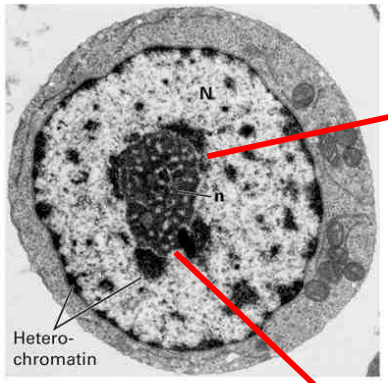
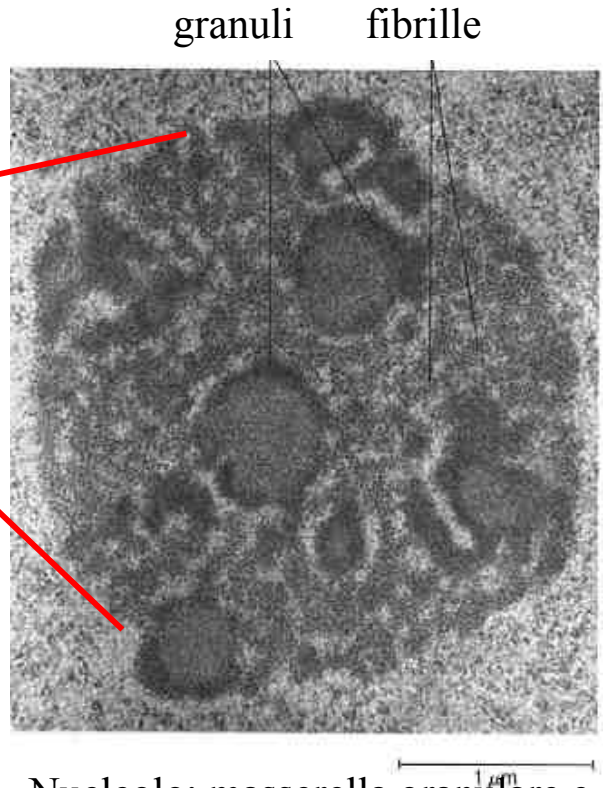
rRNA

NUCLEOLO

Molti nuclei, contengono una o più strutture estremamente dense chiamate nucleoli, che sono i siti di sintesi dell' **RNA ribosomico** e dell' assemblaggio delle **subunità ribosomali**.



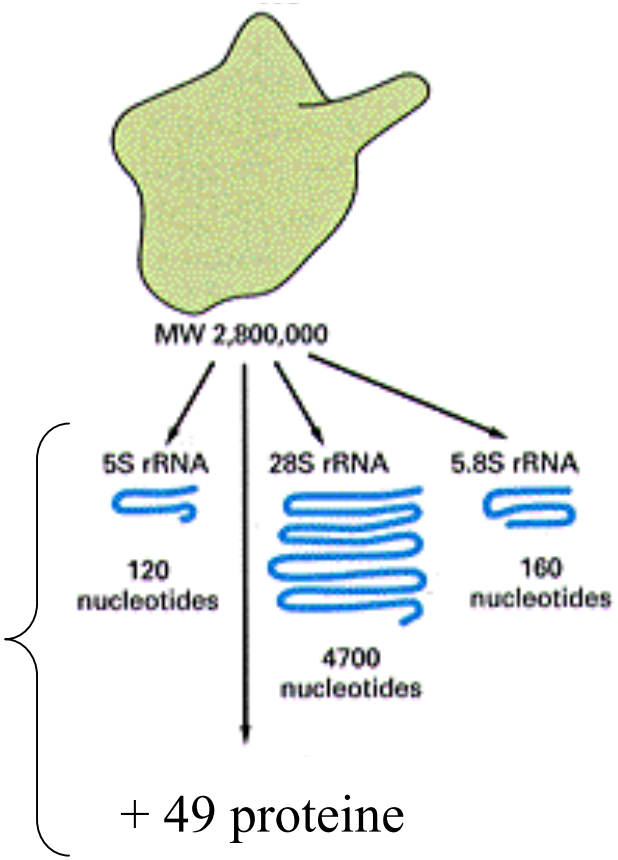
I nucleoli sono strutture eterogenee in cui le aree più pallide rappresentano i siti del DNA che codificano per l'rRNA e le aree scure i siti di assemblaggio delle subunità ribosomali. Ogni tipo cellulare ha una caratteristica forma del nucleo e, in generale, il livello di attività di ogni cellula può essere desunto dall'aspetto ultrastrutturale del suo nucleo. Le cellule relativamente inattive hanno un nucleo piccolo, in cui la cromatina è prevalentemente in forma addensata (eterocromatina) ed in cui il nucleolo è piccolo o assente, mentre nelle cellule molto attive da un punto di vista della sintesi proteica, il materiale nucleare è disperso (eucromatina) ed i nucleoli sono molto evidenti.



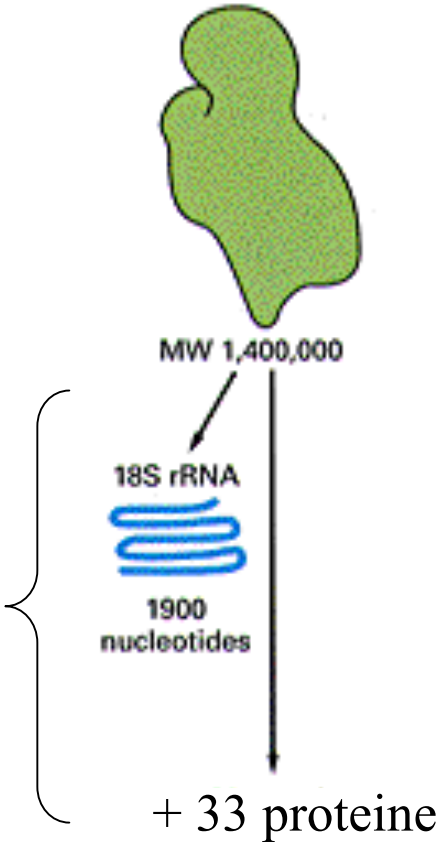
Nucleolo: masserella granulare e fibrillare dai contorni irregolari non rivestita da citomembrane. Costituito da: parte (RNA e proteine) parte fibrillare 5-10 nm diametro (DNA ed RNA) parte amorfa proteica nucleoscheletro

Le due subunità ribosomali sono formate nel nucleolo dall'associazione tra rRNA e proteine

