

CODICE GENETICO

Universal Genetic Code (mRNA format)				
	U	C	A	G
U	UUU-Phe	UCU-Ser	UAU-Tyr	UGU-Cys
	UUC-Phe	UCC-Ser	UAC-Tyr	UGC-Cys
	UUA-Leu	UCA-Ser	UAA-stop	UGA-stop
	UUG-Leu	UCG-Ser	UAG-stop	UGG-Trp
C	CUU-Leu	CCU-Pro	CAU-His	CGU-Arg
	CUC-Leu	CCC-Pro	CAC-His	CGC-Arg
	CUA-Leu	CCA-Pro	CAA-Gln	CGA-Arg
	CUG-Leu	CCG-Pro	CAG-Gln	CGG-Arg
A	AUU-Ile	ACU-Thr	AAU-Asn	AGU-Ser
	AUC-Ile	ACC-Thr	AAC-Asn	AGC-Ser
	AUA-Ile	ACA-Thr	AAA-Lys	AGA-Arg
	AUG-Met	ACG-Thr	AAG-Lys	AGG-Arg
G	GUU-Val	GCU-Ala	GAU-Asp	GGU-Gly
	GUC-Val	GCC-Ala	GAC-Asp	GGC-Gly
	GUA-Val	GCA-Ala	GAA-Glu	GGA-Gly
	GUG-Val	GCG-Ala	GAG-Glu	GGG-Gly

CODICE GENETICO

- ⚡ Codice mediante il quale la sequenza nucleotidica di una molecola di DNA o di RNA specifica la sequenza aminoacidica di un polipeptide.
- ⚡ Consiste di **codoni a tre nucleotidi** che **specificano un particolare aminoacido** oppure dicono al ribosoma di **fermare la traduzione e rilasciare il polipeptide**.
- ⚡ Con poche eccezioni, tutti gli organismi viventi utilizzano lo stesso codice.

(Mathews et al., Biochimica)

Codice Genetico (segue)

- ⚡ Un gene → una catena polipeptidica
- ⚡ Corrispondenza lineare solo nei **PROCARIOTI**.
- ⚡ **EUCARIOTI**: **sequenze codificanti (esoni) + sequenza non codificanti (introni)**

ATTENZIONE: alcuni geni **NON** codificano per proteine (mediante un mRNA), codificano per gli altri RNA: tRNA, rRNA, snRNA, snoRNA, ecc.

Codice Genetico (segue)

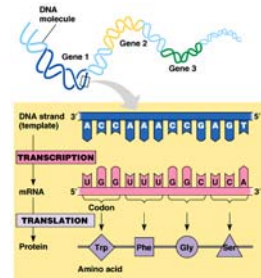
- ⚡ **CODICE GENETICO** detto «DEGENERATO» O «RIDONDANTE»:
 - Un **singolo aminoacido** può essere **specificato da più di una tripletta di nucleotidi**.
 - Non significa malfunzionalità (ambiguità).
 - Aumenta l'adattabilità del sistema di codificazione.
- ⚡ Il codice genetico non è sovrapposto:
 - Ogni nucleotide è parte di una sola tripletta.

Codice genetico

- ✚ Codice a triplette
- ✚ Non sovrapponibile
- ✚ Degenerato
 - 4 nucleotidi --> 20 amino acids
- Codice a doppiette --> 4^2 --> 16 combinazioni
- Codice a triplette --> 4^3 --> 64 combinazioni

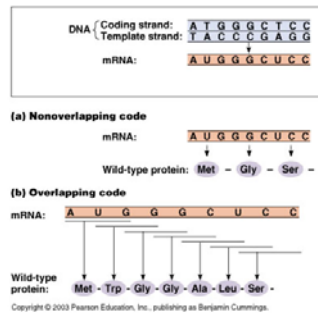
Codice genetico

- ✚ Codice a triplette
- ✚ Tre coppie di basi specificano per un amino acido = codone



Codice Genetico

- ✚ Codice a Triplette
- ✚ Non sovrapponibile



Codice genetico

- ✚ Codice a triplette
- ✚ Non sovrapponibile
- ✚ Degenerato

Ogni amino acido è specificato da più di una tripletta di nucleotidi (codoni)

