

Транслация – синтез на белтъци

Доц. Милена Атанасова, д.б.
Ръководител сектор “Биология”
МУ-Плевен

Генетичен код

AGA										
AGG										
GCA	CGA						GGA			
GCC	CGC						GGC		AUA	
GCG	CGG	GAC	AAC	UGC	GAA	CAA	GGG	CAC	AUC	
GCU	CGU	GAU	AAU	UGU	GAG	CAG	GGU	CAU	AUU	
Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Ile	
A	R	D	N	C	E	Q	G	H	I	

UUA					AGC					
UUG					AGU					
CUA				CCA	UCA	ACA			GUA	
CUC				CCC	UCC	ACC			GUC	
CUG	AAA		UUC	CCG	UCG	ACG		UAC	GUG	UAA
CUU	AAG	AUG	UUU	CCU	UCU	ACU	UGG	UAU	GUU	UAG
Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val	stop
L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V	

start

Процес на превеждане на информацията от РНК в белтък

- Усложнен матричен принцип
- Генетичен код
- Четирибуквени триплети ($4^3 = 64$)
- синонимен/изроден
- универсален
- кодон – триплет от иРНК, кодиращ една аминокиселина (митохондриални и вирусни диалекти)
- Неприпокриващ се



- Рамка за четене – определя се от инициращ кодон – AUG

Взаимодействие кодон:антикодон. Хипотеза на колебанието -**Wobble Hypothesis**

Фр. Крик проучва кодоните за АК с повече кодони и забелязва че кодони от типа XYU XYC винаги кодират една и съща АК, както и XYA и XYG.

I база от антик.

Комплементира се с III база от к.

У

А или Г

Ц

Г

А

У

Г

У или Ц

И

У или Ц или А

Хипотеза на колебанието

table 27–5

How the Wobble Base of the Anticodon Determines the Number of Codons a tRNA Can Recognize*

1. One codon recognized:

Anticodon	(3') X–Y– C (5')	(3') X–Y– A (5')
Codon	(5') Y–X– G (3')	(5') Y–X– U (3')

2. Two codons recognized:

Anticodon	(3') X–Y– U (5')	(3') X–Y– G (5')
Codon	(5') Y–X– A G (3')	(5') Y–X– C U (3')

3. Three codons recognized:

Anticodon	(3') X–Y– I (5')
Codon	(5') Y–X– A U C (3')

*X and Y denote complementary bases capable of strong Watson-Crick base pairing with each other. The bases in the wobble positions—the 3' position of codons and 5' position of anticodons—are shaded in red.

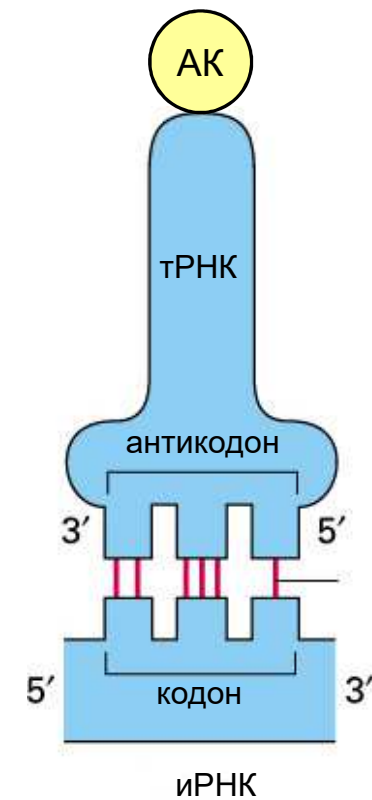
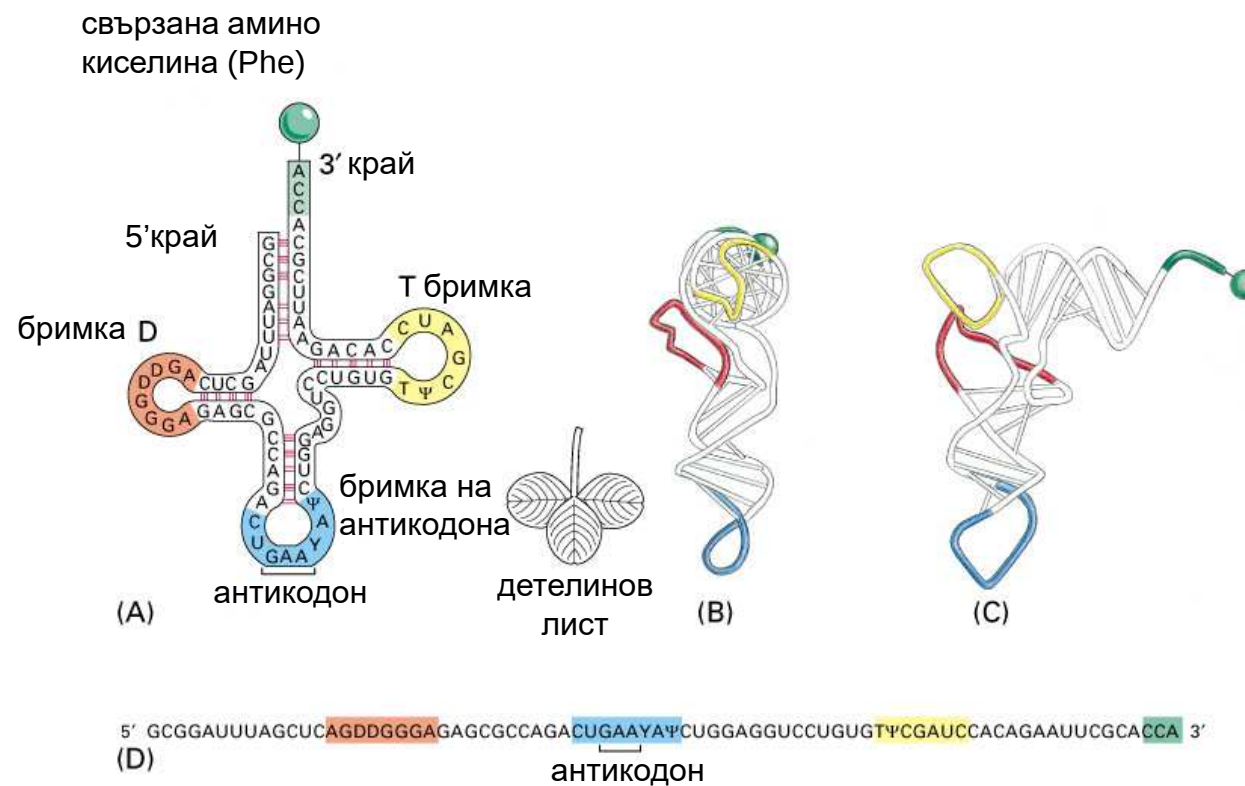
В молекулярната биология, колебливото сдвояване на базите е не-Watson-Crick базово сдвояване между два нуклеотида в РНК. Четирите главни колебливи бази са Г-У, И-У, И-А, и И-Ц. Колебливите базови сдвоявания са основни за вторичната структура на РНК и са критични за качествената трансляция на генетичния код.

Инозинът е продукт на дезаминирането на А след синтеза на тРНК.