Composizione della grande subunità ribosomale =60S



Composizione della piccola subunità ribosomale =40S



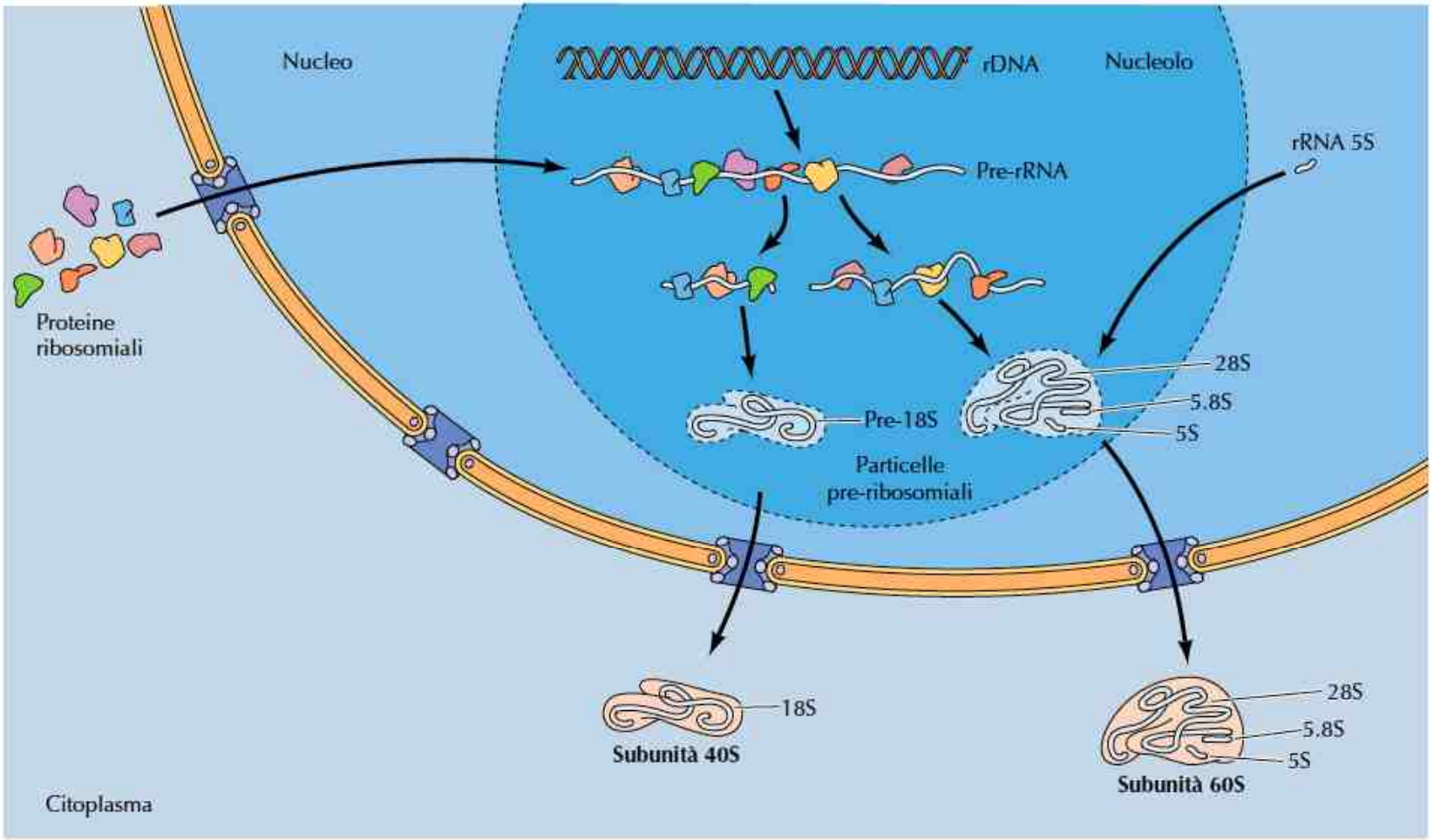


FIGURA 9.31 Assemblaggio dei ribosomi Le proteine ribosomiali sono importate dal citoplasma al nucleolo e iniziano ad associarsi al pre-rRNA prima che cominci la sua maturazione. Nel corso della maturazione del pre-rRNA, altre proteine ribosomiali e l'rRNA 5S (che viene sintetizzato in altra sede nel nucleo) si uniscono a formare particelle pre-ribosomiali. Le fasi finali di maturazione avvengono dopo il passaggio delle particelle pre-ribosomiali nel citoplasma e portano alla formazione delle subunità ribosomiali 40S e 60S.

altri RNA

snRNA

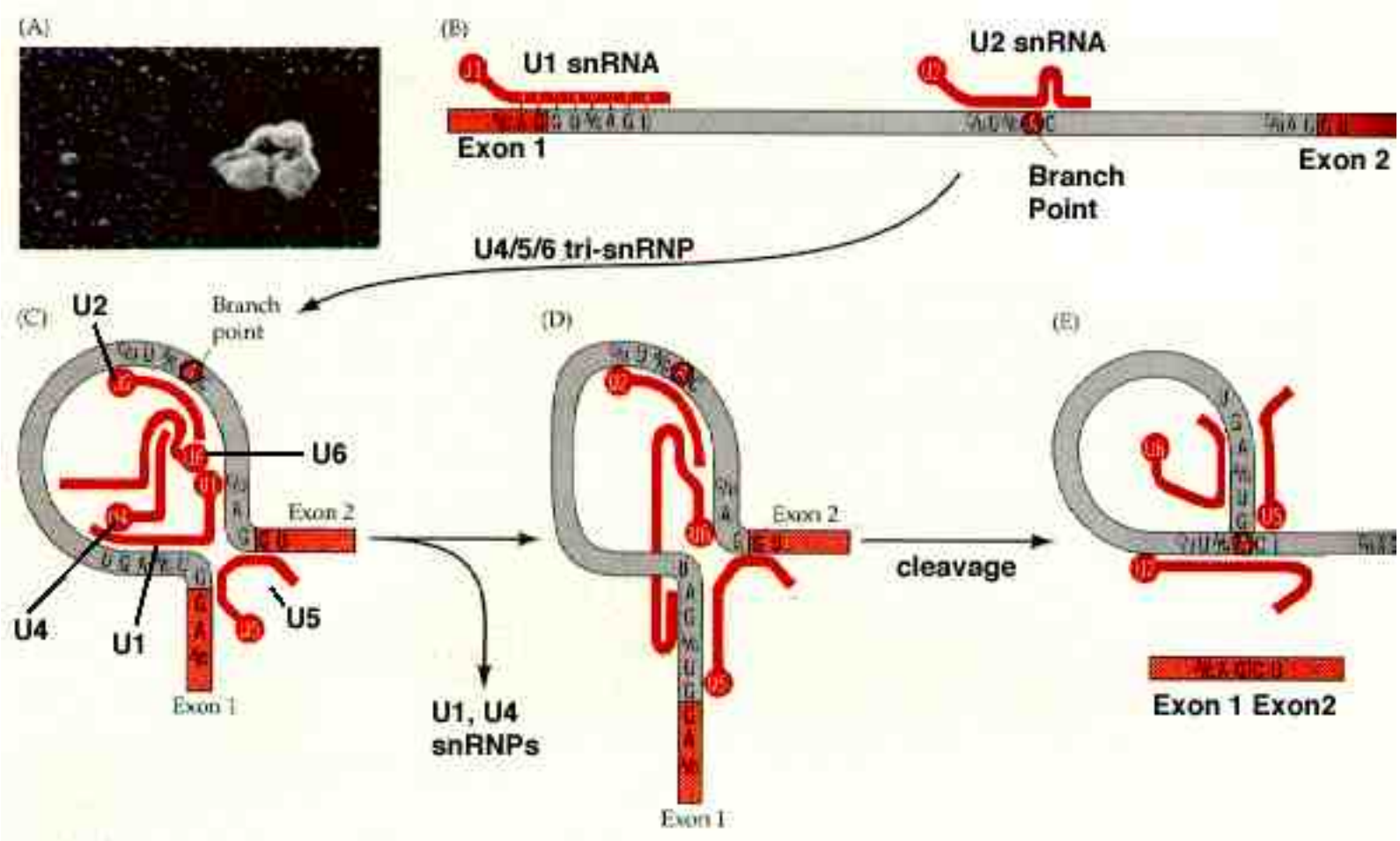
Per small nuclear RNA (piccolo RNA nucleare, abbreviato come snRNA) si intende una piccola molecola di acido ribonucleico, solitamente molto ricca di uracile, che partecipa alla maturazione dell'mRNA. La localizzazione degli snRNA è tipicamente nel nucleo eucariote.

Gli snRNA, trascritti dalla RNA polimerasi II o dalla RNA polimerasi III, sono coinvolti in una serie di importanti processi come lo splicing (la rimozione degli introni dal pre-mRNA), la regolazione dei fattori di trascrizione (7SK RNA) o della stessa RNA polimerasi II (B2 RNA) o il mantenimento dei telomeri.

Le snRNP formano lo spliceosoma, cioè quell'insieme di particelle che contribuiscono allo splicing di un tratto della catena di mRNA.