61 codoni codificano per amino acids

Codice a triplete --> 4^3
--> 64 combinazioni

		Second position				
		U	C	A	G	
U	U	UUU Phe	UUC	UAU Tyr	UGU Cys	U
	U	UUA Leu	UCC Ser	UAC Stop	UGC Stop	C
	U	UUA Leu	UCA Ser	UAA Stop	UGA Stop	A
	U	UUG Leu	UCG	UAG Stop	UGG Trp	G
C	C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U
	C	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C
	C	CUA Leu	CCA Pro	CAA His	CGA Arg	A
	C	CUG Leu	CCG Pro	CAG His	CGG Arg	G
A	A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U
	A	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	C
	A	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	A
	A	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	G
G	G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U
	G	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	C
	G	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	A
	G	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	G

61 codoni codificano per amino acids

- AUG = Met = start
 - UAG
 - UAA
 - UGA
- } Stop

		Second position				
		U	C	A	G	
U	U	UUU Phe	UUC	UAU Tyr	UGU Cys	U
	U	UUA Leu	UCC Ser	UAC Stop	UGC Stop	C
	U	UUA Leu	UCA Ser	UAA Stop	UGA Stop	A
	U	UUG Leu	UCG	UAG Stop	UGG Trp	G
C	C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U
	C	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C
	C	CUA Leu	CCA Pro	CAA His	CGA Arg	A
	C	CUG Leu	CCG Pro	CAG His	CGG Arg	G
A	A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U
	A	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	C
	A	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	A
	A	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	G
G	G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U
	G	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	C
	G	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	A
	G	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	G

Codon Table

		Second letter				
		U	C	A	G	
U	U	UUU Phenyl-alanine	UCU Serine	UAU Tyrosine	UGU Cysteine	U
	U	UUC Phenyl-alanine	UCC Serine	UAC Tyrosine	UGC Cysteine	C
	U	UUA Leucine	UCA Serine	UAA Stop codon	UGA Stop codon	A
	U	UUG Leucine	UCG Serine	UAG Stop codon	UGG Tryptophan	G
C	C	CUU Leucine	CCU Proline	CAU Histidine	CGU Arginine	U
	C	CUC Leucine	CCC Proline	CAC Histidine	CGC Arginine	C
	C	CUA Leucine	CCA Proline	CAA Glutamine	CGA Arginine	A
	C	CUG Leucine	CCG Proline	CAG Glutamine	CGG Arginine	G
A	A	AUU Isoleucine	ACU Threonine	AAU Asparagine	AGU Serine	U
	A	AUC Isoleucine	ACC Threonine	AAC Asparagine	AGC Serine	C
	A	AUA Methionine; initiation codon	ACA Threonine	AAA Lysine	AGA Arginine	A
	A	AUG Methionine; initiation codon	ACG Threonine	AAG Lysine	AGG Arginine	G
G	G	GUU Valine	GCU Alanine	GAU Aspartic acid	GGU Glycine	U
	G	GUC Valine	GCC Alanine	GAC Aspartic acid	GGC Glycine	C
	G	GUA Valine	GCA Alanine	GAA Glutamic acid	GGA Glycine	A
	G	GUG Valine	GCG Alanine	GAG Glutamic acid	GGG Glycine	G

Universal Genetic Code (mRNA format)

		U	C	A	G	
U	U	UUU-Phe	UCU-Ser	UAU-Tyr	UGU-Cys	U
	U	UUC-Phe	UCC-Ser	UAC-Tyr	UGC-Cys	C
	U	UUA-Leu	UCA-Ser	UAA-stop	UGA-stop	A
	U	UUG-Leu	UCG-Ser	UAG-stop	UGG-Trp	G
C	C	CUU-Leu	CCU-Pro	CAU-His	CGU-Arg	U
	C	CUC-Leu	CCC-Pro	CAC-His	CGC-Arg	C
	C	CUA-Leu	CCA-Pro	CAA-Gln	CGA-Arg	A
	C	CUG-Leu	CCG-Pro	CAG-Gln	CGG-Arg	G
A	A	AUU-Ile	ACU-Thr	AAU-Asn	AGU-Ser	U
	A	AUC-Ile	ACC-Thr	AAC-Asn	AGC-Ser	C
	A	AUA-Ile	ACA-Thr	AAA-Lys	AGA-Arg	A
	A	AUG-Met	ACG-Thr	AAG-Lys	AGG-Arg	G
G	G	GUU-Val	GCU-Ala	GAU-Asp	GGU-Gly	U
	G	GUC-Val	GCC-Ala	GAC-Asp	GGC-Gly	C
	G	GUA-Val	GCA-Ala	GAA-Glu	GGA-Gly	A
	G	GUG-Val	GCG-Ala	GAG-Glu	GGG-Gly	G

