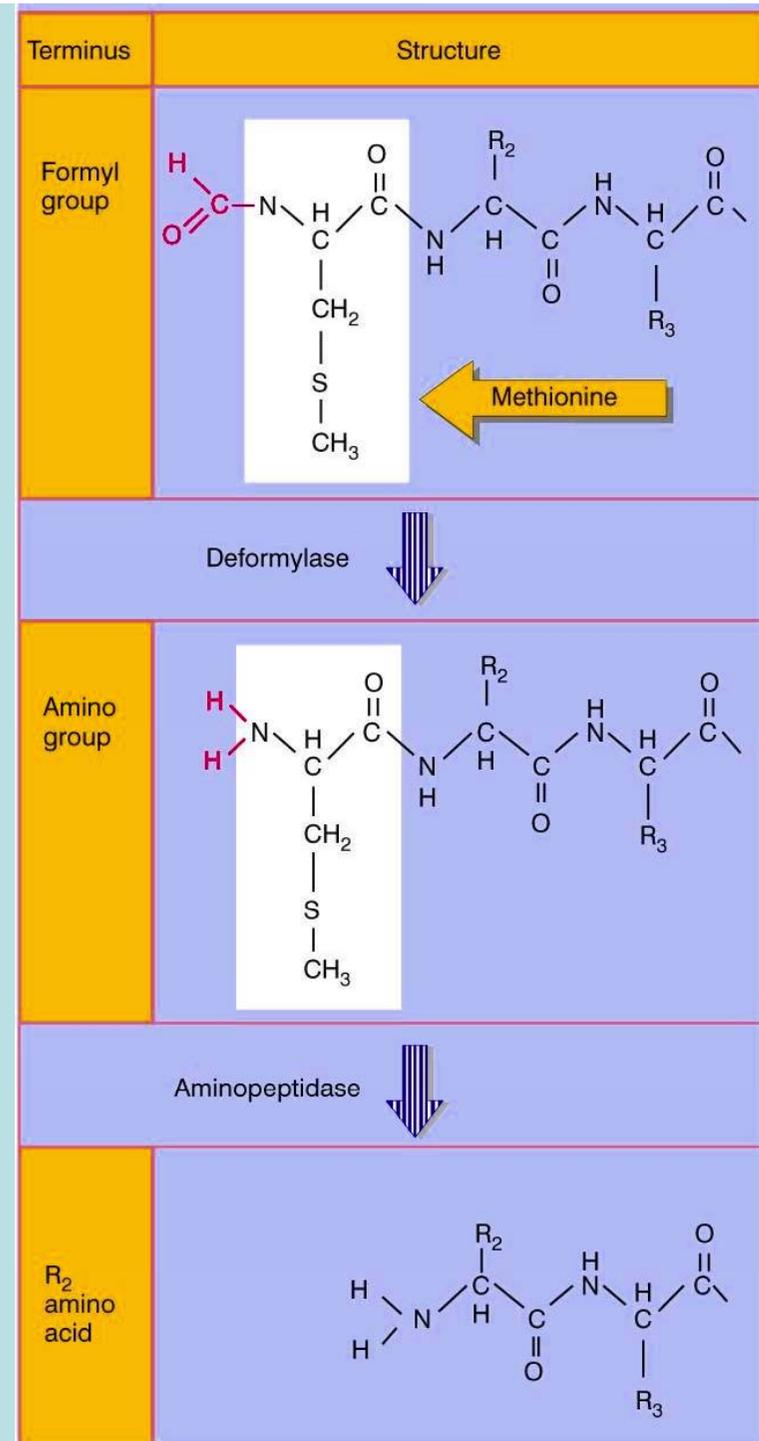
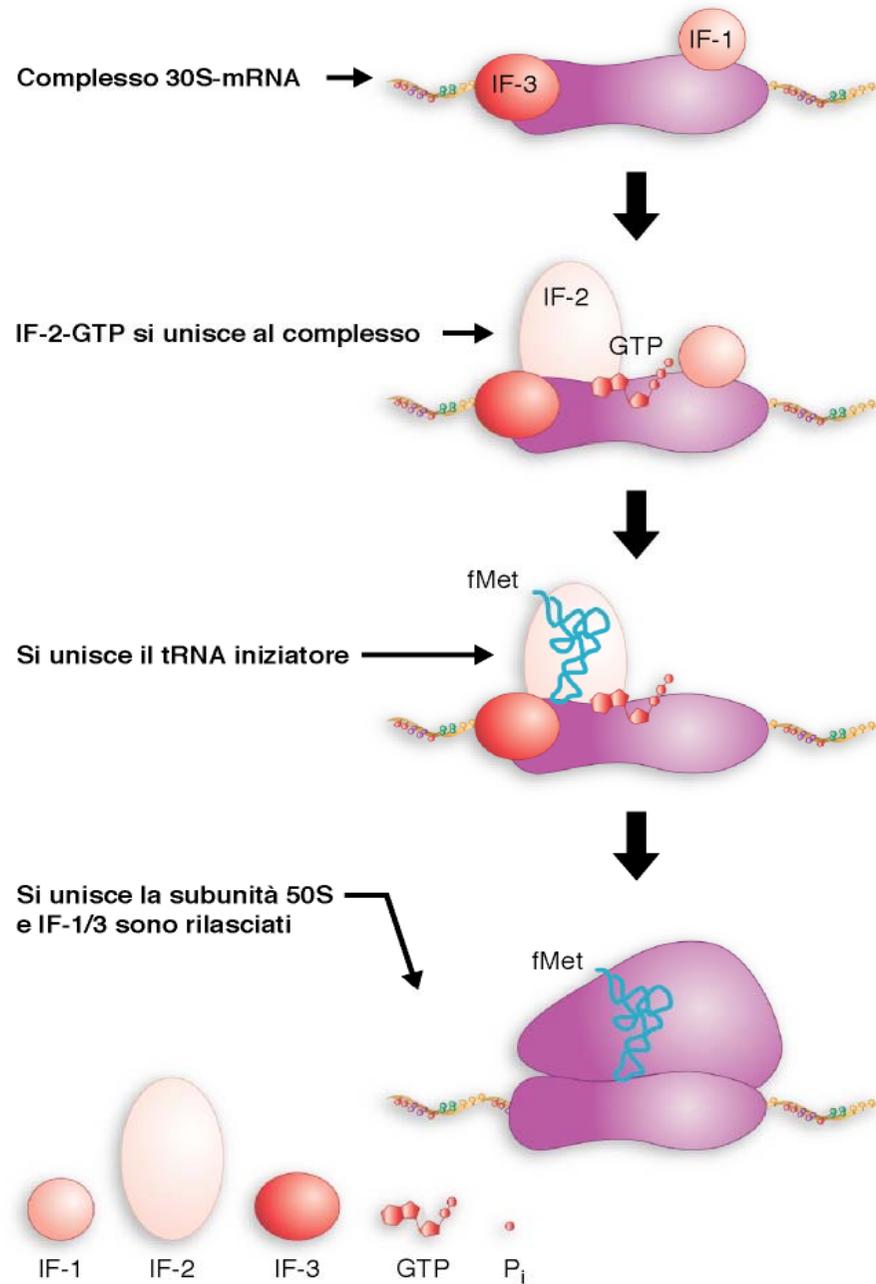


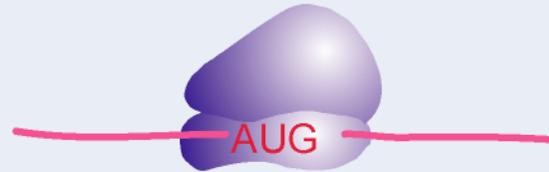
Figure 6.13 Newly synthesized proteins in bacteria start with formyl-methionine, but the formyl group, and sometimes the methionine, is removed during protein synthesis.