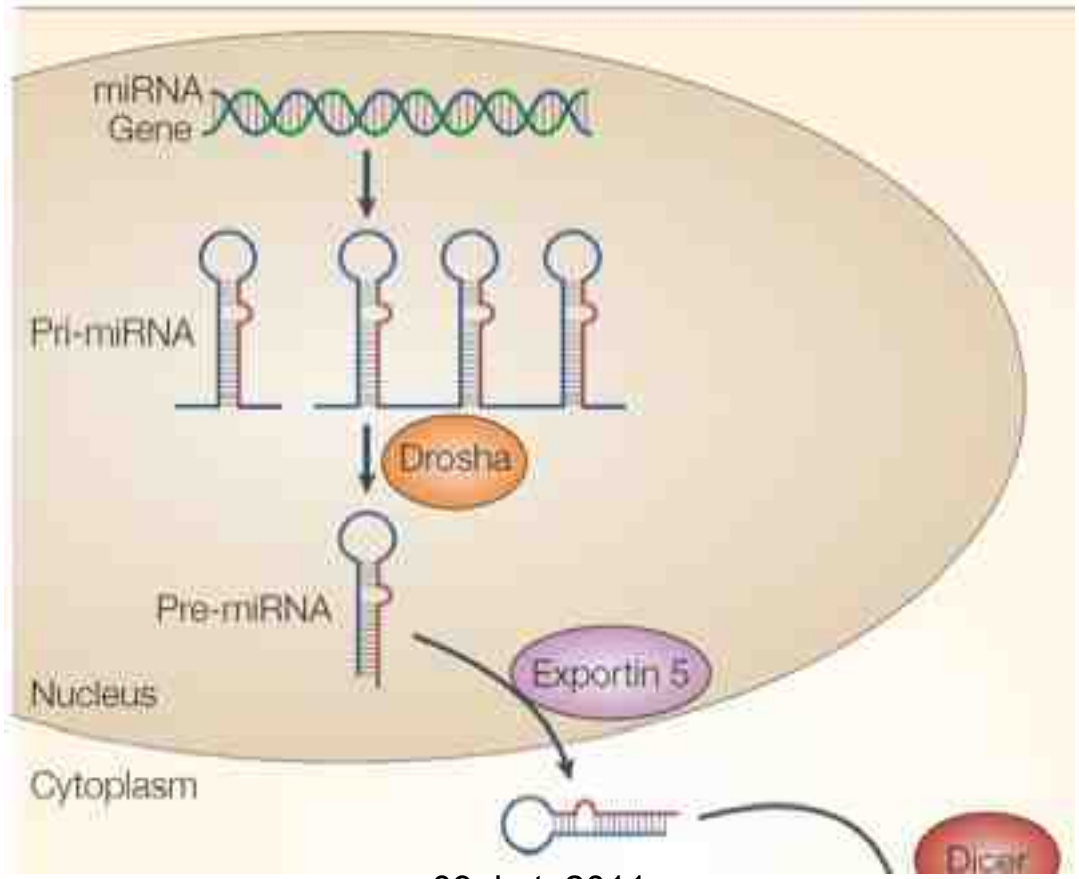
snRNA

Regulation of splicing



miRNA

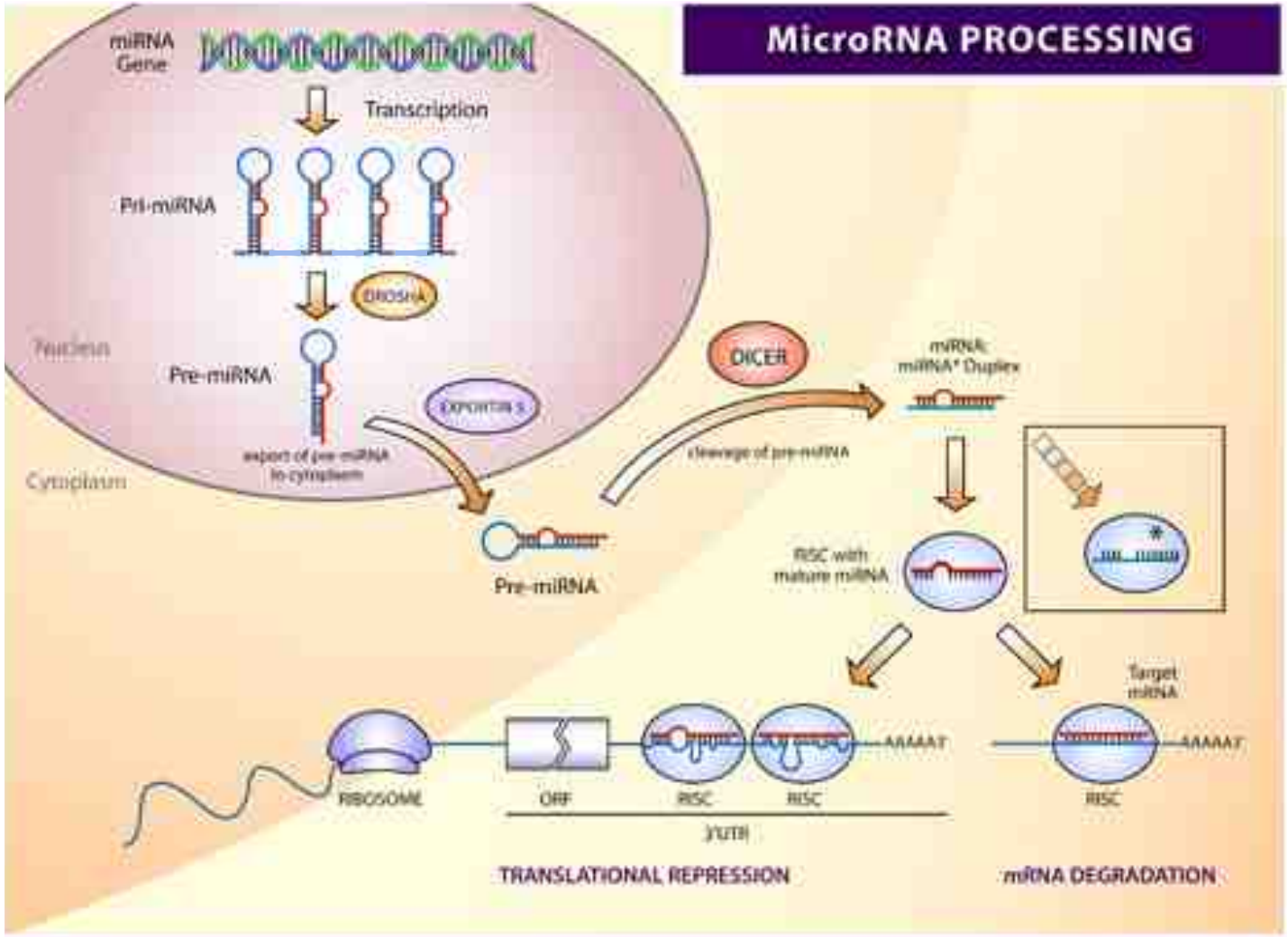
I miRNAs sono piccole molecole di RNA (microRNA), a singolo filamento di 20-22 nucleotidi che svolgono diverse funzioni, la più nota attualmente è una regolazione post-trascrizionale.



Modifiche citoplasmatiche degli RNA

miRNA

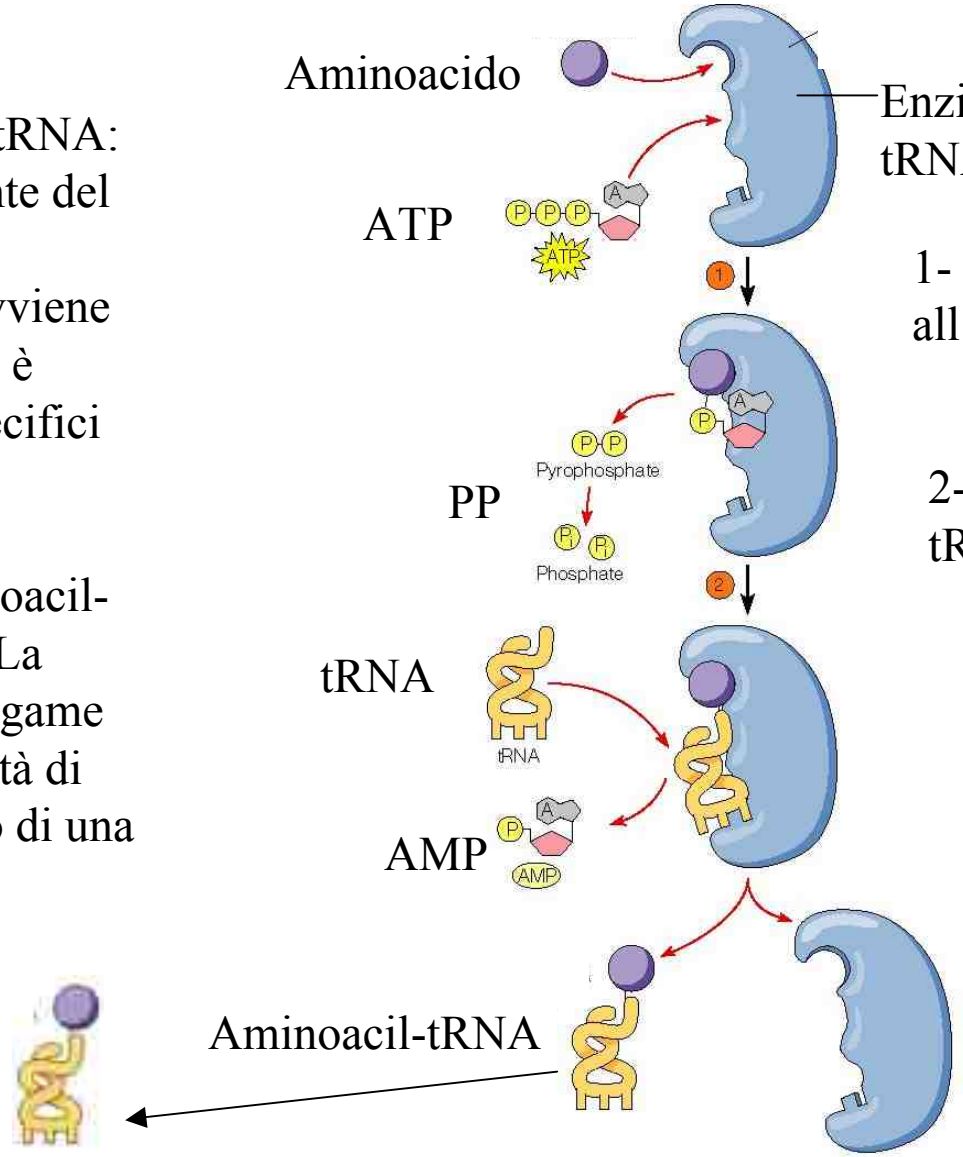
I pre-miRNAs sono uleriormente tagliati per formare miRNA maturi che portano alla degradazione o al blocco della traduzione degli mRNA ai quali si ibridano.



