

Problema 22 Introduction to translation

1) Quanti codoni esistono, se sappiamo che ogni codone è composto di tre nucleotidi e consideriamo che i nucleotidi siano quattro? Tutti i codoni codificano per amminoacidi?

I codoni, cioè le triplette di nucleotidi, sono, in totale, 4^3 cioè 64. Non tutte le triplette codificano per amminoacidi, ci sono tre triplette nonsense (UAA, UAG, UGA) che non hanno un corrispondente tRNA e quindi hanno la funzione di fermare la sintesi proteica e sono dette triplette di stop. Poi esiste una tripletta (AUG) che codifica per metionina, ma che ha anche la funzione di iniziare la sintesi ed è detta tripletta di inizio.

2) E' possibile che esista una sola sequenza di ribonucleotidi per una certa proteina?

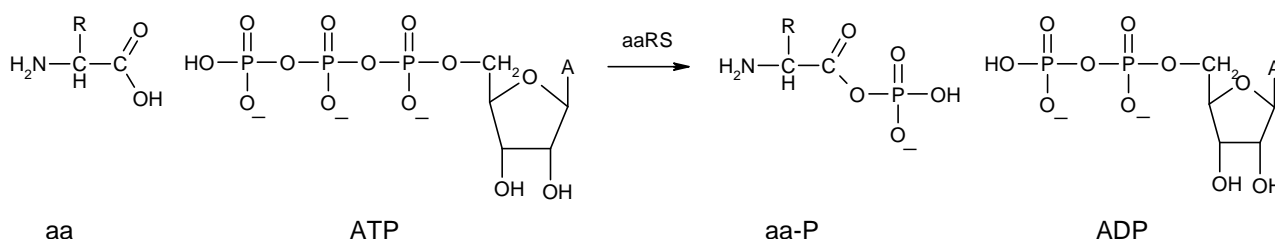
No, infatti molti amminoacidi possono essere codificati da più triplette che sono quindi sinonimi, quindi esistono molte sequenze di nucleotidi che codificano per una certa sequenza di amminoacidi.

3) Quanti diversi tRNA possono trasportare un certo amminoacido alla sintesi?

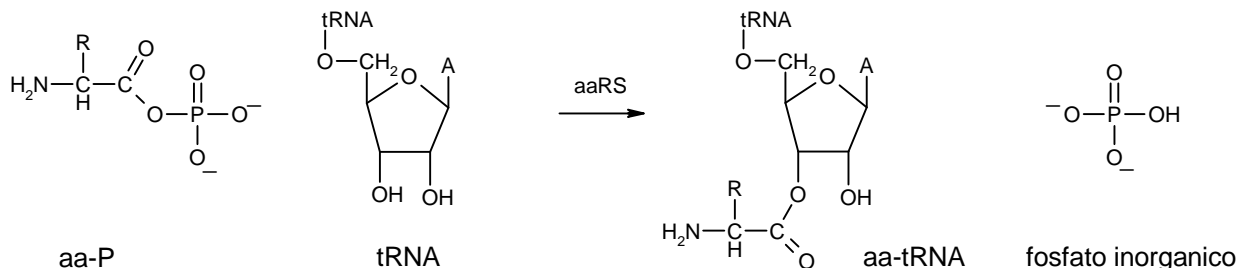
Ci sono amminoacidi come leucina che sono codificati da 6 diversi codoni, altri (Ala) codificati da 4 codoni, altri (Ile) codificati da 3 codoni, altri (Phe) codificati da 2 codoni e infine altri (Met) codificati da un solo codone. Poichè ci sono altrettanti tRNA che trasportano questi amminoacidi alla sintesi, i diversi tRNA sono 6, 4, 3, 2, 1 nei vari casi.

4) Scrivi le reazioni catalizzate dall'enzima amminoacil-tRNA-sintasi (aaRS).

Nella prima reazione si forma un'anidride mista fosforica carbossilica per reazione dell'amminoacido con ATP



Nella seconda reazione si forma un estere tra l'amminoacido e l'OH terminale 3' del tRNA



5) Usando la tavola del codice genetico scrivi la sequenza di aa codificata dal seguente RNA: 5'AUGGAUCACGCCAUAUAUGUUGUCGGUUGGAGUGUGGGAUACGUUGGAUGAUGGAACUGAAGCU3'.