L'inizio è controllato da tre fattori



L'AUG è preceduto da una sequenza di Shine-Dalgarno



Attacco del ribosoma sul sito di inizio dell'mRNA



Aggiunta di una nucleasi per digerire tutto l'mRNA non protetto



Isolamento del frammento protetto dell'mRNA

AAAC**AGGAGG**AUUACCCC**AUG**UCGAAGCAA...

Leader

Regione codificante

Determinazione della sequenza del frammento protetto



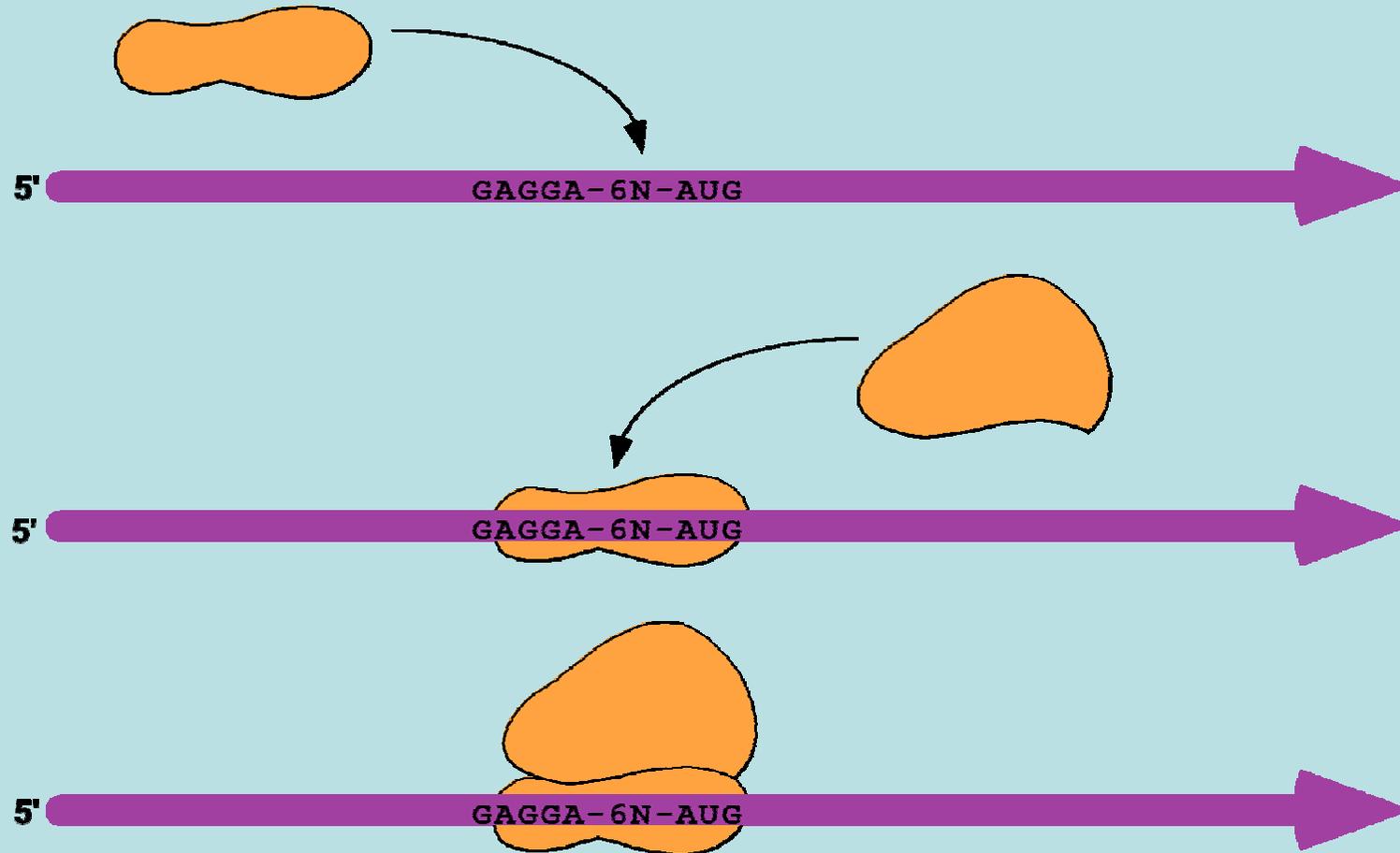
Shine-Dalgarno
meno di 10 basi
a monte di AUG