tRNA

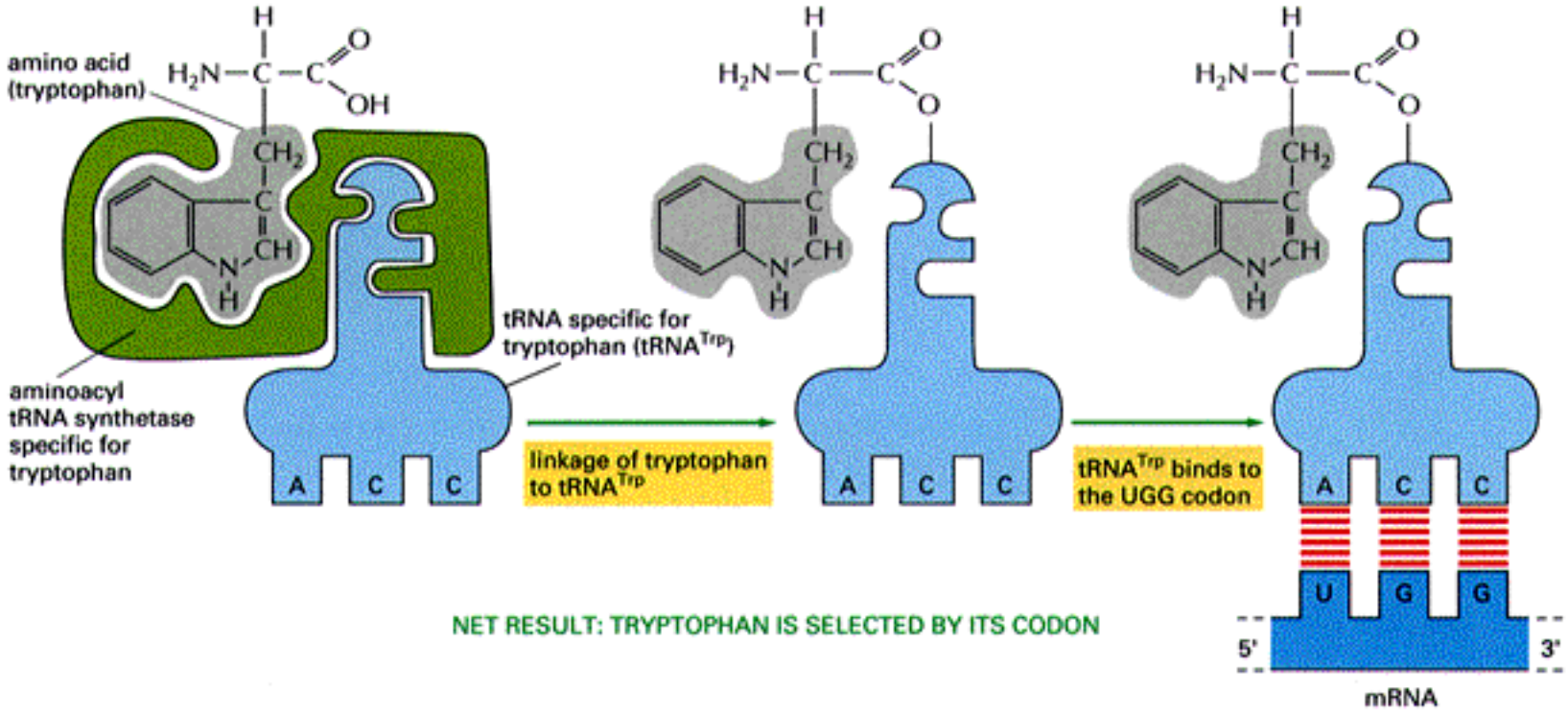
Marurazione del tRNA: Il legame covalente del tRNA all'a.a.

Marurazione del tRNA: Il legame covalente del tRNA all'a.a. corrispondente avviene nel citoplasma ed è catalizzato da specifici enzimi chiamati aminoacil-tRNA-trasferasi (o aminoacil-tRNA-sintetasi). La formazione del legame covalente necessità di energia: consumo di una molecola di ATP



tRNA

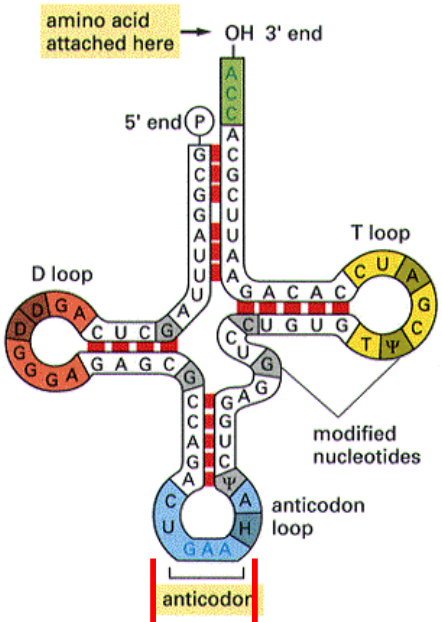
Ci sono altre tanto enzimi aminoacyl tRNA synthetase quanti sono i tRNA



From The Art of MBoC^3 © 1995 Garland Publishing, Inc.

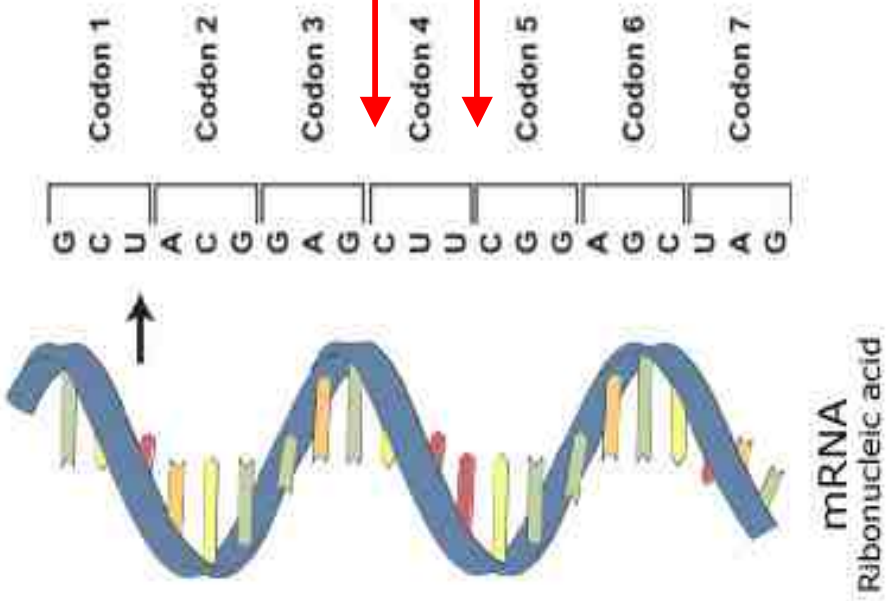
Traduzione e indirizzamento delle proteine

Traduzione



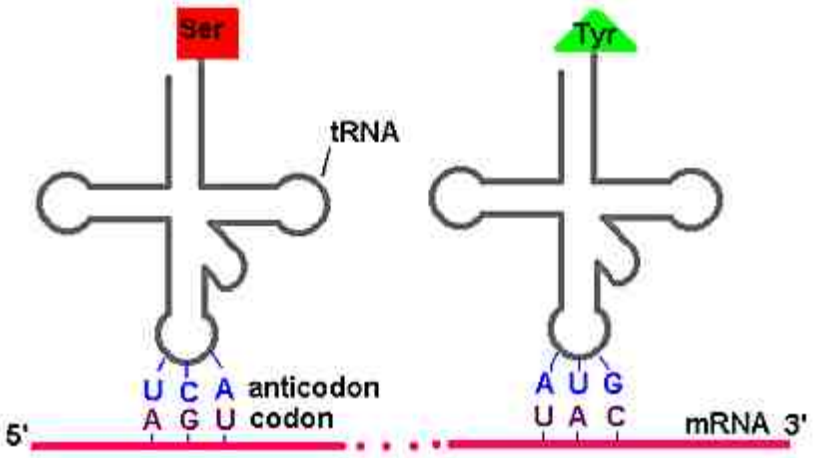
tRNA

Traduzione:
mRNA -------> proteine



mRNA

Genetic code



2nd base in codon

1st base in codon	U	C	A	G	3rd base in codon
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	STOP	STOP	A
	Leu	Ser	STOP	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