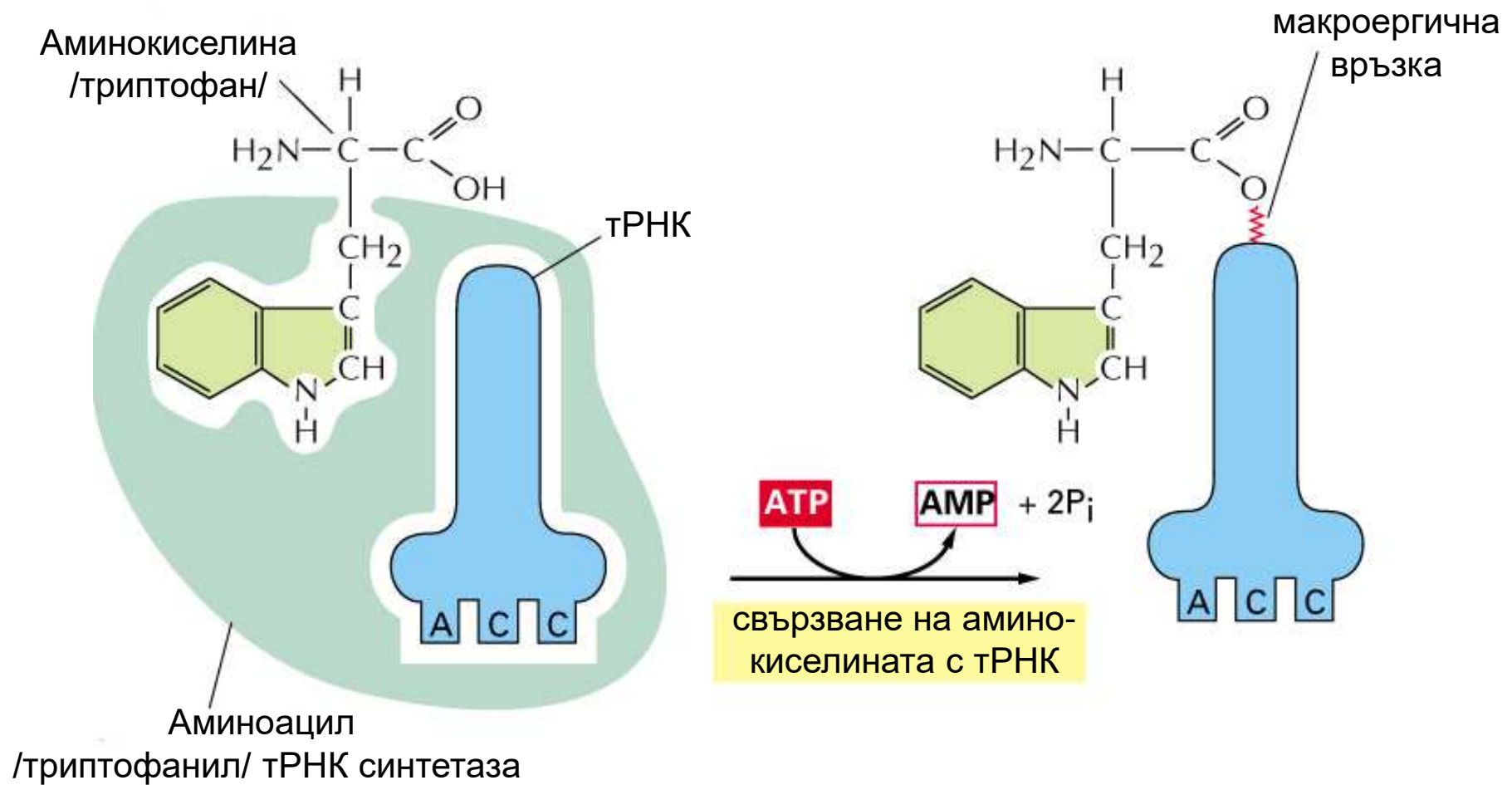
Участници в процеса на трансляция

- иРНК
- тРНК
- рибозоми
- 20 АК
- транслационни фактори

Транспортни РНКи

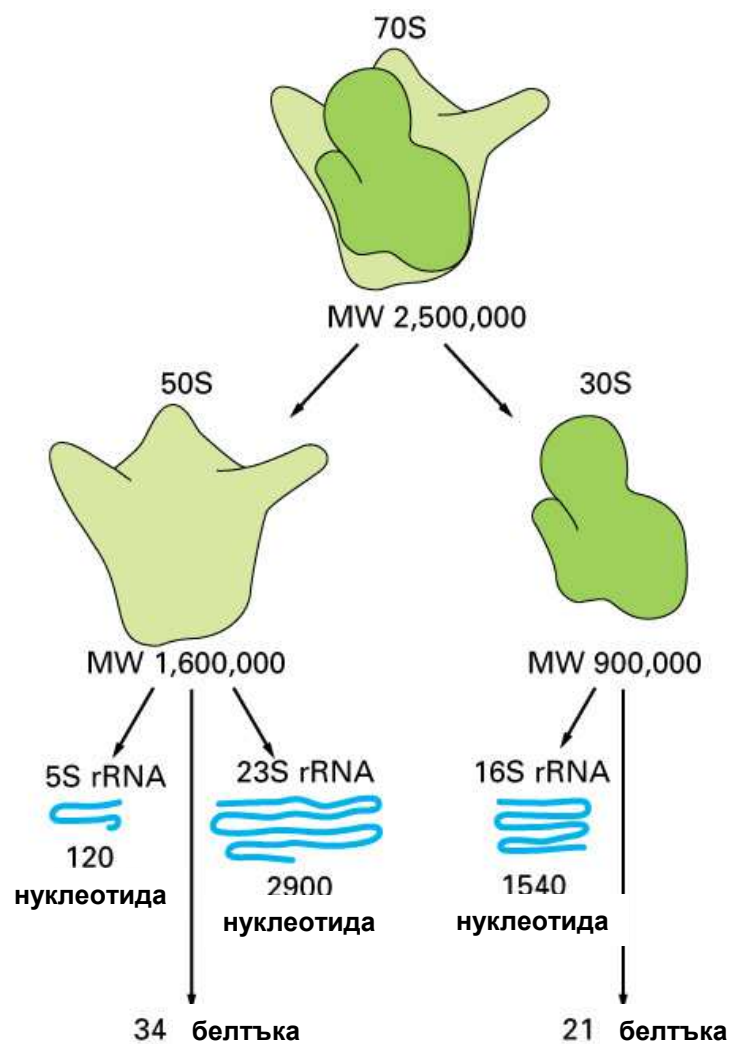


Активиране на АК

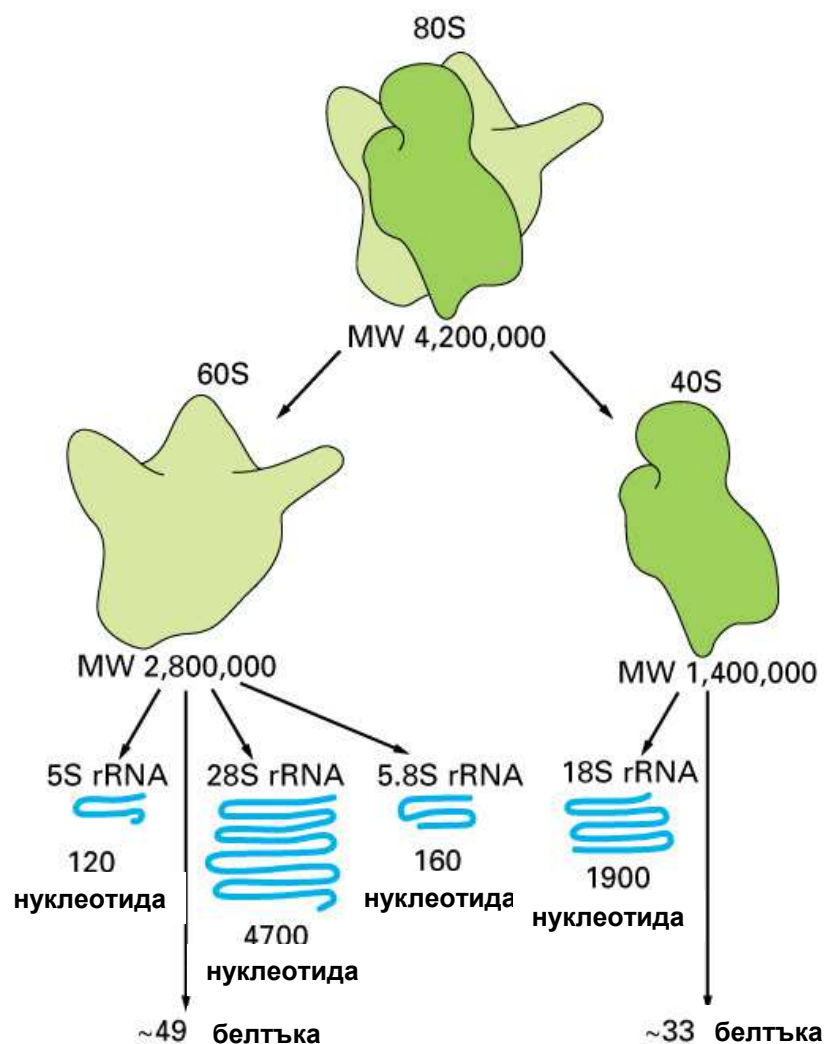


Рибозоми

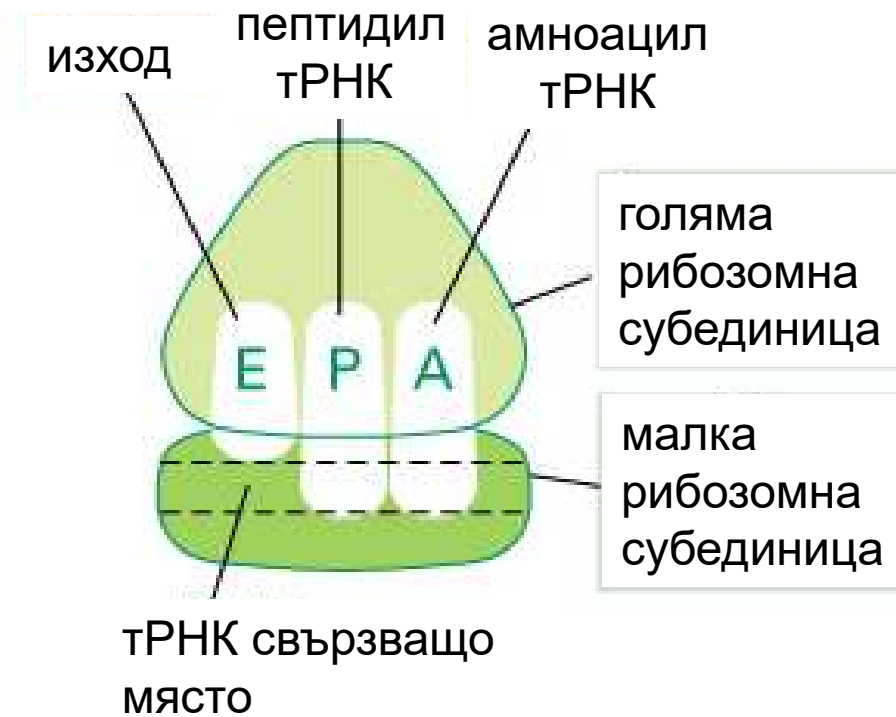
Прокариоти



Еукариоти



Центрове в рибозомата, участващи в процеса на транслация



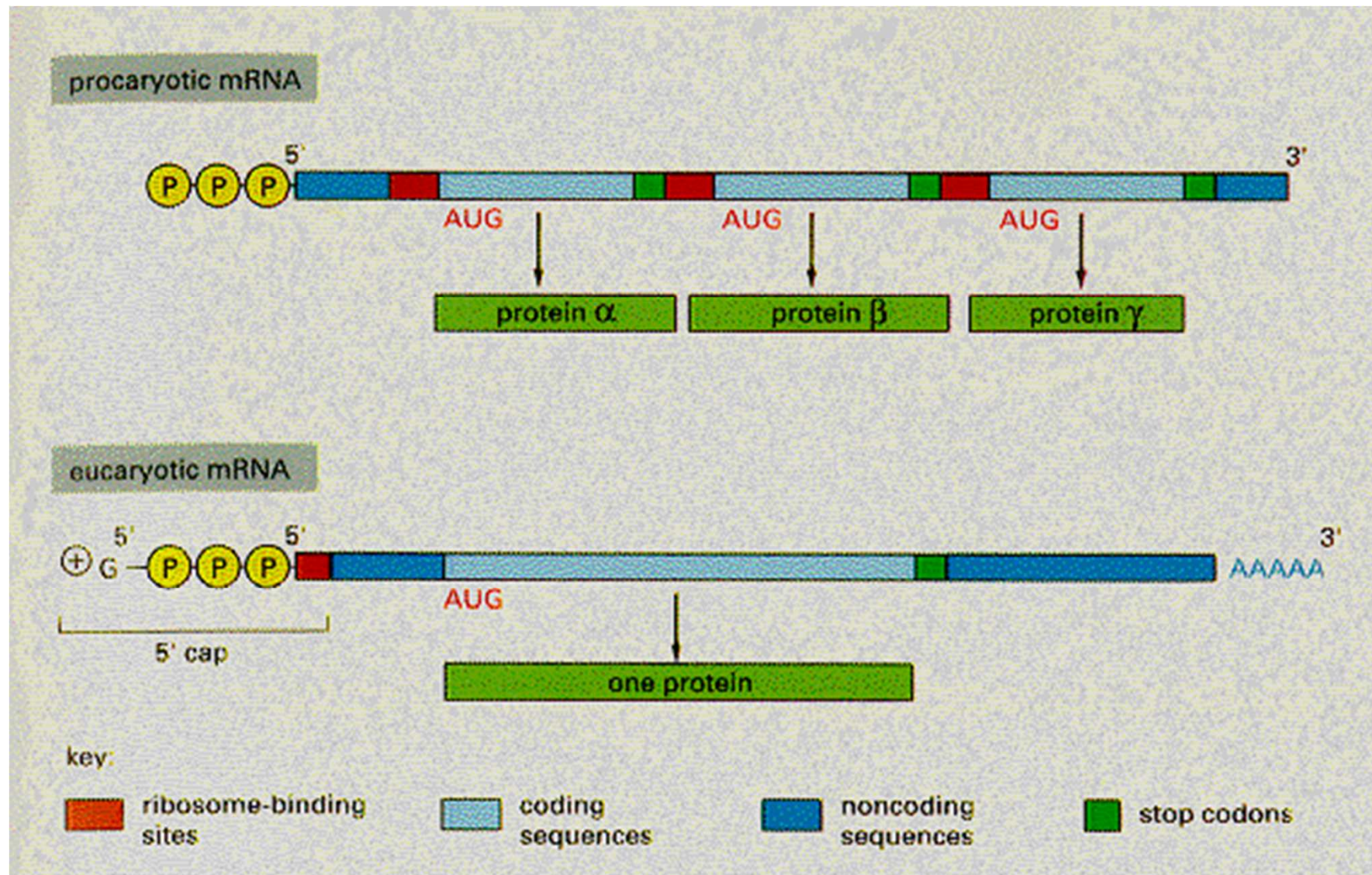
Инициация

Иницииращият кодон определя рамката на четене.