Amino acids with one codon

AUG UGG
Met Trp

Amino acids with two codons

AAA	AAC	CAA	CAC	GAA
AAG	AAU	CAG	CAU	GAG
Lys	Asn	Gln	His	Glu
GAC	UAC	UGC	UUC	
GAU	UAU	UGU	UUU	
Asp	Tyr	Cys	Phe	

Amino acids with three codons

AUA
AUC
AUU
Ile

Mitochondrial Genetic Code is different

TABLE 5.5 Distinctive codons of human mitochondria

Codon	Standard code	Mitochondrial code
UGA	Stop	Trp
UGG	Trp	Trp
AUA	Ile	Met
AUG	Met	Met
AGA	Arg	Stop
AGG	Arg	Stop

Decodificazione del mRNA mediata dai tRNA (1)

- L'informazione genetica è trascritta dal DNA in mRNA sotto forma di un codice a triplete detto «degenerato».
- Ciascun aminoacido è codificato da uno o più sequenze di tre nucleotidi (codoni) nel mRNA. Ogni codone specifica un aminoacido, ma la maggior parte degli aminoacidi è codificata da codoni multipli.
- Il codone **AUG** per la **metionina** è il più comune codone di inizio, specificando l'aminoacido che si trova nell' NH_2 terminale di una catena proteica. Tre codoni (UAA, UAG, UGA) fungono da **codoni di stop** e non specificano alcun aminoacido.

Metodo dei Locati et al., «Molecole e Celli Biologia» 7ª ed., VCH, Prentice Hall Ed.

Decodificazione del mRNA mediata dai tRNA (2)

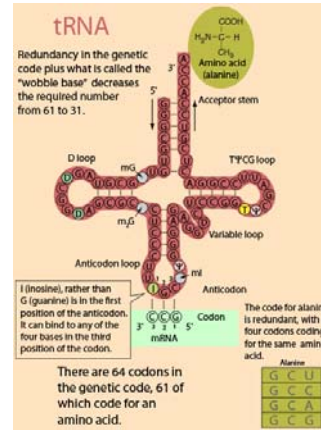
- Una **chiave di lettura**, una **sequenza ininterrotta di codoni nel mRNA a partire da un codone di inizio specifico fino ad un codone di stop**, viene trasformata nella **sequenza lineare di aminoacidi di una catena polipeptidica**.
- La decodificazione della sequenza di nucleotidi del mRNA nella sequenza di aminoacidi della proteina dipende dai tRNAs e dalle aminoacil-tRNA sintetasi.
- Tutti i tRNA hanno una struttura tridimensionale simile che include un braccio accettore per il collegamento di uno specifico aminoacido e un «stem-loop» con una sequenza di tre basi dell'anticodone alla sua estremità. L'anticodone può formare coppie di basi con il suo codone corrispondente nel mRNA.

Metodo dei Locati et al., «Molecole e Celli Biologia» 7ª ed., VCH, Prentice Hall Ed.

Decodificazione del mRNA mediata dai tRNA (3)

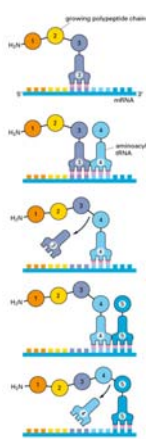
- A causa di **interazioni non standard**, un tRNA può formare **coppie di basi con più di un codone sul mRNA**; viceversa, un **codone particolare può formare coppie di basi con diversi tRNA**. In ogni caso, tuttavia, **solo l'aminoacido corretto verrà inserito in una catena polipeptidica crescente**.
- Ciascuna delle **20 aminoacil-tRNA sintetasi** riconosce un solo aminoacido e lo lega covalentemente al suo specifico tRNA, formando un aminoacil-tRNA. Questa reazione attiva l'aminoacido in modo tale che potrà partecipare alla formazione del legame peptidico.