- RNA tal quale
- con la prima e l'ultima C sostituite da U
- con la prima G sostituita da C
- con l'ultima G sostituita da U

a) RNA tal quale

5' AUG GAU CAC GCC AUC AAU GUU GUC GGU UGG AGU GUG GAU ACG UUG GAU GAU GGA ACU GAA GCU 3'
 NH₂-asp - his -ala - ile - asn -val - val -gly - trp - ser - val - asp - thr -leu - asp -asp - gly -thr - glu - ala-COOH

b) con la prima e l'ultima C sostituite da U

5' AUG GAU CAC GCC AUC AAU GUU GUC GGU UGG AGU GUG GAU ACG UUG GAU GAU GGA ACU GAA GCU 3'
 ↓ ↓
 5' AUG GAU UAC GCC AUC AAU GUU GUC GGU UGG AGU GUG GAU ACG UUG GAU GAU GGA ACU GAA GUU 3'
 NH₂-asp -**tyr** - ala - ile - asn -val - val - gly - trp - ser -val - asp - thr -leu - asp -asp - gly -thr - glu - **val**-COOH

c) con la prima G sostituita da C

Questa sostituzione fa saltare la tripletta di inizio AUG. Dopo la sostituzione la prima tripletta AUG si incontra più avanti e impone una lettura sfasata delle triplette.

5' AUG GAU CAC GCC AUC AAU GUU GUC GGU UGG AGU GUG GAU ACG UUG GAU GAU GGA ACU GAA GCU 3'
 ↓ ↓
 5' AUCGAUCACGCCAUA AUG UUG UCG GUU GGA GUG UGG AUA CGU UGG AUG AUG GAA CUG AAG CU 3'
 NH₂-leu -ser - val- gly - val - trp - ile - arg - trp - met -met -glu- leu -lys-COOH

d) con l'ultima G sostituita da U

5' AUG GAU CAC GCC AUC AAU GUU GUC GGU UGG AGU GUG GAU ACG UUG GAU GAU GGA ACU GAA GCU 3'
 ↓
 5' AUG GAU CAC GCC AUC AAU GUU GUC GGU UGG AGU GUG GAU ACG UUG GAU GAU GGA ACU GAA UCU 3'
 NH₂-asp - his -ala - ile - asn -val - val - gly - trp - ser - val - asp - thr -leu - asp -asp -gly -thr - glu - **ser**-COOH

6) Scrivi la sequenza di nucleotidi del mRNA che codifica per il seguente polipeptide usando il simbolo N se tutti e quattro i nucleotidi sono possibili in quella posizione

Met - Asp - Val - Asn - His - Pro - Glu - Tyr - Gly - Lys

AUG AUG GAU GUN AAU CAU CCN GAA UAU GGN AAA
 C C C G C G

7) Se una proteina di E.coli ha una massa di 51 kDa, stima la lunghezza del corrispondente mRNA. Usa una massa media per amminoacido di 110 Da e una lunghezza media per nucleotide di 0,34 nm. Quanto tempo impiega la cellula per sintetizzare la proteina se il ribosoma legge 20 nucleotidi al secondo?

La proteina è composta di $51000 / 110 = 464$ amminoacidi

Il numero di codoni necessario per la codifica è 466 cioè 464 + inizio e stop.

Il numero di ribonucleotidi è $466 \cdot 3 = 1368$

La lunghezza del mRNA codificante è $1368 \cdot 0,34 \text{ nm} = 475 \text{ nm}$

Il tempo richiesto per la lettura del mRNA è $1368 / 20 = 68 \text{ s}$. Cioè un minuto e 8 secondi.

8) Determinare la composizione di amminoacidi di una proteina ottenuta da un mRNA composto solo di A e C in rapporto 1:5.

Le triplette su questo mRNA possono contenere 0, 1, 2, 3 ribonucleotidi C e quindi

con 0 C	AAA	con probabilità	$1/6 \cdot 1/6 \cdot 1/6 = 1/216$
con 1 C	AAC ACA CAA	ognuna con probabilità	$1/6 \cdot 1/6 \cdot 5/6 = 5/216$
con 2 C	CCA CAC ACC	ognuna con probabilità	$5/6 \cdot 5/6 \cdot 1/6 = 25/216$
con 3 C	CCC	con probabilità	$5/6 \cdot 5/6 \cdot 5/6 = 125/216$

Gli amminoacidi codificati da ogni tripletta e la loro abbondanza relativa sono quindi:

con 0 C	Lys AAA (1)		
con 1 C	Asn AAC (5)	Thr ACA (5)	Gln CAA (5)
con 2 C	Pro CCA (25)	His CAC (25)	Thr ACC (25)
con 3 C	Pro CCC (125)		

La composizione della proteina ottenuta e l'abbondanza relativa di ogni amminoacido è dunque:
Lys (1), Asn (5), Thr (30), Gln (5), Pro (150), His (25)

La somma delle abbondanze relative di tutti gli amminoacidi deve dare 216, infatti:

$$1 + 5 + 30 + 5 + 150 + 25 = 216$$

9) Quale sarebbe stata la proteina risultante se si fosse introdotto un tRNA^{Tyr} mutante, che lega Tyr, ma ha l'anticodone di Ser?