AUG
al centro
del frammento
protetto

Tutte le regioni di inizio hanno due elementi di consenso

Sequenza di Shine-Dalgarno



3'-end of 16S rRNA

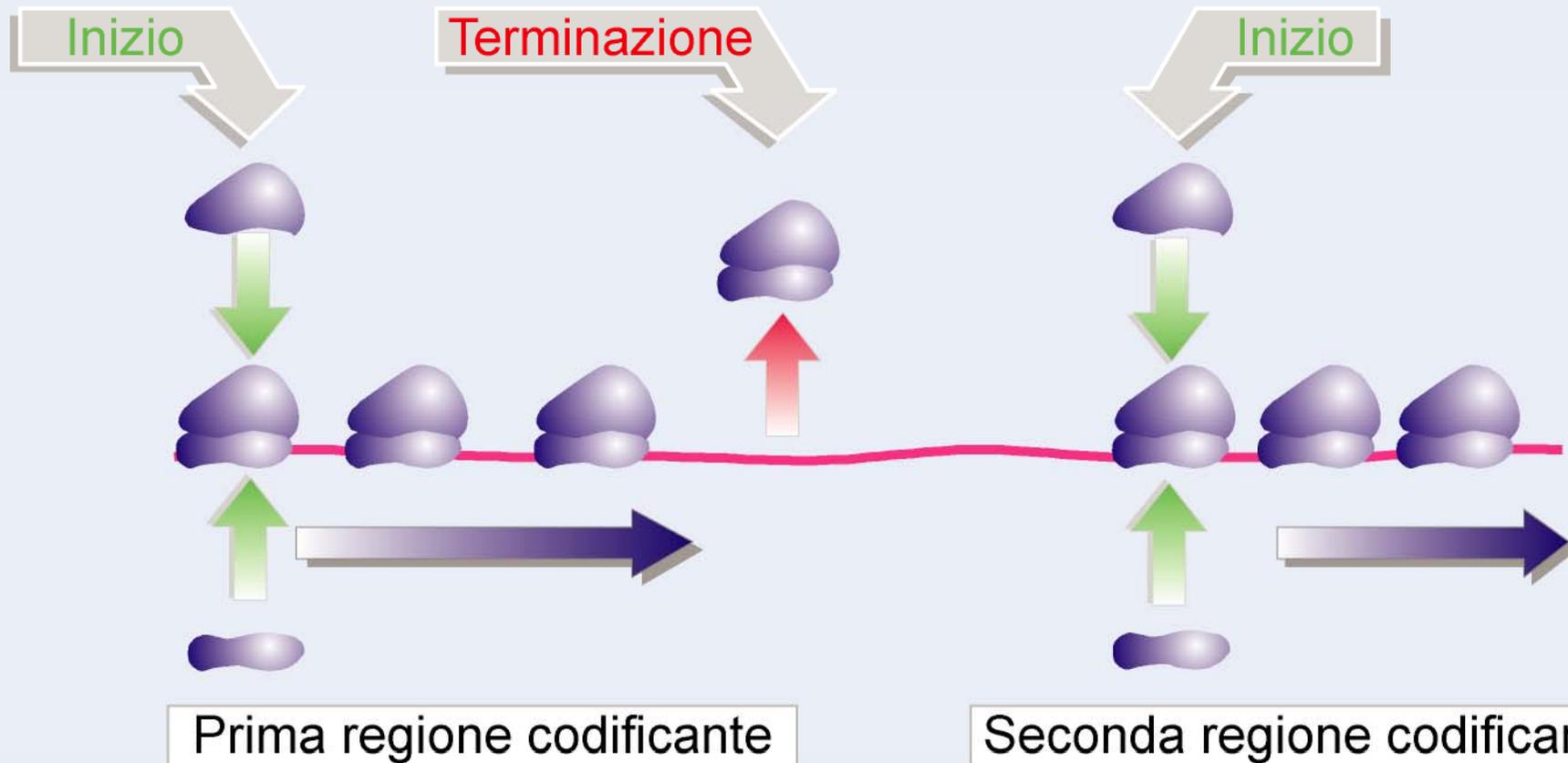
3' AUU UCCU CCAUA



Copyright 1996 M.W.King

Traduzione degli mRNA policistronici nei procarioti

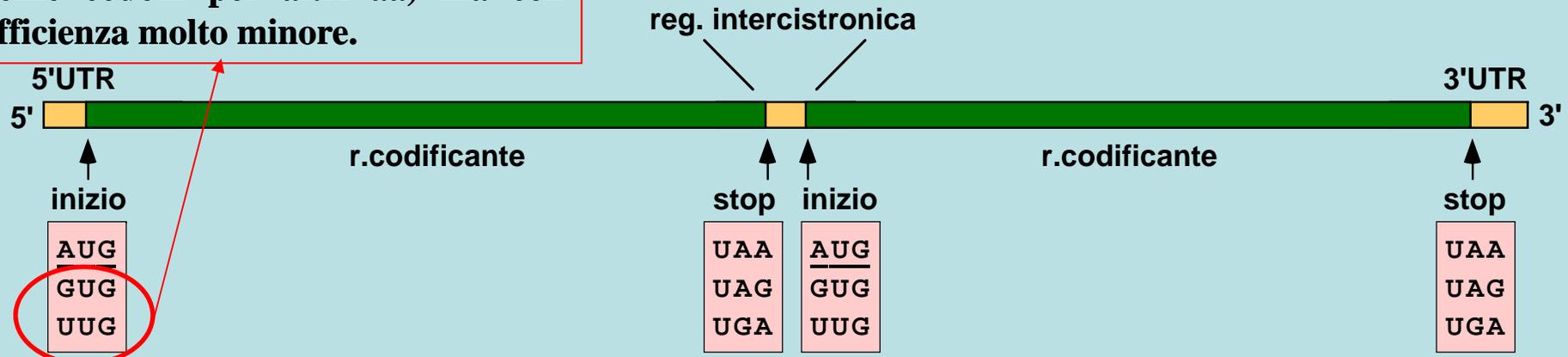
La traduzione di geni multipli su un mRNA inizia in modo indipendente



Inizio della traduzione negli eucarioti

Molto raramente riconosciuti come codoni di inizio per fMET-tRNA (anche se quando sono all'interno di una regione codificante sono letti come codoni per altri aa) ma con efficienza molto minore.

Procarioti

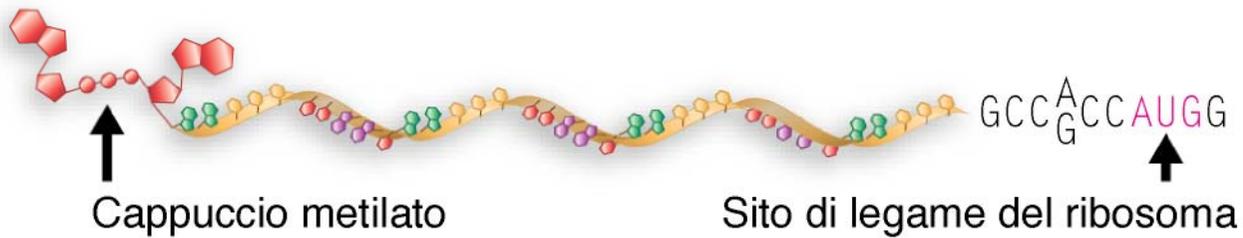


Eucarioti

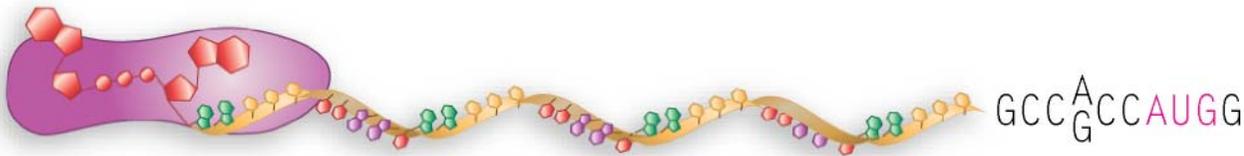


| <i>Initiation Factors</i> | | Activity |
|---------------------------|---------------------|--|
| prokaryotes | eukaryotes | |
| IF3 | eIF-1 | Fidelity of AUG codon recognition |
| IF2 | eIF-1A | Facilitate Met-tRNA ^{iMet} binding to small subunit |
| | eIF-2 | Ternary complex formation |
| | eIF-2B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