Adattato da: Lodish et al., "Molecular cell biology" 7^a ed., W.H. Freeman and Co.

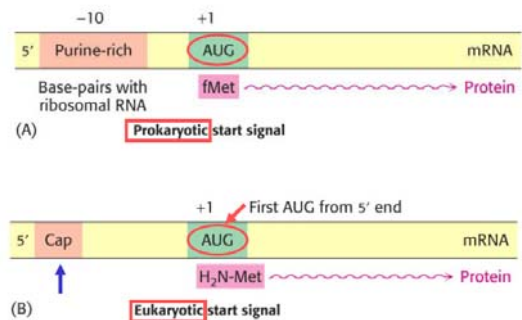


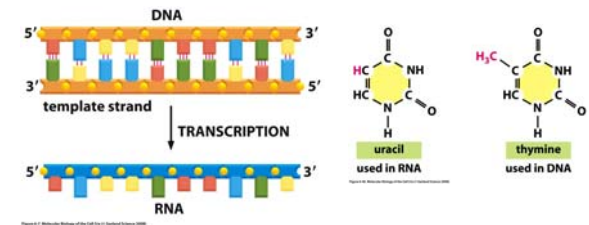
Decodificazione di una molecola di mRNA

Ogni aminoacido addizionato all'estremità crescente della catena polipeptidica viene selezionato mediante appaiamento complementare di basi fra **l'anticodone nel tRNA** a cui è legato e il **codone** successivo nella catena del **mRNA**



TRANSLATION: Start signals on mRNA





L'uracile forma coppie di basi con adenina. L'assenza di un gruppo metilico in U non ha effetto sull'accoppiamento delle basi; così, le coppie di basi U-A assomigliano molto alle coppie di basi T-A.

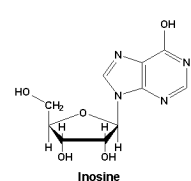
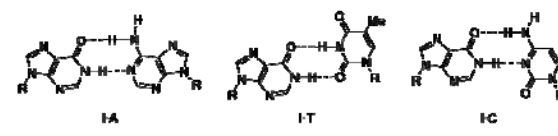
SEMINARIO

**TEORIA DELL'WOBLING NELLA
DECODIFICAZIONE DEL mRNA**

Degenerazione

- ✚ Ci sono **61 codoni** nel codice genetico e **20 aminoacidi**. Tuttavia, ci sono **meno di 61 tRNAs** e **molto più di 20 tRNAs**.
- ✚ Ciò si spiega mediante appaiamento tra basi non standard – “wobble pairs” (coppie tentennanti) – fra i codoni nel mRNA e gli anticodoni nel tRNA.
- ✚ Le prime due basi del codone di solito si appaiono esattamente, ma la terza base può partecipare ad appaiamento di tipo “**wobbling**”.
- ✚ L'**inosina** è particolarmente utile a questo proposito, dato che si può appaiare con A, C o U, nella terza posizione del codone.
- ✚ Perciò l'inosina si trova spesso negli anticodoni del tRNA che si appaiono con codoni ridondanti nel mRNA

Inosina

<http://www.atdbio.com/img/articles/inosine-base-pairs-large.png>

«WOBBLE» NEL CODICE GENETICO (TENTENAMENTO) (1)

- ✚ D'accordo con il codice genetico, una cellula avrebbe bisogno di tRNA con 61 diversi anticodoni per complementare i 61 codoni disponibili.
- ✚ Tuttavia, dovuto alla **degenerazione del codice genetico**, la terza base è meno discriminatoria per l'aminoacido delle altre due basi.

L'ipotesi dello «wobble» e la degenerazione (1)

- ✚ L'identificazione di **inosina** nell'anticodone del tRNA che codifica per l'alanina ha permesso di spiegare la **degenerazione del codice genetico**.
- ✚ E' stato Francis Crick (1916-2004; Nobel nel 1953 con James Watson e Maurice Wilkins) che nel 1966 ha correttamente ipotizzato in che modo le variazioni nella 3° posizione di codificazione potessero spiegare la degenerazione del codice genetico.



