

Курс молекулярной биологии

**Общая схема матричного синтеза белка.
Трансляция у прокариот.**

**Захарова Ирина Борисовна,
к.б.н., доцент**

ОБЩАЯ СХЕМА МАТРИЧНОГО СИНТЕЗА БЕЛКА

Для синтеза белка необходимы

- ✓ рибосомы
- ✓ аминокислоты
- ✓ тРНК
- ✓ набор всех ферментов
- ✓ источники энергии
- ✓ ионы магния
- ✓ специальные белковые факторы
- ✓ мРНК

ДНК непосредственного участия в синтезе белка не принимает

**Трансляция – консервативный процесс
для про- и эукариот**

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



Photo: MRC Laboratory of
Molecular Biology

**Venkatraman
Ramakrishnan**



Credits: Michael
Marsland/Yale University

Thomas A. Steitz



Credits: Micheline
Pelletier/Corbis

Ada E. Yonath



**2009 г. В. Рамакришнан, Т. Стейц и А. Йонат
получили нобелевскую премию по химии за
исследование структуры и функций рибосомы**

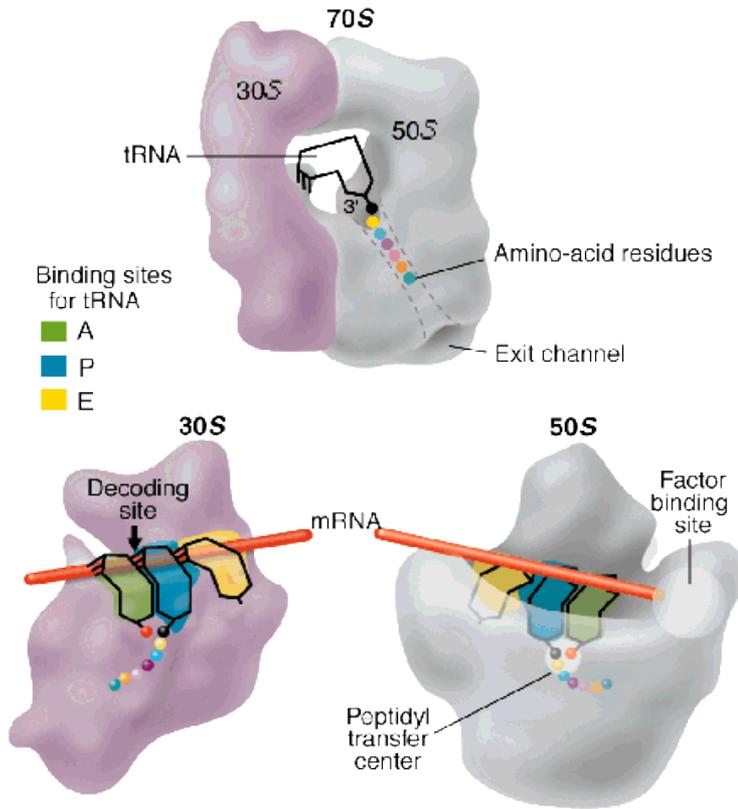
Рибосомы

Рибосомы представляют собой рибонуклеопротеидный комплекс, состоящий из рибосомных белков и молекул рРНК

1. *Прокариотические 70S.*
2. *Эукариотические 80S.*
3. *Рибосомы митохондрий*
 - 55S - у животных
 - 75S - у грибов
 - 77S – у растений
4. *Рибосомы хлоропластов (70S у высших растений)*

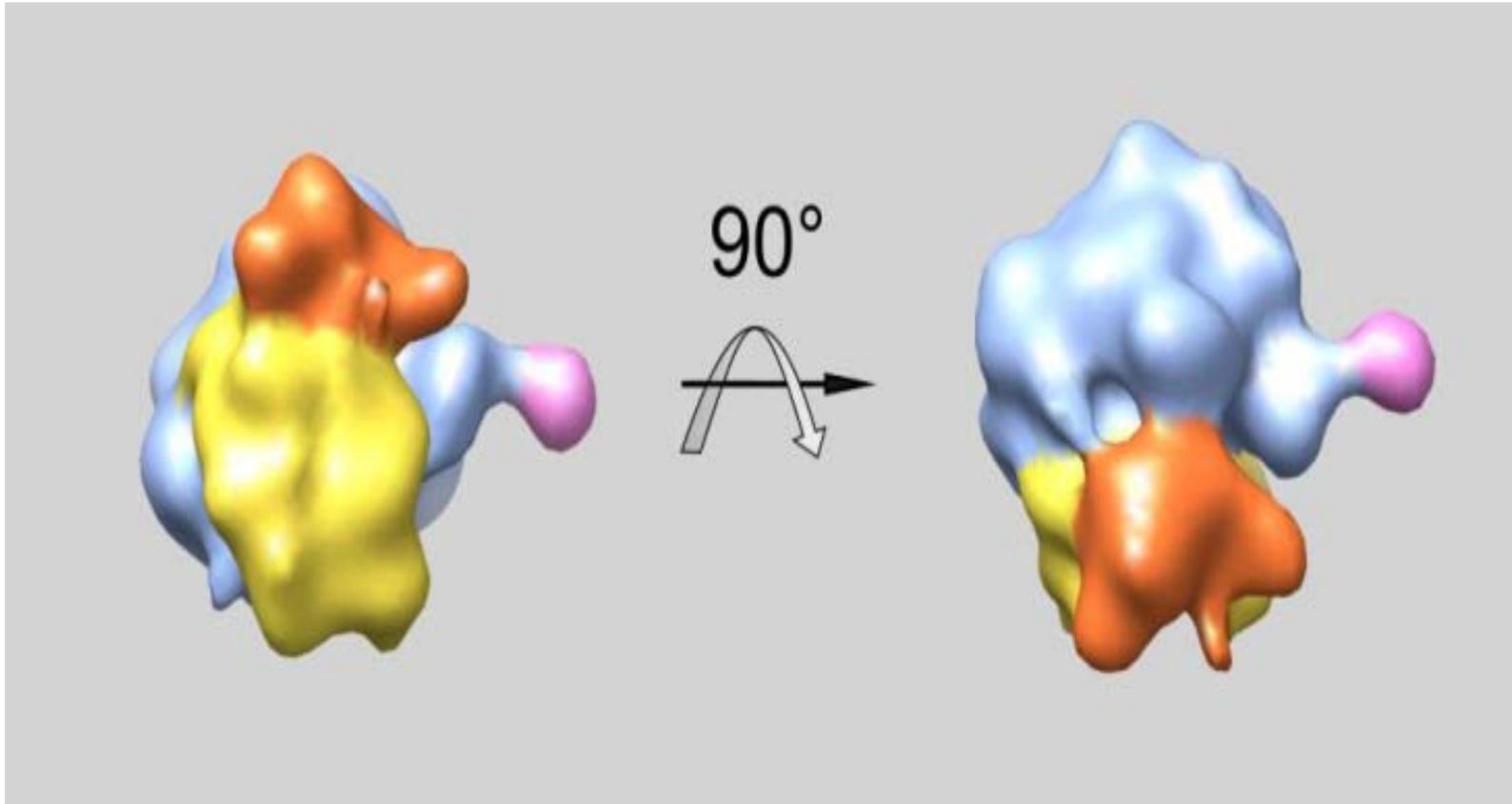
Структура рибосомы

Каждая рибосома состоит из 2-х субъединиц (большой и малой)



Прокариотическая рибосома		Эукариотическая рибосома	
70S		80S	
50S	30S	60S	40S
5S rPHK 23S rPHK	16S rPHK	5S rPHK 5.8S rPHK 28S rPHK	18S rPHK
34 белка, из них 31 разные	21 белок	не менее 50 разных белков	не менее 33 разных белков

Трёхмерное изображение эукариотической 80S рибосомы по данным крио-электронной томографии