Изразходва се енергия за началото на процеса.

Прокариотните иРНК са полицистронни

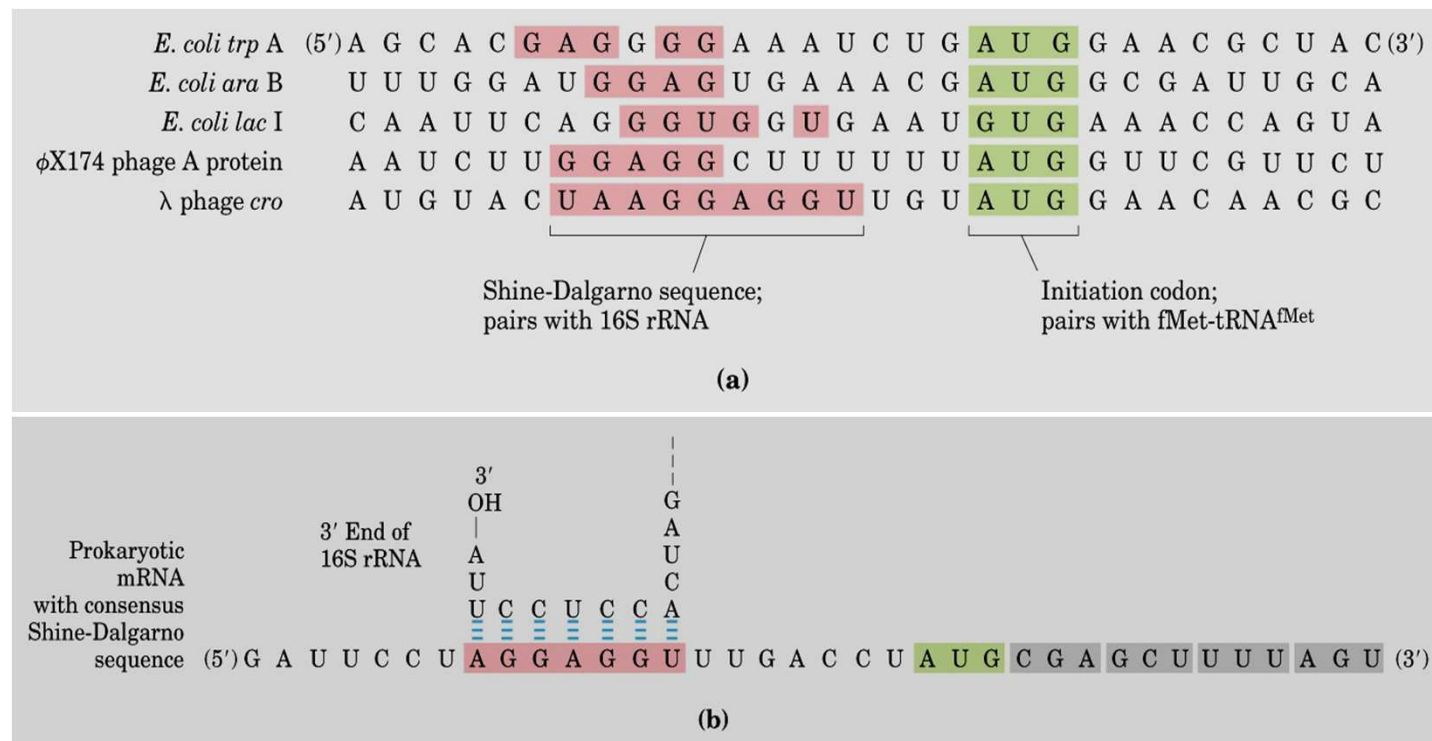
Еукариотните иРНК са моноцистронни



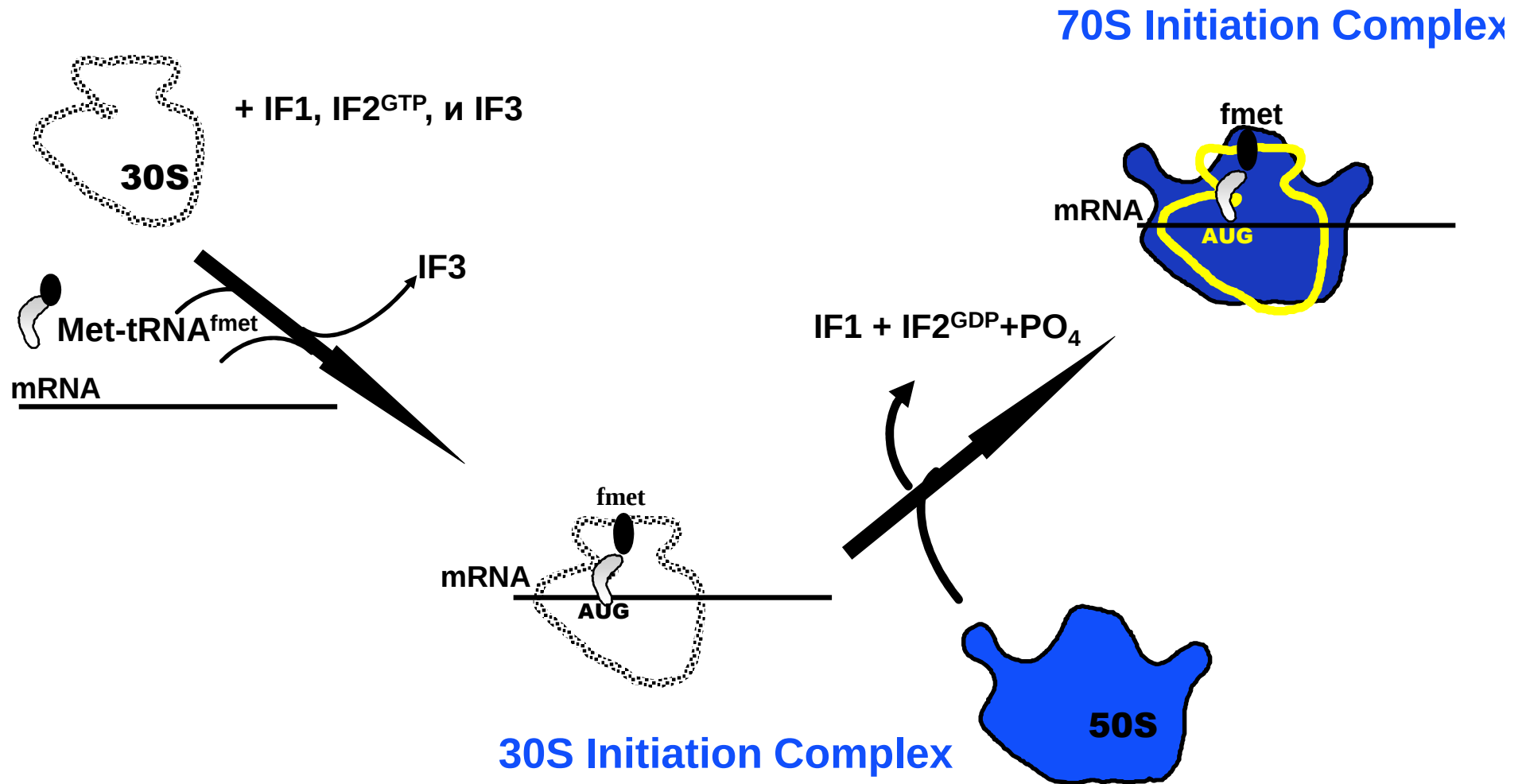
Стартова позиция при прокариоти

Shine-Dalgarno последователност

- Само при прокариоти
- Намира се в област, богата на пурины ~10нд от старта
- Улеснява свързването на иРНК към 16S РНК – стартов кодон в подходяща позиция спрямо рибозомата



Инициация при прокариоти



Инициращи фактори

IF1 –Участва в свързването на 50S към 30S инициаторния комплекс – стабилизира ги. Подпомага отстраняването на ГДФ и замяната му с нов ГТФ

IF2 –Свързва се към тРНК^{fmet} и 30S. Негов кофактор е ГТФ, чиято енергия служи за стабилизация на връзката му с тРНК^{fmet} и иРНК

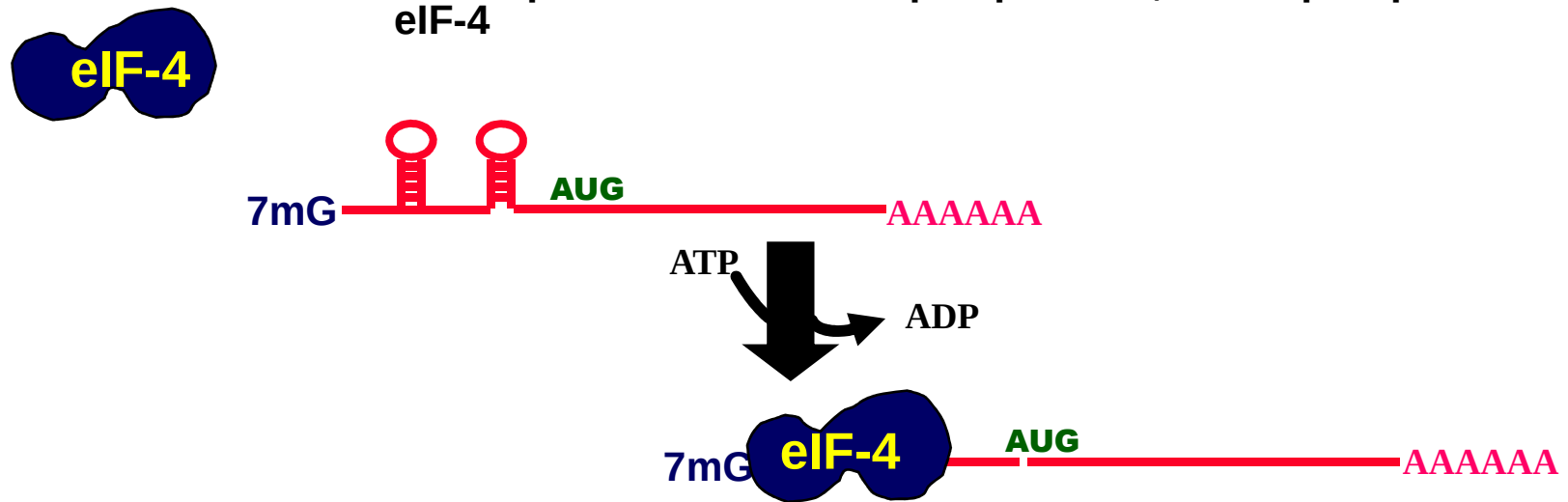
IF3 – участва в разделянето на 50S и 30S и подпомага контакта на 30S с иРНК и избора ѝ.