codone di inizio = AUG =Metionina =Met

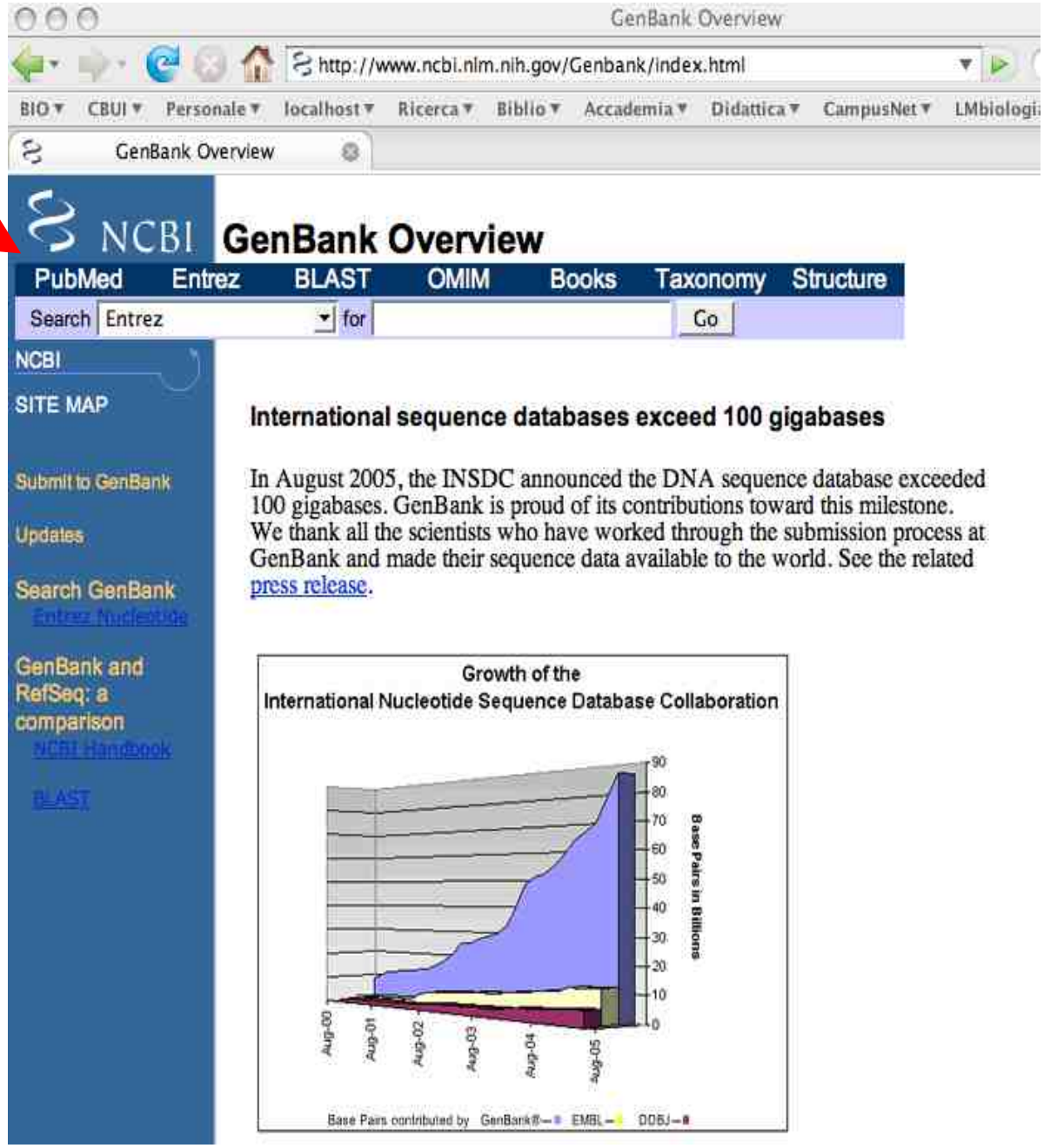
	T			C			A			G		
T	TTT	Phe	F	TCT	Ser	S	TAT	Tyr	Y	TGT	Cys	C
	TTC	Phe	F	TCC	Ser	S	TAC	Tyr	Y	TGC	Cys	C
	TTA	Leu	L	TCA	Ser	S	TAA	stop	*	TGA	stop	*
	TTG	Leu	L	TCG	Ser	S	TAG	stop	*	TGG	Trp	W
C	CTT	Leu	L	CCT	Pro	P	CAT	His	H	CGT	Arg	R
	CTC	Leu	L	CCC	Pro	P	CAC	His	H	CGC	Arg	R
	CTA	Leu	L	CCA	Pro	P	CAA	Gln	Q	CGA	Arg	R
	CTG	Leu	L	CCG	Pro	P	CAG	Gln	Q	CGG	Arg	R
A	ATT	Ile	I	ACT	Thr	T	AAT	Asn	N	AGT	Ser	S
	ATC	Ile	I	ACC	Thr	T	AAC	Asn	N	AGC	Ser	S
	ATA	Ile	I	ACA	Thr	T	AAA	Lys	K	AGA	Arg	R
	ATG	Met	M	ACG	Thr	T	AAG	Lys	K	AGG	Arg	R
G	GTT	Val	V	GCT	Ala	A	GAT	Asp	D	GGT	Gly	G
	GTC	Val	V	GCC	Ala	A	GAC	Asp	D	GGC	Gly	G
	GTA	Val	V	GCA	Ala	A	GAA	Glu	E	GGA	Gly	G
	GTG	Val	V	GCG	Ala	A	GAG	Glu	E	GGG	Gly	G

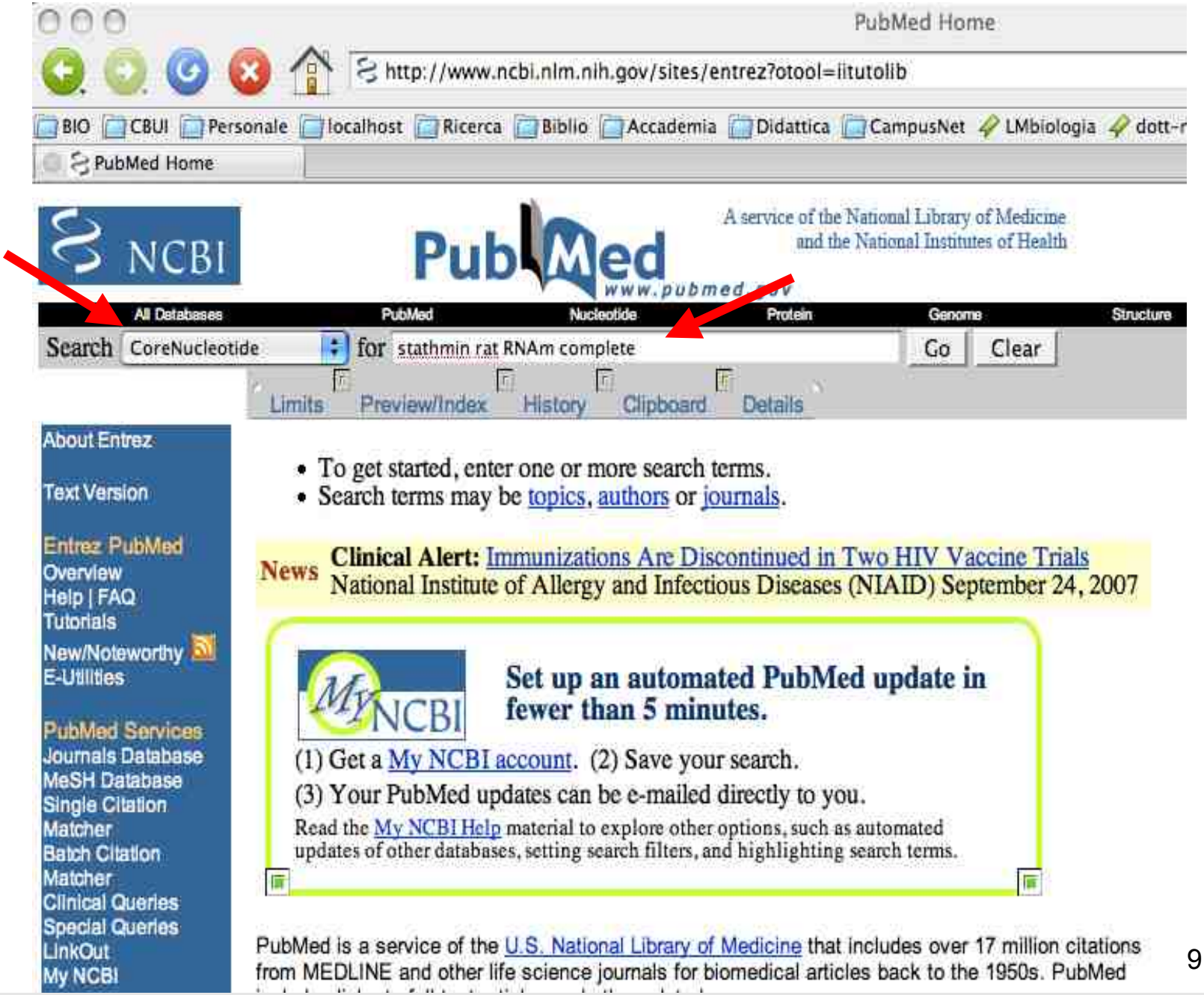
GCA GCC GCG GCU	AGA AGG CGA CGC CGG CGU	GAC GAU	AAC AAU	UGC UGU	GAA GAG	CAA CAG	GGA GGC GGG GGU	CAC CAU	AUA AUC AUU	UUA UUG CUA CUC CUG CUU	AAA AAG	AUG	UUC UUU	CCA CCC CCG CCU	AGC AGU UCA UCC UCG UCU	ACA ACC ACG ACU	UGG	UAC UAU	GUA GUC GUG GUU	UAA UAG UGA
Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Ile	Leu	Lys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