Функции р-РНК в рибосоме

- Каркасная
- Каталитическая
- Узнавание сайта начала трансляции на мРНК

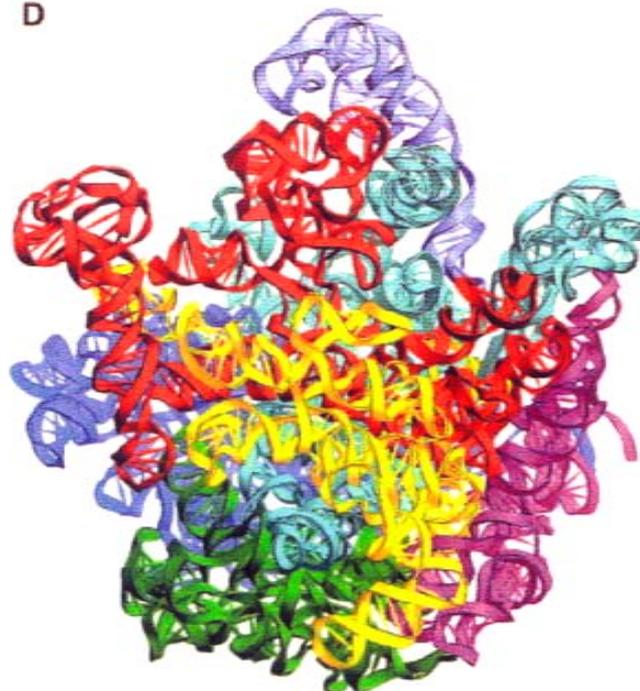
ТРЕТИЧНЫЕ СТРУКТУРЫ РИБОСОМНЫХ РНК

C

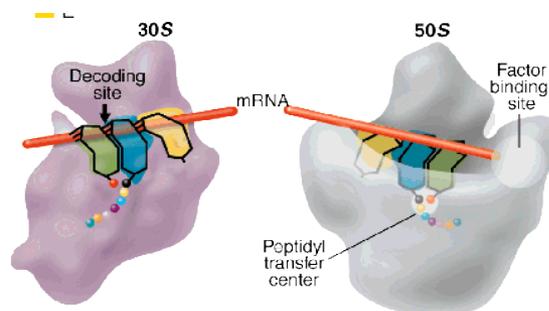


16S ribosomal RNA

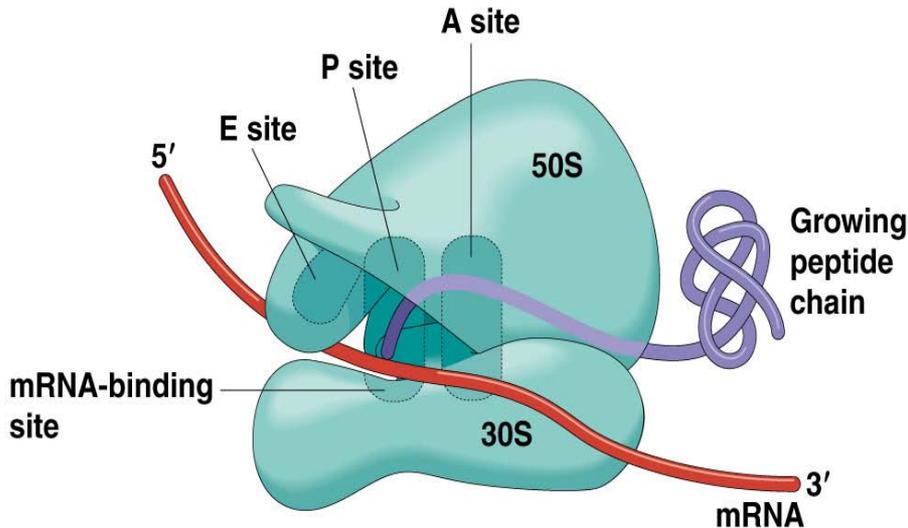
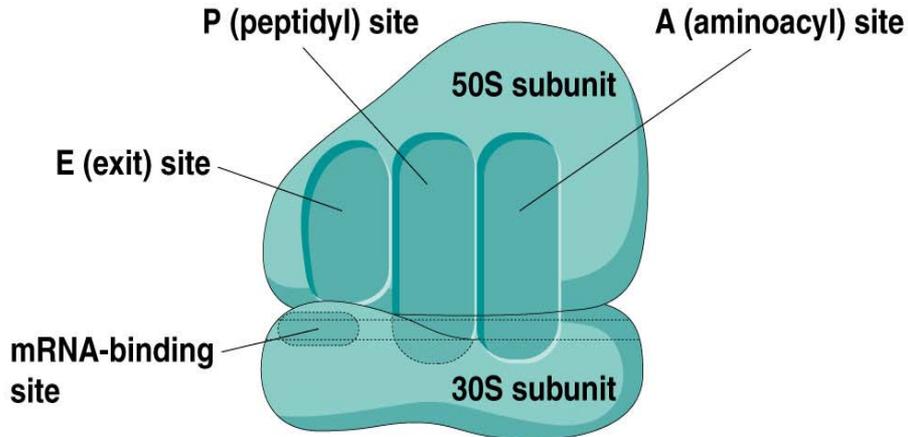
D



23S ribosomal RNA

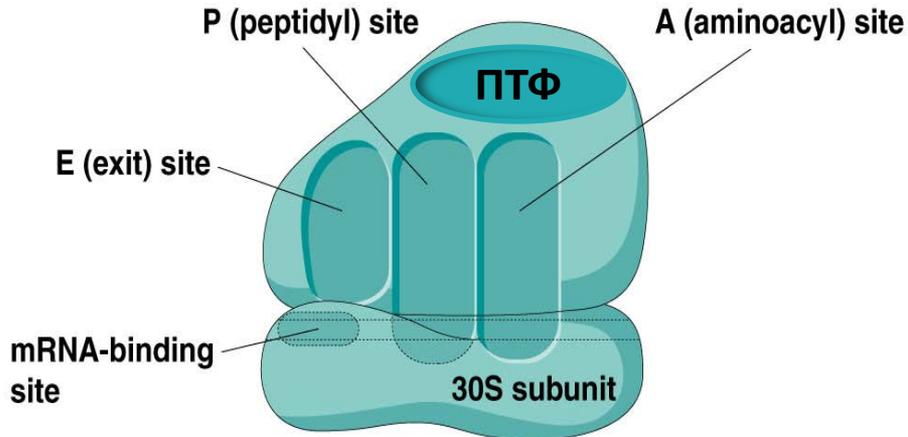


Активные центры рибосомы

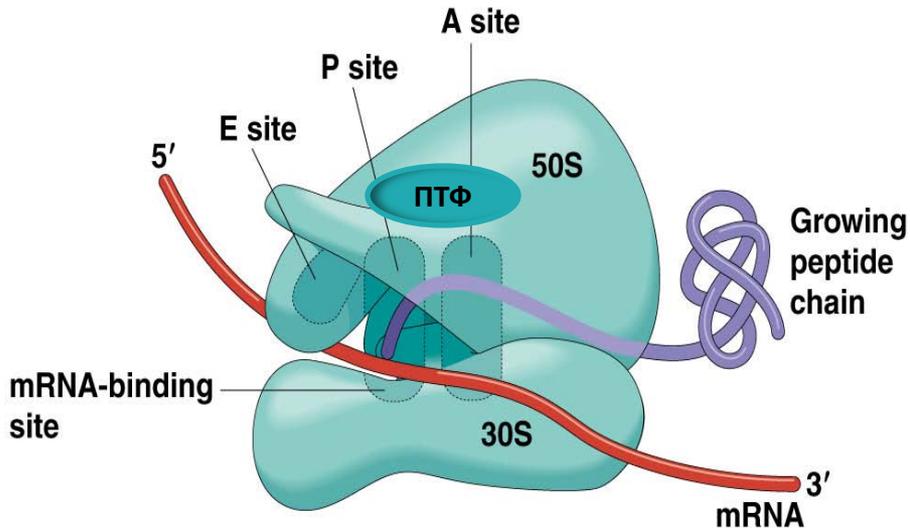


- **Пептидильный центр (Р-центр).** С Р-центром в начале процесса связывается инициаторная аминоацил-тРНК. На последующих стадиях в Р-центре находится пептидил-тРНК.
- **Аминоацильный центр (А-центр)** является местом связывания очередной аминоацил-тРНК.
- **Центр связывания мРНК (М-центр).** Образован участком 18S (16S) рРНК (5-9 п. н.), комплементарный фрагменту 5'-конца мРНК.

Активные центры рибосомы



- Пептидил-трансферазный центр (ПТЦ) является местом образования пептидной связи (CO-NH). Локализован в большой субъединице.
- **Е сайт** – место выхода освободившейся тРНК



ВТОРАЯ БУКВА

		ВТОРАЯ БУКВА			
		U	C	A	G
ПЕРВАЯ БУКВА	U	UUU } Фенил-аланин F UUC } UUA } Лейцин L UUG }	UCU } Серин S UCC } UCA } UUG }	UAU } Тирозин Y UAC } UAA } Стоп-кодон UAG } Стоп-кодон	UGU } Цистеин C UGC } UGA } Стоп-кодон UGG } Триптофан W
	C	CUU } Лейцин L CUC } CUA } CUG }	CCU } Пролин P CCC } CCA } CCG }	CAU } Гистидин H CAC } CAA } Глутамин Q CAG }	CGU } Аргинин R CGC } CGA } CGG }
	A	AUU } Изолейцин I AUC } AUA } AUG } Метионин старт-кодон M	ACU } Треонин T ACC } ACA } ACG }	AAU } Аспарагин N AAC } AAA } Лизин K AAG }	AGU } Серин S AGC } AGA } Аргинин R AGG }
	G	GUU } Валин V GUC } GUA } GUG }	GCU } Аланин A GCC } GCA } GCG }	GAU } Аспарагиновая кислота D GAC } GAA } Глутаминовая кислота E GAG }	GGU } Глицин G GGC } GGA } GGG }
		ТРЕТЬЯ БУКВА			
		U	C	A	G

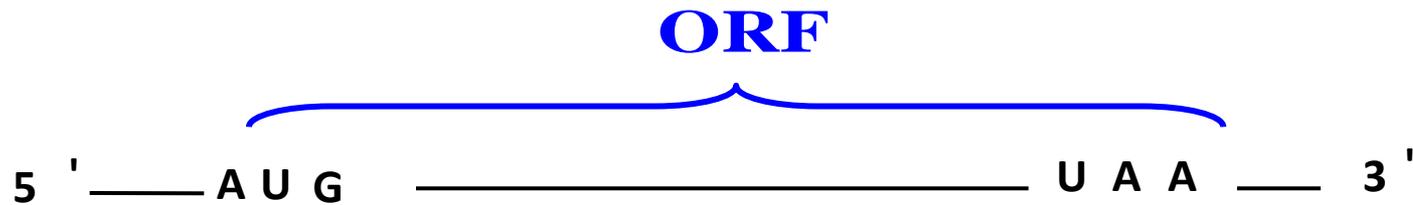
Свойства генетического кода

1. Триплетность
2. Непрерывность
3. Неперекрываемость
4. Однозначность — определённый кодон соответствует только одной аминокислоте.
5. Вырожденность — одной и той же аминокислоте может соответствовать несколько кодонов.
6. Универсальность

- Если аминокислота кодируется более, чем одним кодоном, то эти кодоны различаются, как правило, только по третьему основанию
- Одна и та же тРНК может связываться более, чем с одним кодоном (в пределах семьи кодонов).

- Три стоп-кодона: **UAA, UAG, UGA.**
- Один стартовый кодон: **AUG** - также является кодоном для метионина
- **61** кодон для **20** аминокислот

Полная последовательность мРНК, от
иницирующего кодона до кодона
терминации, называется открытой рамкой
считывания **open reading frame**



Транспортная РНК

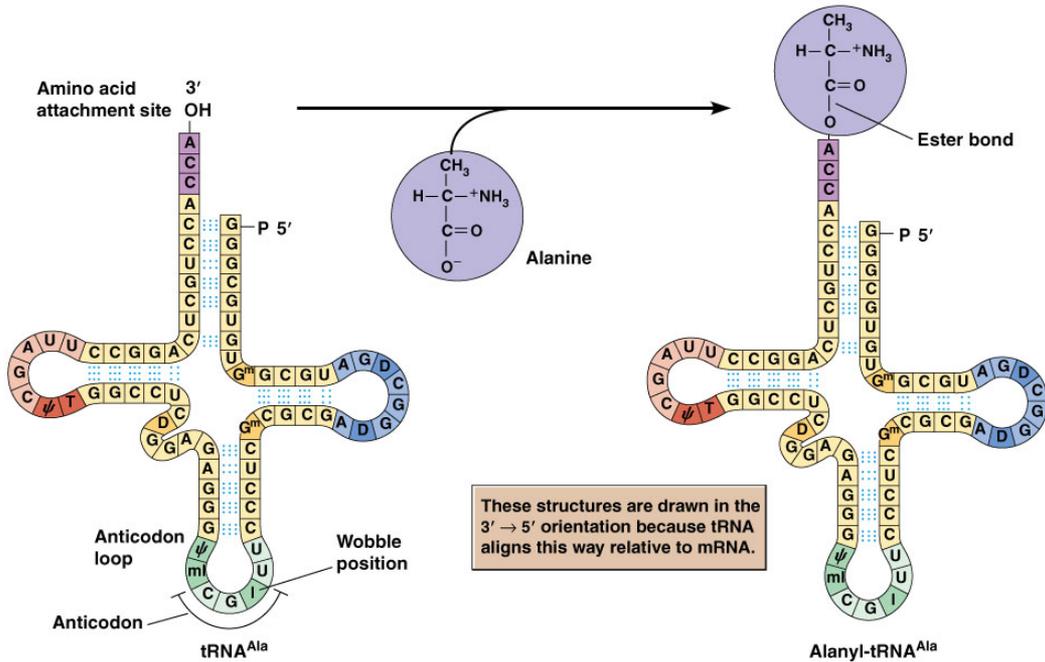


1965 г. Р. Холли определяет первичную и вторичную структуры аланиновой тРНК

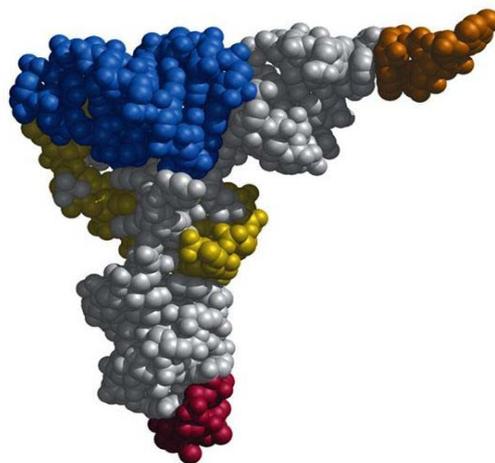
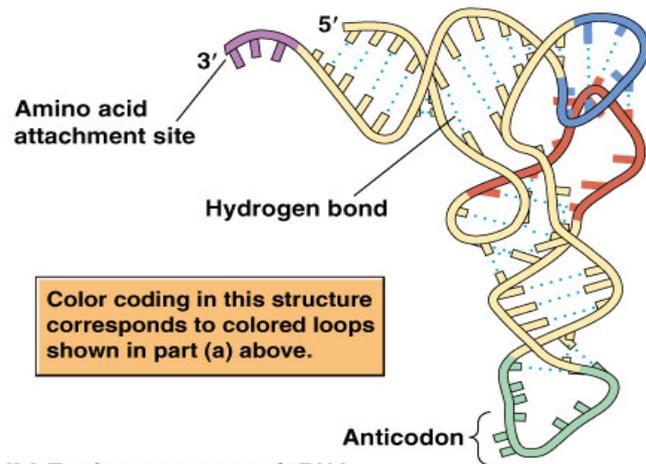


В 1968 Роберт Уильям Холли, Хар Гобинд Корана и Маршалл Ниренберг были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине «за расшифровку генетического кода и его роли в синтезе белка».

Структура тРНК



- Акцепторный «стебель»
- D-домен
(Дигидроуридиновый)
- Антикодоновая петля
- Варибельная петля
- Псевдоуридиловый домен



(b) Tertiary structure of tRNA

АКТИВИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

(Рекогниция)

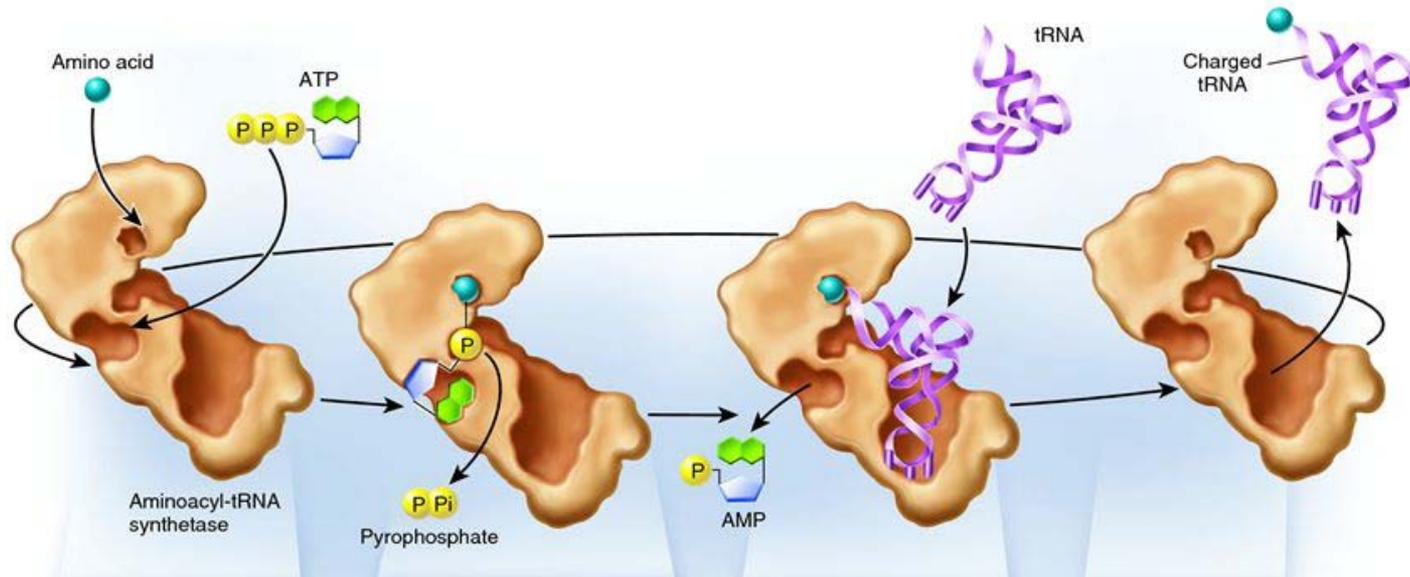
Рекогниция - это подготовительный этап трансляции, суть которого в образовании ковалентной связи между tРНК и соответствующей аминокислотой

Активирование аминокислот проходит в два этапа при участии специфических ферментов – *аминоацил-tРНК-синтетаз (кодаз)*

Функция синтетазы – связывание с отдельно существующими молекулами и объединение их в одну

Активирование аминокислот (Рекогниция)

В активном центре синтетаз есть отдельные сайты для узнавания аминокислоты и тРНК



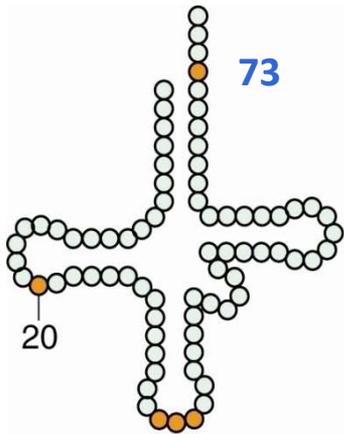
1. Синтетаза соединяет аминокислоту и молекулу АТФ, образуя аминоациладенилат
2. Синтетаза присоединяет к себе соответствующую этой аминокислоте тРНК
3. Активированная аминокислота ковалентно связывается с тРНК

- Для каждой аминокислоты существует своя тРНК – 20 аминокислот кодируются 61 кодоном, соответственно существует 61 тип тРНК.
- Существует 20 вариантов синтетаз (по числу аминокислот)

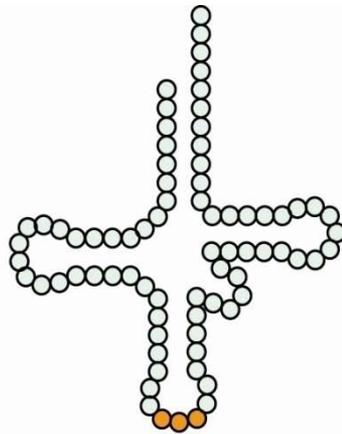
тРНК, имеющие разную первичную, но одинаковую третичную структуру, акцептирующие одну и ту же аминокислоту и узнаваемые одной и той же аминоацил-тРНК-синтетазой (кодазой) называются

изоакцепторными тРНК

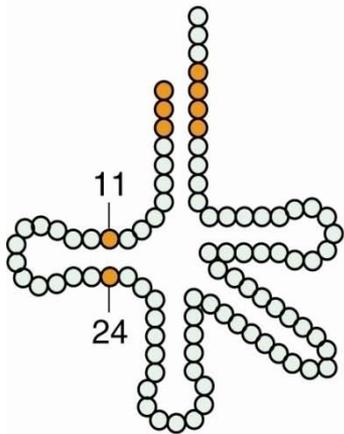
Элементы узнавания тРНК “своей” синтетазой



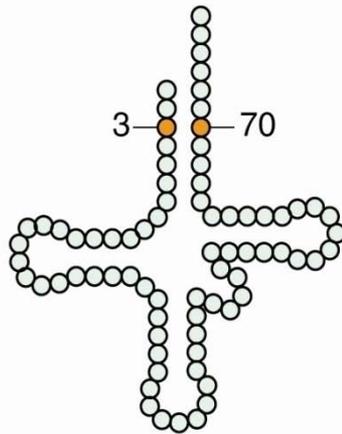
tRNA^{Phe} (yeast)



tRNA^{fMet}



tRNA^{Ser}



tRNA^{Ala}

1. Антикодон (остатки 34–36)

2. Нуклеотид 73,
предшествующий
ССА-концу:

Если в этом положении находится

- **A** – тРНК акцептирует гидрофобные аминокислоты

- **G** – полярные

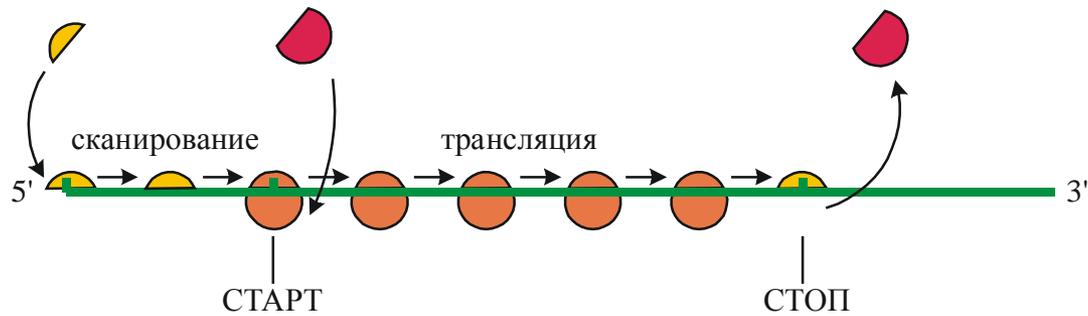
3. Первые три пары нуклеотидов акцепторного стебля (1–72, 2–71, 3–70).

Процесс трансляции состоит из трех этапов:

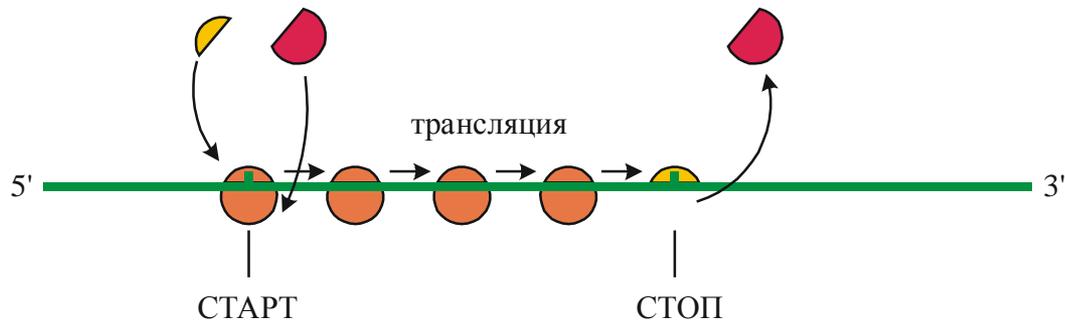
- 1. Инициация***
- 2. Элонгация***
- 3. Терминация***

Два пути инициации трансляции

Эукариоты:

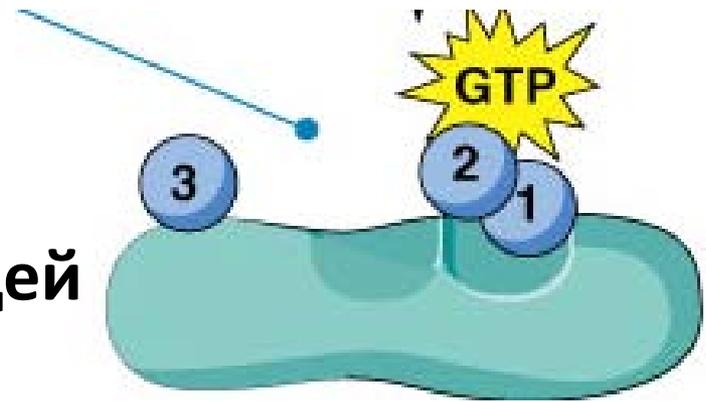


Прокариоты:



Белковые факторы инициации трансляции у бактерий

Связываются с малой субчастицей

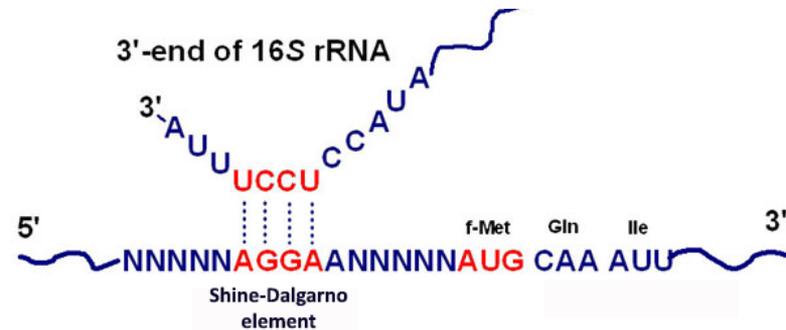


- | | | |
|------------|-------|---|
| IF1 | 8 kD | стимуляция образования инициаторного 30S-комплекса, позиционирование fMet-tRNA ^{fMet} |
| IF2 | 97 kD | Взаимодействует <u>только</u> с инициаторной tRNA и образует комплекс F-Met-tRNA:IF2:GTP и помещает его в P-сайт |
| IF3 | 20 kD | связанный с 30S-субъединицей, предотвращает ассоциацию с большой (50S) субъединицей рибосомы, способствует присоединению mRNA |

Инициация трансляции у прокариот

- Последовательность Шайн — Дальгарно (SD) — сайт связывания рибосом на молекуле мРНК прокариот, обычно на расстоянии около 10 нуклеотидов перед стартовым кодоном AUG
- Исследована австралийскими учёными Джоном Шайном и Линн Дальгарно.
- Комплементарная последовательность (анти-SD) располагается на 3'-конце молекулы 16S рибосомной РНК.

Комплементарное взаимодействие между SD и анти-SD определяет позиционирование аа-тРНК на старт-кодоне мРНК в Р-сайт рибосомы для начала биосинтеза белка



Инициация

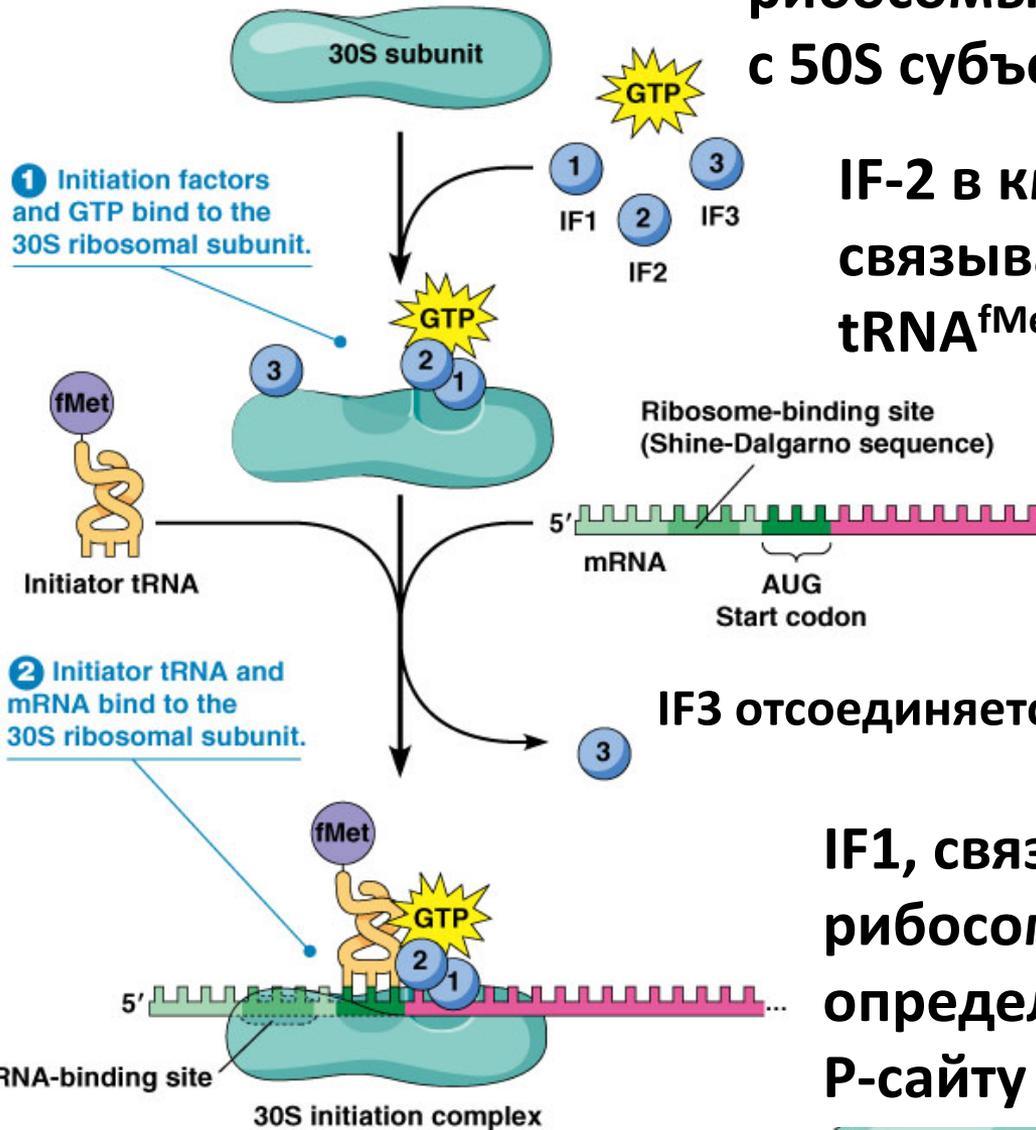
IF-3 связанный с малой субъединицей рибосомы препятствует ее связыванию с 50S субъединицей

IF-2 в комплексе с ГТФ участвует в связывании иницирующей fMet-tRNA^{fMet}

30S-субчастица взаимодействует с мРНК

IF3 отсоединяется

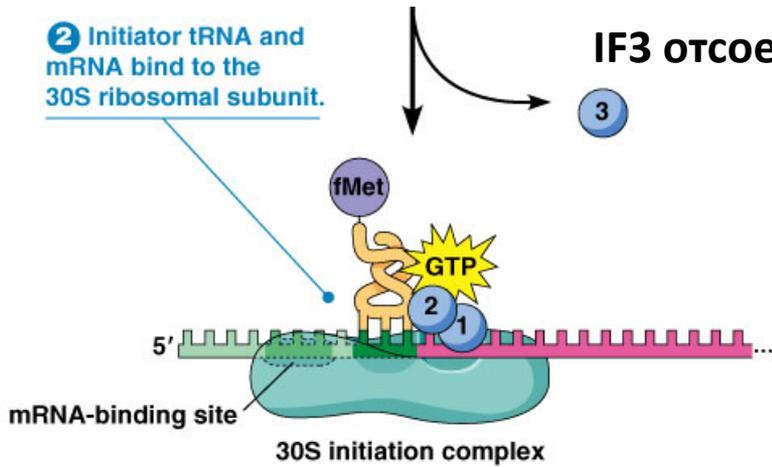
IF1, связанный с А-сайтом 30S рибосомной субъединицы, определяет присоединение tRNA к Р-сайту блокируя А-сайт.



2 Initiator tRNA and mRNA bind to the 30S ribosomal subunit.

IF3 отсоединяется

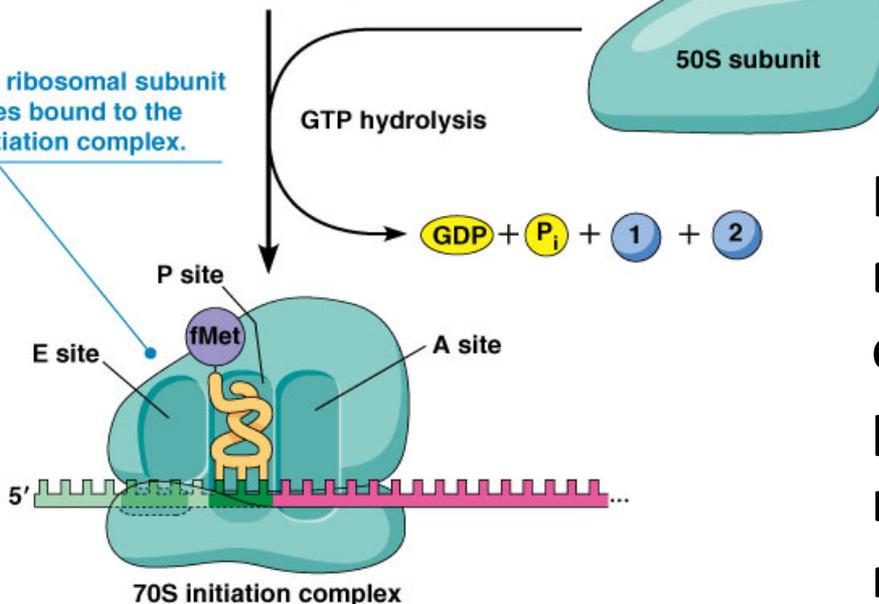
Инициаторная fMet-tRNA устанавливается в Р-сайте 30S рибосомной субъединицы

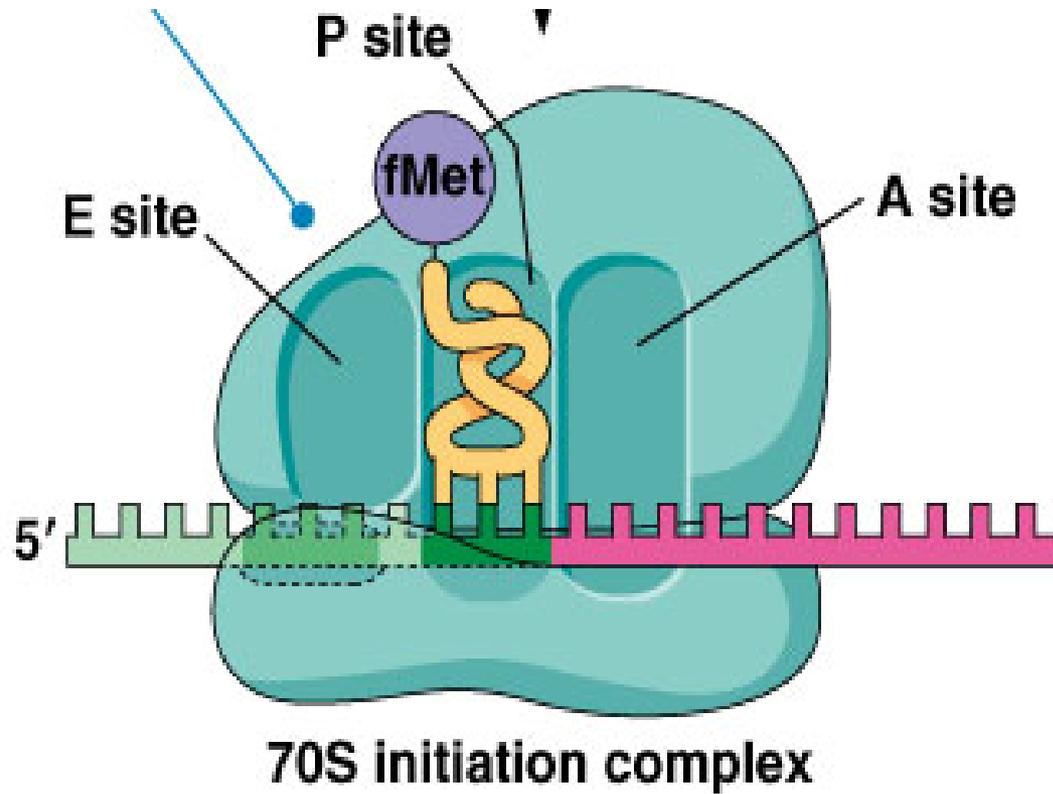


3 50S ribosomal subunit becomes bound to the 30S initiation complex.

GTP hydrolysis

IF2 фактор стимулирует взаимодействие с 50S субъединицей. После сборки рибосомы IF2 покидает комплекс. Во время этого процесса GTP связанный с IF2 гидролизуется до GDP и P_i



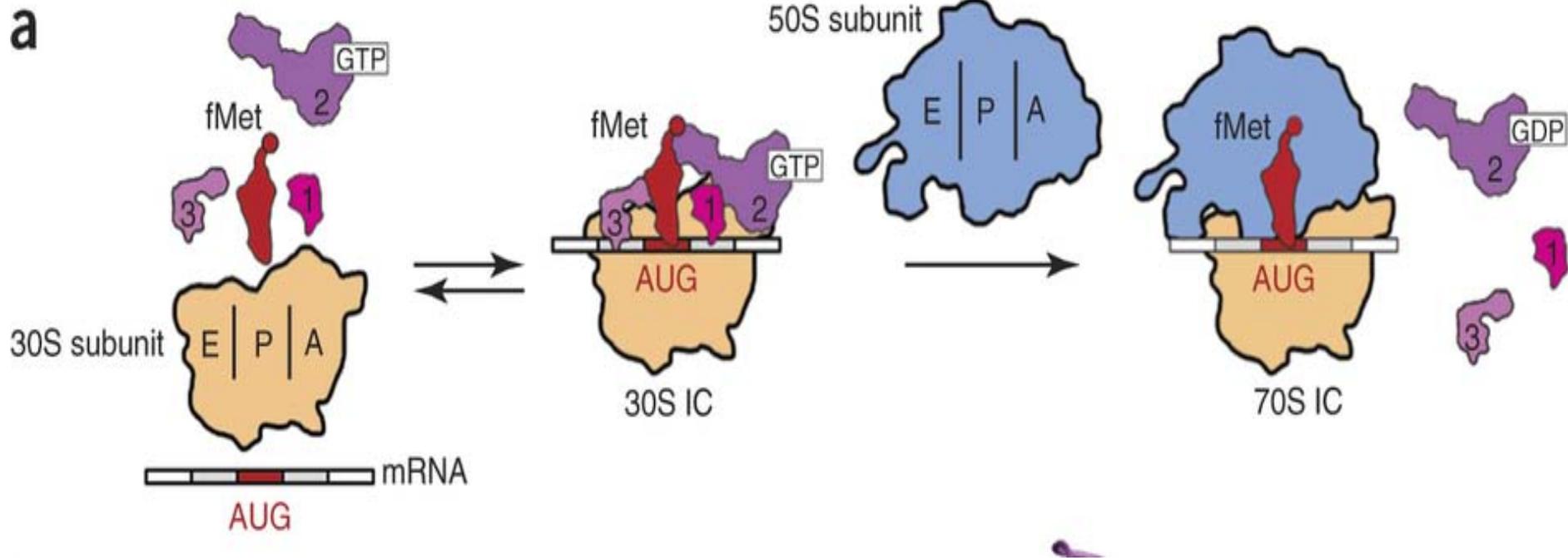


© 2012 Pearson Education, Inc.

При ассоциации 70S-рибосомы образуются два активных центра: P и A.

Инициаторная $fMet-tRNA_i^{met}$ занимает P-центр

Минимальная модель инициации трансляции у прокариот



Элонгация

Факторы элонгации прокариот

EF-Tu-GTP связывается с aa-tРНК и доставляет их к А-центру

EF-Ts катализирует обмен ГДФ на ГТФ и регенерирует комплекс EF-Tu · GTP

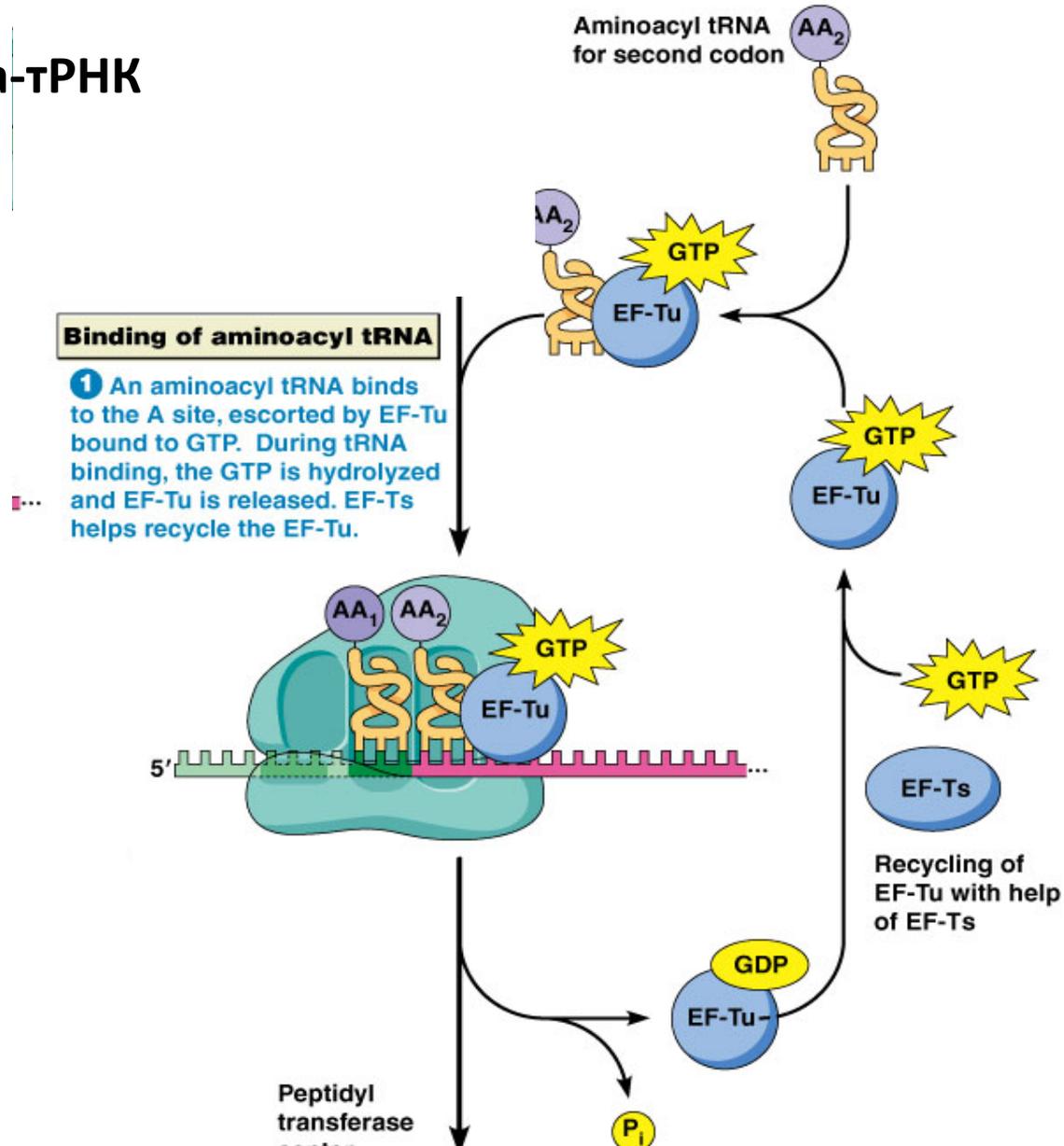
EF-G обеспечивает транслокацию рибосомы

Стадия 1. Кодонспецифический выбор aa-tРНК.

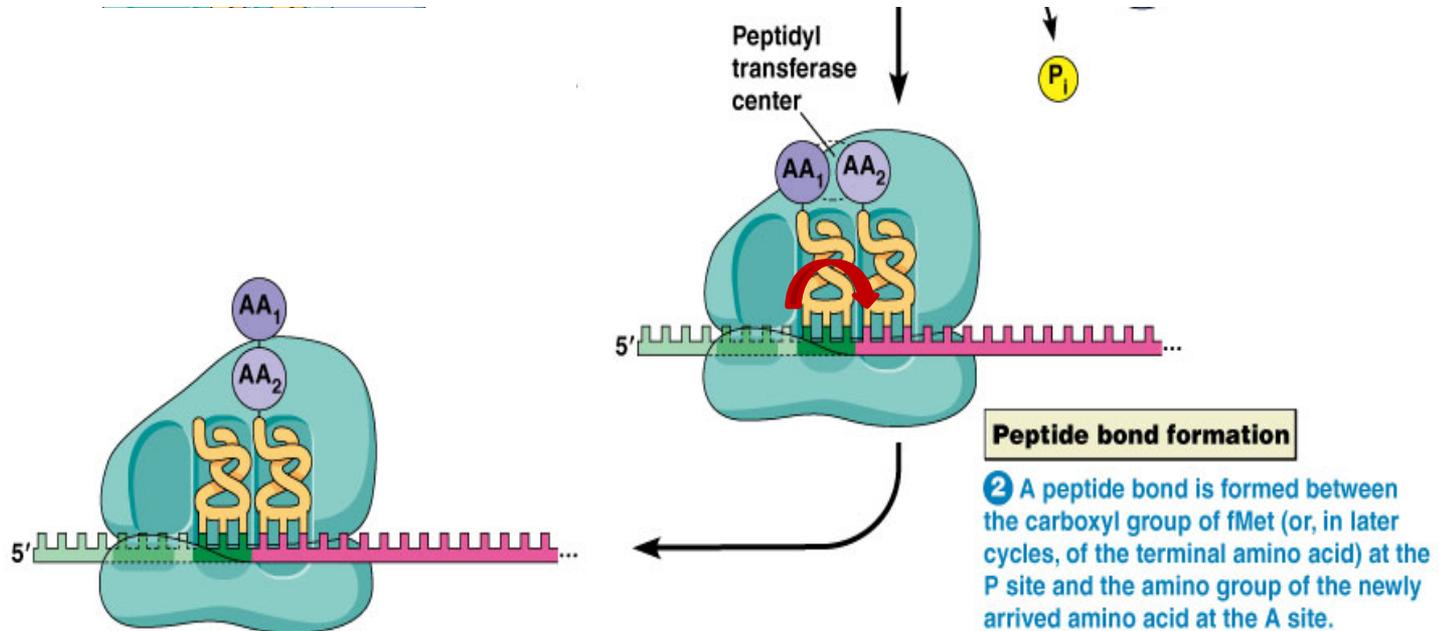
EF-Tu-GTP связывается с aa-tРНК

Связывание второй aa-tРНК-EF-Tu-GTP с мРНК так, что ее аминокислотный конец попадает в А-центр

Следующий этап – гидролиз GTP до GDP, EF-Tu высвобождается из рибосомы



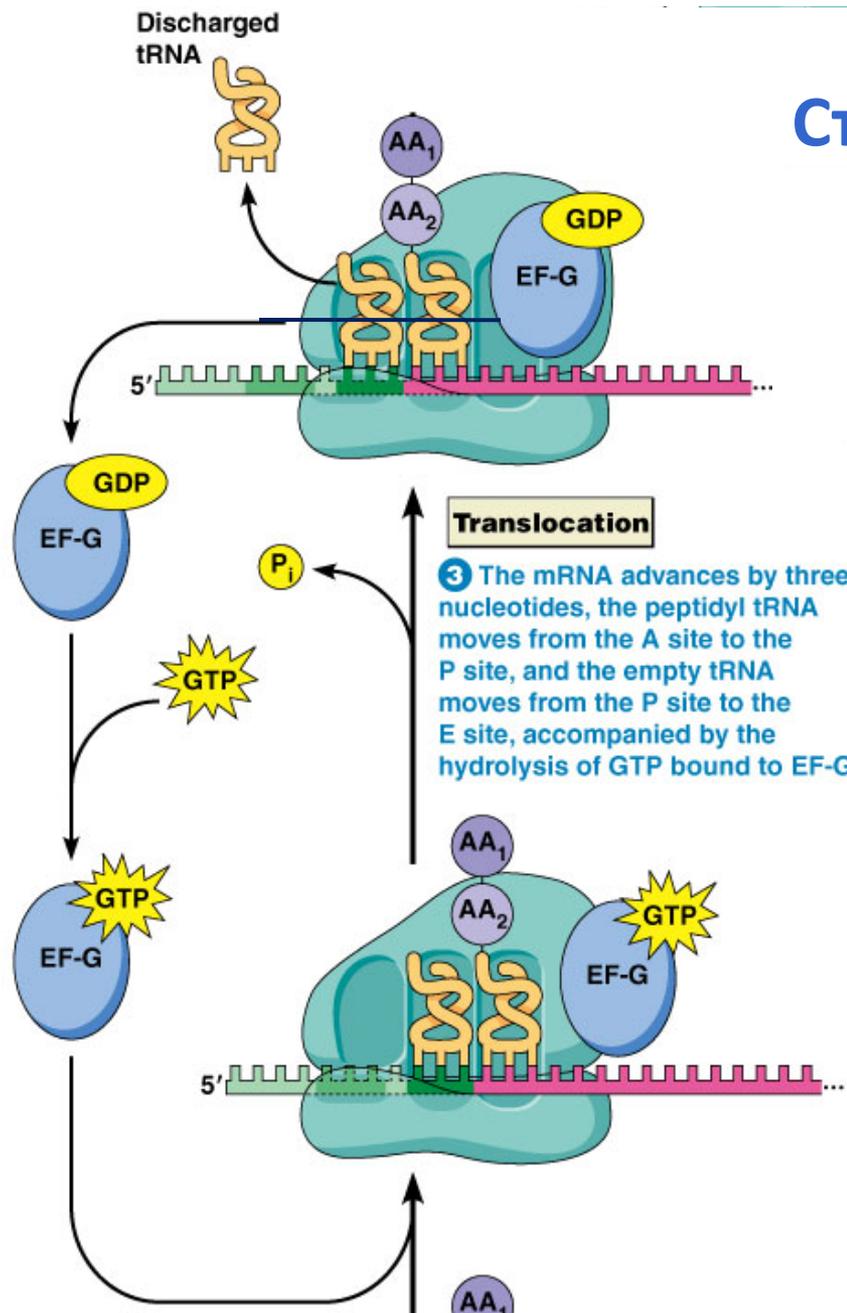
Стадия 2. Транспептидация



© 2012 Pearson Education, Inc.

Эта реакция катализируется пептидилтрансферазной активностью молекулы 23S рРНК большой субъединицы рибосомы.

Стадия 3. Транслокация



Перемещение пептидил-тРНК с акцепторного на донорный – осуществляет EF-G-GTP (транслоказа)
Для удаления EF-G из рибосомы гидролизуется GTP до GDP

В каждом цикле элонгации

- Если при инициации трансляции **IF-2** узнает Fmet-тРНКFMet среди всех других аминоксил-тРНК и позиционирует ее в **Р-центр**, то **EF-Tu** отличает met-тРНКF Met от Fmet-тРНКM Met при внедрении в **А-центр**.
- Факторы элонгации EF-Tu и EF-G то присоединяются, то отделяются от рибосомы в зависимости от того, связаны ли они с GTP или с GDP соответственно.
- Растущая полипептидная цепь всегда соединена своим карбоксильным концом с тРНК, которая соответствует С-концевой аминокислоте в растущей полипептидной цепи.
- Пептидилтрансфераза катализирует формирование пептидных связей между карбоксильным концом растущей цепи и аминогруппой аминоксил-тРНК.

Терминация

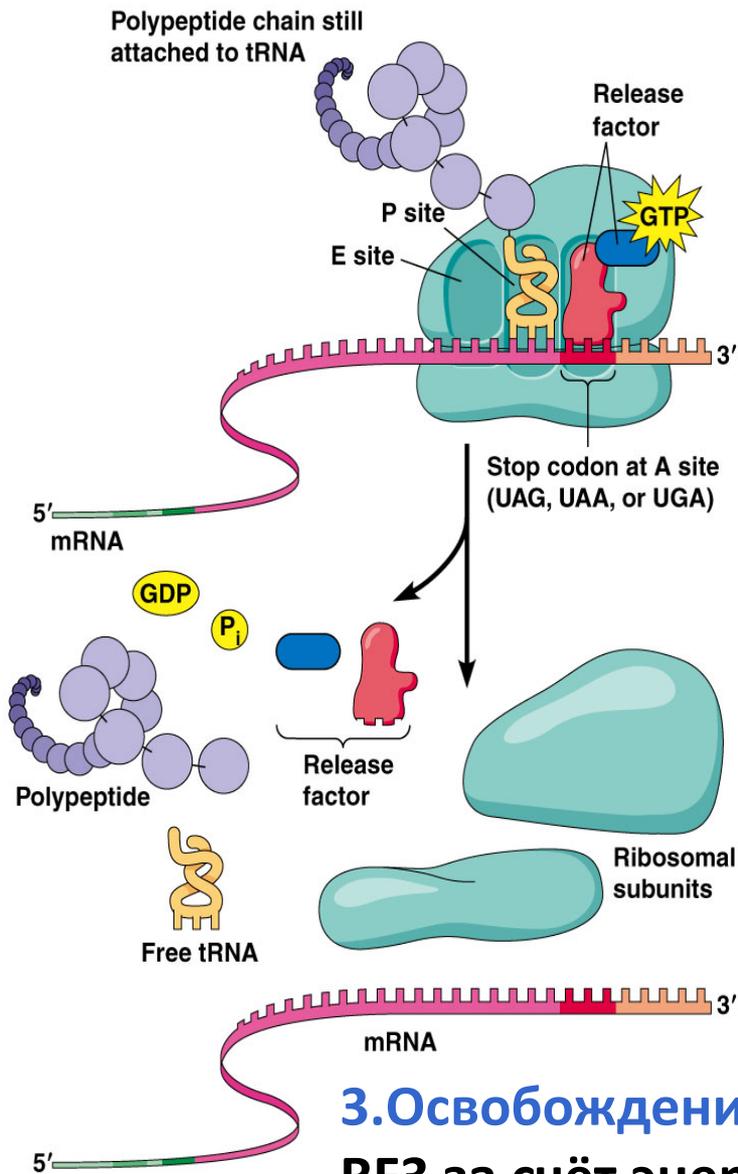
Терминация трансляции (Тт) – это процесс завершения синтеза полипептидной цепи и освобождение ее из связи с последней тРНК и рибосомой.

Сигналом о завершении трансляции является один из трех бессмысленных (нонсенс) кодонов:

UAA, UAG, UGA

В терминации трансляции у прокариот участвуют три белковых фактора:

- **RF-1** вызывает отделение полипептидной цепи при считывании кодонов UAA и UAG;
- **RF-2** действует аналогичным образом при считывании UAA и UGA,
- **RF-3** - ГТФ-содержащий фактор - поставляет энергию для диссоциации комплекса на составляющие компоненты



1. Узнавание терминирующего кодона.
 Тут начинается с того, что в А-сайт поступает один из терминирующих кодонов. Поскольку этим кодоном не соответствует какая-либо aa-тРНК, с этим участком связывается один из факторов терминации – RF-1 или RF-2. Эта реакция стимулируется фактором RF-3.

2. Гидролиз связи между донорной тРНК
 RF-1 или RF-2 стимулирует гидролитическое отщепление пептидилтрансферазой рибосомы синтезированного пептида от тРНК.

3. Освобождение рибосомы из комплекса с мРНК и тРНК
 RF3 за счёт энергии гидролиза ГТФ вызывает диссоциацию рибосомы на субъединицы

Общая схема процесса трансляции