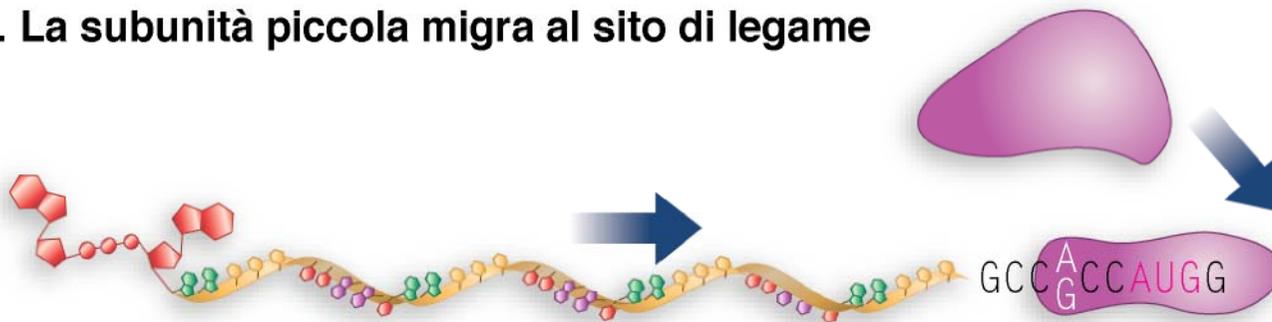
L'mRNA ha due caratteristiche riconosciute dai ribosomi



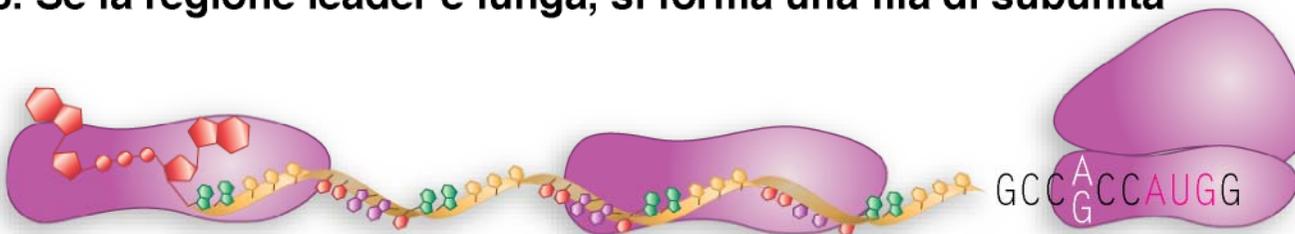
1. La subunità piccola si lega al cappuccio metilato



2. La subunità piccola migra al sito di legame



3. Se la regione leader è lunga, si forma una fila di subunità



La sequenza
consenso di
Kozak

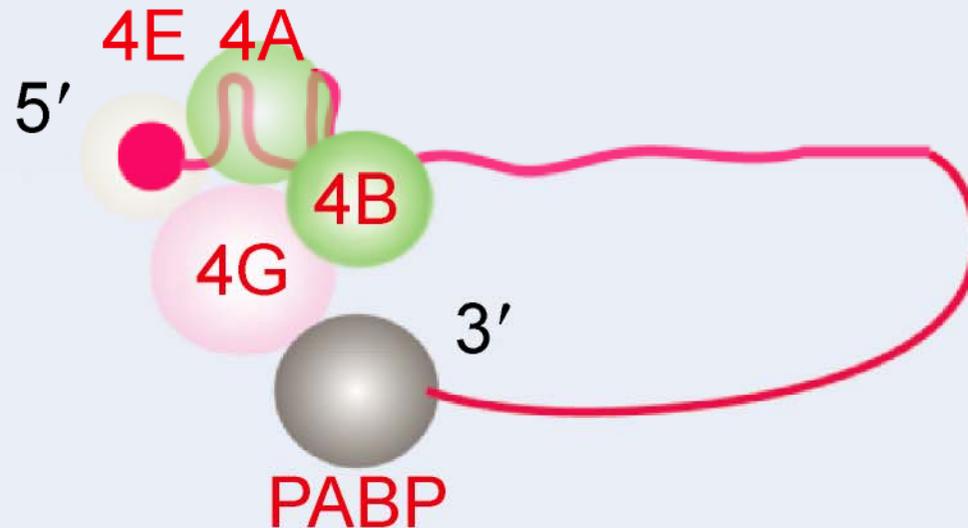
Fattori di inizio si legano all'estremità 5' dell'mRNA

eIF4F è un eterotrimerico composto da:

eIF4G è una proteina che serve da impalcatura

eIF4E si lega al cappuccio metilato al 5'

eIF4A è un'elicasi che svolge la struttura 5'



eIF4G lega altri due fattori:

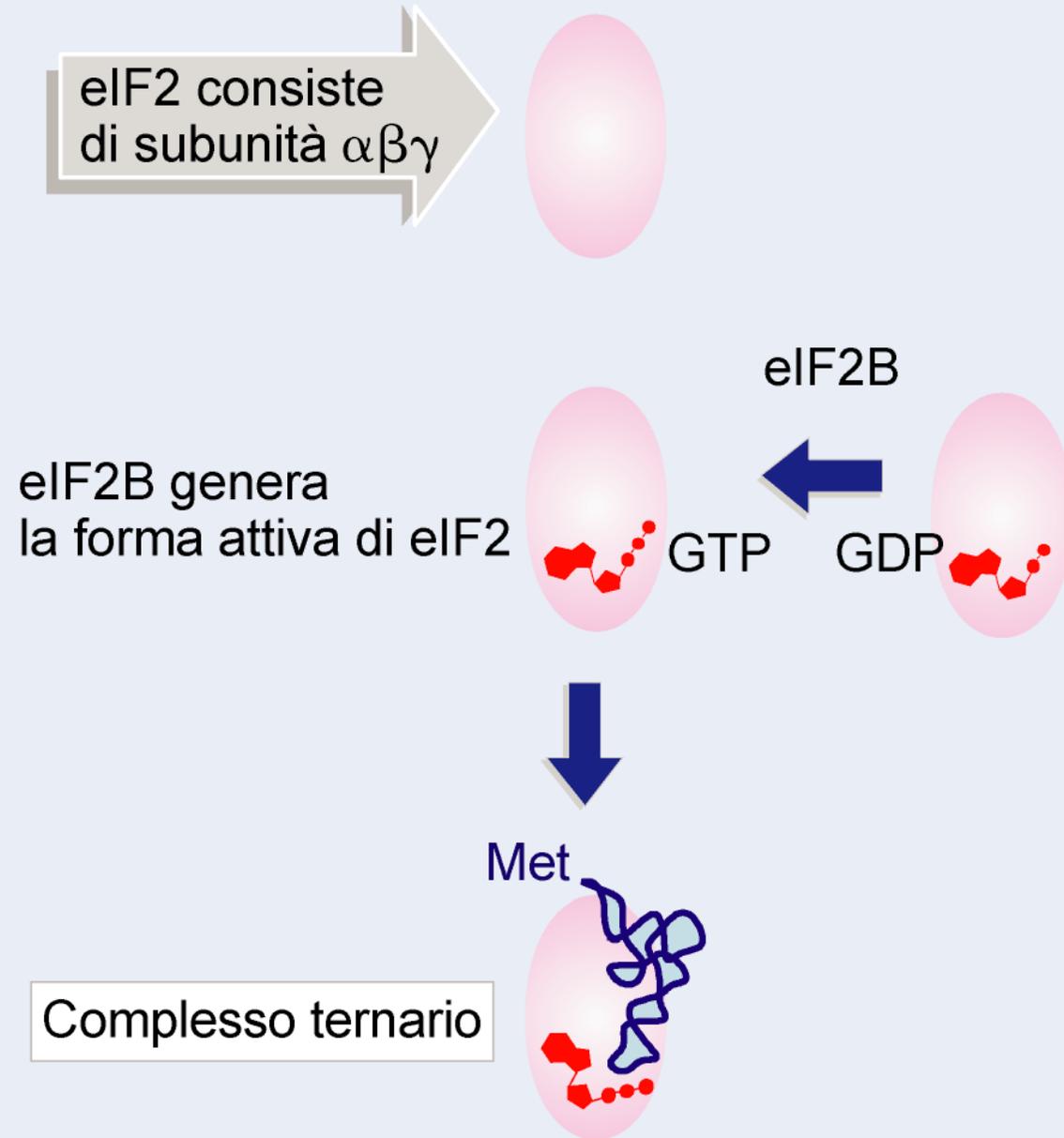
eIF4B stimola l'elicasi eIF4A

PABP si lega al poli(A) al 3'

Un complesso ternario si lega alla subunità 40S

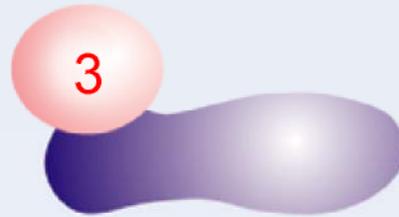
Negli Eucarioti

- eIF-2 forma un complesso ternario con Met-tRNA_f
- Il complesso ternario lega la subunità 40S libera che si lega poi all'estremità 5' dell'mRNA
- GTP viene idrolizzato quando eIF2 viene rilasciato come eIF2-GDP
- eIF-2B rigenera la forma attiva.

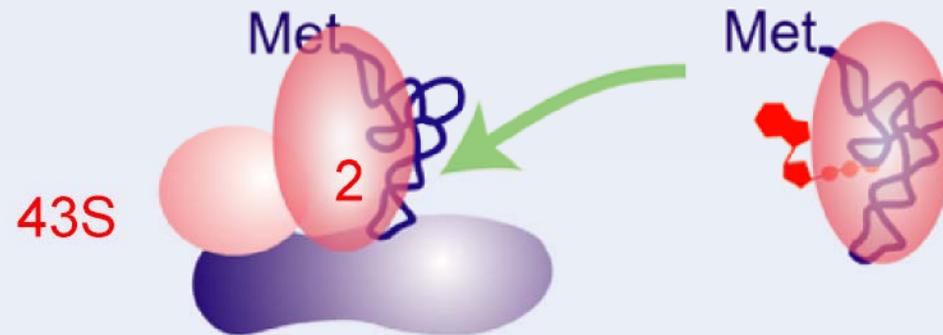


Complesso 43S = subunità 40S + fattori + tRNA

eIF3 mantiene libere le subunità 40S



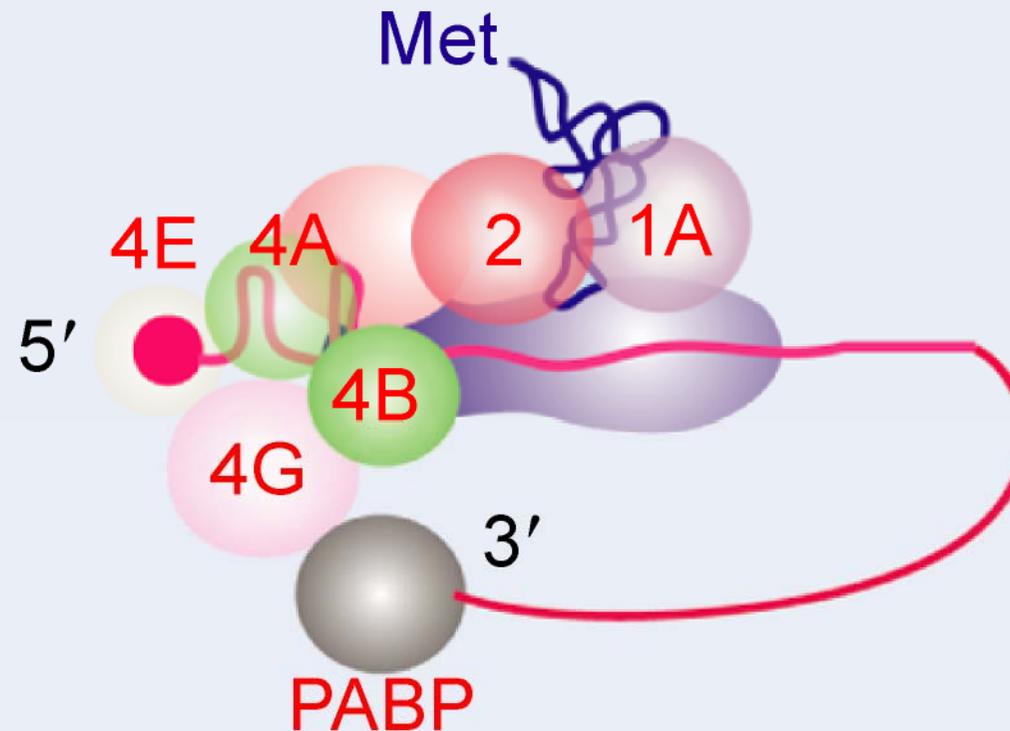
eIF2 lega Met-tRNA_i a 40S



eIF2 è una GTPasi
eIF2B è il fattore di scambio



Il complesso 43S si lega al complesso mRNA-fattore



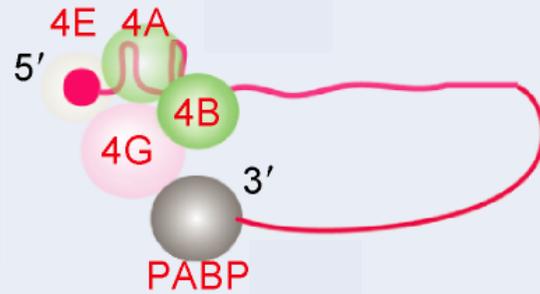
Interazioni possibili:

eIF4G si lega a eIF3

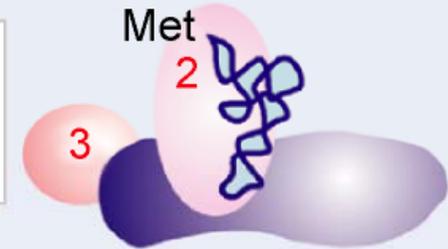
l'mRNA lega eIF4G, eIF3 e subunità 40S

L'inizio eucariotico passa attraverso diversi complessi

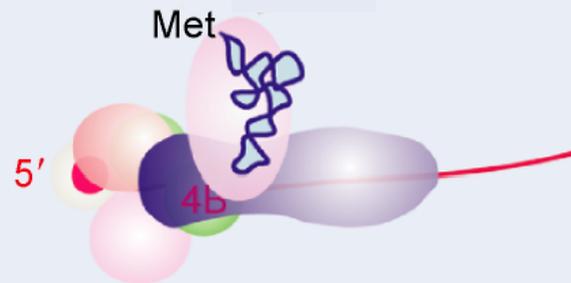
Complesso che lega il cappuccio + mRNA eIF4A, B, E, G



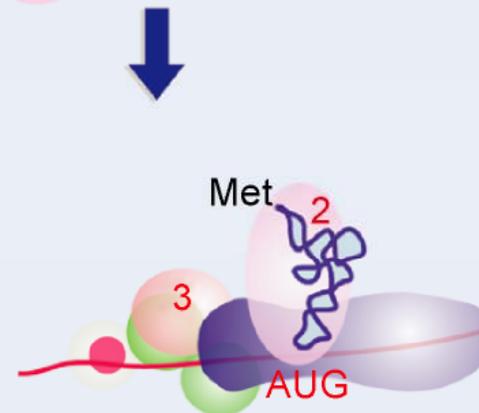
Complesso 43S
eIF2, eIF3
Met-tRNA_i



Il complesso 43S
si lega all'estremità
5' dell'mRNA

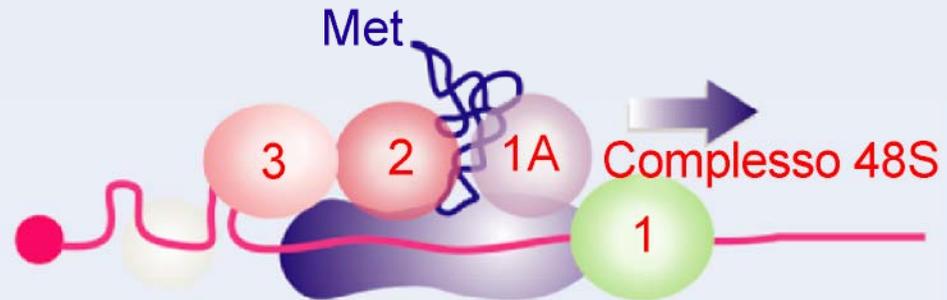


Al codone di inizio
si forma il
complesso 48S
eIF2, eIF3, eIF1,
1A, eIF4A, B, F



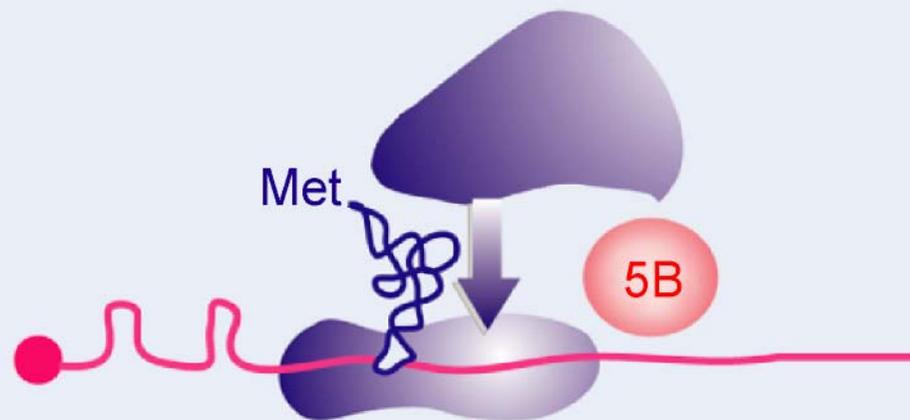
La subunità 40S scansiona l'mRNA cercando un codone AUG

eIF1 ed eIF1A permettono la scansione



eIF5 induce l'idrolisi di GTP da parte di eIF2
eIF2 ed eIF3 sono rilasciati

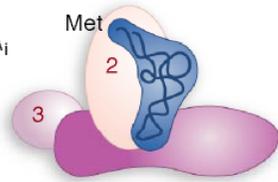
eIF5B media l'unione della subunità 60S



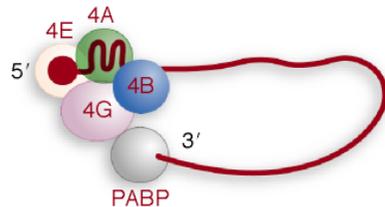
Riepilogo dell'inizio della traduzione negli eucarioti