J. Darnell: «RNA Life's indispensable molecule», Cold Spring Harbor Laboratory press, 2011

L'ipotesi dello «wobble» e la degenerazione (2)

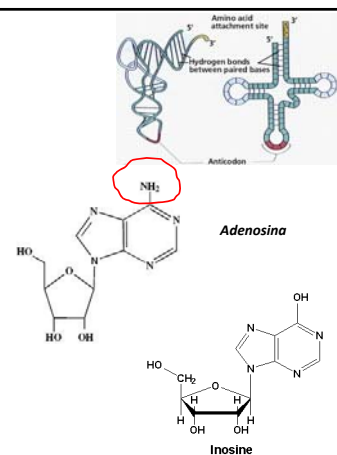
- ✚ Crick ha proposto che l'appaiamento rigoroso C:G e A:U non fosse richiesti nella 3° posizione codone:anticodone, ma che invece sarebbe tollerato un «wobble» (tentennamento).
- ✚ Infatti, l'**inosina può formare appaiamenti ragionevolmente forti con tre basi: U, C o A**.
- ✚ Inoltre, era già stato riconosciuto precedentemente che G oltre ad appaiarsi con C poteva anche appaiarsi abbastanza bene con U.
- ✚ Perciò, **nonostante le due coppie di basi del codone:anticodone siano sempre quelle «canoniche» (G:C, o A:U), la 3° interazione può essere G:U, I:U, I:C o I:A**.
- ✚ L'ipotesi di dell'«wobble» permette di spiegare come mai esistano 61 codoni per 20 aminoacidi.

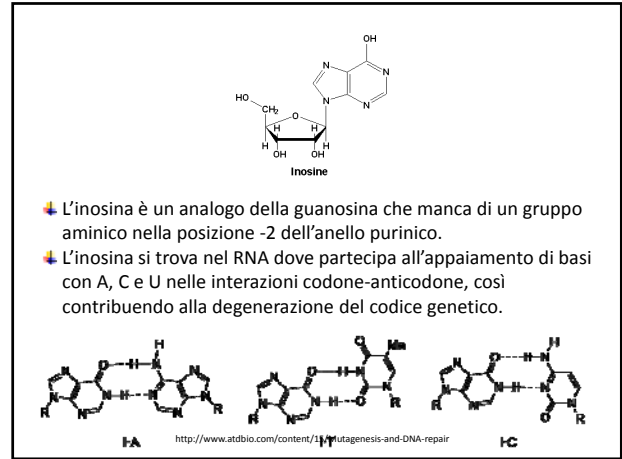
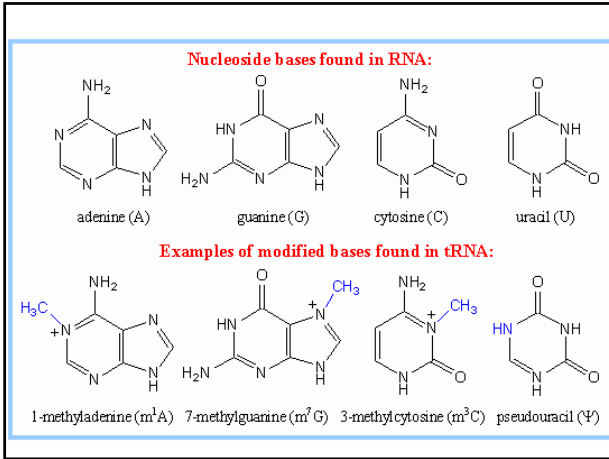
J. Darnell: «RNA Life's indispensable molecule», Cold Spring Harbor Laboratory press, 2011

Struttura dei tRNA Struttura primaria e secondaria (2)

- ✚ In particolare, l'**adenosina (A) nella prima o 5' posizione dell'anticodone** (corrispondente alla terza o posizione 3' del codone) **è sempre modificata in inosina (I)** che manca del gruppo amminico (-NH₂) nell'anello purinico.