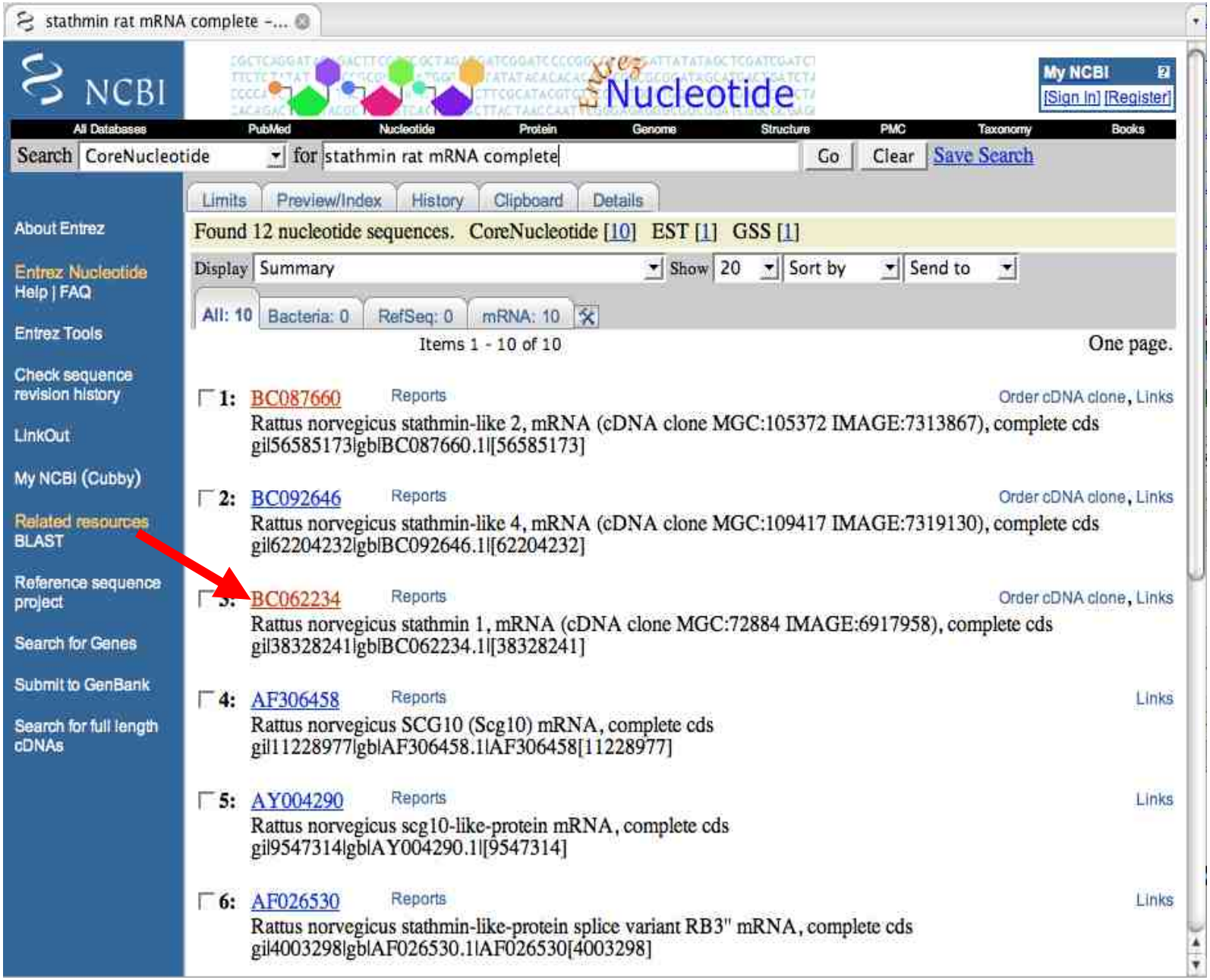
M A G L T A .....

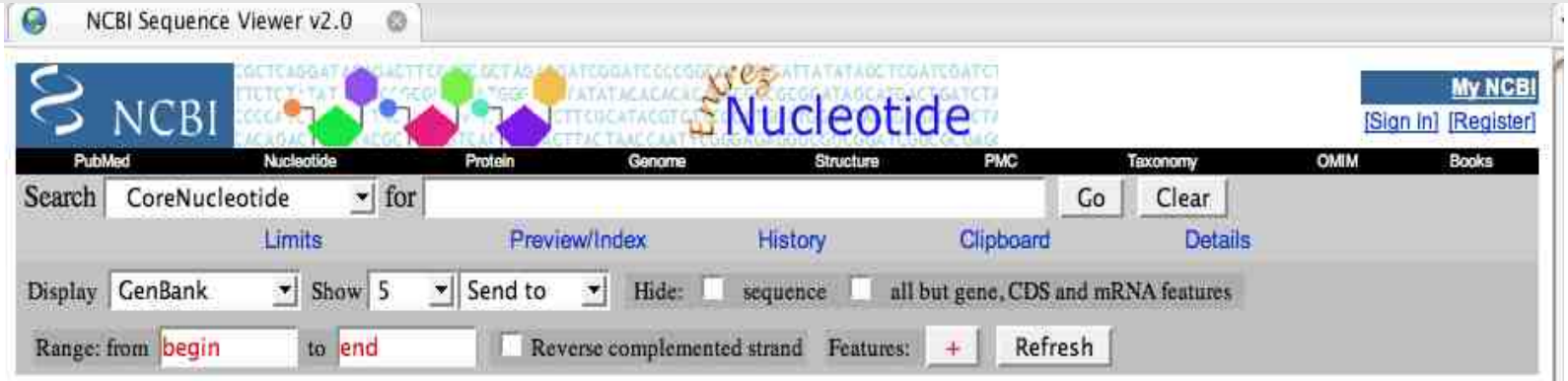
```
   1 atggcgggtc tgacggcggc ggccccgcgg cccggagtcc tcctgctcct gctg
  61 ctccaccccc ctcggcctgg aggggtccct ggggccattc ctggtggagt tcct
 121 gtcttttatc cagggggctgg tctcggagcc cttggaggag gagcgctggg gcct
 181 aaacctctta agccagttcc cggagggctt gcgggtgctg gccttggggc aggg
 241 gccttccccg cagttacctt tccgggggct ctggtgcctg gtggagtggc tgac
 301 gcagcctata aagctgctaa ggctggcgct gggcttggtg gtgtcccagg agtt
 361 ttaggagtgt ctgcaggtgc ggtggttcct cagcctggag ccggagtgaa gcct
 421 gtgccgggtg tggggctgcc aggtgtatac ccaggtggcg tgctcccagg agct
 481 cccggtgtgg gggtgctccc tggagttccc actggagcag gagttaagcc caag
 541 ggtgtaggtg gagcttttgc tggaatccca ggagttggac cctttggggg accg
 601 ggagtcccac tggggtatcc catcaaggcc cccaagctgc ctggtggcta tgga
 661 tacaccacag ggaaactgcc ctatggctat gggcccggag gagtggctgg tgca
 721 aaggctggtt acccaacagg gacaggggtt ggcccccagg cagcagcagc agcg
 781 aaagcagcag caaagttcgg tgctggagca gccggagtcc tccctggtgt tgga
 841 ggtgttcctg gcgtgcctgg ggcaattcct ggaattggag gcatcgcagg cgtt
```

