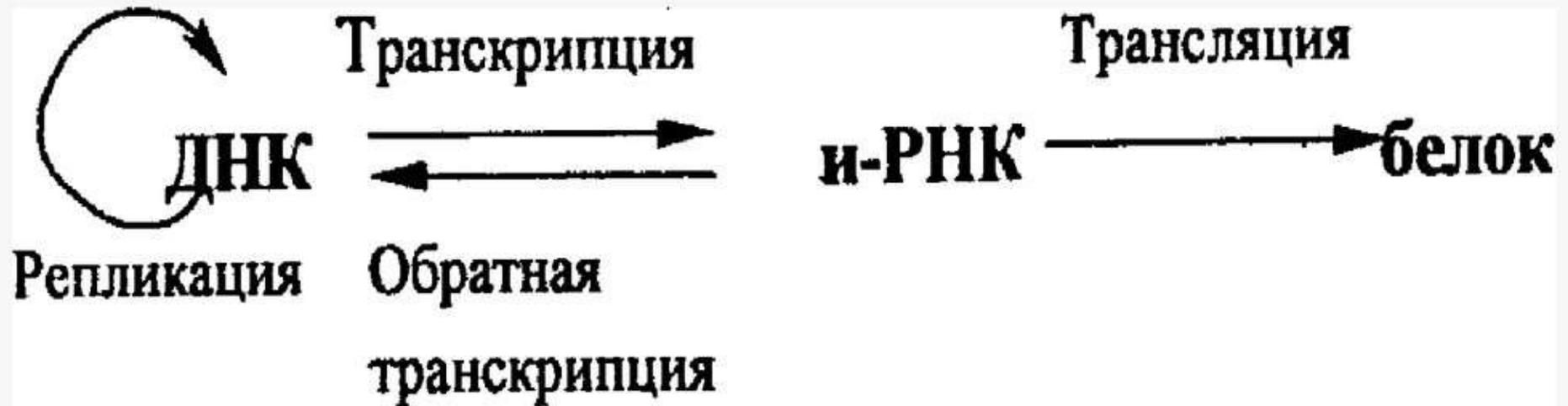


Трансляция про- и эукариот

# Центральная догма молекулярной биологии



## Биологический смысл РНК и трансляции

Перевод информации, заключённой в полинуклеотидной последовательности мРНК, в аминокислотную последовательность белка требует определённого способа кодирования или шифрования, т.е. существования определённого закона, по которому чередование четырёх нуклеотидов в мРНК задаёт специфическую последовательность аминокислот в белке.

# Свойства генетического кода.

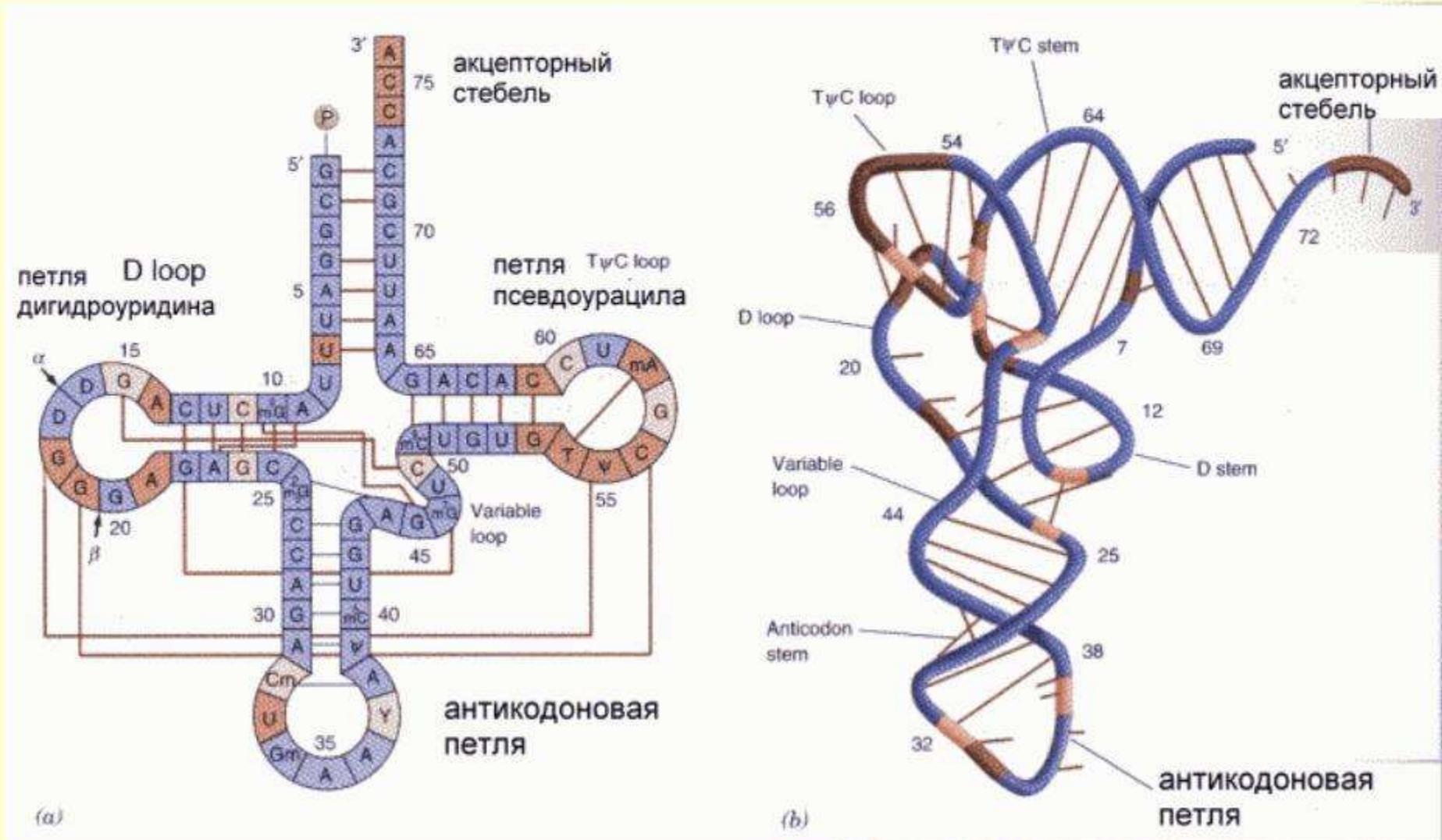
- **Триплетность** : каждая аминокислота кодируется триплетом нуклеотидов. Три стоящих подряд нуклеотида – «имя» одной аминокислоты.
- **Специфичность**: один триплет кодирует только одну аминокислоту.
- **Избыточность**: каждая аминокислота может определяться более чем одним триплетом.
- **Неперекрываемость**: любой нуклеотид может входить в состав только одного триплета.
- **Универсальность**: у животных и растений, у грибов и бактерий один и тот же триплет кодирует один и тот же тип аминокислоты, т.е. генетический код одинаков для всех живых существ на Земле.
- **Полярность**: из 64 кодовых триплетов 61 кодон – кодирующие, кодируют аминокислоты, а 3 нуклеотида – бессмысленные, не кодируют аминокислоты, «знаки препинания» (УАА, УГА, УАГ).