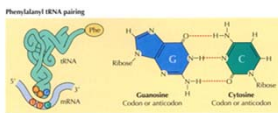
- ✚ L'inosina può appaiarsi con **A, U o C** e perciò spiega molta della degenerazione del Codice Genetico (**Teoria di Wobble**).



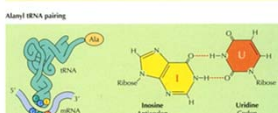


Appaiamento non-standard codone-anticodone ("wobbling"; tentennamento).

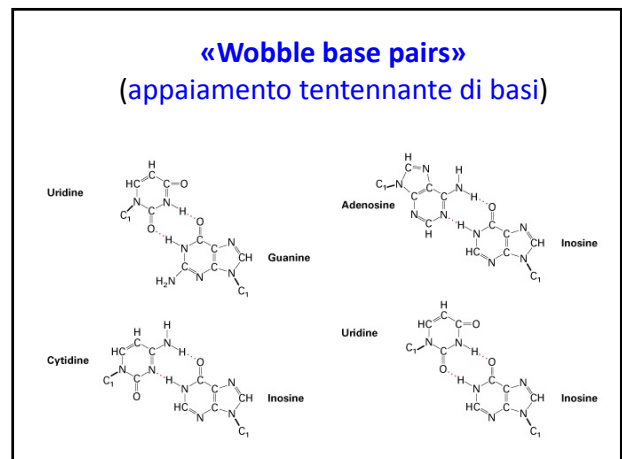
Phenylalanine tRNA pairing



Alanyl tRNA pairing



L'accoppiamento delle basi nella 3^o posizione del codone è rilassata, permettendo a G di appaiarsi con U, e all'inosina (I) dell'anticodone di appaiarsi con U, C oppure A. Sono illustrati due esempi di appaiamenti tra basi anomali, che permettono alla Phe-tRNA (tRNA che trasporta la fenilalanina) di riconoscere sia i codoni UUC che UUU, e al Ala-tRNA (tRNA che trasporta l'alanina) di riconoscere GCU, GCC e GCA.



3' 5' Identical leucine tRNAs
 G A G Normal pairing
 mRNA C U C 5'... 3'
 3' 5' Wobble pairing
 G A G
 mRNA C U U 5'... 3'

- L'appaiamento dell'anticodone del tRNA con il codone del mRNA procede a partire dall'estremità 5' del codone sul mRNA.
- Una volta che le prime due posizioni sono appaiate, non è più fondamentale che l'appaiamento nella terza posizione sia esatto.
- La terza (5') base dell'anticodone è in grado di appaiarsi con qualsiasi membro della purina o pirimidina nel codone: esso tentenna ("wobbles").
- In questo esempio, la purina G può appaiarsi sia con la pirimidina U che C. Ciò permette che il mRNA sia tradotto con meno dei 64 tRNA che sarebbero necessari senza "wobble".
- Alcune posizioni di "wobble" possono appaiarsi con qualsiasi della quattro basi.

http://www.mun.ca/biology/scarr/Gen3_06-08.html

3' 5' Identical Leucine tRNAs
 G A G Normal pairing
 5'... 3' C U U
 3' 5' Wobble pairing
 G A G
 5'... 3' C U A
 Glycine codons
 3' 5' Identical Glycine tRNAs
 C C U Indosine
 G C U
 C C C
 G G C
 G G A

«Wobbling»

Gli stessi tRNA (stesso anticodone) possono riconoscere codoni diversi che codificano per lo stesso aminoacido

3' 5' Identical Leucine tRNAs
 G A G Normal pairing
 mRNA C U C 5'... 3'
 3' 5' Wobble pairing
 G A G
 mRNA C U U 5'... 3'
 3' 5' Wobble pairing
 G A G
 mRNA C U A 5'... 3'
 Glycine codons
 3' 5' Identical Glycine tRNAs
 C C U Indosine
 G C U
 C C C
 G G C
 G G A

Nucleotide at 5' end of anticodon	Nucleotide at 3' end of anticodon
G	> U or C
C	> G
A	> U
U	> A or G
I (inosine)	> A, U or C