L'amminoacido Serina ha 6 possibili codoni:

UCU, UCC, UCA, UCG, AGU, AGC

Dato che nessuno di questi contiene solo A e C, non possono essere presenti sul mRNA codificante descritto al punto 8, quindi il tRNA mutante non può legarsi e non incorpora nessuna tirosina. La proteina risultante è perciò la stessa di prima.

10) Perché un genetista esprime dubbi su una mutazione di una proteina dove Glu è stato mutato in His? Quale mutazione è più probabile?

Glu ha codoni GAA GAG

His ha codoni CAU CAC

Una mutazione Glu → His coinvolge due nucleotidi non vicini. La cosa è poco probabile. E' molto più probabile una mutazione ad un solo nucleotide, quindi le mutazioni più probabili sono:

Mutazione del 1° GAA(Glu) → AAA(Lys) CAA(Gln) UAA(stop)

Mutazione del 2° GAA(Glu) → GGA(Gly) GCA(Ala) GUA(Val)

Mutazione del 3° GAAG(Glu) → GAGG(Glu) GACC(Asp) GAU(Asp)

oppure

Mutazione del 1° GAG(Glu) → AAG(Lys) CAG(Gln) UAG(stop)

Mutazione del 2° GAG(Glu) → GGG(Gly) GCG(Ala) GUG(Val)

Mutazione del 3° GAGG(Glu) → GAAG(Glu) GACC(Asp) GAU(Asp)

La mutazione più probabile tra queste è quella che introduce Asp che si verifica in quattro casi.

Soluzione proposta da
prof. Mauro Tonellato
ITI Marconi - Padova

Standard Genetic Code

	U		C		A		G				
U	UUU	(Phe/F) Phenylalanine	UCU	(Ser/S) Serine	UAU	(Tyr/Y) Tyrosine	UGU	(Cys/C) Cysteine	U		
	UUC		UCC		UAC		UGC				
	UUA		UCA		UAA		Stop (Ochre)			UGA	Stop (Opal)
	UUG		UCG		UAG		Stop (Amber)			UGG	(Trp/W) Tryptophan
C	CUU	(Leu/L) Leucine	CCU	(Pro/P) Proline	CAU	(His/H) Histidine	CGU	(Arg/R) Arginine	C		
	CUC		CCC		CAC		CGC				
	CUA		CCA		CAA		(Gln/Q) Glutamine			CGA	
	CUG		CCG		CAG		CGG				
A	AUU	(Ile/I) Isoleucine	ACU	(Thr/T) Threonine	AAU	(Asn/N) Asparagine	AGU	(Ser/S) Serine	A		
	AUC		ACC		AAC		AGC				
	AUA		ACA		AAA	(Lys/K) Lysine	AGA	(Arg/R) Arginine			
	AUG*	(Met/M) Methionine	ACG		AAG		AGG				
G	GUU	(Val/V) Valine	GCU	(Ala/A) Alanine	GAU	(Asp/D) Aspartic acid	GGU	(Gly/G) Glycine	G		
	GUC		GCC		GAC		GGC				
	GUA		GCA		GAA	(Glu/E) Glutamic acid	GGA				
	GUG		GCG		GAG		GGG				
	U		C		A		G				

* The codon AUG both codes for methionine and serves as an initiation site: the first AUG in an mRNA's coding region is where translation into protein begins

Inverse Table (compressed using IUPAC notation)

Amino acid	Codons	Compressed	Amino acid	Codons	Compressed
Ala / A	GCU, GCC, GCA, GCG	GCN	Leu / L	UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, CUG	YUR, CUN
Arg / R	CGU, CGC, CGA, CCG, AGA, AGG	CGN, MGR	Lys / K	AAA, AAG	AAR
Asn / N	AAU, AAC	AAY	Met / M	AUG	
Asp / D	GAU, GAC	GAY	Phe / F	UUU, UUC	UUY
Cys / C	UGU, UGC	UGY	Pro / P	CCU, CCC, CCA, CCG	CCN
Gln / Q	CAA, CAG	CAR	Ser / S	UCU, UCC, UCA, UCG, AGU, AGC	UCN, AGY
Glu / E	GAA, GAG	GAR	Thr / T	ACU, ACC, ACA, ACG	ACN
Gly / G	GGU, GGC, GGA, GGG	GGN	Trp / W	UGG	
His / H	CAU, CAC	CAY	Tyr / Y	UAU, UAC	UAY
Ile / I	AUU, AUC, AUA	AUH	Val / V	GUU, GUC, GUA, GUG	GUN
START	AUG		STOP	UAA, UGA, UAG	UAR, URA