## Основные компоненты белоксинтезирующей системы

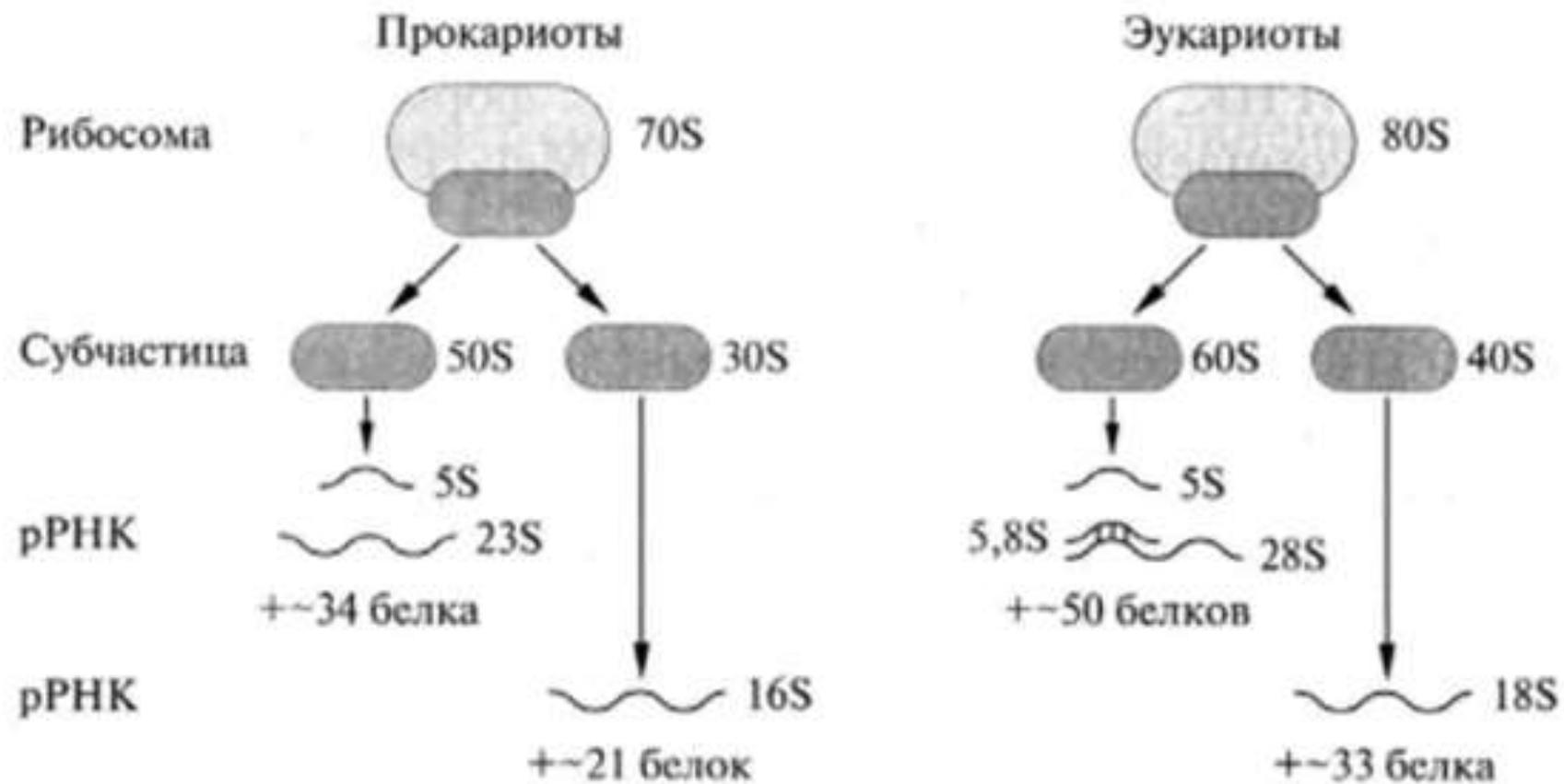
Необходимые компоненты	Функции
1. Аминокислоты	Субстраты для синтеза белков
2. тРНК	тРНК выполняют функцию адаптеров. Они акцепторным концом взаимодействуют с аминокислотами, а антикодоном - с кодоном мРНК.
3. Аминоацил-тРНК синтетазы	Каждая aa-тРНК-синтетаза катализирует реакцию специфического связывания одной из 20 аминокислот с соответствующей тРНК
4. мРНК	Матрица содержит линейную последовательность кодонов, определяющих первичную структуру белков
5. Рибосомы	Рибонуклеопротеиновые субклеточные структуры, являющиеся местом синтеза белков
6. АТФ, ГТФ	Источники энергии
7. Белковые факторы инициации, элонгации, терминации	Специфические вне ribосомные белки, необходимые для процесса трансляции (12 факторов инициации: eIF; 2 фактора элонгации: eEF1, eEF2, и факторы терминации: eRF)
8. Ионы магния	Кофактор, стабилизирующий структуру рибосом

**Примечания:** eIF (*eukaryotic initiation factors*) - факторы инициации; eEF (*eukaryotic elongation factors*) - факторы элонгации; eRF (*eukaryotic releasing factors*) - факторы терминации.