Come raggiungere le informazioni contenute nelle banche dati?










```
LOCUS       BC062234               1138 bp    mRNA    linear   ROD 20-OCT-2004
DEFINITION  Rattus norvegicus stathmin 1, mRNA (cDNA clone MGC:72884
            IMAGE:6917958), complete cds.
ACCESSION   BC062234
VERSION     BC062234.1  GI:38328241
KEYWORDS    MGC.
SOURCE      Rattus norvegicus (Norway rat)
  ORGANISM  Rattus norvegicus
            Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
            Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Glires; Rodentia;
            Sciurognathi; Muroidea; Muridae; Murinae; Rattus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 1138)
  AUTHORS   Strausberg,R.L., Feingold,E.A., Grouse,L.H., Derge,J.G.,
            Klausner,R.D., Collins,F.S., Wagner,L., Shenmen,C.M., Schuler,G.D.,
            Altschul,S.F., Zeeberg,B., Buetow,K.H., Schaefer,C.F., Bhat,N.K.,
            Hopkins,R.F., Jordan,H., Moore,T., Max,S.I., Wang,J., Hsieh,F.,
            Diatchenko,L., Marusina,K., Farmer,A.A., Rubin,G.M., Hong,L.,
            Stapleton,M., Soares,M.B., Bonaldo,M.F., Casavant,T.L.,
            Scheetz,T.E., Brownstein,M.J., Usdin,T.B., Toshiyuki,S.,
            Carninci,P., Prange,C., Raha,S.S., Loquellano,N.A., Peters,G.J.,
            Abramson,R.D., Mullahy,S.J., Bosak,S.A., McEwan,P.J.,
            McKernan,K.J., Malek,J.A., Gunaratne,P.H., Richards,S.,
            Worley,K.C., Hale,S., Garcia,A.M., Gay,L.J., Hulyk,S.W.,
            Villalon,D.K., Muzny,D.M., Sodergren,E.J., Lu,X., Gibbs,R.A.,
            Fahey,J., Helton,E., Ketteman,M., Madan,A., Rodrigues,S.,
            Sanchez,A., Whiting,M., Madan,A., Young,A.C., Shevchenko,Y.,
            Bouffard,G.G., Blakesley,R.W., Touchman,J.W., Green,E.D.,
            Dickson,M.C., Rodriguez,A.C., Grimwood,J., Schmutz,J., Myers,R.M.,
            Butterfield,Y.S., Krzywinski,M.I., Skalska,U., Smailus,D.E.,
            Schnerch,A., Schein,J.E., Jones,S.J. and Marra,M.A.
  TITLE     Generation and initial analysis of more than 15,000 full-length
            human and mouse cDNA sequences
```

```
                human and mouse cDNA sequences
  JOURNAL       Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 (26), 16899-16903 (2002)
   PUBMED       12477932
REFERENCE       2  (bases 1 to 1138)
  AUTHORS       Director MGC Project.
  TITLE         Direct Submission
  JOURNAL       Submitted (13-NOV-2003) National Institutes of Health, Mammalian
                Gene Collection (MGC), Cancer Genomics Office, National Cancer
                Institute, 31 Center Drive, Room 11A03, Bethesda, MD 20892-2590,
                USA
  REMARK        NIH-MGC Project URL: http://mgc.nci.nih.gov
COMMENT         Contact: MGC help desk
                Email: cgapbs-r@mail.nih.gov
                Tissue Procurement: John C. Marshall, M.D., Ph.D
                cDNA Library Preparation: CLONTECH Laboratories, Inc.
                cDNA Library Arrayed by: The I.M.A.G.E. Consortium (LLNL)
                DNA Sequencing by: Genome Sequence Centre,
                BC Cancer Agency, Vancouver, BC, Canada
                info@bcgsc.bc.ca
                Steve Jones, Sarah Barber, Mabel Brown-John, Yaron Butterfield,
                Andy Chan, Steve S. Chand, William Chow, Alison Cloutier, Ruth
                Featherstone, Malachi Griffith, Obi Griffith, Ran Guin, Nancy Liao,
                Kim MacDonald, Amara Masson, Mike R. Mayo, Josh Moran, Ryan Morin,
                Teika Olson, Diana Palmquist, Anca Petrescu, Anna Liisa Prahbu,
                Parvaneh Saeedi, JR Santos, Angelique Schnerch, Ursula Skalska,
                Duane Smailus, Jeff Stott, Miranda Tsai, George Yang, Jacquie
                Schein, Asim Siddiqui, Rob Holt, Marco Marra.

                Clone distribution: MGC clone distribution information can be found
                through the I.M.A.G.E. Consortium/LLNL at: http://image.llnl.gov
                Series: IRAL Plate: 52 Row: h Column: 14
                This clone was selected for full length sequencing because it
                passed the following selection criteria: matched mRNA gi: 8393695.
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1138
                     /organism="Rattus norvegicus"
                     /mol_type="mRNA"
                     /db_xref="taxon:10116"
                     /clone="MGC:72884 IMAGE:6917958"
                     /tissue_type="Pituitary gland, anterior, rat"
                     /clone_lib="NICHD_Rr_Pit1"
                     /lab_host="DH10B"
                     /note="Vector: pDNR-LIB"
     gene            1..1138
                     /gene="Stmn1"
                     /note="synonyms: Lap18, OP18, prosolin, stathmin, PR22,
                     PP17, SMN, PP19"
                     /db_xref="GeneID:29332"
```

```
                     /gene="Stmn1"
                     /note="synonyms: Lap18, OP18, prosolin, stathmin, PR22,
                     PP17, SMN, PP19"
                     /db_xref="GeneID:29332"
                     /db_xref="RATMAP:44620"
                     /db_xref="RGD:2992"
     CDS             94..543
                     /gene="Stmn1"
                     /codon_start=1
                     /product="Stmn1 protein"
                     /protein_id="AAH62234.1"
                     /db_xref="GI:38328242"
                     /db_xref="GeneID:29332"
                     /db_xref="RATMAP:44620"
                     /db_xref="RGD:2992"
                     /translation="MASSDIQVKELEKRASGQAFELILSPRSKESVPEFPLSPPKKKD
                     LSLEEIQKKLEAAEERRKSHEAEVLKQLAEKREHEKEVLQKAIEENNNFSKMAEEKLT
                     HKMEANKENREAQMAAKLERLREKDKHVEEVRKNKESKDPADETEAD"
ORIGIN
        1 ggggagtgtg gccaggcggc tcggactgag cagggctttc cttgccagtg gattgtgtag
       61 agtgtacagc cagtctcttg tcttctgtcc aacatggcat cttctgatat tcaggtgaaa
      121 gagctggaga agcgtgcttc cggccaggct tttgagctga ttctcagccc tcgatcaaaa
      181 gaatctgtcc ccgagttccc cctttccccc ccaaagaaga aggatctttc cctggaggaa
      241 attcagaaga aattagaagc tgcagaagaa agacgcaagt ctcatgaagc agaagtcttg
      301 aagcagctcg ctgagaagcg ggagcatgaa aaagaagtgc tccagaaagc cattgaggag
      361 aacaacaact tcagcaaaat ggcagaggag aaactgaccc acaaaatgga ggctaacaaa
      421 gagaaccggg aggcgcaaat ggctgccaag ctggagcgtt tgcgagagaa ggacaagcac
      481 gttgaagagg tgcggaagaa caaagaatcc aaagaccccg cggacgagac cgaggctgac
      541 taagttgttc cgagaactga ctttctcccc gacccccttcc taaatatcca aagactgtac
      601 tggccagtgt catttacttt ttccctcctg acaaatattc tagaagctga tgtaggaccg
      661 tataggtaga tccagaccgt gagatgtttt aggggctcaa ggggagaaac tgaaagtgtt
      721 ttgctctttt ttaaagtgtt ggtctttcta acgtagctat ttttctcgtt gcatcttttc
      781 ctctcgggca cactcggtgt gctgggttaa tggctagtgc tgtattgact gtggaagacg
      841 ttcgtgaaga gtatgtagtg gcttcttcca acccattaga tgctgagtat ctgttcactt
      901 tgcgatccca attctgtccc aatctcacca gatgctactg tacttgaatg gttaataaac
      961 tgcacagtgc tgttgaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
     1021 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
     1081 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagcaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa
//
```

Sequenza aminoacidica

Sequenza nucleotidica

CDS 94..543

Codone di inizio: nucleotidi 94-96

N-term

5’

/translation="MASSDIQVKELEKRASGQAFELILSPRSKESVPEFPLSPPKKKD
LSLEEIQKKLEAAEERRKSHEAEVLKQLAEKREHEKEVLQKAIEENNNFSKMAEEKLT
HKMEANKENREAQMAAKLERLREKDKHVEEVRKNKESKDPADETEAD"

C-term

Capping

```
   1 ggggagtgtg gccaggcggc tcggactgag cagggctttc cttgccagtg gattgtgtag
  61 agtgtacagc cagtctcttg tcttctgtcc aacatggcat cttctgatat tcaggtgaaa
 121 gagctggaga agcgtgcttc cggccaggct tttgagctga ttctcagccc tcgatcaaaa
 181 gaatctgtcc ccgagttccc cctttccccc ccaaagaaga aggatctttc cctggaggaa
 241 attcagaaga aattagaagc tgcagaagaa agacgcaagt ctcatgaagc agaagtcttg
 301 aagcagctcg ctgagaagcg ggagcatgaa aaagaagtgc tccagaaagc cattgaggag
 361 aacaacaact tcagcaaaat ggcagaggag aaactgaccc acaaaatgga ggctaacaaa
 421 gagaaccggg aggcgcaaat ggctgccaag ctggagcgtt tgcgagagaa ggacaagcac
 481 gttgaagagg tgcggaagaa caaagaatcc aaagaccccg cggacgagac cgaggctgac
 541 taagttgttc cgagaactga ctttctcccc gaccccttcc taaatatcca aagactgtac
 601 tggccagtgt catttacttt ttccctcctg acaaatattc tagaagctga tgtaggaccg
 661 tataggtaga tccagaccgt gagatgtttt aggggctcaa ggggagaaac tgaaagtgtt
 721 ttgctctttt ttaaagtgtt ggtctttcta acgtagctat ttttctcgtt gcatcttttc
 781 ctctcgggca cactcggtgt gctgggttaa tggctagtgc tgtattgact gtggaagacg
 841 ttcgtgaaga gtatgtagtg gcttcttcca acccattaga tgctgagtat ctgttcactt
 901 tgcgatccca attctgtccc aatctcacca gatgctactg tacttgaatg gttaataaac
 961 tgcacagtgc tgttgaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
1021 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
1081 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagcaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa
```

//

//

3’

Codone di STOP: nucleotidi 541-543

polyA

Ribosomi e sintesi proteica

The Nobel Prize in Chemistry 2009

"for studies of the structure and function of the ribosome"