tRNA^{fmet}

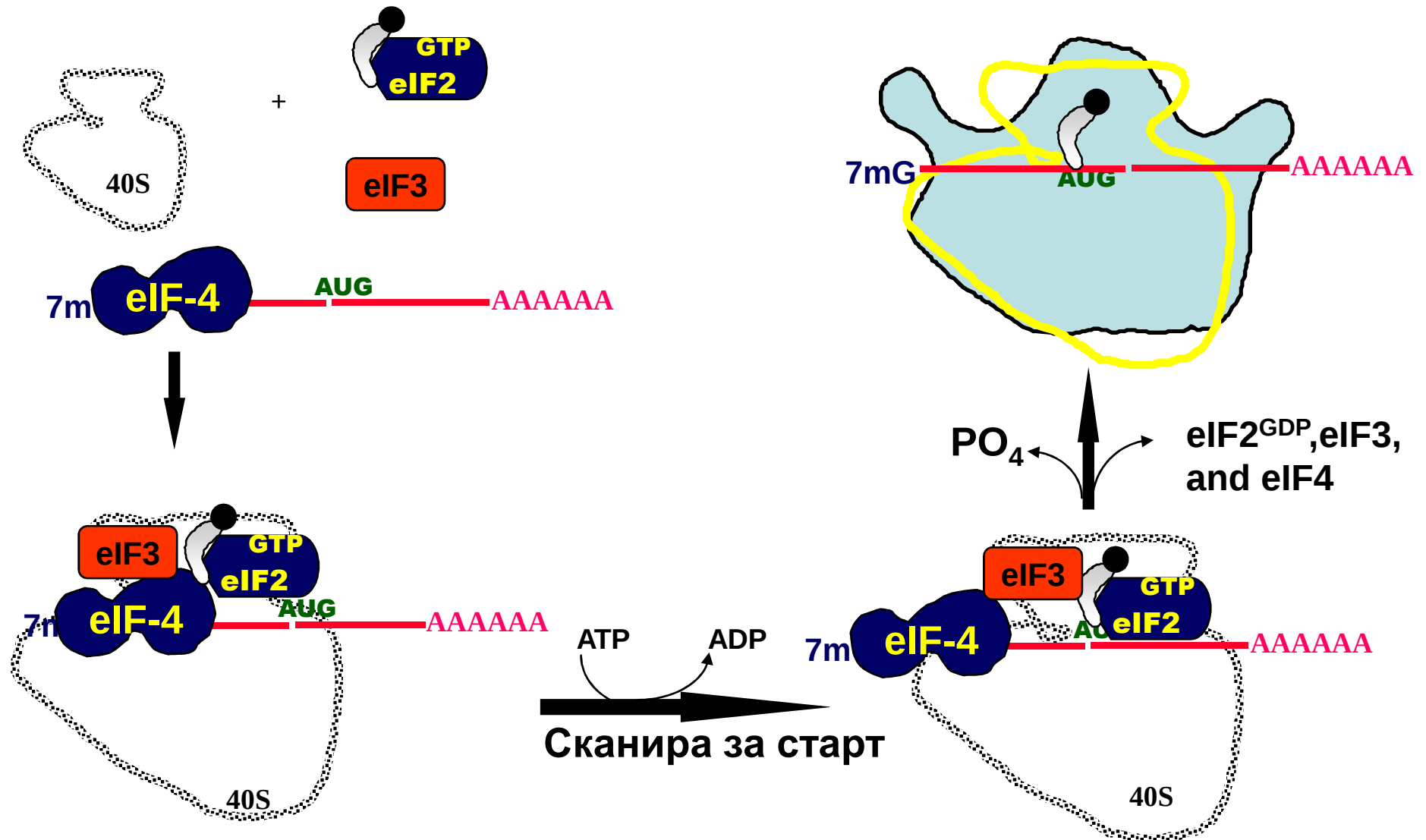
- tRNA^{fmet} се различава от tRNA^{Met} използвана за метионин във вътрешността на полипептиданата верига Met и същата аминокислотинсинтетаза - methionyl-tRNA синтетаза.
- tRNA^{fmet} е запазена в еволюционен аспект.
- Въпреки, че еукариотите не използват fMet за начало, а метионин, те tRNA за инициация е специална (Met-tRNA^{fmet}).
- fMet се премахва или от пептиддеформилаза (свързана с рибозомата) или от метионинаминопептидаза.
- Използването на модифицирана АК и tRNA за начало се налага:
 - За различаване на комплекса от инициращи фактори от елонгиращите белтъчни фактори:
 - Избор на старта
 - Свързване на 30S инициаторния комплекс към 50S рибозомалната субединица.

Инициация при еукариоти

- Еукариотните иРНК са високо структурирани и имат 7-methylguanine шапка.
- **Шапката има важно значение за транслацията.**
- Инициращ фактор 4 (eIF-4) Представлява комплекс от няколко субединици.
- Има РНК хеликазна активност и премахва вторичната структура на иРНК. Това е енергозависим процес.
- Полиовирусът изключва синтеза на протеините клетката гостоприемник като кодира протеаза, която разкражда eIF-4



80S Инициаторен комплекс



Елонгация

Два аспекта:

Образуване на пептидна връзка

- Въвеждане на аминокиселинна тРНК, катализирано от EF-Tu
- Пептидил-трансфераза катализира образуването на пептидната връзка

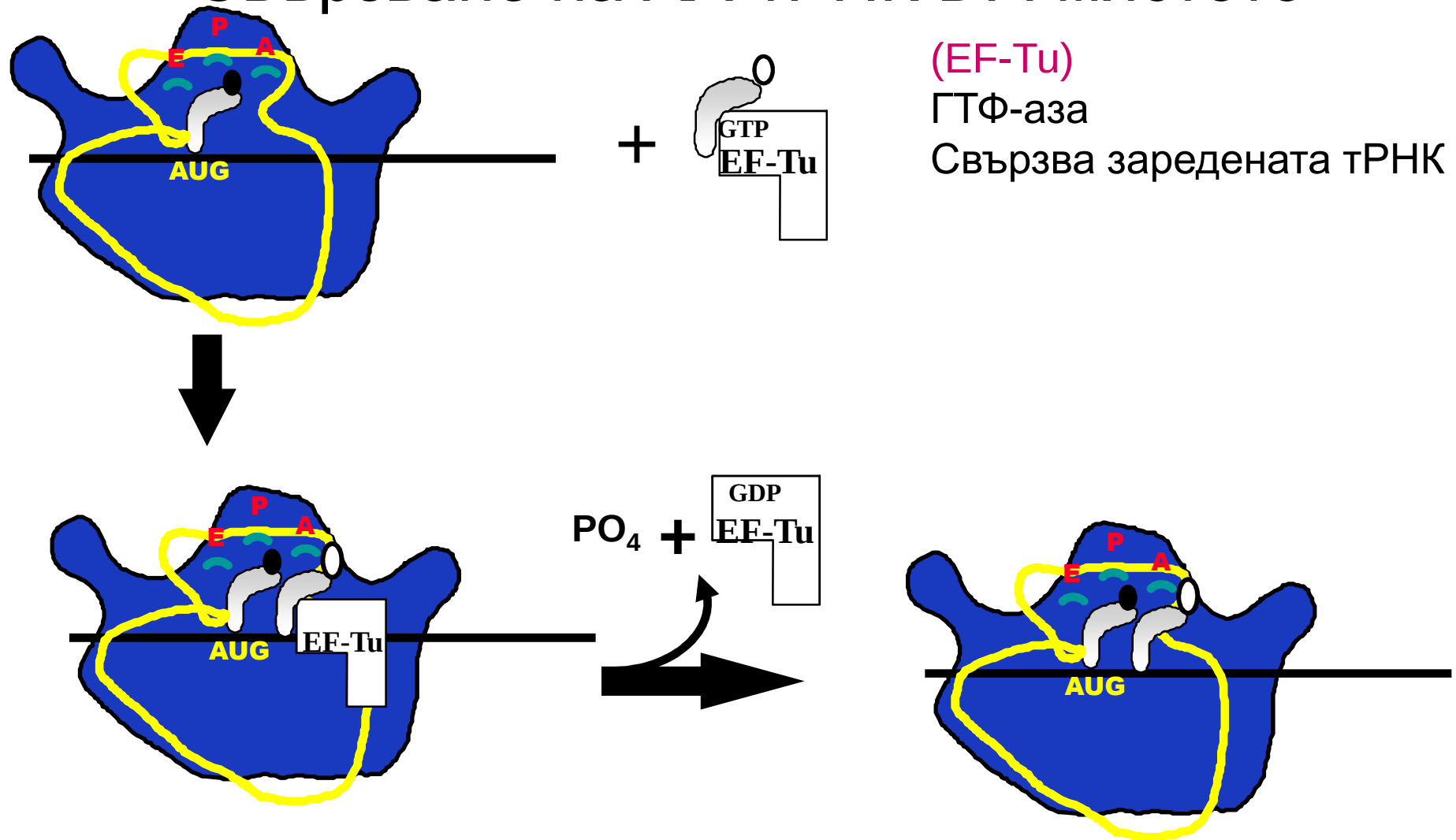
Транслокация/преместване

Преместване на деацилираната тРНК от Р в Е мястото

Преместване на ацилираната тРНК в Р мястото заедно с придвижването на иРНК с един кодон напред - катализирано от EF-G

Елонгация:

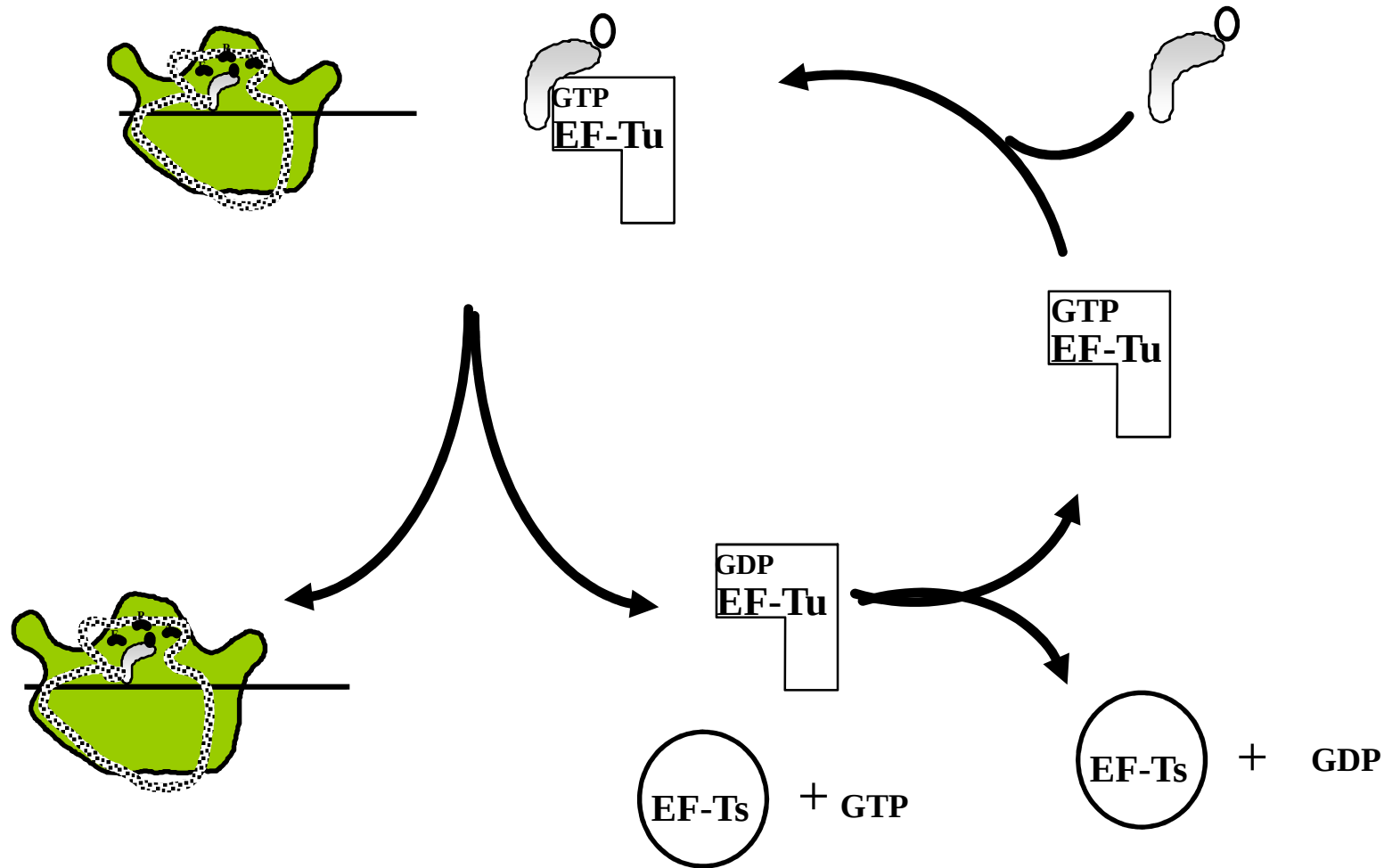
Свързване на АА-тРНК в А-мястото



Хидролизата на ГТФ стимулира освобождаването на EF-Tu

EF-Tu Цикъл:

EF-Ts е фактор за смяна на нуклеотидите
ГДФ и ГТФ – Доставя ГТФ



Функции на EF-Tu

ГТФ е кофактор на EF-Tu и осигурява енергийно свързването кодон:антикодон

EF-Tu осигурява правилното прибавяне на АК - активно или пасивно.

- Активно чрез регистрация на подходящата конформация на АК-тРНК и рибозомата преди хидролизата на ГТФ.

- Пасивно чрез забавяне на образуването на пептидна връзка.

Забавянето позволява нискоафинитетното взаимодействие кодон:антикодон да се разруши – то е нискоафинитетно, ако е между не съответстващи си кодон и антикодон.

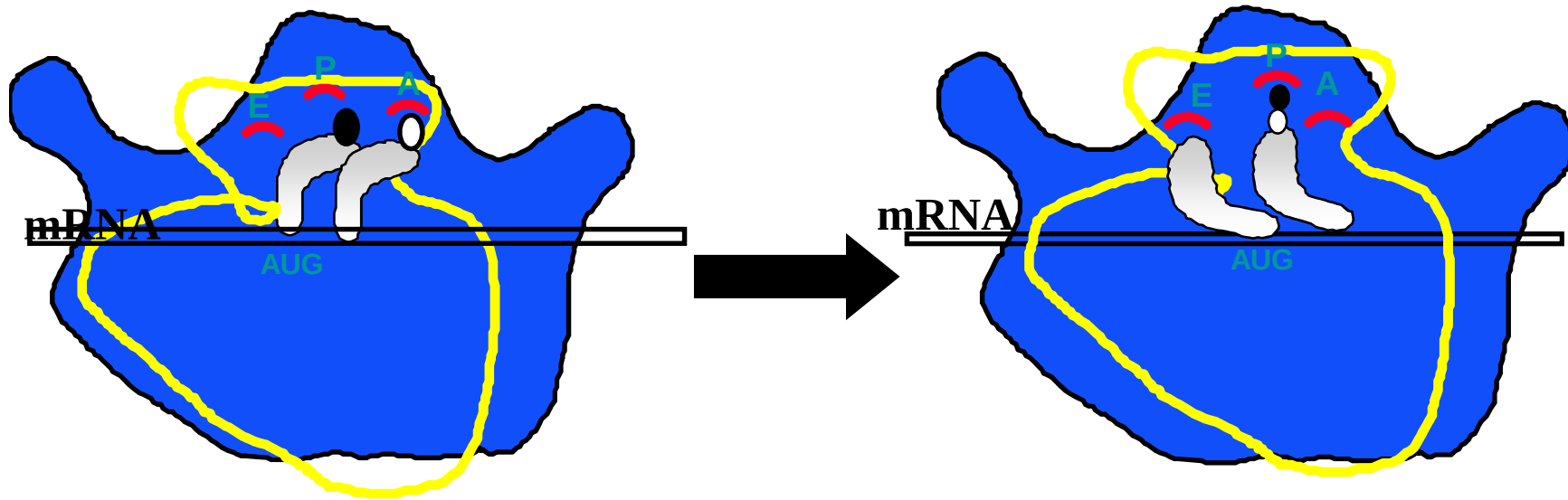
EF-Tu предпазва естерната връзка на АК-тРНК.

Еукариотния елонгиращ фактор 1 (eEF-1) действа по същите механизми.

EF-1 α е аналог на EF-Tu.

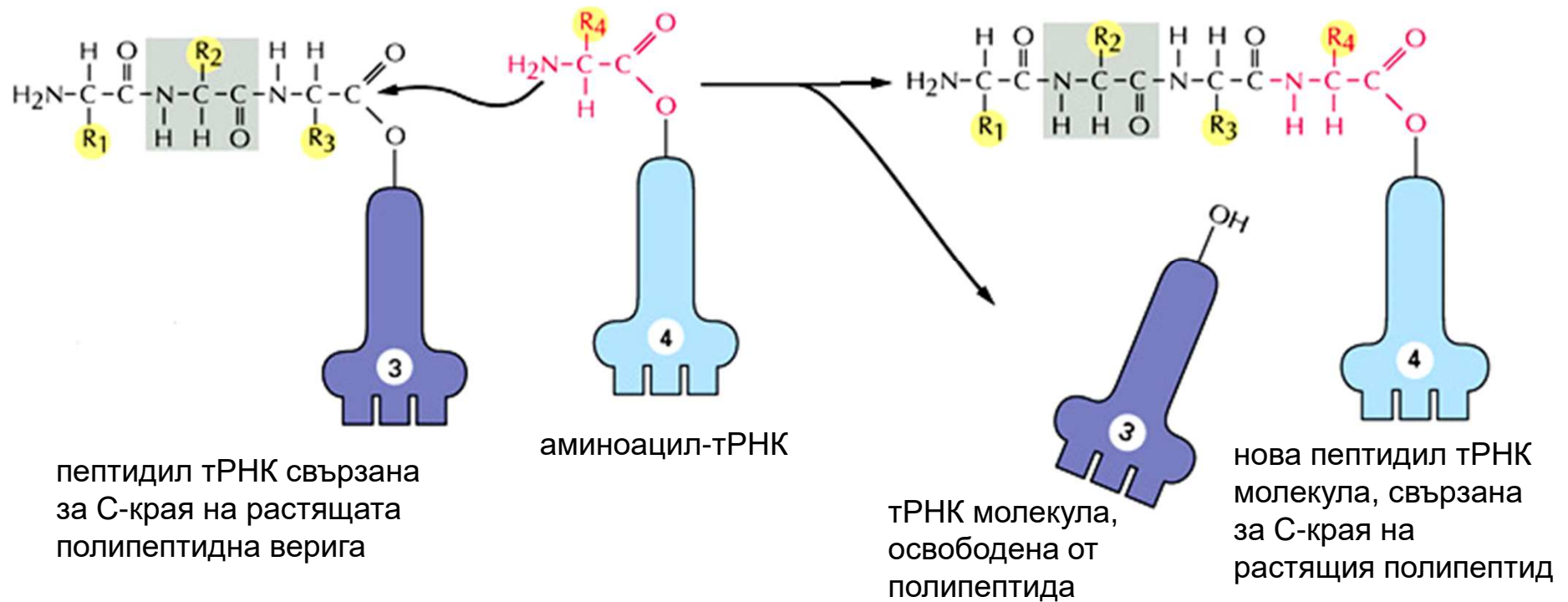
EF-1 β е аналог на EF-Ts.

