

di Gian Maria Bonora<sup>a</sup>

Rita Berisio<sup>b</sup>, Luigi Vitagliano<sup>b</sup>, Carlo Pedone<sup>b,c</sup>

<sup>a</sup>Università di Trieste

<sup>b</sup>Istituto di Biostrutture e Bioimmagini

<sup>c</sup>Università di Napoli Federico II

bonora@units.it

## PREMIO NOBEL PER LA CHIMICA 2009

Lo scorso 7 ottobre la Reale Accademia Svedese delle Scienze ha assegnato il premio Nobel per la Chimica 2009 a Venkatraman Ramakrishnan, Thomas A. Steitz e Ada E. Yonath, per il loro illuminante contributo allo "studio della struttura e funzione dei ribosomi".

**G**razie al contributo dei tre vincitori del Nobel per la Chimica 2009, complessi processi biologici vengono descritti a livello molecolare, mediante approcci e concetti tipici della chimica strutturale. In altri termini, la biologia diventa chimica. Questi studi aggiungono un nuovo e importante tassello alla comprensione di un principio fondamentale della biologia, il cosiddetto *dogma centrale*. Secondo questo principio, il flusso dell'informazione genetica è monodirezionale e parte dagli acidi nucleici per arrivare alle proteine. Solo tre anni fa, nel 2006, il Premio Nobel per la Chimica fu assegnato a Roger Kornberg per i suoi studi sulle basi molecolari del processo di trascrizione del codice genetico in forma di mRNA (vedi *Chimica e Industria*, 2006, **88**(8), 14) (Fig. 1). Il *dogma* si completa con la traduzione delle informazioni codificate nell'mRNA in sequenza amminoacidica, operata dal più complesso dei biosintetizzatori, il ribosoma.

Le cellule batteriche contengono decine di migliaia di ribosomi, mentre quelle eucariotiche possono arrivare a contenerne fino ad alcuni

milioni. I ribosomi sono enormi complessi costituiti da RNA e proteine. A titolo di esempio, i ribosomi batterici sono costituiti da più di 50 proteine e circa 4600 nucleotidi, per un peso molecolare complessivo pari a  $2,3 \times 10^6$  dalton. I ribosomi eucariotici sono ancora più complessi, e includono circa 80 proteine e hanno un peso molecolare pari a  $4,2 \times 10^6$  Da. Questi componenti si assemblano a formare due subunità RNA-proteine, denominate 'subunità grande' e 'subunità piccola', che si distinguono per struttura e funzione (Fig. 2).



Fig. 1

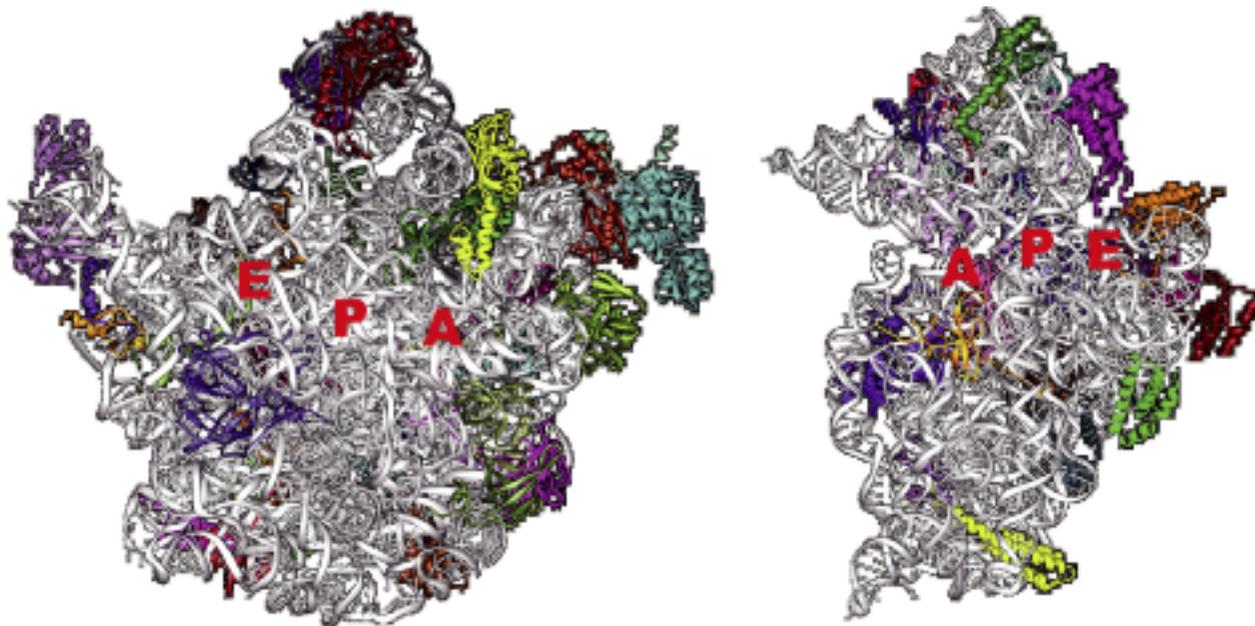


Fig. 2 - Strutture della subunità 50S (sinistra) e 30S (destra) di un ribosoma procariotico. L'RNA ribosomiale è disegnato in grigio, mentre le proteine sono rappresentate in diversi colori. I tre subsiti A, P ed E sono evidenziati in rosso