L'inizio eucariotico utilizza vari complessi

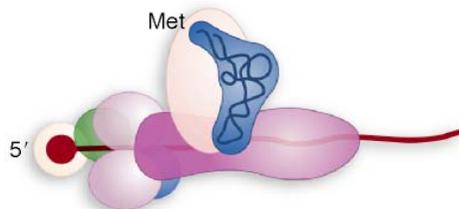
Complesso 43S
eIF2, eIF3 Met-tRNA_i



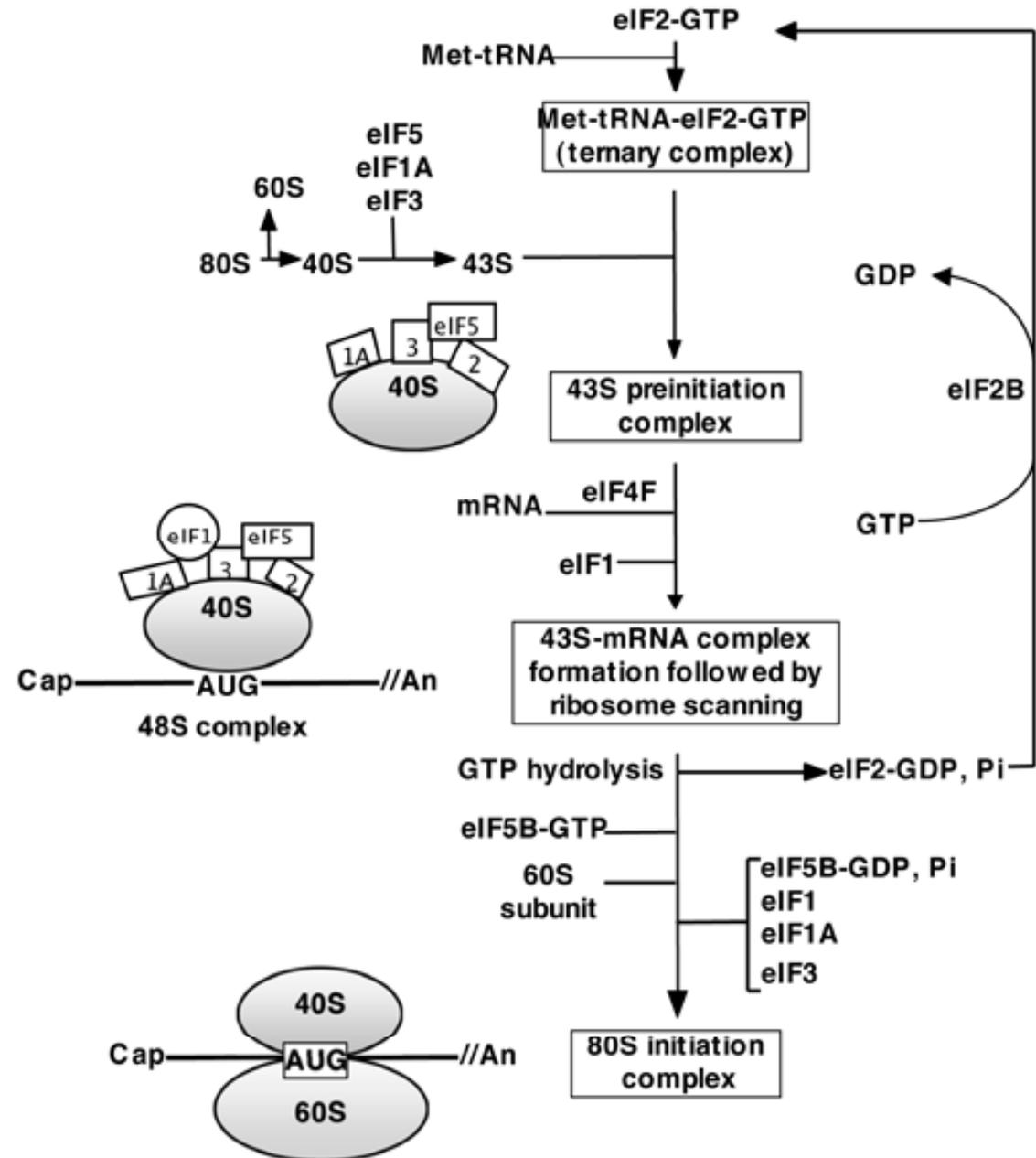
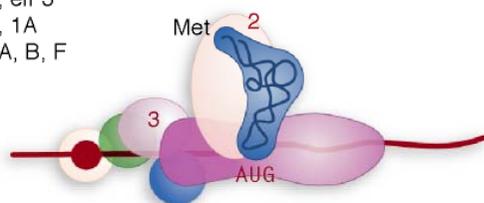
Complesso che lega il cappuccio
+ mRNA eIF4A, B, E, G



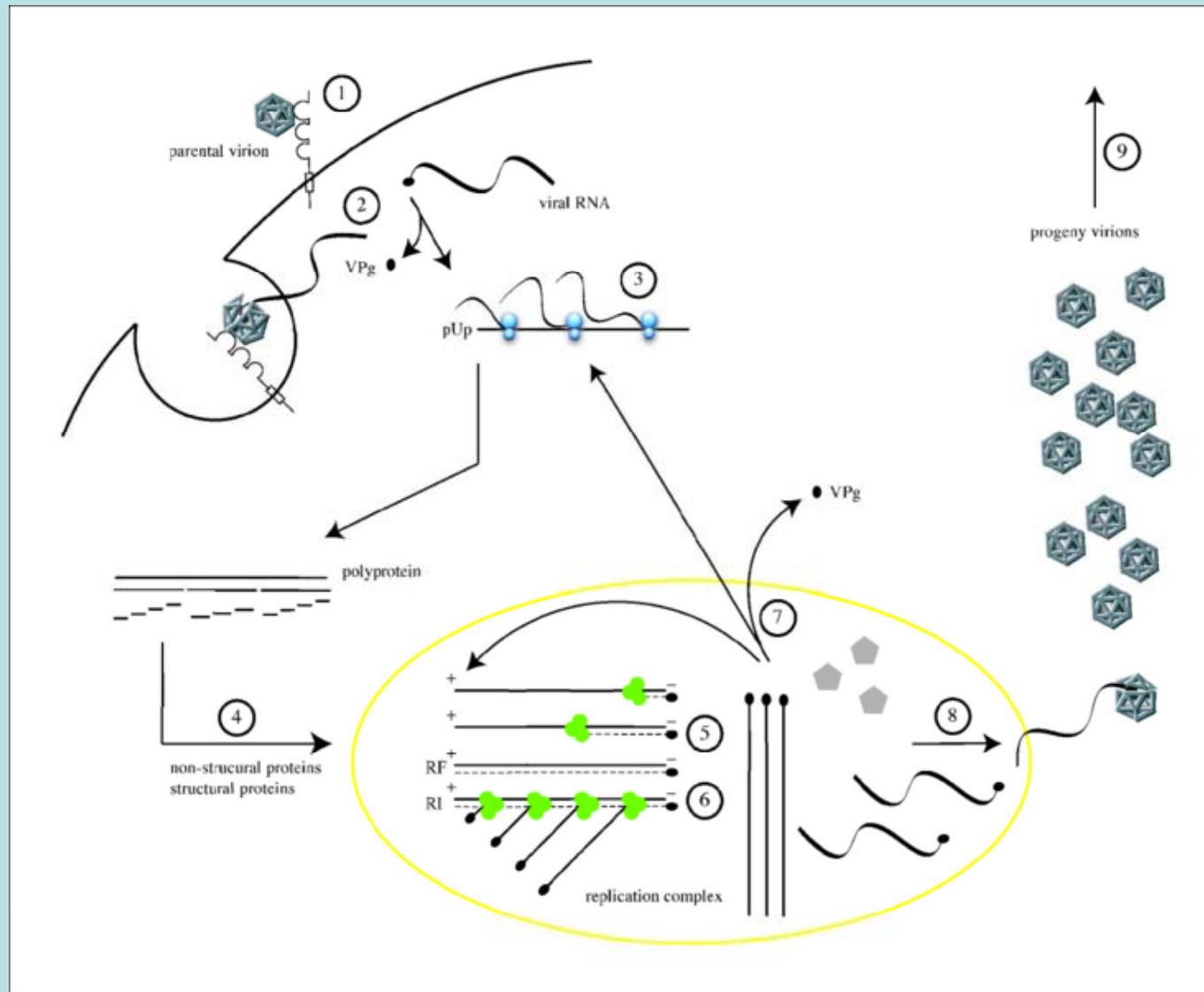
Complesso 43S
si lega all'estremità 5' dell'mRNA