Пептидилтрансферазна реакция

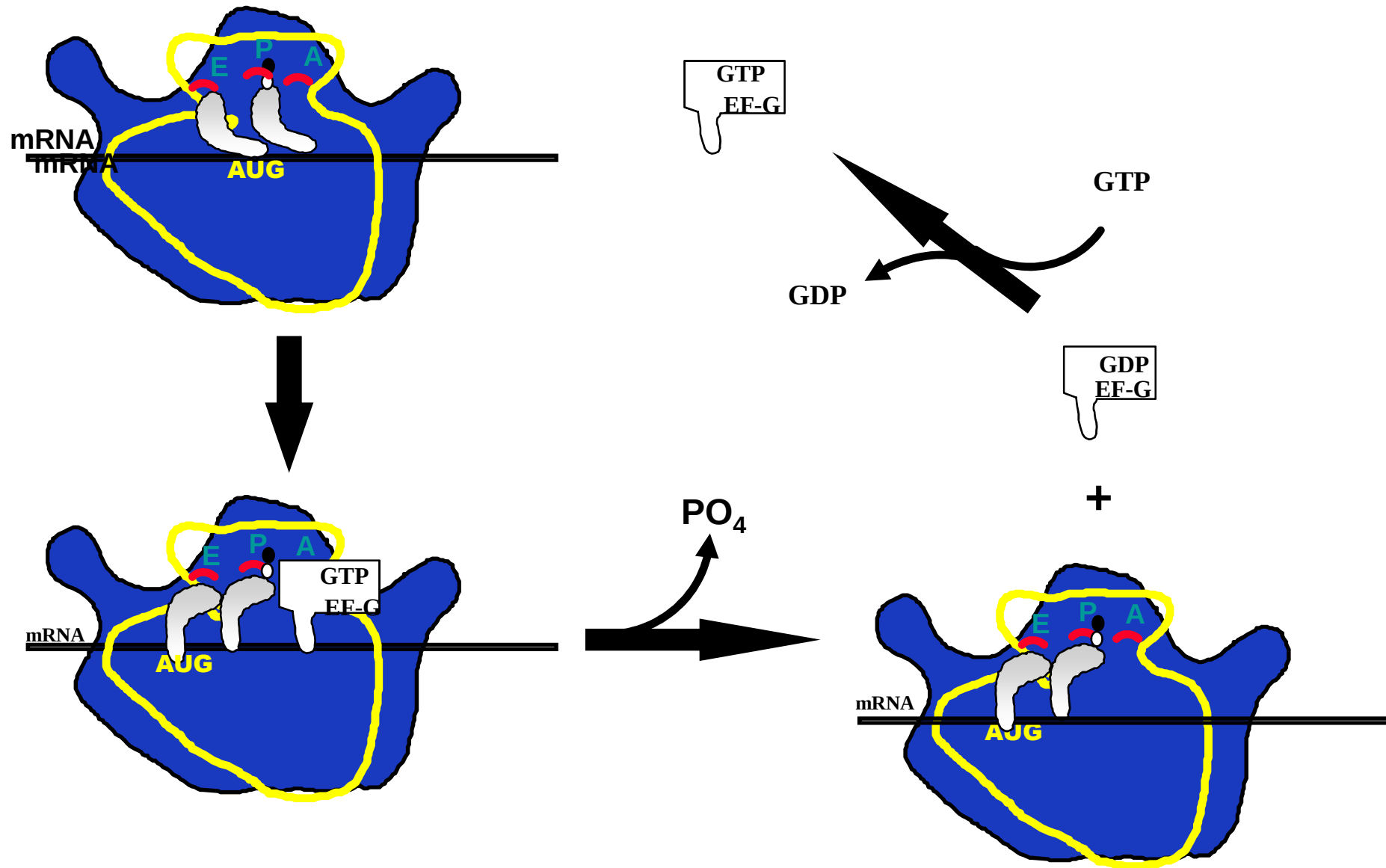


Пептидилтрансферазата е локализирана в рибозомата - 23S.

Реакцията се катализира от пептидил тронсферазната активност, съдържаща се в голямата рибозомна субединица



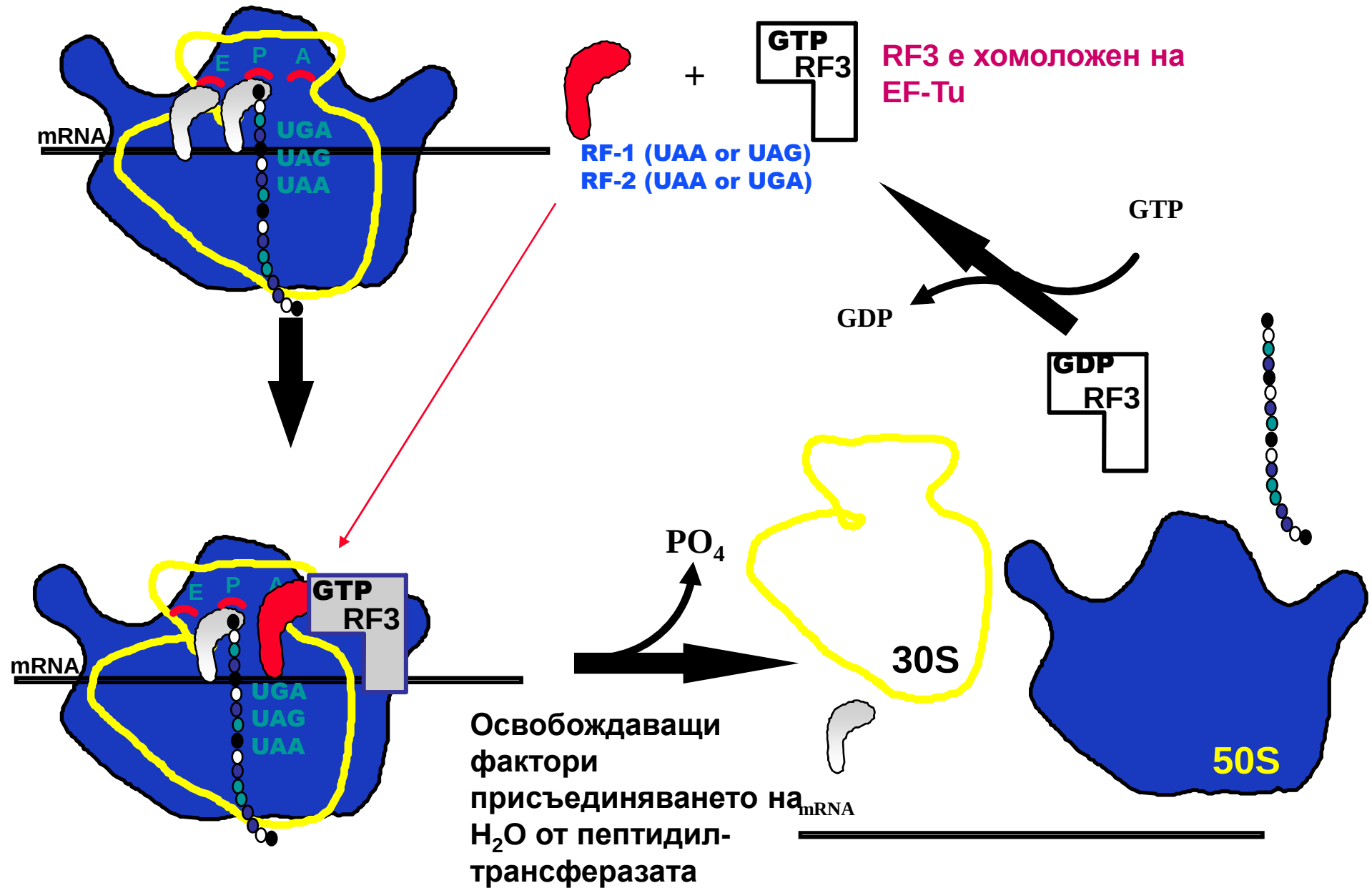
Транслокация



EF-G: Транслоказа

- **EF-G структурно наподобява EF-Tu:tРНК.**
- Свързва рибозомата напълно с **EF-Tu (в А-мястото).**
- Хидролизата на ГТФ е спрегната с конформационни промени в EF-G и рибозомата и това предизвиква движение на тРНК и иРНК
- **Елонгиращ фактор 2 (eEF-2)** при еукариотите е хомолог на EF-G. Механизмът му на действие е еднакъв.
-
- Но eEF-2 е чувствителен към **дифтерийния токсин**, който блокира синтеза на протеини.

Терминация



Терминиращи рилизинг-фактори

Прокариоти

- RF1 разпознава UAA и UAG
- RF2 разпознава UAA и UGA
- RF3 формира комплекс с RF1 или RF2 и стимулира активността им

Еукариоти

- Почти същите
- Но eRF1 разпознава всички стоп-кодони
- eRF3 стимулира eRF1
- Не е изолиран eRF2

Енергиен разход на транслацията

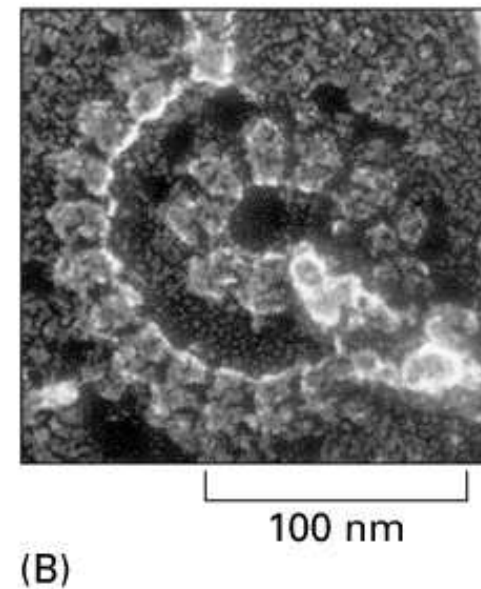
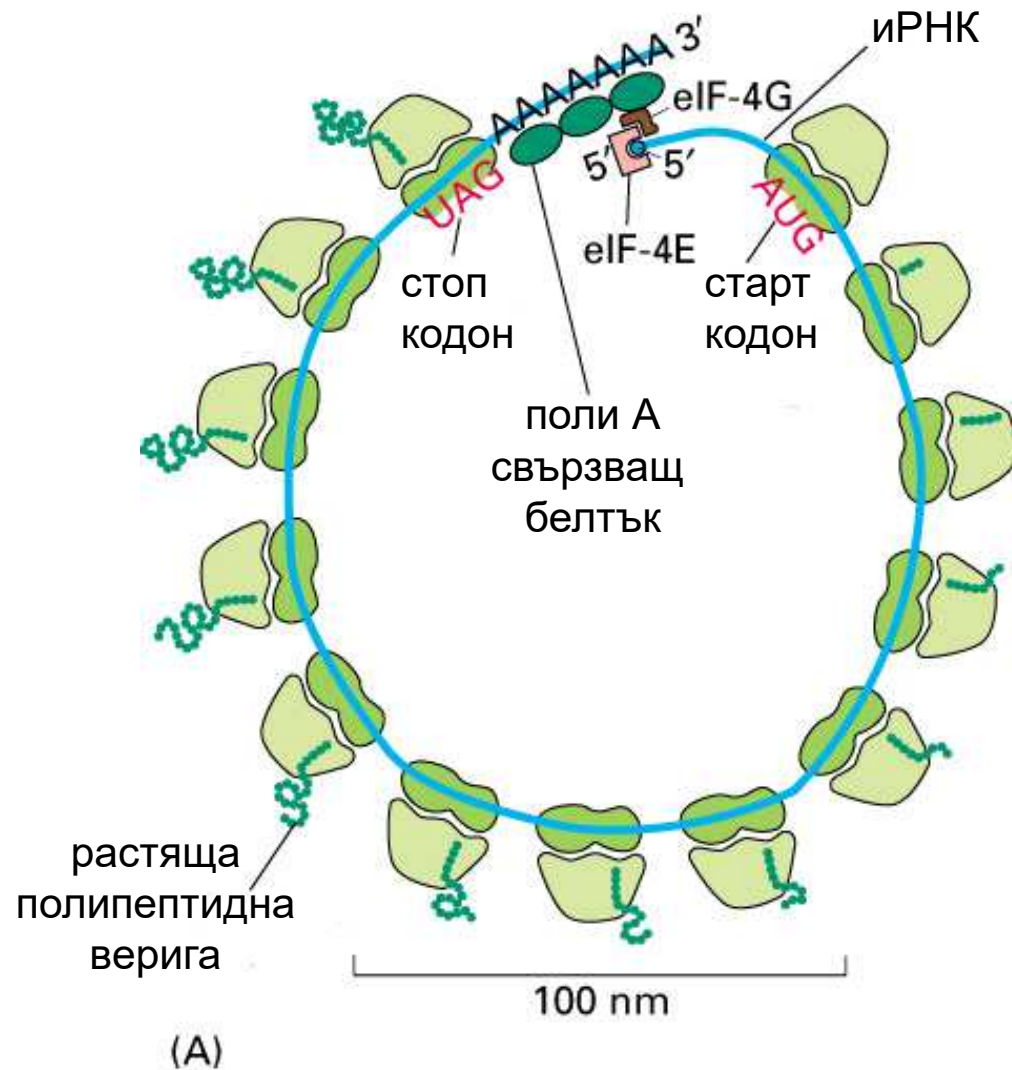
- Синтеза на протеини струва скъпо!