Utilizzando la cristallografia di raggi X, V. Ramakrishnan, T.A. Steitz e A.E. Yonath hanno definito la struttura di diversi ribosomi procariotici e chiarito il complicato processo biosintetico. In termini più specifici, i loro studi hanno consentito di comprendere e caratterizzare le funzioni di ognuna delle subunità del ribosoma. I ribosomi procariotici, detti 70S, sono costituiti dalle due subunità 50S e 30S, con pesi molecolari pari rispettivamente a 1.500 e 800x10<sup>6</sup> Da. La determinazione strutturale delle due subunità, che si è svolta su una lunga scala temporale (circa 20 anni) ha permesso di comprendere le loro specifiche, e diverse, funzioni.

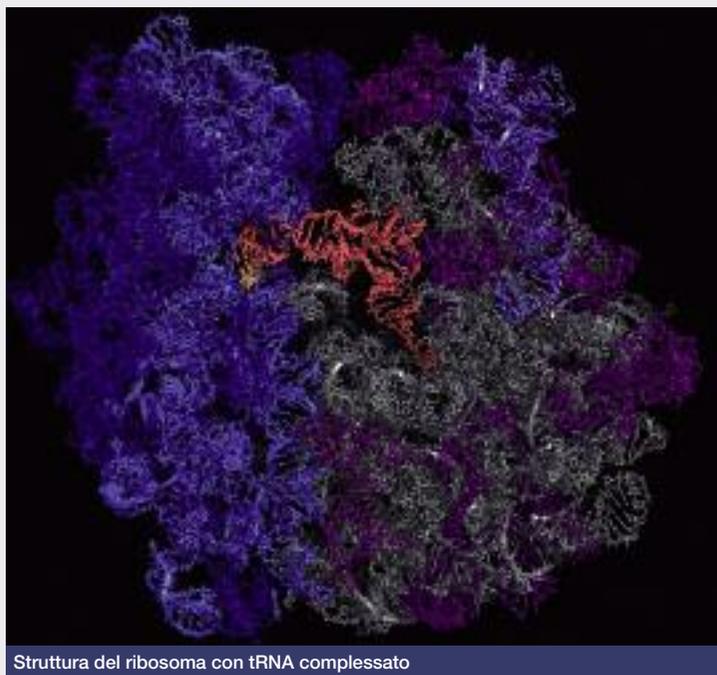
I primi studi cristallografici sulla subunità 30S risalgono infatti al 1987, quando Yonath ottenne i primi cristalli di 30S dal batterio *T. thermophilus*. Tuttavia, solo nel 1999 fu determinata la struttura cristallografica, da Ramakrishnan e collaboratori. I tempi richiesti per la determinazione della struttura della subunità 50S sono stati ancora più lunghi. Infatti, dall'ottenimento dei primi cristalli del ribosoma 50S da *H. marismortui* nel 1980, da parte di Yonath e collaboratori, saranno necessari ancora vent'anni per giungere, nel 2000, alla determinazione della struttura da parte di Steitz e collaboratori. Nello stesso periodo, Yonath e collaboratori hanno determinato la struttura della subunità 50S da *D. radiodurans*.

Il processo di biosintesi proteica inizia quando un filamento di mRNA lega la subunità 30S, attraverso il riconoscimento di una specifica sequenza nucleotidica, chiamata Shine-Dalgarno. I reagenti per la sintesi proteica, vale a dire gli amminoacidi, vengono trasportati al ribosoma in forma di amminoacil-tRNA. Ciascuna catena di tRNA presenta un cosiddetto anticodone, ossia una sequenza di tre nucleotidi che codificano per l'amminoacido trasportato. Questo anticodone

deve combaciare con il corrispondente codone, ossia con un'analogia sequenza di tre nucleotidi sul mRNA, affinché la catena proteica sia assemblata con la corretta sequenza amminoacidica. Pertanto, il compito del ribosoma non si limita alla catalisi del processo di formazione del legame peptidico tra i diversi amminoacidi della proteina nascente, ma si estende anche al controllo della corretta traduzione dell'informazione genetica contenuta nel mRNA.

Il ribosoma è collocato fra tre siti di legame del tRNA, denominati sito A (amminoacil), sito P (peptidil) e sito E (exit). Dopo una fase detta di 'inizio', che coinvolge diversi fattori proteici come i fattori di inizio IF1, IF2 e IF3, le subunità 30S e 50S si assemblano per formare l'intero ribosoma, 70S. Questa fase termina con il primo residuo amminoacidico della proteina nascente nel sito P del ribosoma e dà inizio a una successiva fase detta di allungamento della catena polipeptidica. Nella fase di allungamento, i residui amminoacidici vengono sequenzialmente trasportati nel sito A del ribosoma dal fattore di allungamento EF-Tu. La reazione di sintesi peptidica avviene quindi nel 'Peptidyl-Transferase Centre' (PTC) sulla subunità 50S, con attacco nucleofilo al carbonile del residuo amminoacidico del P-tRNA da parte del gruppo amminico del A-tRNA. Gli studi strutturali sul ribosoma hanno mostrato, sorprendentemente, che nessuna delle proteine ribosomiali contribuisce a costruire il PTC, che è invece costituito essenzialmente da RNA. Il ribosoma è un gigante ribozima.