# тРНК строение

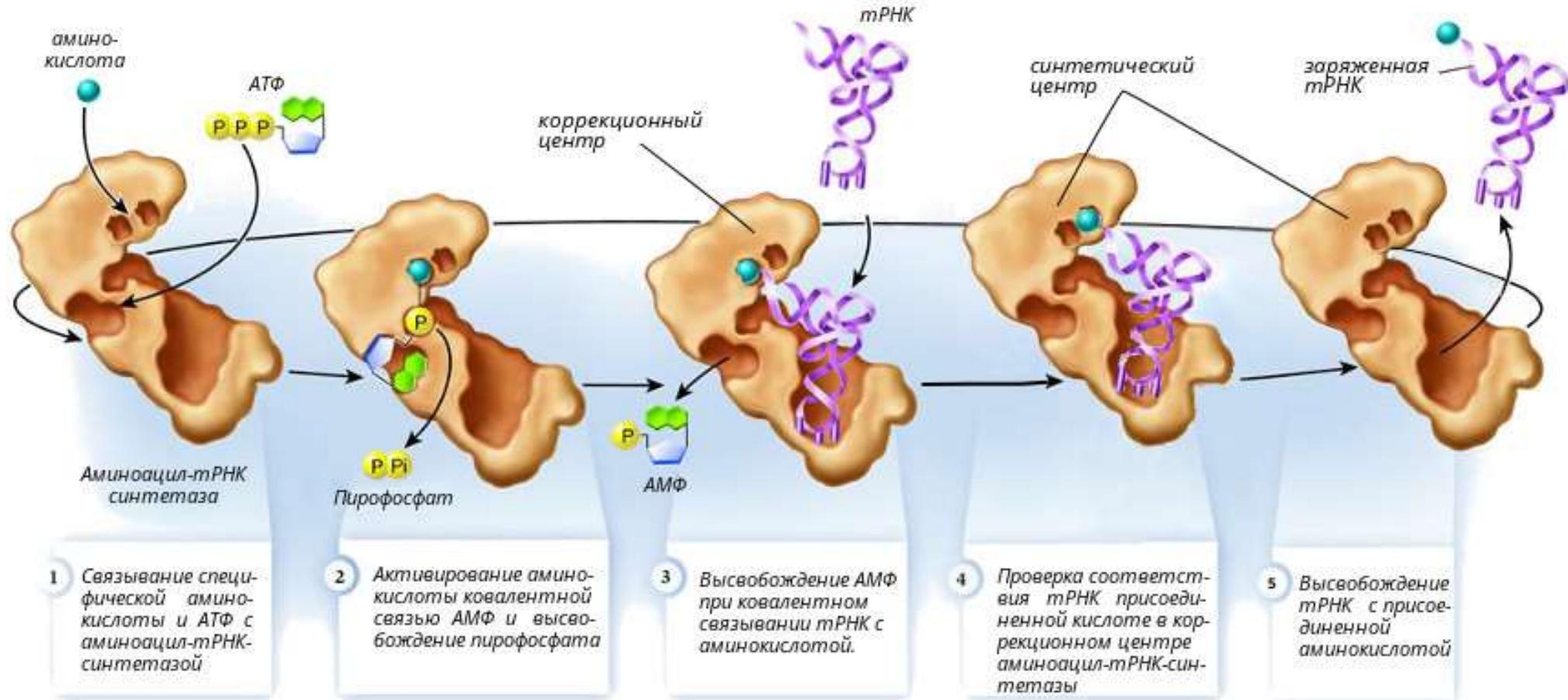


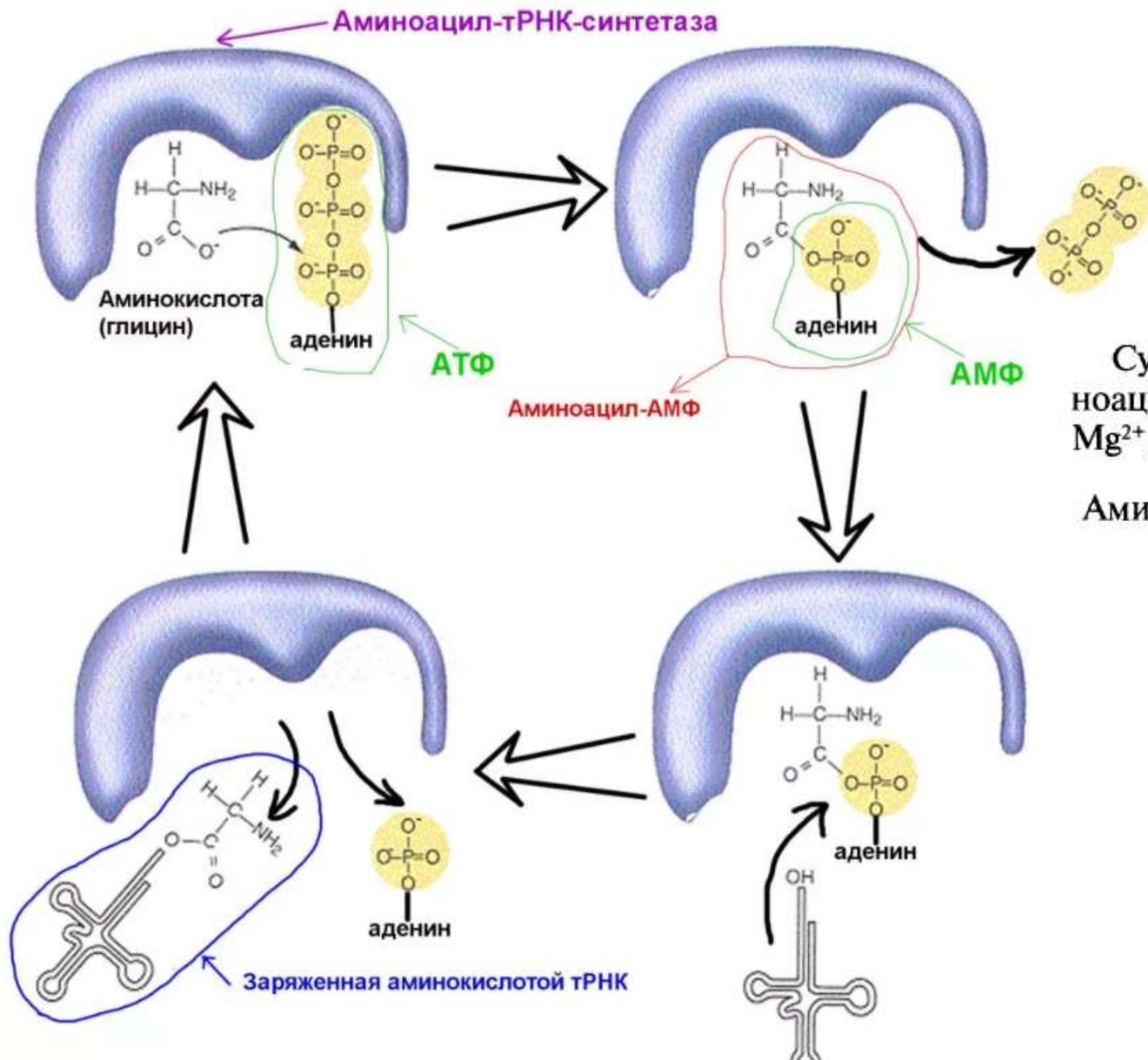
# Рибосомы



# Подготовка аминокислот к трансляции

*Взаимодействие транспортной РНК с аминокислотами при участии специфической аминоацил-тРНК-синтетазы*

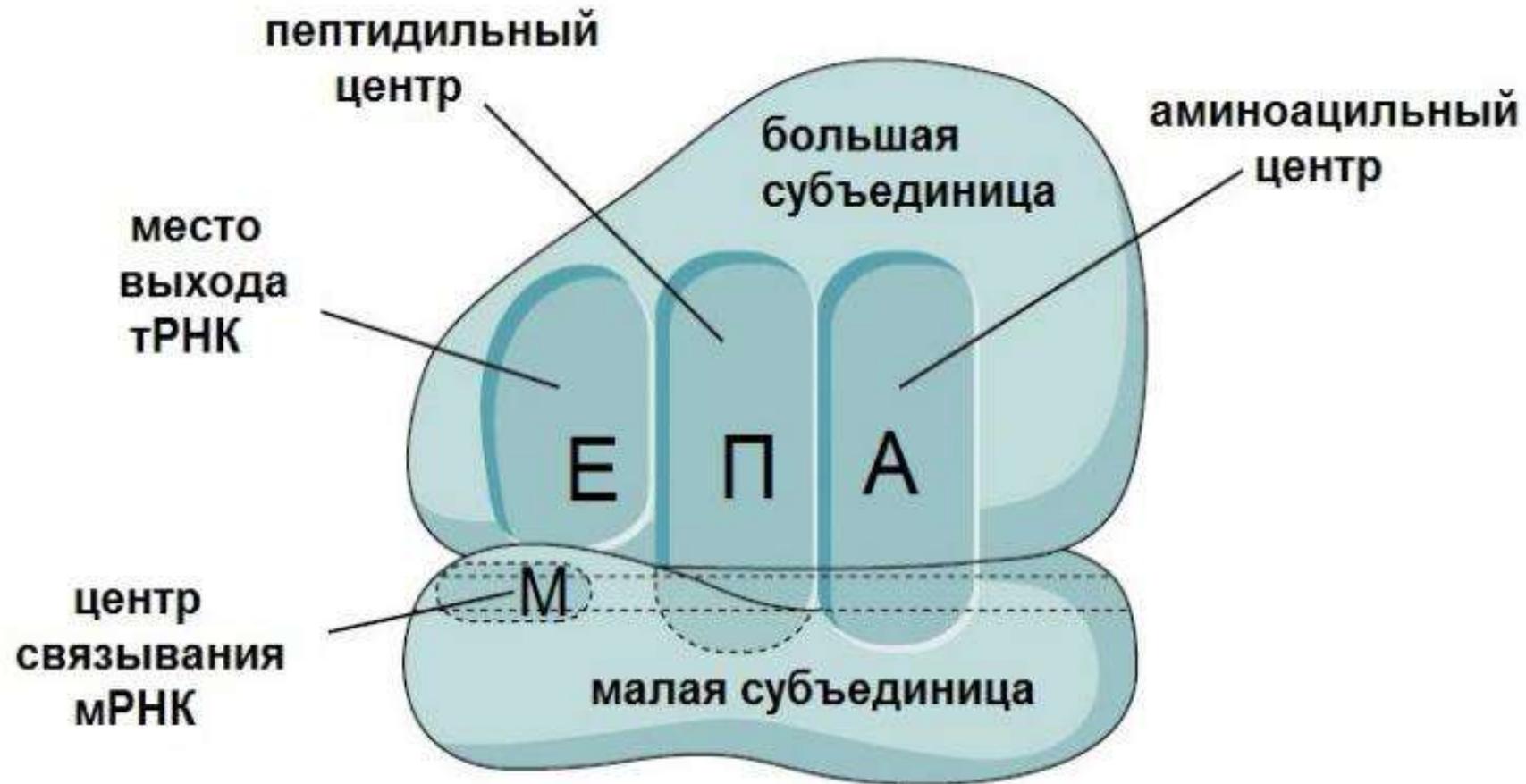




Суммарную реакцию, катализируемую аминокислот-тРНК синтетазами в присутствии ионов  $Mg^{2+}$ , можно представить следующим образом:



# Функциональные центры рибосомы



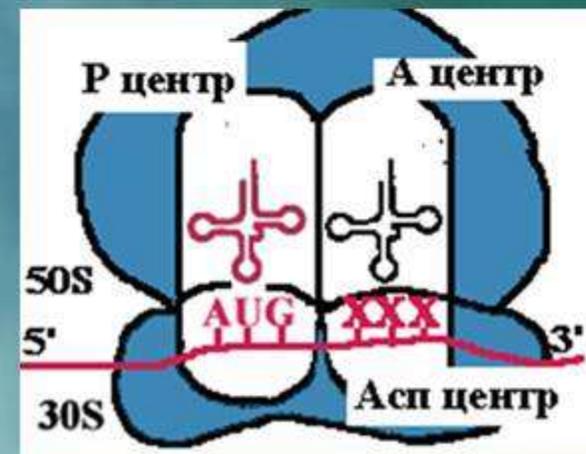
# Функционально активные центры рибосом

**Центр связывания тРНК (Асп-центр).** Образован участком рРНК (5-9 н.п.) малой субчастицы, комплементарный фрагменту 5'-концу тРНК.

**Пептидильный центр (Р-центр).** С Р-центром в начале процесса связывается инициаторная аминоксил-тРНК (формилметиониновая тРНК у прокариот и метиониновая тРНК у эукариот). На последующих стадиях в Р-центре находится *пептидил-тРНК*.

**Аминоацильный центр (А-центр)** является местом связывания очередной аминоксил-тРНК.

**Пептидил-трансферазный центр (ПТФ)** катализирует перенос аминокислоты с аа-тРНК на пептидил-тРНК с образованием пептидной связи, а также участвующий в транслокации пептидил-тРНК из А-центра в Р-центр.



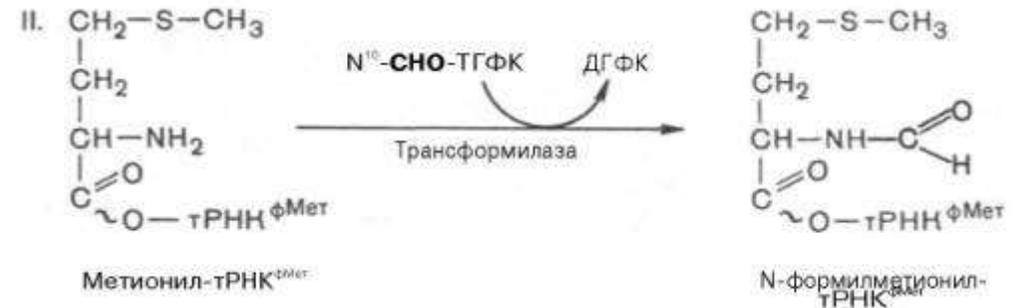
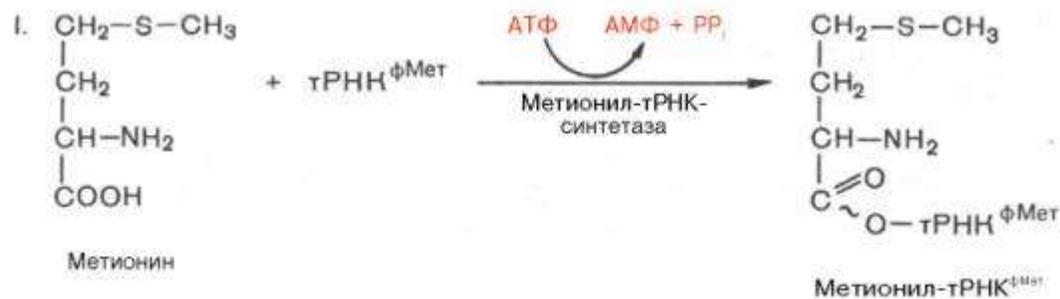
# Факторы трансляции :

Прокариоты

Стадия	Фактор	Роль
Инициация трансляции	IF1	Стабилизирует 30S-субъединицу
	IF2	Связывает fmet-тРНК с 30S-субъединицей, связываясь с GTP ускоряет гидролиз
	IF3	Связывает 30S-субъединицу с мРНК
Элонгация трансляции	EF-Tu	Связывает GTP, доставляет аминоацил-тРНК к А-сайту рибосомы
	EF-Ts	Активирует фактор EF-Tu
	EF-G	Стимулирует GTP-зависимую транслокацию аминокислоты
Терминация трансляции и высвобождение полипептида из рибосомы	RF1	Катализирует освобождение полипептидной цепи от тРНК и диссоциацию трансляции и транслоцированного комплекса. Специфичен для терминирующих кодонов UAA и UAG
	RF2	Аналогична роли RF1, этот фактор специфичен для кодонов UGA и UAA
	RF3	Стимулирует факторы RF1 и RF2

# Инициация трансляции

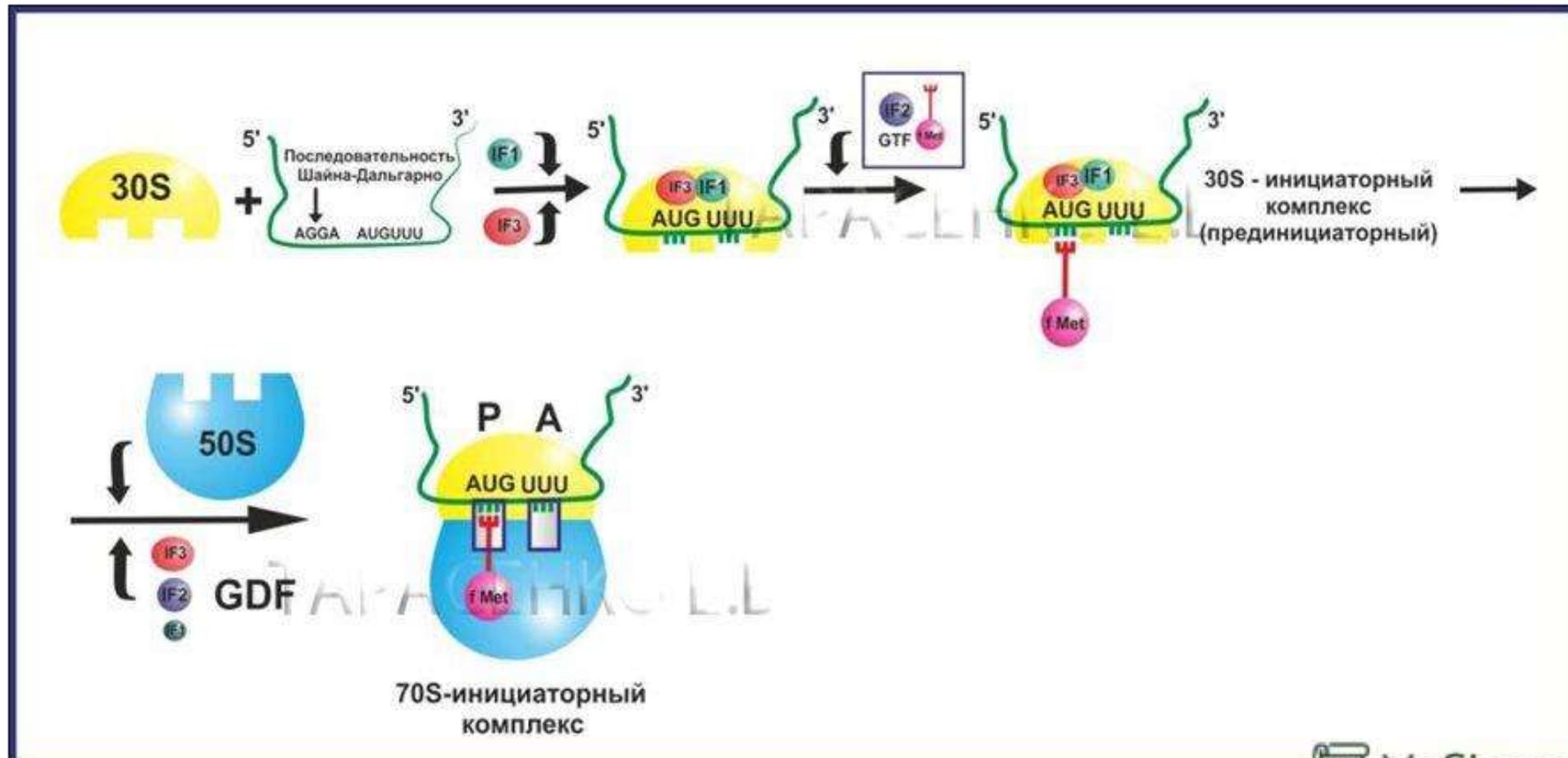
- Стадия инициации, являющаяся «точкой отсчета» начала синтеза белка, требует соблюдения ряда условий, в частности наличия в системе, помимо 70S (или 80S) рибосом, инициаторной аминок-ацил-тРНК (аа-тРНК), иницирующих кодонов в составе мРНК и белковых факторов инициации. Экспериментально доказано, что синтез белка иницирует единственная аминокислота – метионин. В кодовом «словаре» имеется только один кодон для метионина (АУГ), однако во всех живых организмах открыты две тРНК для метионина: одна используется при инициации синтеза белка, другая – для включения метионина во внутреннюю структуру синтезируемого полипептида в стадии элонгации. Соответственно эти тРНК принято обозначать **тРНК<sup>фМет</sup>** (у прокариот) и **тРНК<sup>Мет</sup>** (у эукариот).



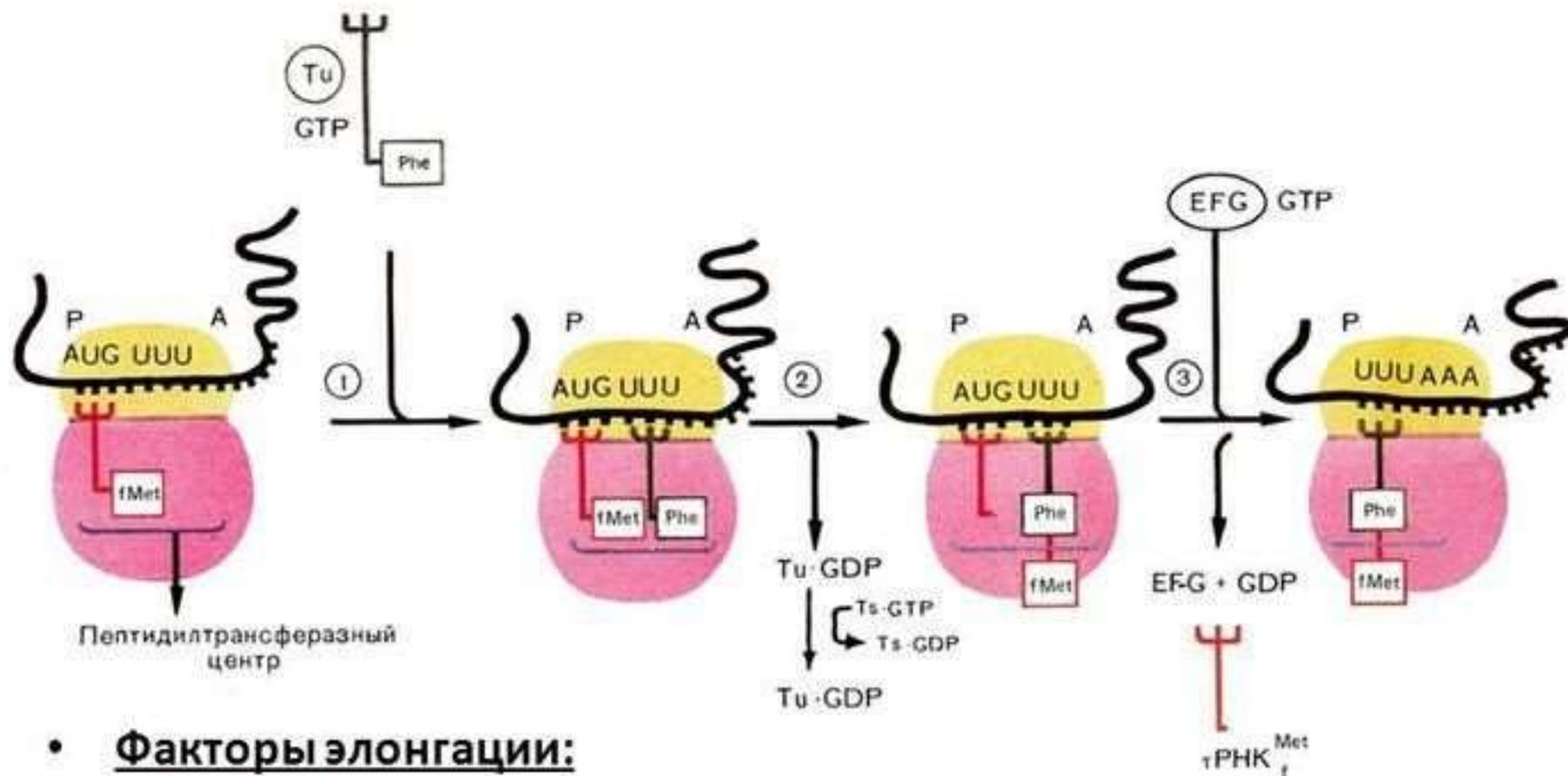
## Инициация трансляции у **прокариот**

Последовательность стадий:

1. Присоединение мРНК к малой субъединице рибосомы (необходим фактор IF3 и последовательность Шайна-Дальгарно);
2. Присоединение а.а -тРНК к Р-центру малой субъединицы рибосомы (необходим фактор IF2 и энергия ГТФ)
3. Присоединение большой субъединицы рибосомы



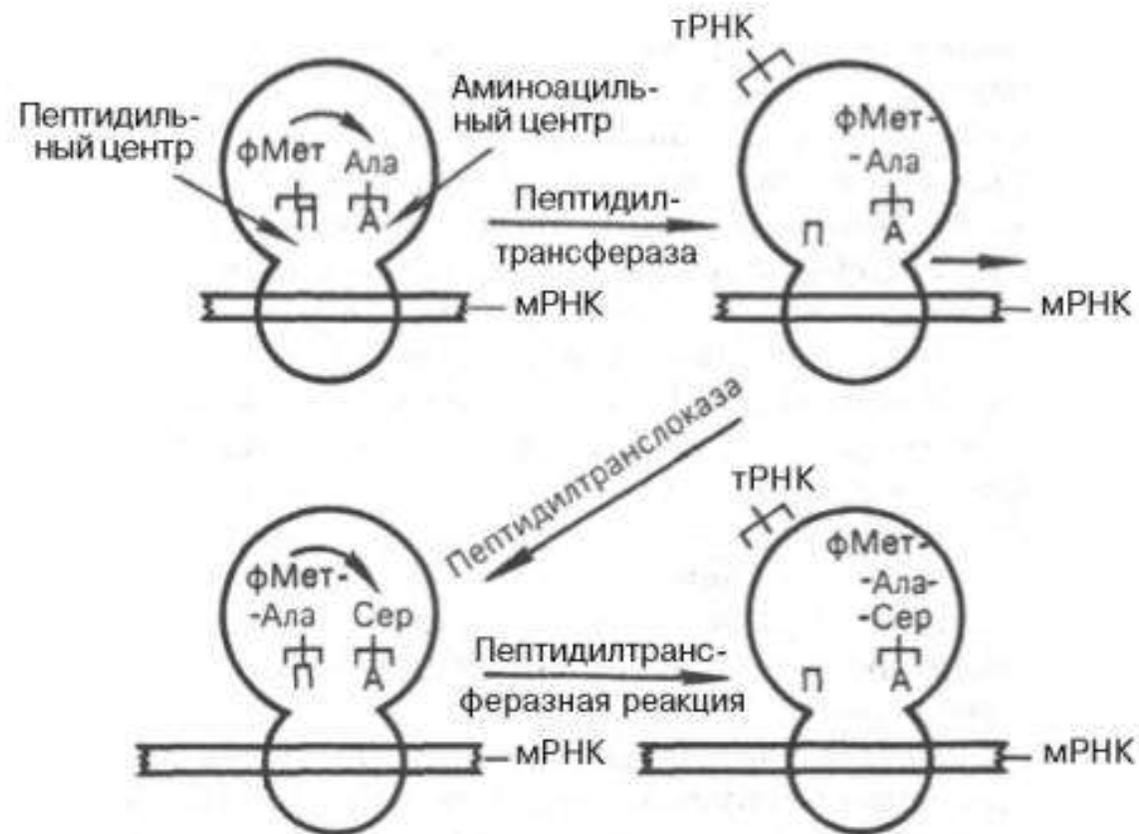
## Элонгация трансляции прокариот



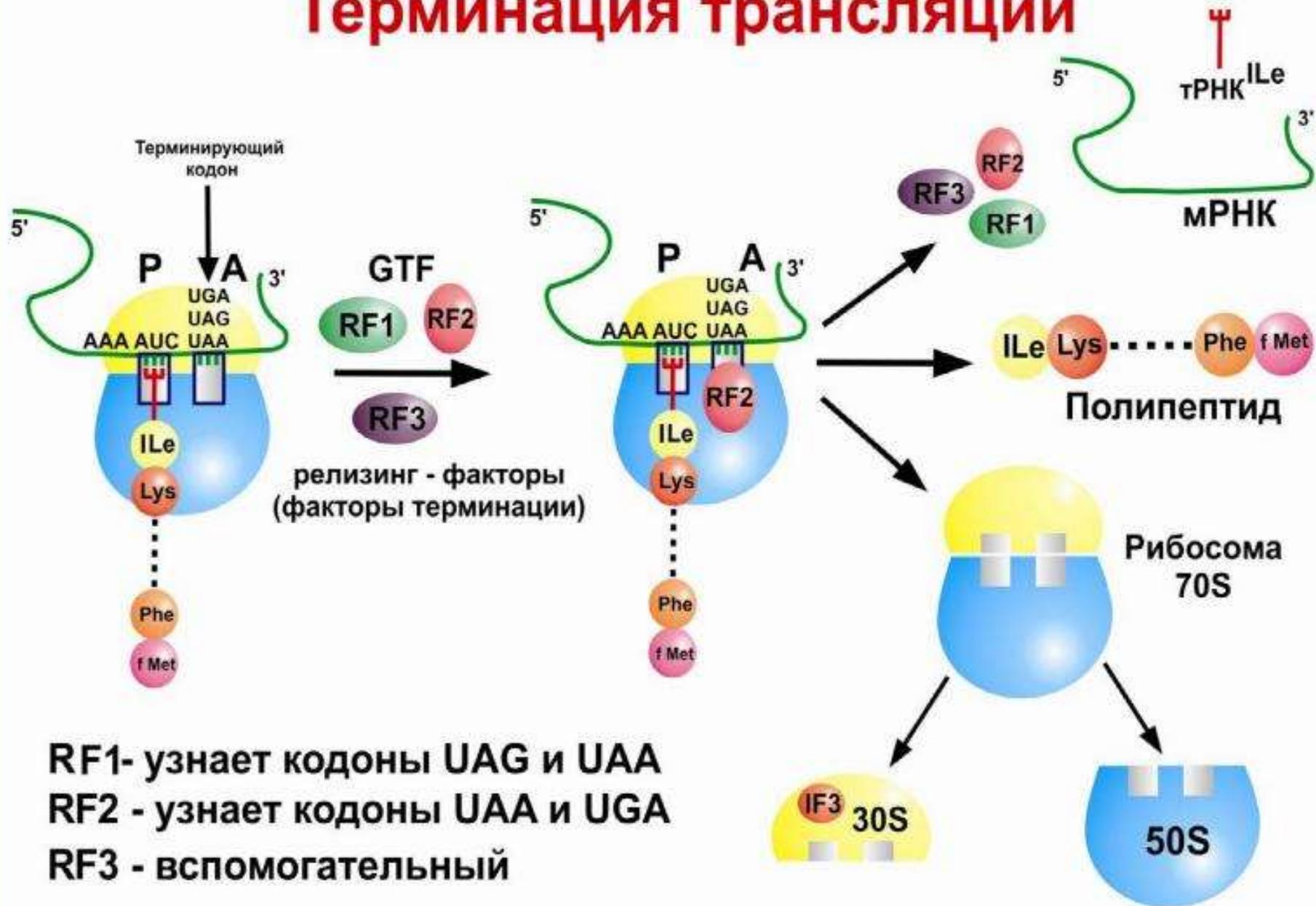
- **Факторы элонгации:**
- **EF-Tu+ГТФ** – перемещает аминокил-тРНК в А-сайт
- **EF-Ts** восстанавливает активную форму **EF-Tu (+ГТФ)**
- **Пептидилтрансфераза** – катализирует образование пептидной связи между аминокислотами
- **EF-G** участвует в транслокации рибосомы, используя энергию ГТФ.

# Элонгация трансляции прокариот

- Таким образом, на стадии элонгации происходит последовательное наращивание полипептидной цепи по одной аминокислоте в строгом соответствии с последовательностью триплетов (кодонов) в молекуле мРНК.

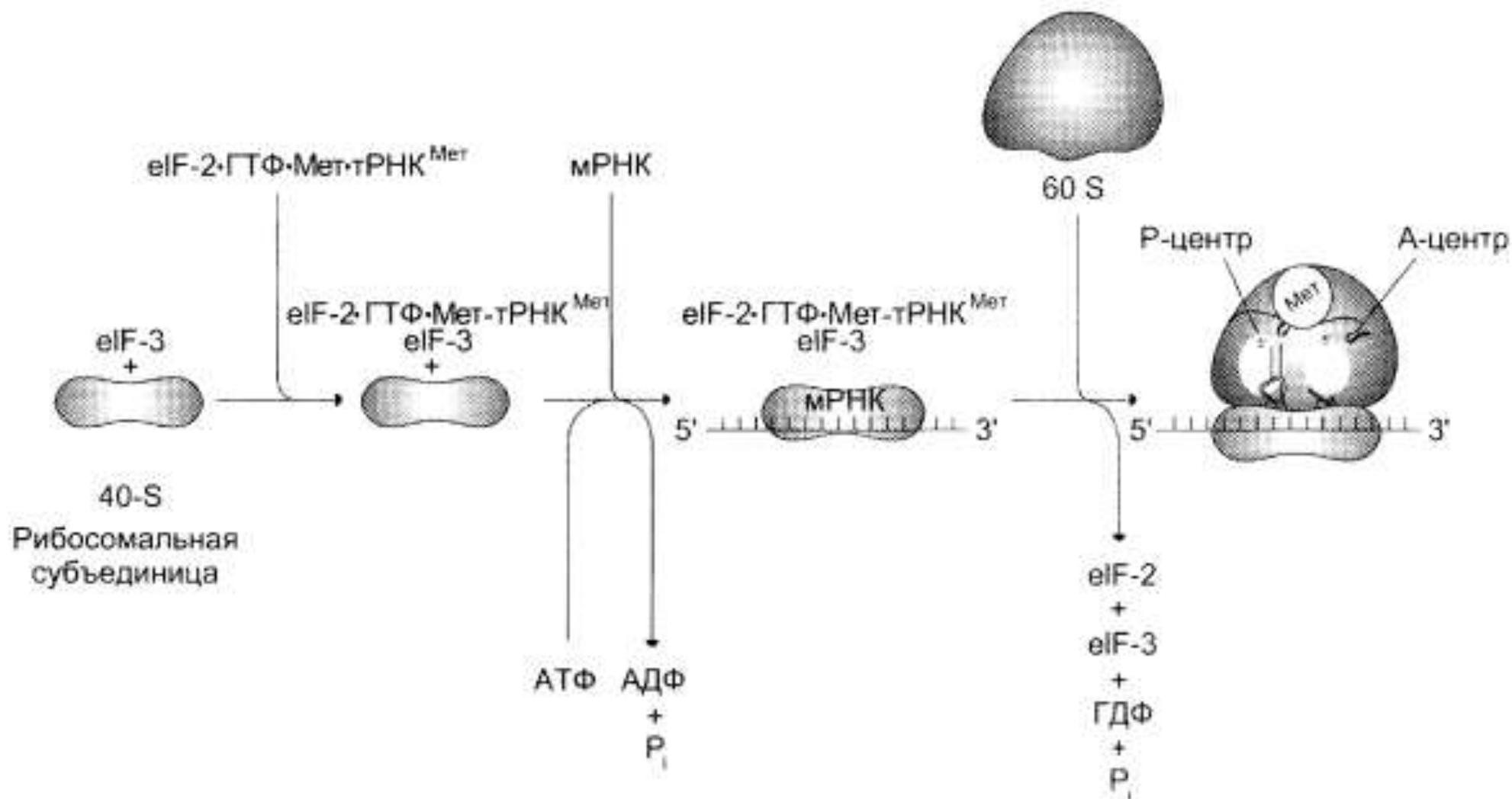


# Терминация трансляции



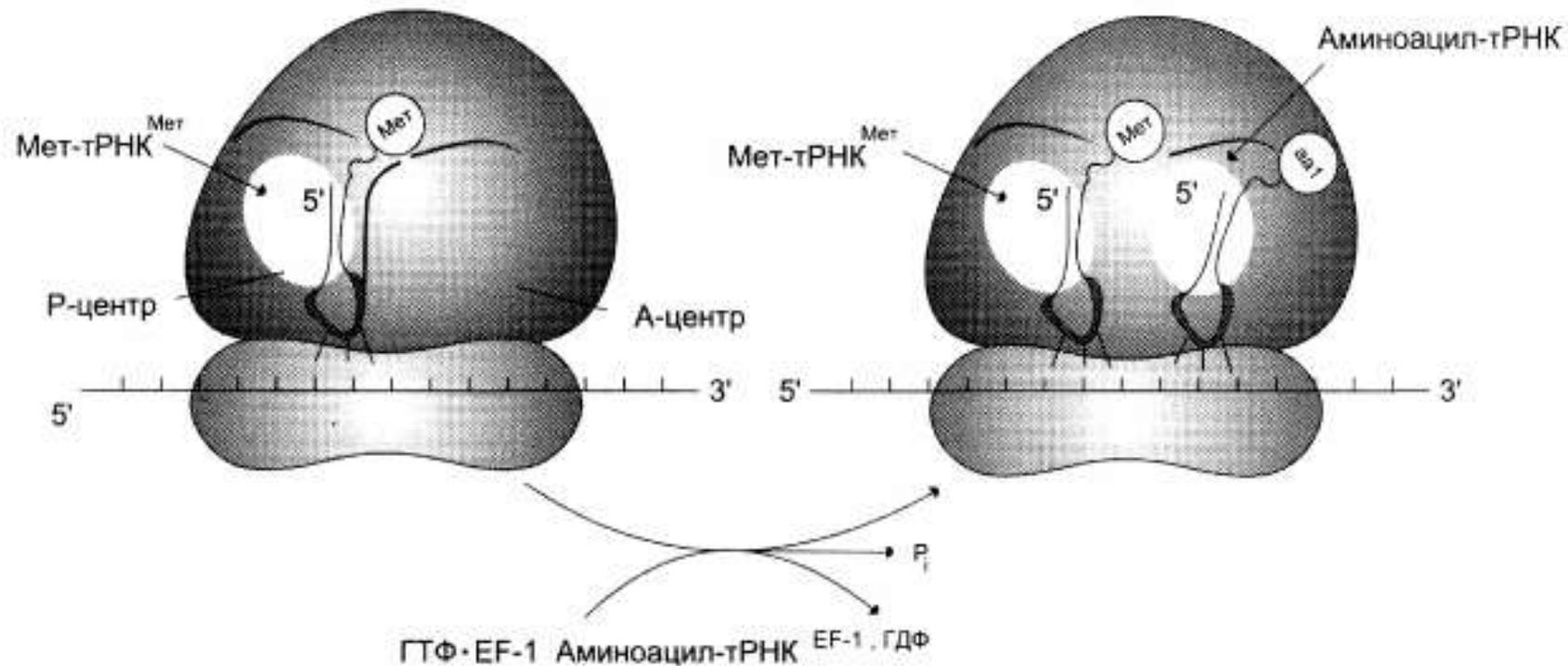
# Инициация трансляции эукариот

- У эукариот существуют два основных механизма нахождения рибосомой стартового AUG: кэпзависимый (сканирующий) и кэпнезависимый (внутренняя инициация).
- При *сканирующем механизме* рибосома (точнее, её малая субъединица) садится на 5'-конец мРНК в области кэпа и двигается вдоль молекулы мРНК, «сканируя» один кодон за другим, пока не наткнётся на инициаторный AUG. Для привлечения рибосомы к 5'-концу мРНК требуется специальная структура, кэп — 7-метилгуанин, прикреплённый к 5'-концевому нуклеотиду мРНК.
- При *механизме внутренней инициации*, называемом у эукариот также *IRES-зависимым механизмом*, рибосома садится на внутренний участок мРНК, называемый IRES — участок мРНК, обладающий выраженной вторичной структурой, позволяющей ему направлять рибосомы на стартовый AUG. По IRES-зависимому механизму иницируется синтез лишь на небольшой части клеточных мРНК, а также на РНК некоторых вирусов.



**Рис. 4-37. Образование иницирующего комплекса в ходе синтеза белка у эукариотов.** Met-tRNA<sup>Met</sup> объединяется с малой субъединицей рибосомы в форме тройного комплекса: Met-tRNA<sup>Met</sup>, eIF-2 и ГТФ. Образовавшийся более сложный четырёхкомпонентный комплекс присоединяется к 5'-концу мРНК с помощью нескольких дополнительных факторов, и малая субъединица начинает скользить по мРНК до тех пор, пока антикодон Met-tRNA<sup>Met</sup> не свяжется с иницирующим кодоном AUG. При этом в комплексе происходит изменение состава иницирующих факторов, и ускоряется присоединение 60S субъединицы рибосомы, сопровождающееся гидролизом ГТФ. Met-tRNA<sup>Met</sup> занимает на рибосоме Р-центр.

# 1 этап элонгации трансляции эукариот



**Рис. 4-38. Включение  $aa_1$ -tRNA<sup>aa1</sup> в рибосому.**  $aa_1$ -tRNA<sup>aa1</sup> взаимодействует с рибосомой в виде тройного комплекса, состоящего из фактора элонгации EF-1,  $aa_1$ -tRNA<sup>aa1</sup> и ГТФ. Антикодон  $aa_1$ -tRNA<sup>aa1</sup> комплементарен и антипараллелен кодону мРНК в А-центре. Связывание  $aa_1$ -tRNA<sup>aa1</sup> происходит за счёт энергии гидролиза ГТФ до ГДФ и  $P_i$ .

## 2 этап элонгации трансляции эукариот

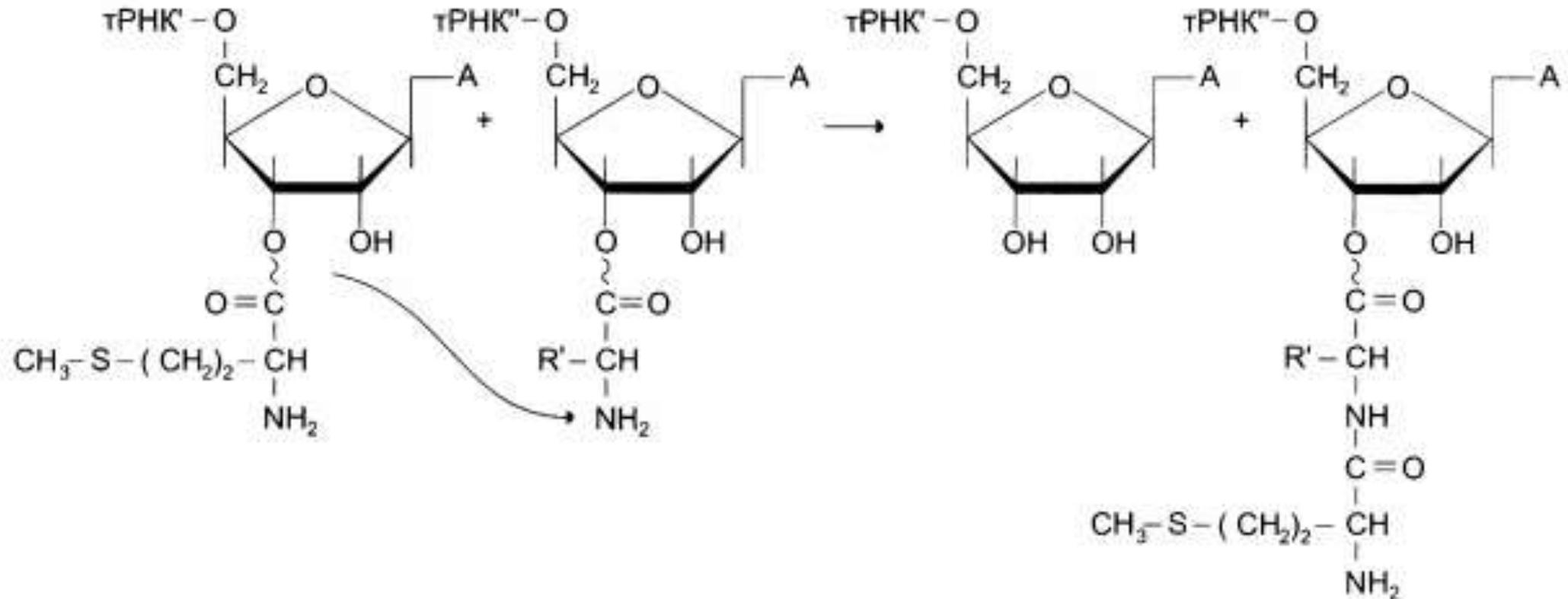
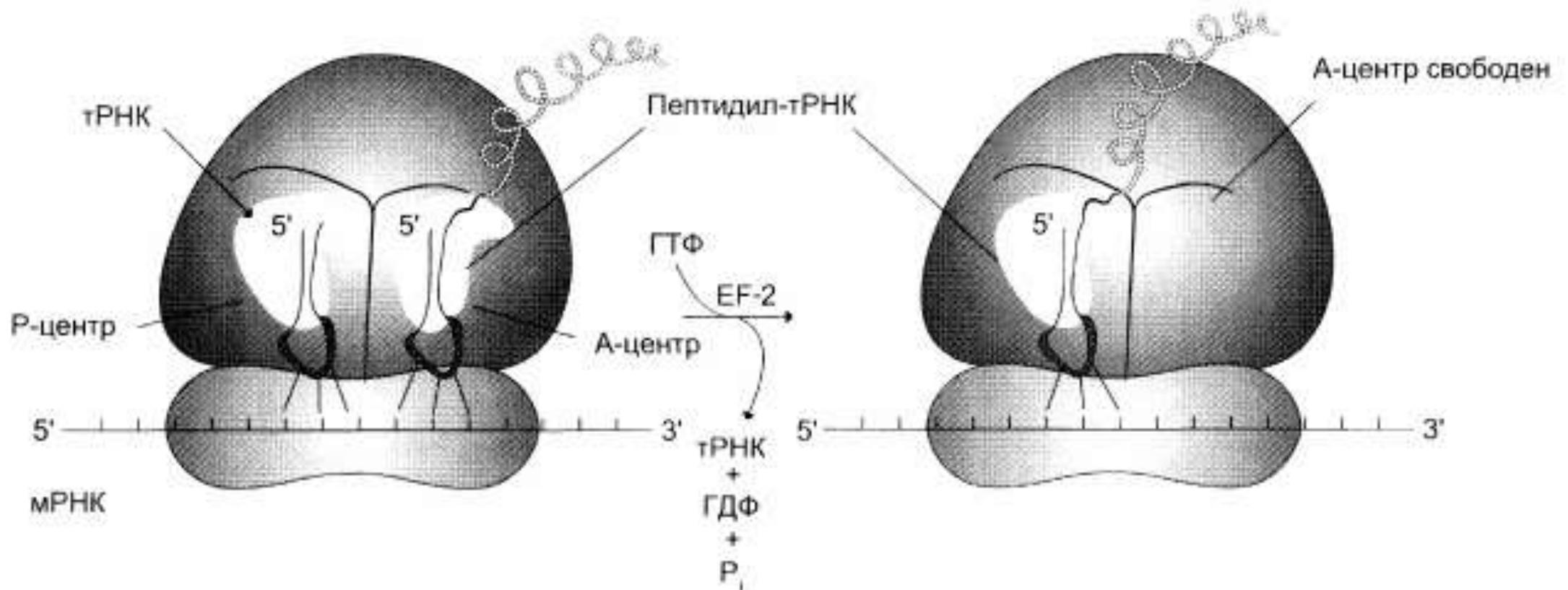


Рис. 4-39. Реакция транспептидации. Метионин от  $\text{Met-tRNA}_i^{\text{Met}}$ , находящегося в P-центре, присоединяется к  $\alpha\text{-NH}_2$ -группе аминокислотного остатка  $\text{aa}_1\text{-tRNA}_i^{\text{aa}}$  A-центра с образованием новой пептидной связи.

# 3 этап элонгации трансляции эукариот



**Рис. 4-40. Стадия транслокации.** К рибосоме присоединяется фактор элонгации EF-2, и за счёт энергии ГТФ продвигает рибосому по мРНК на один кодон к 3'-концу. Пептидил-тРНК, не меняя своего положения относительно мРНК, из А-центра перемещается в Р-центр.

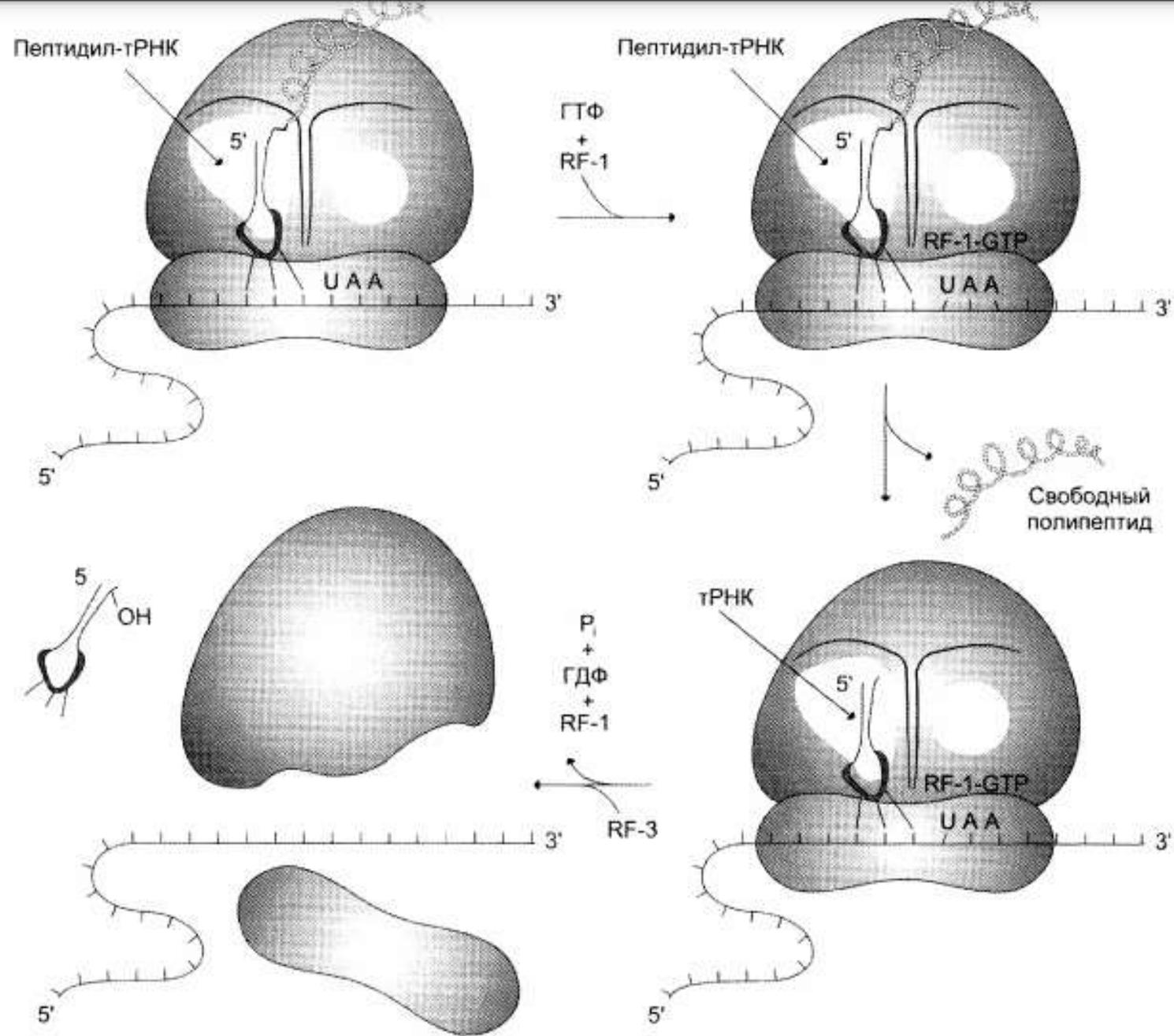
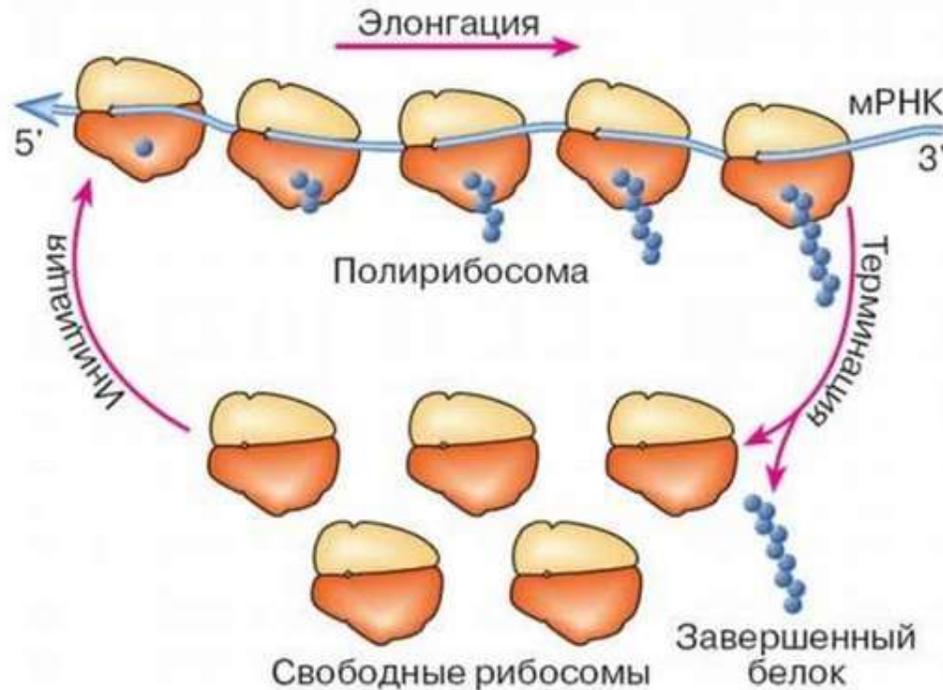


Рис. 4-41. Терминация синтеза белка.

# ПОЛИРИБОСОМЫ

По причине того, что продолжительность жизни матричной РНК невелика, перед клеткой стоит задача использовать ее максимально эффективно, т.е. получить максимальное количество "белковых копий". Для достижения этой цели на каждой мРНК может располагаться не одна, а несколько рибосом, вставших последовательно друг за другом и синтезирующих пептидные цепи. Такие образования называются полирибосомами.

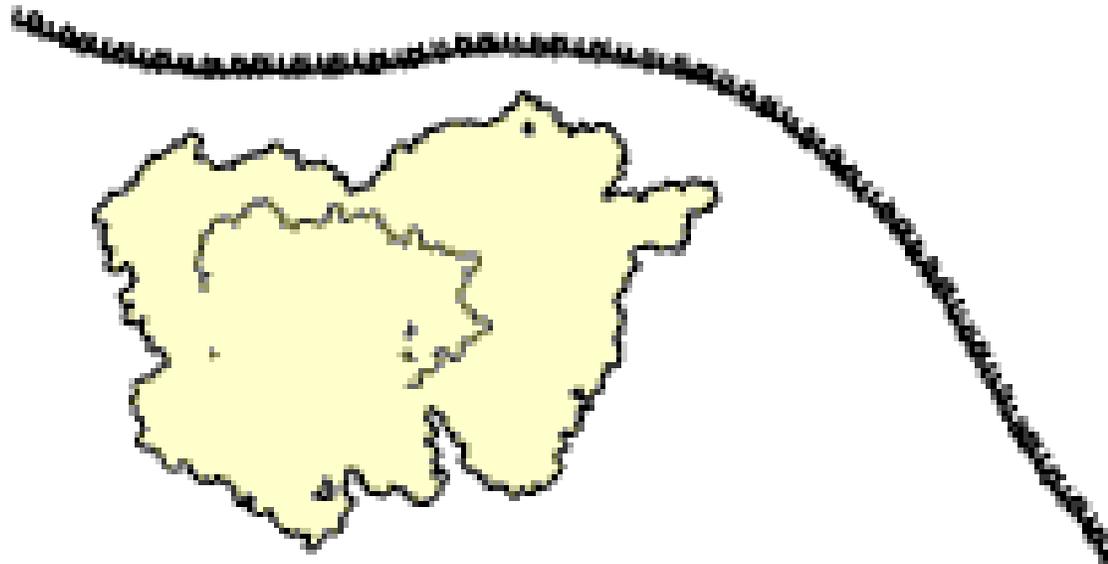


На каждой рибосоме в этой структуре синтезируется своя белковая цепочка, что значительно увеличивает скорость синтеза белка в клетке

# **ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫЙ ПРОЦЕССИНГ**

- **Модификация N-конца полипептидной цепи**
- **Фолдинг (формирование пространственной структуры)**
- **Химическая модификация (гидроксилирование, гликозилирование и др.)**
- **Присоединение простетических групп (у гетеропротеинов)**
- **Объединение протомеров при образовании олигомерных белков**
- **Присоединение сигнальных пептидов для выхода белка из клетки**

# Обобщенный процесс трансляции про- и эукариот



### 3. Ингибиторы трансляции:

- **Тетрациклины** - ингибируют элонгацию: связываются с 30 S субъединицей рибосомы и блокируют присоединение aa-тРНК в А-центр;
- **Левомецетин** - присоединяется к 50 S субъединице рибосомы и ингибирует пептидилтрансферазную активность;
- **Эритромицин** - присоединяется к 50 S субъединице рибосомы и ингибирует транслокацию;
- **Стрептомицин** - ингибирует инициацию трансляции. Связывается с 30 S субъединицей рибосомы, вызывает ошибки в прочтении информации, закодированной в мРНК.

## ВЫВОД:

	Прокариоты	Эукариоты
<b>Рибосома</b>	70S (30S, 50S)	80S (40S, 60S)
<b>Стартовая аминокислота</b>	fmet	met
<b>Факторы инициации</b>	IF1, 2, 3	eIF 1, 2, 3, 4A, 4B, 4C, 4E, 5
<b>Выбор старт-кодона</b>	Последовательность Шайна-Дальгарно	КЭП
<b>Факторы элонгации</b>	EF1 (Tu), EF2 (Ts),	eEF1, eEF2
<b>Факторы терминации</b>	RF1, RF2, RF3	eRF1
<b>Сопряженность с транскрипцией</b>	одновременно	После транскрипции и процессинга РНК