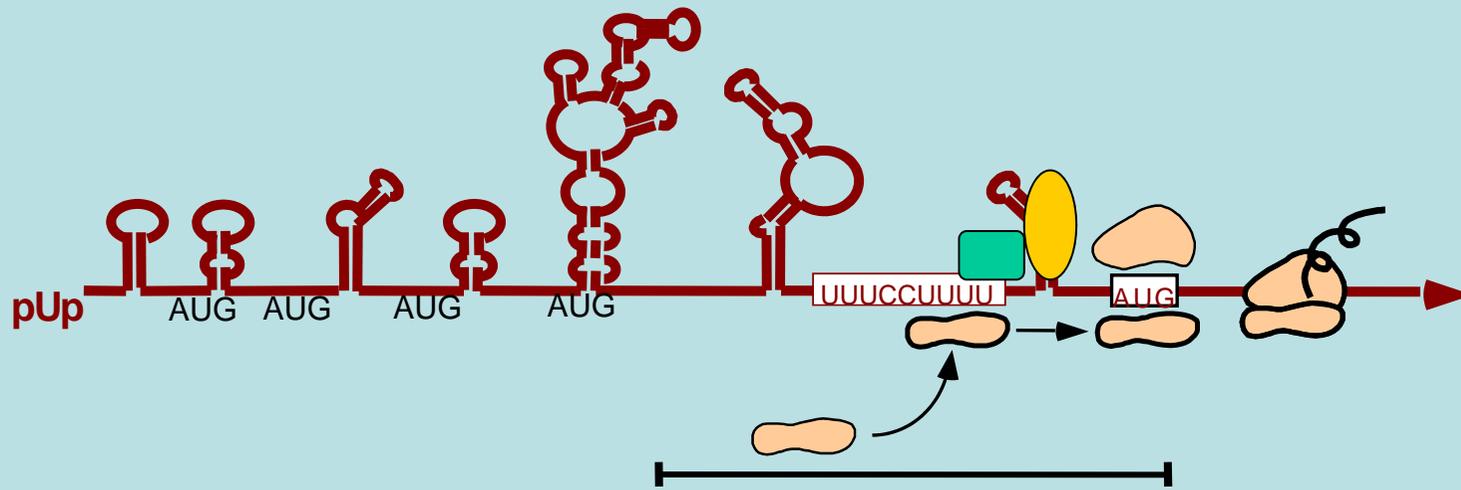
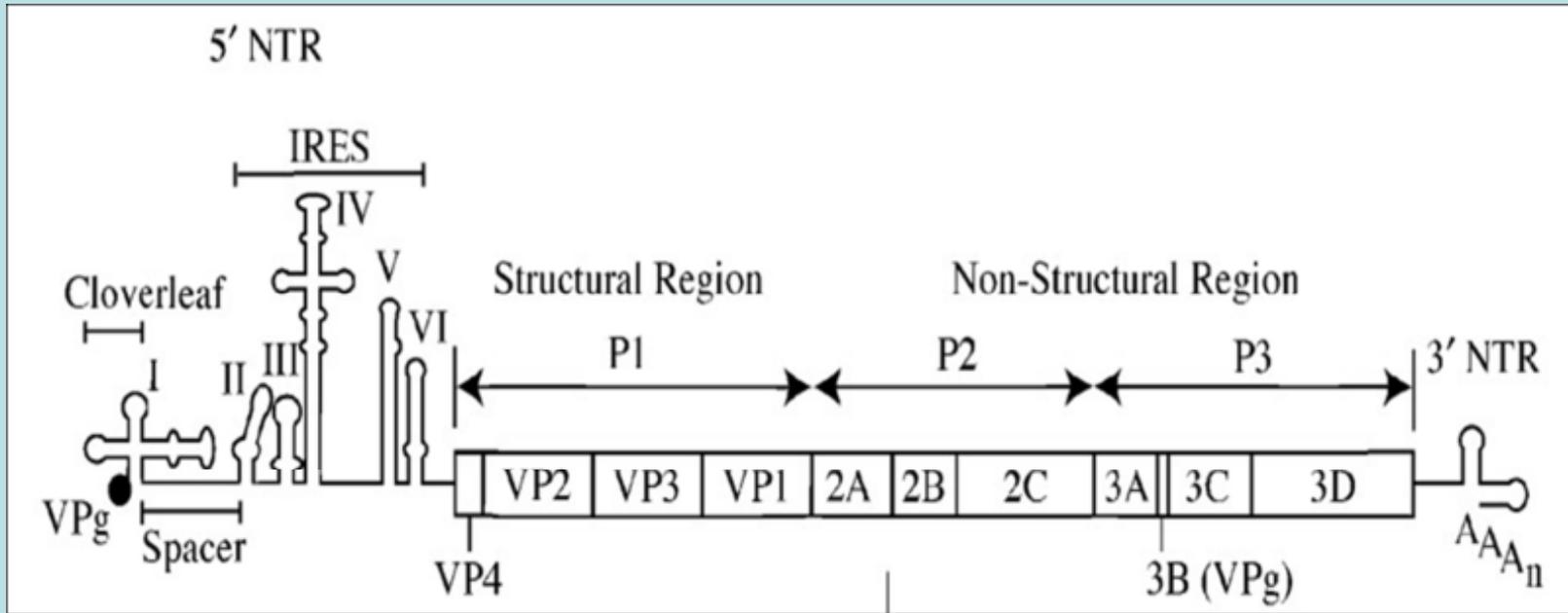


Complesso 48S
si forma sul codone d'inizio
eIF2, eIF3
eIF1, 1A
eIF4A, B, F



Inizio di traduzione nell'mRNA di poliovirus





IRES= Internal ribosome entry site

The mechanism of viral IRES function is to date better characterized than the mechanism of cellular IRES function, for which no clear mechanism have been proposed yet. Hepatitis C Virus-related IRESs directly bind 40S ribosomal subunit in such a way that their initiator codons are located in ribosomal P-site without mRNA scanning. These IRESs do not require Eukaryotic initiation factors eIF1, 1A, 4A, 4B, and 4E. Picornavirus IRES do not attract 40S directly, but rather through high-affinity eIF4G-binding site. In addition, many viral IRES (as well as cellular IRES) require additional proteins to mediate their function, known as IRES *trans*-acting factors (ITAFs).