Al termine della reazione, la catena nascente è localizzata nel sito A e il tRNA deacilato nel sito P. Il coinvolgimento di un altro fattore proteico (EF-G) induce un processo chiamato traslocazione: il tRNA deacilato legato al sito P trasloca verso sito E, dove è libero di lasciare il ribosoma, e il peptidil-tRNA sul sito A trasloca verso il sito P. Il



Struttura del ribosoma con tRNA complessato

sito A è ora libero e può accomodare un nuovo amminoacil-tRNA, che trasporta il successivo residuo amminoacidico. Questo processo è ripetuto finché l'intero filamento di mRNA codificante per la proteina nascente è stato tradotto e un codone di stop viene letto nel sito A della subunità 30S. I codoni di stop sono riconosciuti da fattori proteici (RF1 e RF2), che catalizzano l'idrolisi del legame estereo tra il C-terminale della proteina nascente e il tRNA nel sito P. La proteina neosintetizzata viene quindi rilasciata nella cellula attraverso un tunnel che attraversa l'intera subunità 50S. Diversi studi hanno dimostrato che il tunnel non è passivo, ma in grado di controllare e regolare la biosintesi proteica.

I ribosomi batterici sono il principale bersaglio di molti antibiotici, che possono agire in diverse fasi del processo biosintetico. Gli studi pre-

miati con questo Nobel non si sono limitati a fornire una descrizione strutturale delle subunità ribosomiali, ma hanno fornito accurate informazioni strutturali sul meccanismo di azione di molti antibiotici che agiscono sui ribosomi batterici. È opportuno rilevare che, nell'ambito delle attività di ricerca del Dipartimento di Progettazione Molecolare del CNR, è operante un'intensa collaborazione tra ricercatori dell'Istituto di Biostrutture e Bioimmagini di Napoli con il gruppo della Prof. Yonath, mirata alla comprensione del meccanismo di azione di alcuni antibiotici e dei fenomeni di resistenza batterica che questi producono.

In conclusione, la comprensione del processo di biosintesi proteica ha ricevuto un forte impulso nell'ultimo decennio, grazie al contributo della biologia strutturale, ancora una volta premiata dall'Accademia Svedese. L'architettura del ribosoma è ormai definita a livello atomico e in diversi stati funzionali; ciò ha fornito una vasta gamma di informazioni sul meccanismo di azione e di regolazione di questo gigante molecolare. Le enormi dimensioni del ribosoma e il numero di attori coinvolti nel processo di biosintesi permettono un controllo efficiente di una corretta traduzione del messaggio genetico. Capire come lavora un ribosoma è di fondamentale interesse anche per le conseguenze pratiche che tale conoscenza comporta. Infatti, la comprensione dei meccanismi di azione di molti antibiotici ha, nel corso degli anni, stimolato la progettazione di molecole di nuova generazione, con aumentata efficacia contro batteri resi resistenti dai trattamenti terapeutici.

Le scoperte premiate con il premio Nobel hanno rappresentato e rappresentano il punto di partenza per numerosi altri studi volti a caratterizzare in dettaglio un processo centrale della vita cellulare. Anche dal punto di vista strutturale, l'opera non è completata e sono in corso studi importanti che potrebbero fornire altre utili informazioni. In particolare, oggetto di studio degli ultimi anni è la determinazione ad alta risoluzione delle strutture del complesso 70S in diversi stati funzionali, che consentiranno una comprensione ancora più dettagliata del processo di biosintesi.



*Ada Yonath, professoressa di biologia strutturale e direttore del Helen & Milton A. Kimmelman Center for Biomolecular Structure & Assembly al Weizmann Institute.*



*Thomas Steitz, professore di biofisica molecolare e biochimica al Howard Hughes Medical Institute Investigator di Yale.*



*Venkatraman Ramakrishnan, il più giovane di tre, è attualmente senior scientist al Structural Studies Division del MRC Laboratory for Molecular Biology, nel quale è a capo di un gruppo di ricerca.*

## Lecture consigliate

- 1) M. Selmer *et al.*, *Science*, 2006, **313**, 1935.
- 2) A. Bashan *et al.*, *Mol. Cell*, 2003, **11**, 91.
- 3) R. Berisio *et al.*, *Nat. Struct. Biol.*, 2003, **10**, 366.
- 4) F. Schluenzen *et al.*, *Cell*, 2000, **102**, 615.
- 5) B.T. Wimberly *et al.*, *Nature*, 2000, **407**, 327.
- 6) P. Nissen *et al.*, *Science*, 2000, **289**, 920.
- 7) N. Ban *et al.*, *Science*, 2000, **289**, 905.