Photo: MRC Laboratory of Molecular Biology

Venkatraman Ramakrishnan

1/3 of the prize

United Kingdom

MRC Laboratory of Molecular Biology
Cambridge, United Kingdom

Credits: Michael Marsland/Yale University

Thomas A. Steitz

1/3 of the prize

USA

Yale University
New Haven, CT, USA; Howard Hughes Medical Institute

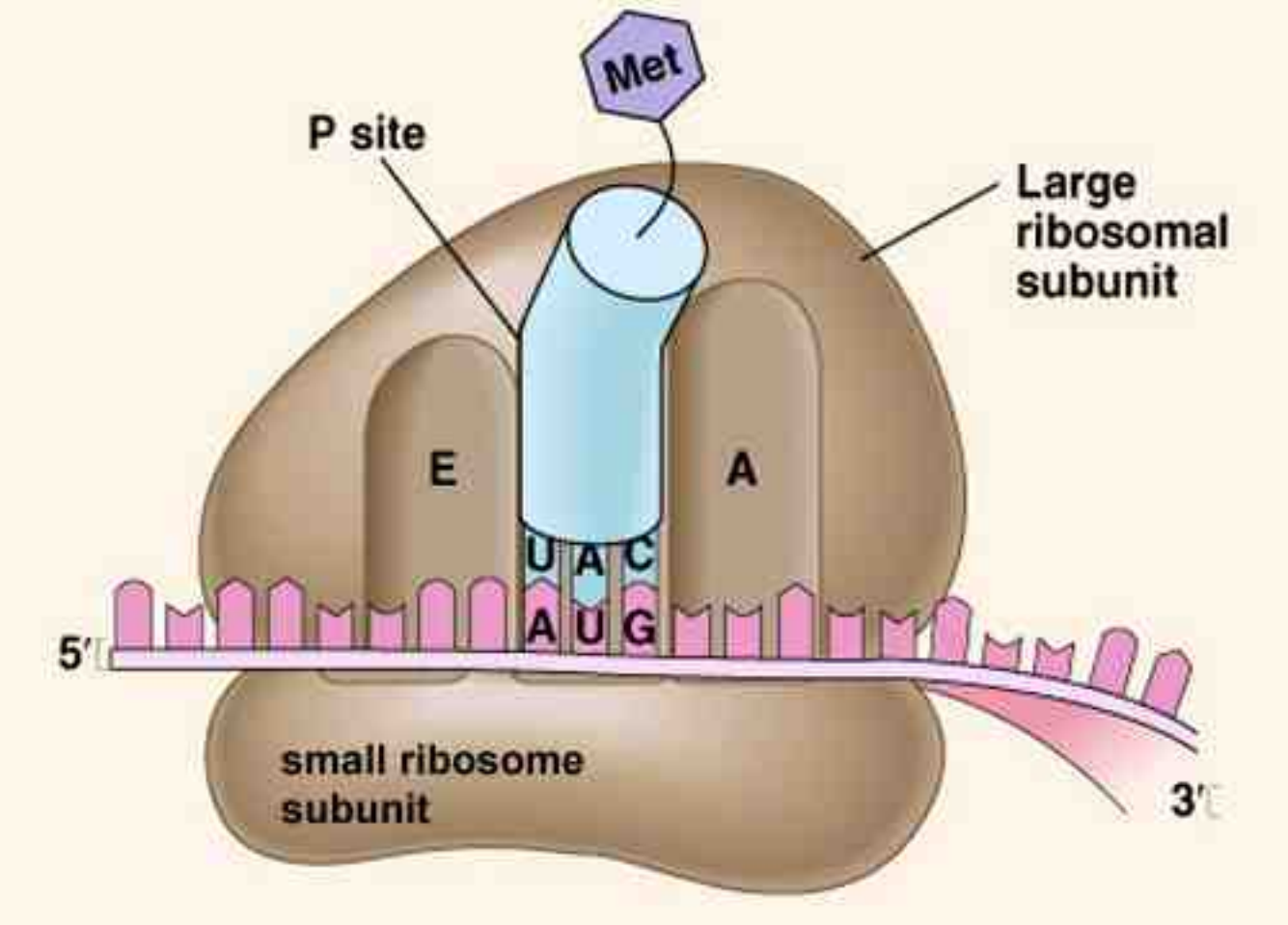
Credits: Micheline Pelletier/Corbis

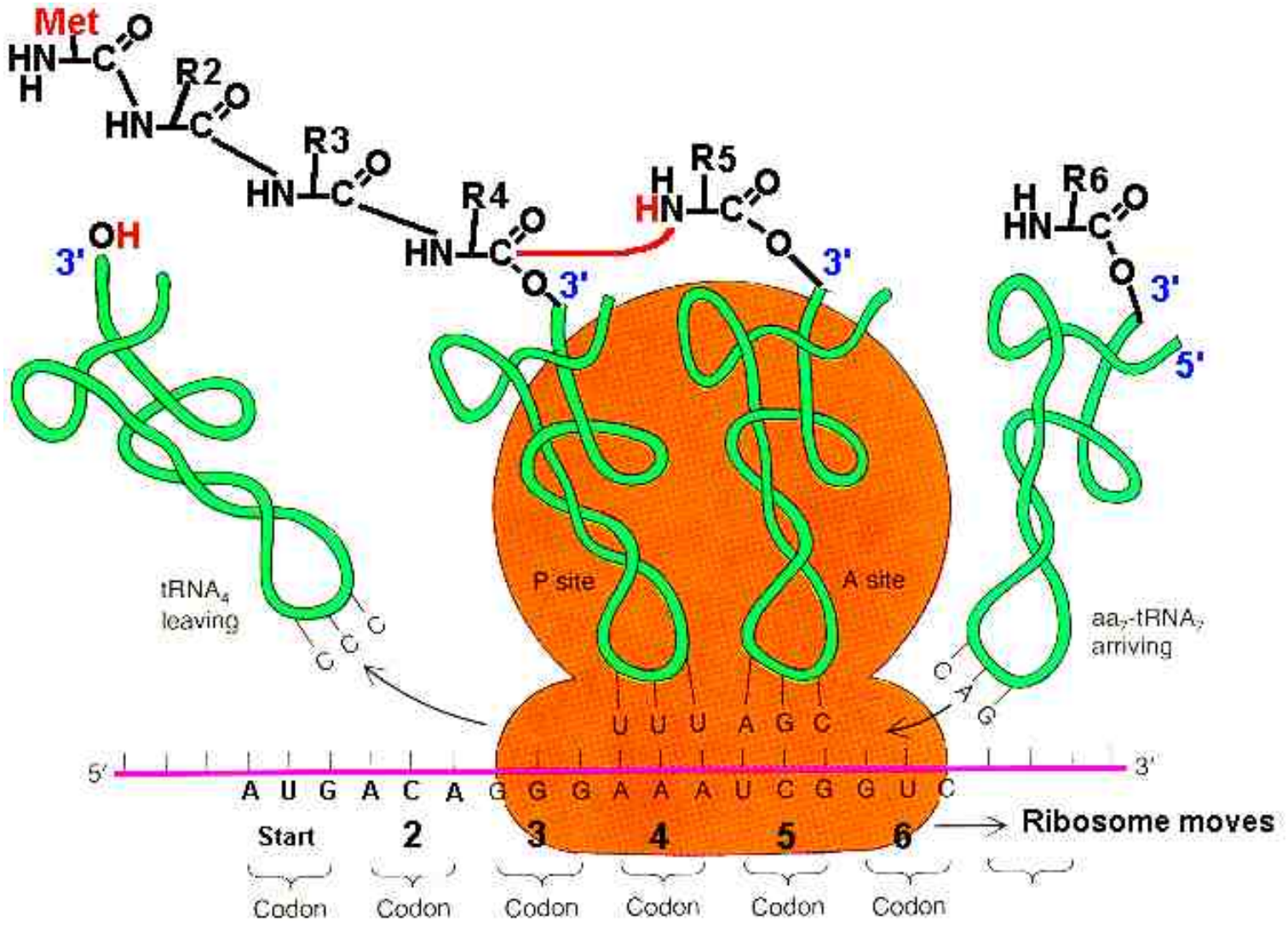
Ada E. Yonath

1/3 of the prize

Israel

Weizmann Institute of Science
Rehovot, Israel





Modified from Griffiths et al., AN INTRODUCTION TO GENETIC ANALYSIS, 6th Ed., W.H. Freeman & Co., 1996.

La sintesi proteica inizia nel citoplasma con l'aggancio della piccola subunità ribosomale al estremità 5' dell'mRNA. In corrispondenza del codone di inizio "AUG" si aggancia la grande subunità ribosomale. Il primo a.a. al N-terminale è dunque una metionina (Met) e la sintesi proteica prosegue con la lettura dell'mRNA nella direzione 5'--->3'. A questo punto, se i primi a.a. sintetizzati corrispondono al "peptide segnale" allora la sintesi potrà proseguire soltanto in corrispondenza della membrana del RER.
Nelgi altri casi il ribosoma rimane "libero" e la sintesi prosegue fino allo stop codon.