Amino acids with one codon
 AUG UGG Met, Trp
 Amino acids with two codons
 AAA AAC CAA CAC GAA AAG AAU CAG CAU GAG Lys, Asn, Gln, His, Glu
 GAC UAC UGC UUG GAU UAU UGU UUU Asp, Thr, Cys, Phe
 Amino acids with three codons
 AUA AUC AUU Ile
 Amino acids with four codons
 AGA CCA GCA GGA GUA ACC CCC GCC GAC GUC ACG CCC GCG GGG GAG ACU CCU GCU GGU GUU Thr, Pro, Ala, Gly, Val
 Amino acids with six codons
 CGA AGA CUA UUA UCA AGC CAC AAG CUC UUG UCC AGU GCG CUG UCG CGU CUU UCU Arg, Leu, Ser

Aminoacil tRNA sintetasi

Aminoacyl-tRNA synthetase + Amino acid + ATP
 ① → PP_i Pyrophosphatase → 2 P_i + AMP
 Synthetase complexed with aminoacyl-AMP
 ② + tRNA → Aminoacyl-tRNA + AMP
 CCA end of tRNA
 Class II synthetase
 Class I synthetase
 H-C-R
 NH₂

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21603/figure/A883/>

AMINOACILAZIONE DEL tRNA

- ✚ Gli aminoacidi sono legati covalentemente ai tRNAs mediante tRNA sintetasi.
- ✚ Ciascuno di questi enzimi riconosce un tipo di aminoacido e tutti i corrispondenti tRNA che riconoscono i codoni che specificano tale aminoacido.
- ✚ La reazione in due passi di aminoacilazione richiede energia derivata dall'idrolisi di ATP.
- ✚ L'equilibrio della reazione globale favorisce i prodotti evidenziati dato che il pirofosfato (PPi) rilasciato nel passo 1 viene convertito in fosfato inorganico (Pi) da una pirofosfatasi.
- ✚ L'estremità 3' di tutti i tRNA, alla quale si lega l'aminoacido, ha la sequenza CCA.
- ✚ Le sintetasi di classe I (porpora) collegano l'aminoacido al gruppo idrossile all'estremità 2' dell'adenilato terminale nel ; le sintetasi di classe II (verde) collegano l'aminoacido all'idrossile 3

Aminoacil –tRNA sintetasi

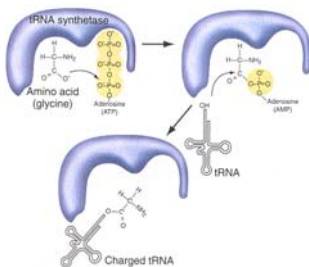
(info supplementari -1)

- ✚ Il riconoscimento del codone o dei codoni che specificano per un determinato aminoacido da parte di un particolare tRNA è di fatto il secondo passo della **decodificazione del messaggio genetico**.
- ✚ Il primo passo, ossia il **collegamento dell'aminoacido appropriato ad un tRNA**, è catalizzato da una **aminoacil-tRNA sintetasi** specifica.
- ✚ Ciascuna delle **20** sintetasi differenti **riconosce un solo aminoacido e tutti i suoi tRNA compatibili** («cognate tRNAs»).

Adattato da: Lodish et al. «Molecular cell Biology» 7ª ed., W.H. Freeman and Co.

Aminoacil –tRNA sintetasi

(info supplementari -2)



<http://www.cs.stedwards.edu/chem/Chemistry/CHEM43/CHEM43/tRNA/Function.htm>

Aminoacil –tRNA sintetasi

(info supplementari -3)

- ✚ Questi enzimi collegano un aminoacido al gruppo idrossilico (-OH) libero in posizione 2' o 3' dell'adenosina che si trova all'estremità 3' delle molecole di tRNA mediante una reazione che richiede ATP.
- ✚ L'aminoacido viene collegato al tRNA mediante un legame ad alta energia, ossia viene «attivato».
- ✚ L'energia di questo legame viene in seguito sfruttata per guidare la formazione di legami peptidici che collegano aminoacidi adiacenti in una catena polipeptidica in crescita.
- ✚ Le aminoacil-tRNA sintetasi riconoscono i loro tRNA corrispondenti mediante interazioni soprattutto con il loop contenente l'anticodone e con lo stesso accettore dell'aminoacido

Adattato da: Lodish et al. «Molecular cell Biology» 7ª ed., W.H. Freeman and Co.