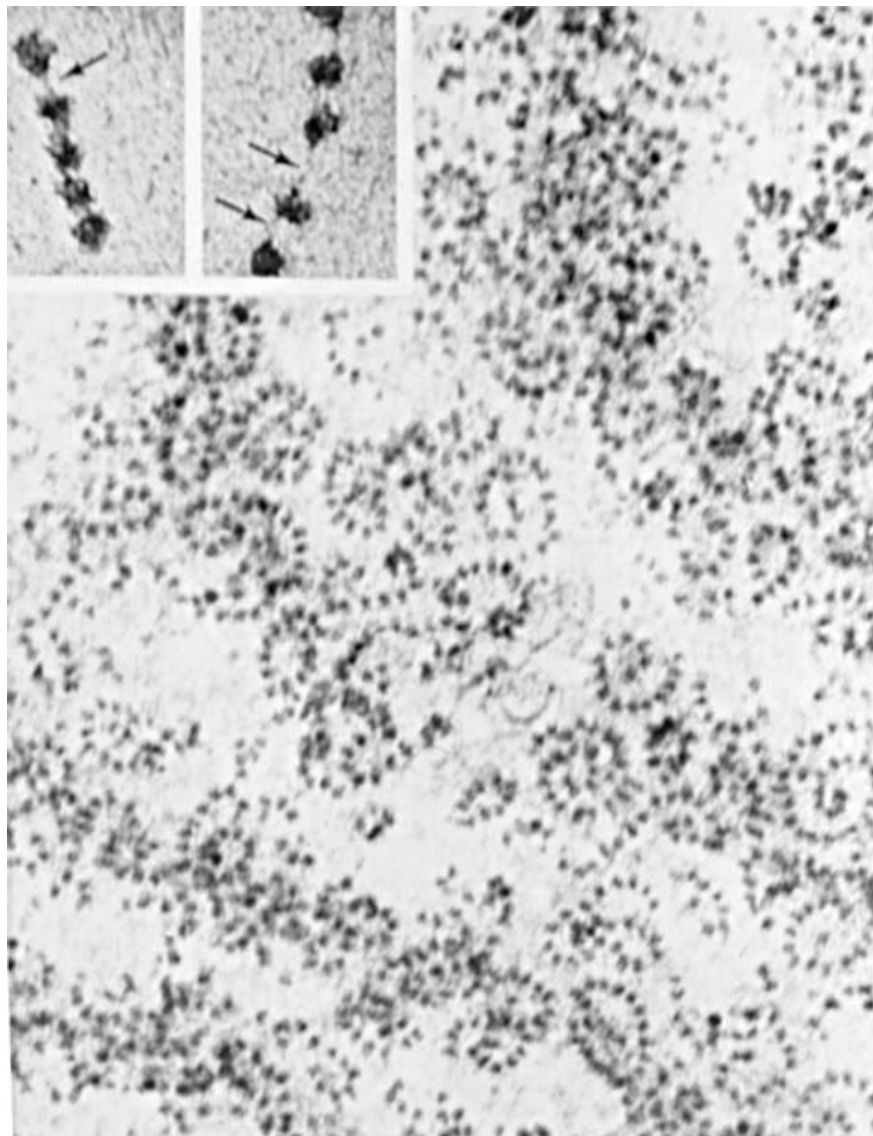
Баланс:

- 2 молекули АТФ за активиране на всяка тРНК
- 1 молекула ГТФ за EF-Tu стъпалото
- 1 молекула ГТФ за EF-G стъпалото

Сума: 4 макроергични връзки за всяка пептидна връзка

Процесът на транслация се мултиплицира чрез използването на полирибозомни комплекси





Електронно-микроскопска снимка на полирибозомни комплекси, стрелката в увеличените карета показва иРНК

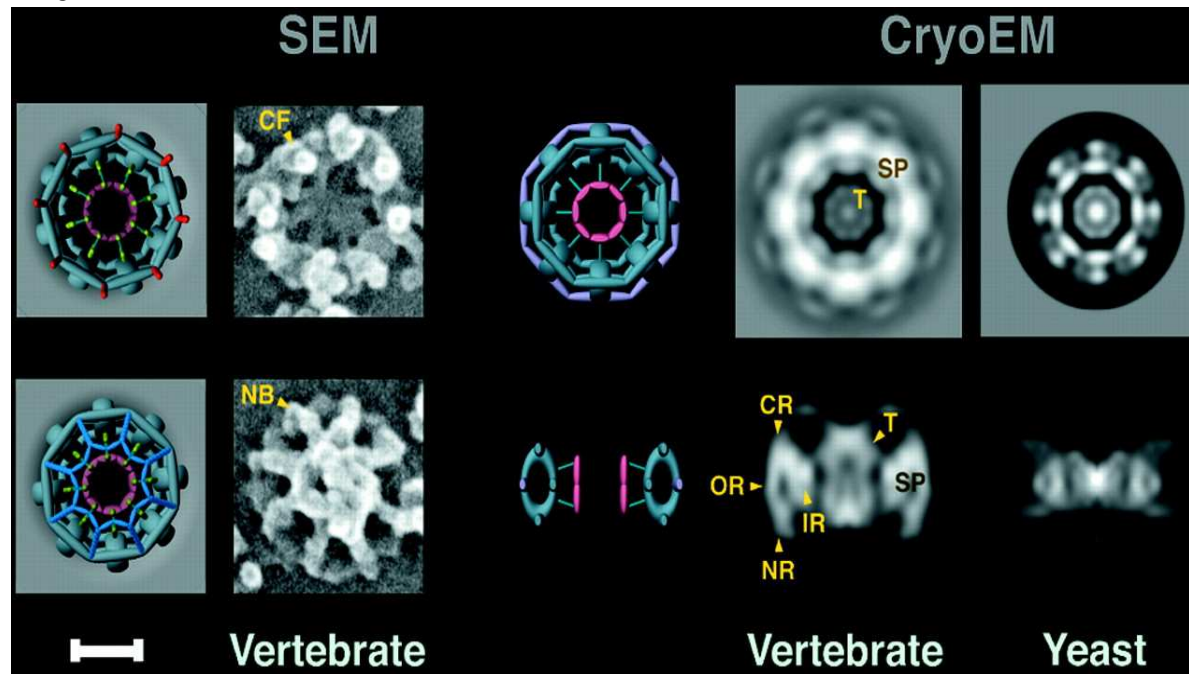
Транспорт на белтъците в клетъчните органи.



- В прокариотната клетка
- В еукариотната клетка – сигнални пептиди -15-60 АК – сигнални пептидази
- В цитозола – синтез върху свободни рибозоми - не са необходими сигнални пептиди

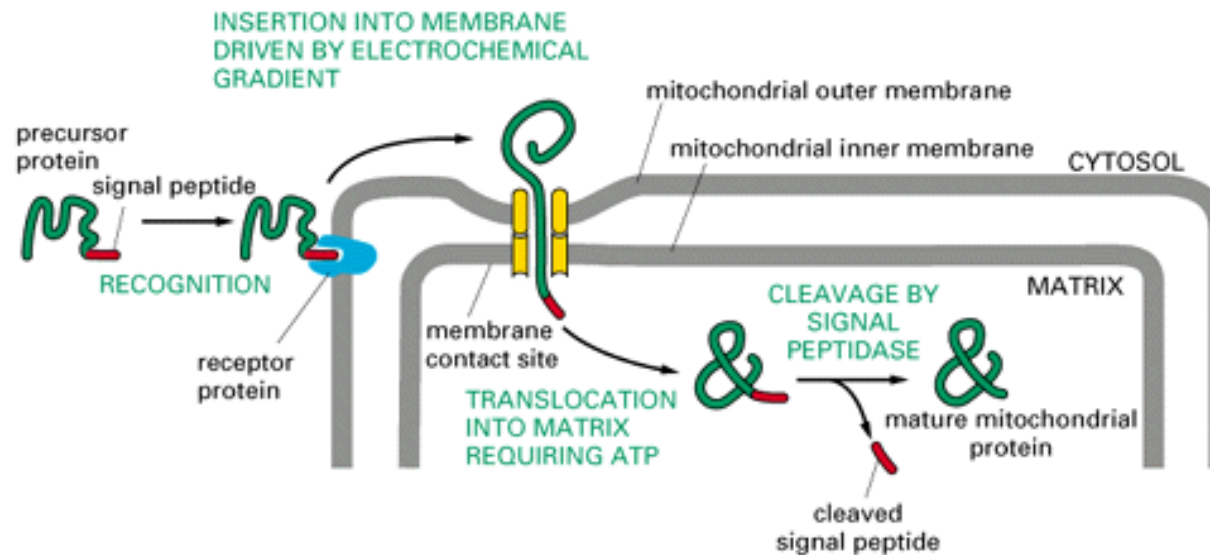
Ядро

- Сигнален пептид – 4-8 положително натоварени АК (аргинин и пролин)
- Транспортират се през пори – ядрен поров комплекс молекули до 60 kDa



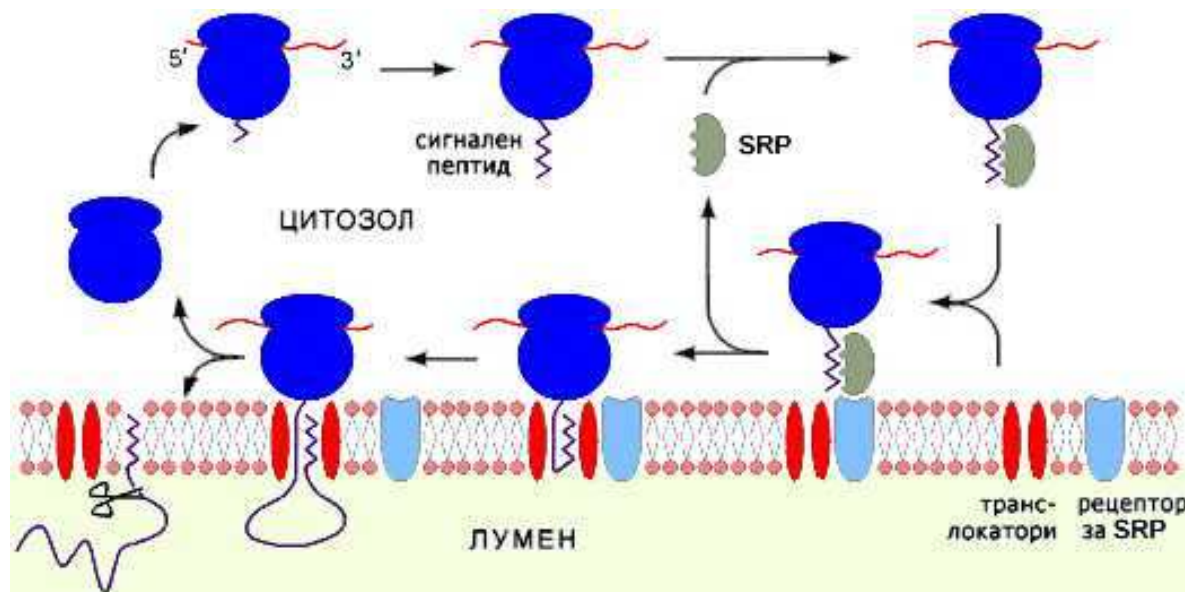
Митохондрии и пероксисоми

- Сигнален пептид 20 – 80 АК
- Рецептор върху мембраната
- Транслокатор образува - канал, през който се провира белтъкът



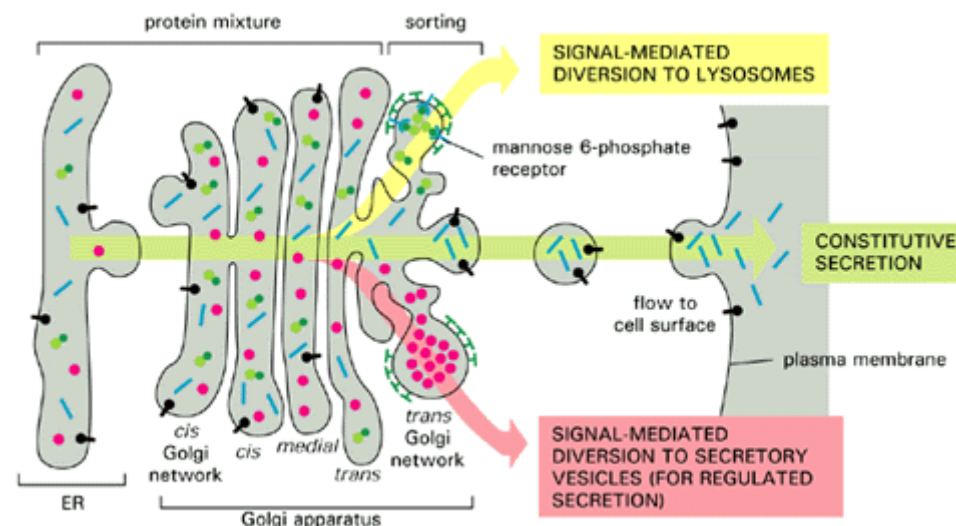
Ендоплазмена мрежа

- Сигнален пептид – 5-10 хидрофобни АК прехвърлят се през мембраната с помощта на рибонуклеопротеин - SRP (от англ. signal-recognition particle) след започване на синтеза върху рибозомата – **котранслационен транспорт**



Апарат на Голджи

- Везикулен транспорт - последователност от пъпкуване, долепяне и сливане
- модификация на добавените към белтъка олигозахариди – отстраняване и/или добавяне на някои захарни остатъци
- частично разграждане на някои белтъци



Пътища от АГ

- Към клетъчната мембрана конститутивна секреция - спонтанно сливане
- регулируема секреция – сливане след сигнал мехурчета покрити с клатрин
- Лизозоми манозо-6-фосфат по луминалната повърхност като отличителен белег

Нагъване на белтъците

- Нагъват се според **първичната** си структура – панкреатична РН аза
- **шаперони** (фр. *chaperon* – възрастна дама, която придружава девойка за благоприличие).
- действат, като свалят енергетичната бариера на прехода от една конформация в друга.
- разпознават повърхностните хидрофобни пептиди на денатурираните белтъци

шаперони

- Означават са с Hsp и число (например Hsp 60, Hsp 70)
- Числото дава масата на шаперона в kDa
- Hsp - от англ. heat shock protein – белтък на топлинния шок – появяват се след нагряване до 40-43°C (или охлаждане) – стресови белтъци
- Много белтъци на топлинния шок (но не всички) са шаперони.

Спонгиформни енцефалопатии "луда крава"

болест на Кройцфелд-Якоб

- Причинител - чист белтък – **прион**
- PrP^{Sc} за денатуриран белтък, **pr**otei**in**ase**o**us **i**nfectious particle – белтъчна инфекциозна частица
- PrP^C - нормално в мозъка и др. тъкани
- PrP^{Sc} - в мозъка на болните животни денатурирана форма -най-вероятно е загубил функцията си (каквато и да е тя). За сметка на това е придобил нова способност: да превръща нормалната форма PrP^C в нови молекули PrP^{Sc}

ПОСТТРАНСЛАЦИОННИ МОДИФИКАЦИИ

Посттранслационни ковалентни
модификации

- Частична протеолиза
- Гликозилиране
- Присъединяване на остатък от висша мастна киселина
- Фосфорилиране и дефосфолиране
- Ацетилиране и деацетилиране

Частична протеолиза

- Пре-белтък - сигналната последователност се изрязва от сигнална пептидаза
- Про-белтък – изрязва се друга (не сигнална) последователност – напр **препро**инсулин
- Обща за пре- е про- - активират се след протеолиза
- Смисъл на протеолизата
- ✍ Предпазване на структури в организма
- ✍ Икономия на РНК-и, енергия

Гликозилиране – добавяне на захарни остатъци

- Главно по секреторните и мембранните структури на еукариотната клетка – не са насочени към цитозола
- Защита от протеази
- Придават на белтъка хидрофилност
- Придават на белтъка отрицателен заряд (сиалова киселина)
- Лиганд за разпознаване от рецептор или антитяло, лектини

Фосфорилиране и дефосфолириране

- Характерно е за цитозола и свързаните с него структури
- От АТФ се откъсва фосфатен остатък и се присъединява към ОН-група, каквато имат аминокиселините серин, треонин и тирозин.
- Ензими - протеинкинази и протеинфосфатази
- Киназа - "активиращ ензим", но понякога протеинкиназата инактивира, а фосфатазата активира. Напр. фактора на инициация eIF2

Фосфорилиране и дефосфорилиране на белтък



Присъединяване на остатък от висша мастна киселина

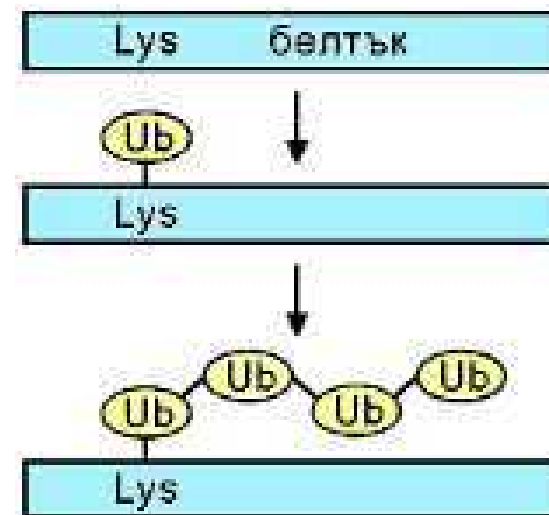
- закотвяне в мембраната на цитозолни полипептиди, които не съдържат достатъчно дълга хидрофобна последователност

Ацетилиране и деацетилиране

- $\text{CH}_3\text{CO}-$ се присъединява към аминогрупа – при цитоскелетни белтъци и хистоните - пречи на по-нататъшното им опаковане при презаписване
- генната репресия се съпровожда с деацетилиране

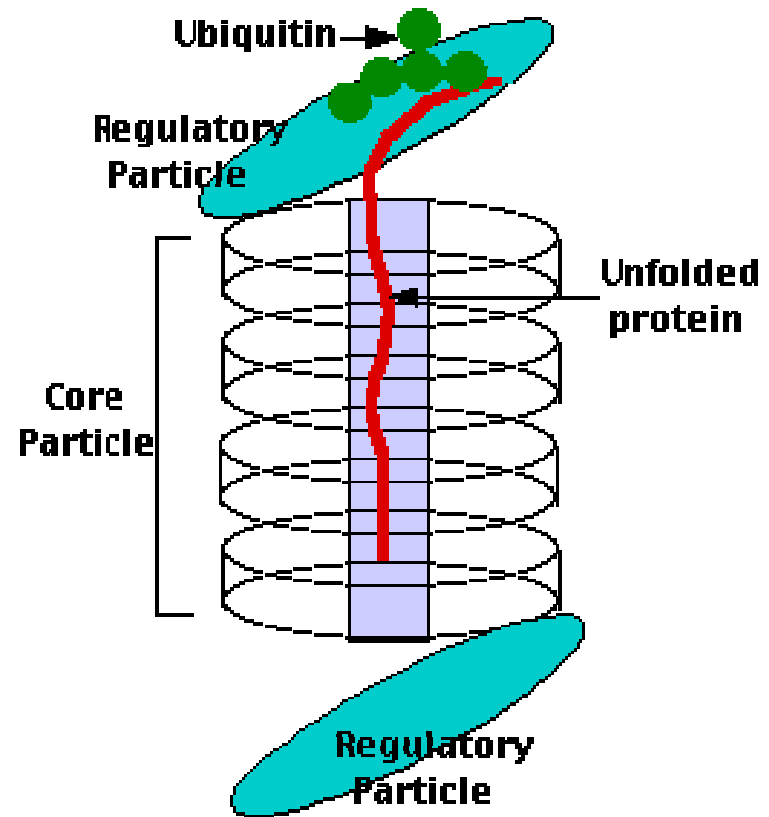
Разграждане на белтъците

- **Убиквитин** повсеместно разпространен в еукариотните клетки
- за изчистване на единични молекули, а не цели структури (лизозоми)
- малък – 76 аминокиселини
- COOH-група на убиквитина се свързва със страничната NH₂-група на някой лизин от белтъка, предназначен за разграждане – Ензимна реакция с АТФ и Е. Процесът се повтаря → полиубиквитинова верига



Протеазоми

- голям (26S) белтъчен комплекс разпознава полиубиквитиновата верига
- 20S-протеазома с каталитична активност – форма на тунел, в който полиубиквитинираният белтък се разгражда до къси пептиди (8-10 аминокиселини), а убиквитинът се освобождава непроменен и може да се използва отново
- пептидите до АК от цитозолни екзопептидази



Полиубиквитинирането е избирателно

- белтъци с къс полуживот,
- белтъци на погрешно място
- с дефекти в първичната структура,
- необратимо денатурирани.

Използвани източници

- www.mayamarkova.com/biology Майа Маркова - гл. ас. МУ-София,
- Биология, Учебник за медицинските университети (Ватев и съавт.)
- Molecular Biology of the Cell, 4th Edition, www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcg