

# Биохимия и молекулярная биология

## *Лекция 9. Регуляция трансляции. Посттрансляционные модификации белков*

# Тема лекции

- Трансляция у эукариот
- Регуляция трансляции
- Посттрансляционный процессинг полипептидных цепей

## Трансляция у про- и эукариот: отличия

### Состав белоксинтезирующей системы у про- и эукариот в разные стадии синтеза белка

Стадия	Прокариоты	Эукариоты
Активация аминокислот	<b>20</b> аминокислот <b>20</b> аминоацил-тРНК-синтетаз Минимум <b>20</b> тРНК АТФ, <b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>20</b> аминокислот <b>20</b> аминоацил-тРНК-синтетаз Минимум <b>20</b> тРНК АТФ, <b>Mg<sup>2+</sup></b>

## Трансляция у про- и эукариот: отличия

Состав белоксинтезирующей системы у про- и эукариот в разные стадии синтеза белка

Стадия	Прокариоты	Эукариоты
Инициация	<p>мРНК</p> <p>Инициаторная аминоксил-тРНК</p> <p><b>(N-формилметеоцил-тРНК)</b></p> <p>Старт-кодон в мРНК <b>(AUG, GUG)</b></p> <p><b>30S</b> и <b>50S</b>- субчастицы рибосомы</p> <p>Факторы инициации: <b>IF-1, IF-2, IF-3, GTP, Mg<sup>2+</sup></b></p>	<p>мРНК</p> <p>Инициаторная аминоксил-тРНК (метеоцил-тРНК)</p> <p>Старт-кодон в мРНК <b>(AUG)</b></p> <p><b>40S</b> и <b>60S</b>- субчастицы рибосомы</p> <p>Факторы инициации: <b>13 eIF-1, eIF-2, eIF-2A, eIF-3, eIF-4, eIF-4A, eIF-4B, eIF-4C, eIF-4D,</b> кЭП-узнающий фактор, <b>GTP, Mg<sup>2+</sup></b></p>

## Трансляция у про- и эукариот: отличия

### Состав белоксинтезирующей системы у про- и эукариот в разные стадии синтеза белка

Стадия	Прокариоты	Эукариоты
Элонгация	<p>Иницирующий комплекс (функциональная <b>70S</b>-рибосома) <b>20</b> аминоксил-тРНК Факторы элонгации: <b>EF-Tu (Tu), EF-Ts (Ts),</b> <b>EF-G (G), GTP, Mg<sup>2+</sup></b> Пептидилтрансферазный центр (ПТЦ) – <b>23S</b>-рРНК</p>	<p>Иницирующий комплекс (функциональная <b>80S</b>-рибосома) <b>20</b> аминоксил-тРНК Факторы элонгации: <b>eEF-1<math>\alpha</math>, eEF-1<math>\beta\gamma</math>, eEF-2,</b> <b>GTP, Mg<sup>2+</sup></b> Пептидилтрансферазный центр (ПТЦ) – <b>28S</b>-рРНК</p>

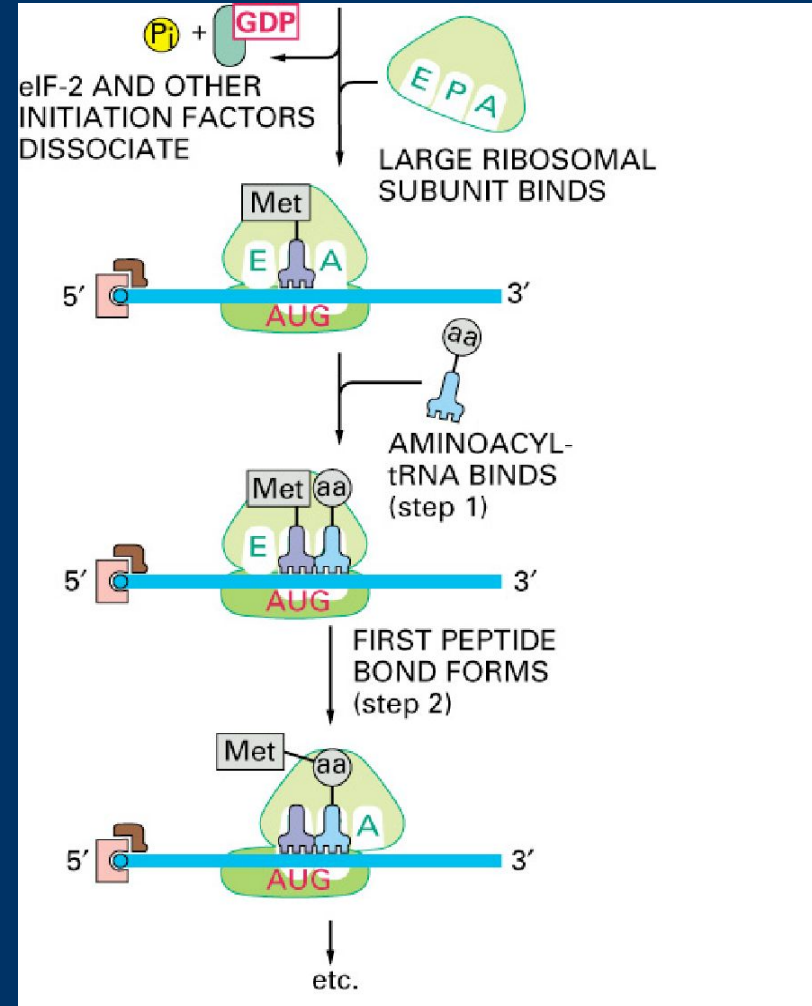
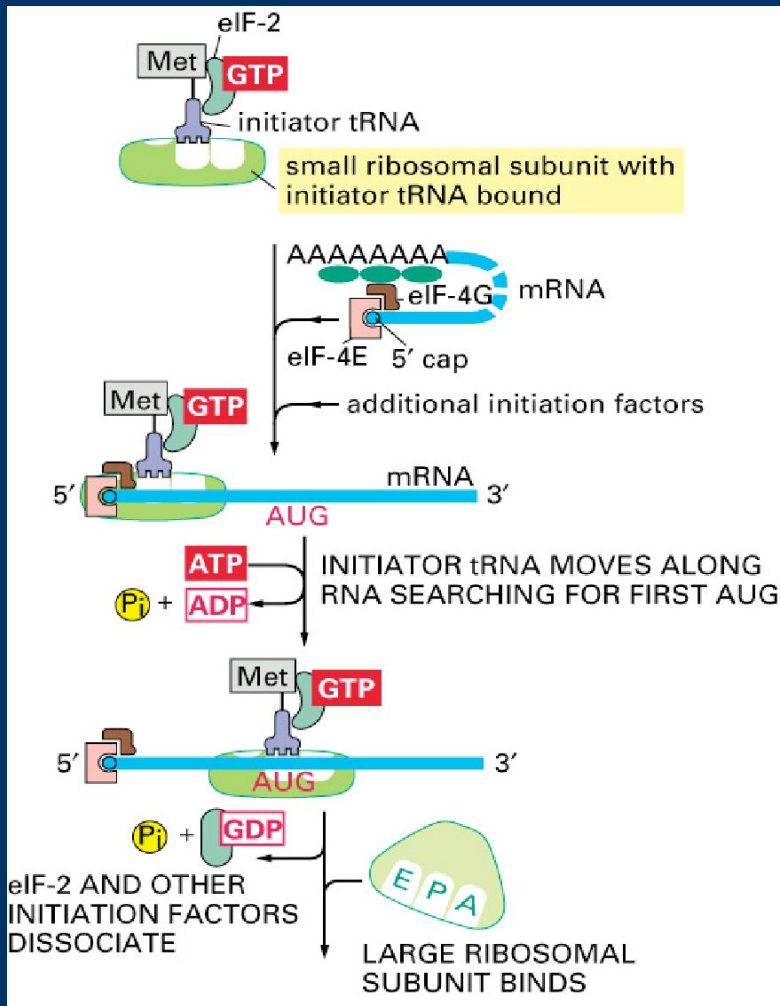
## Трансляция у про- и эукариот: отличия

Состав белоксинтезирующей системы у про- и эукариот в разные стадии синтеза белка

Стадия	Прокариоты	Эукариоты
Терминация	Стоп-кодоны: <b>UAA, UAG, UGA</b> Факторы терминации: <b>RF1, RF2, RF3, GTP, Mg<sup>2+</sup></b>	Стоп-кодоны: <b>UAA, UAG, UGA</b> Факторы терминации: <b>eRF, GTP, Mg<sup>2+</sup></b>

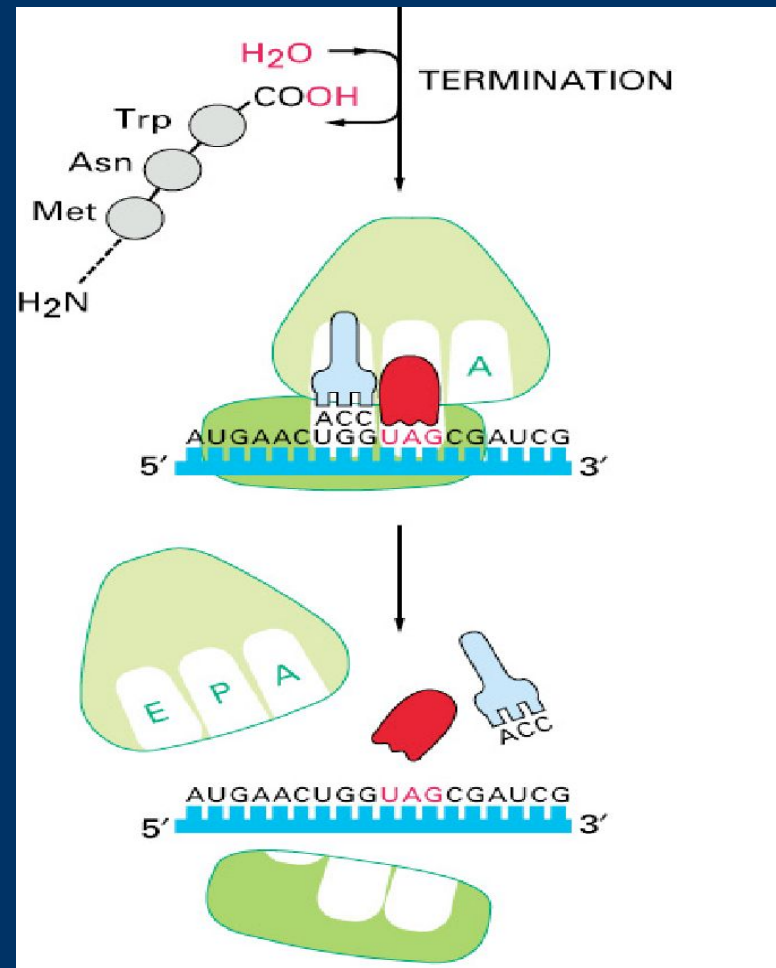
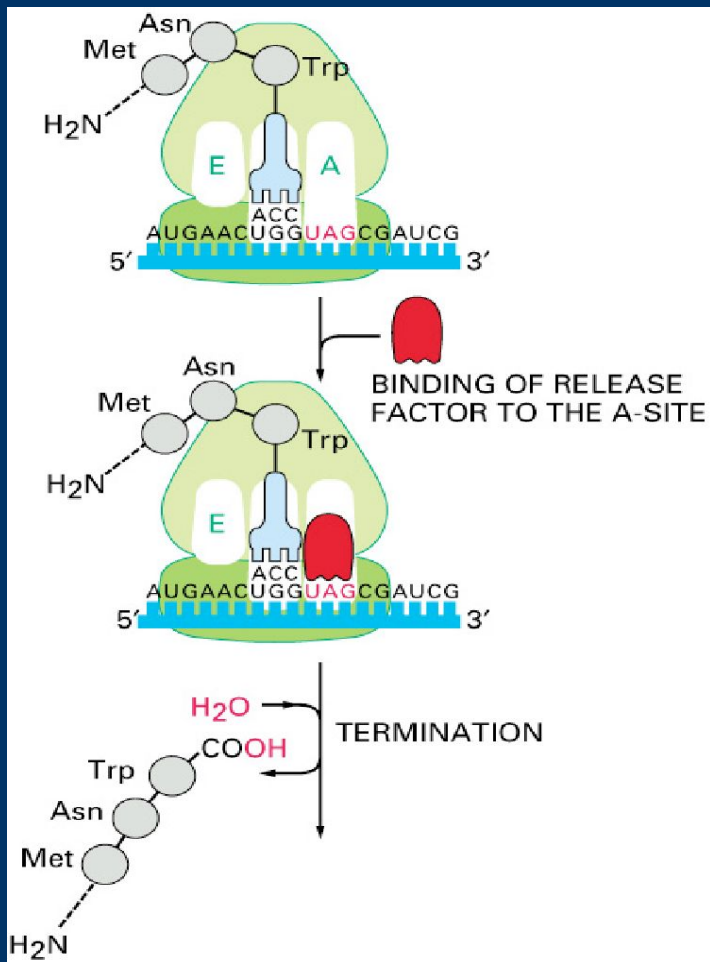
# Трансляция у про- и эукариот: отличия

## Инициация и элонгация трансляции у эукариот



# Трансляция у про- и эукариот: отличия

## Терминация трансляции у эукариот





## Трансляция у про- и эукариот: отличия

### Состав белоксинтезирующей системы у про- и эукариот в разные стадии синтеза белка

Стадия	Прокариоты	Эукариоты
Процессинг и формирование третичной структуры	Специфические ферменты и кофакторы, вызывающие удаление иницирующих остатков и сигнальных последовательностей, ограниченный протеолиз и химическую модификацию	Специфические ферменты и кофакторы, вызывающие удаление иницирующих остатков и сигнальных последовательностей, ограниченный протеолиз и химическую модификацию

## Фолдинг белков

Фолдинг – это процесс укладки вытянутой полипептидной цепи в правильную трехмерную пространственную структуру. Аминокислотная последовательность не является единственным фактором, определяющим форму белковой молекулы. Приобретение белком специфической для него пространственной структуры в клетке контролируют специальные молекулы, которые называются шаперонами (в переводе с французского – няня).

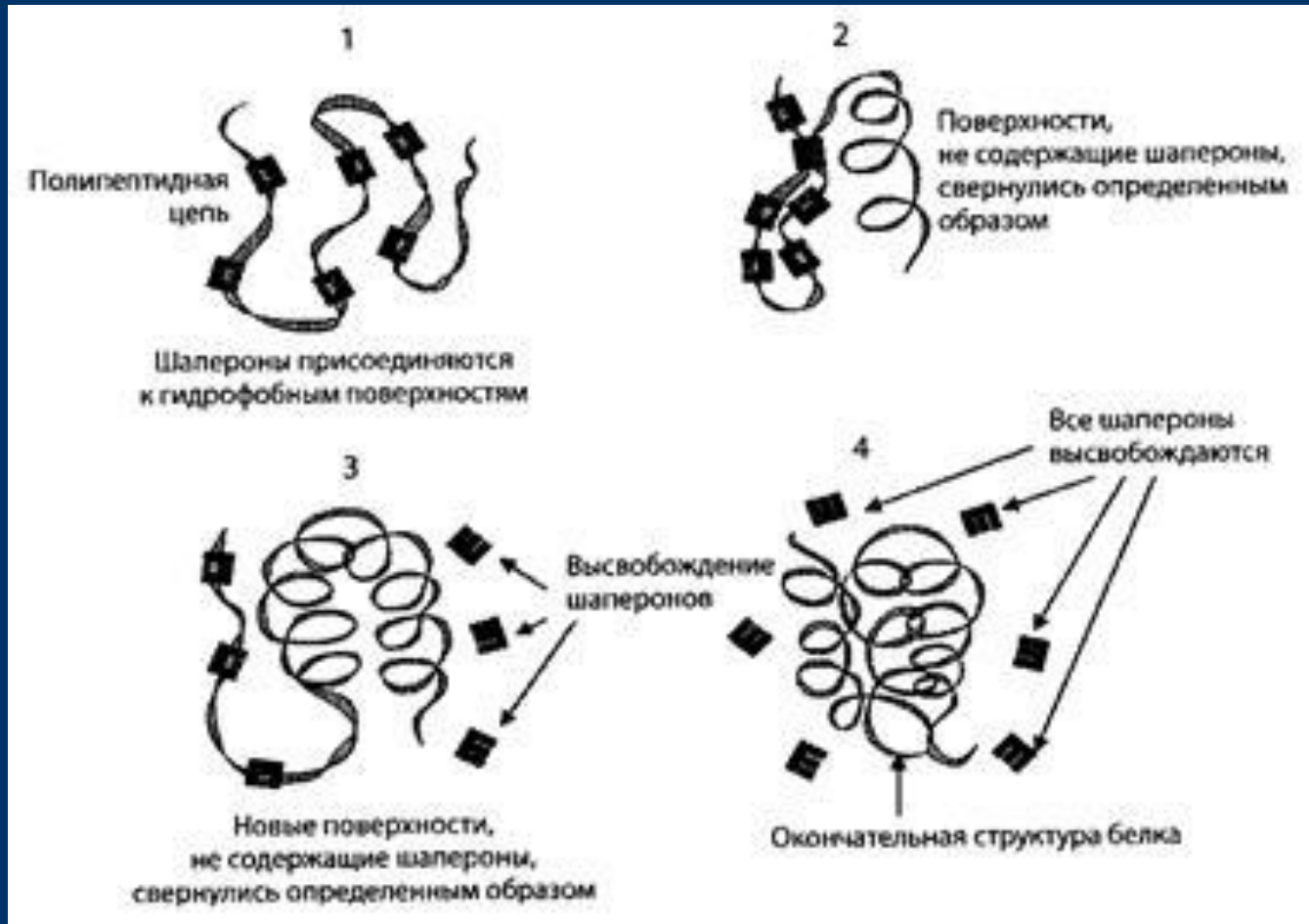
## Шапероны

Шапероны - семейство специализированных белков, обеспечивающих: а) быстрое нахождение полипептидом правильной трехмерной структуры (фолдинг) и б) адресную доставку полипептидов в органеллу, например, в митохондрию.

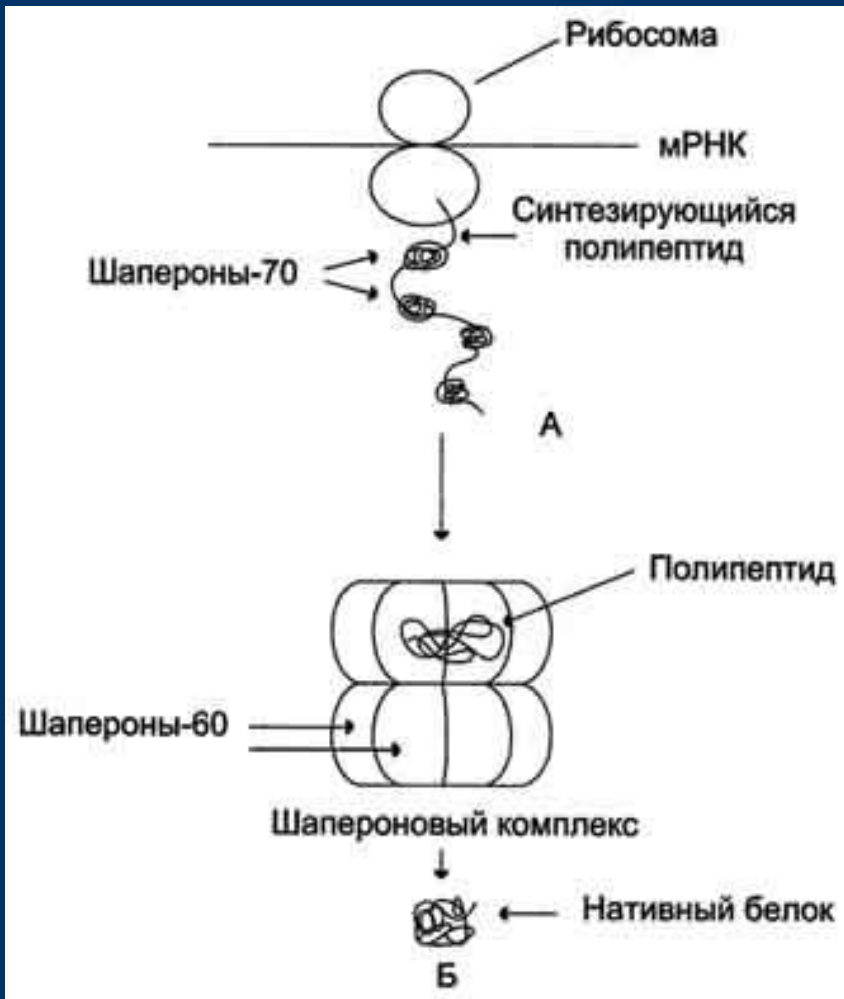
**Шапероны могут быть как конститутивными, так и индуцибельными.**

**Индуцибельные шапероны относят к "белкам теплового шока", быстрый синтез которых происходит во всех клетках при стрессовых воздействиях. Впервые эти белки были обнаружены в клетках, которые подвергались воздействию высокой температуры, отсюда и их название "белки теплового шока".**

# Участие шаперонов в фолдинге белка

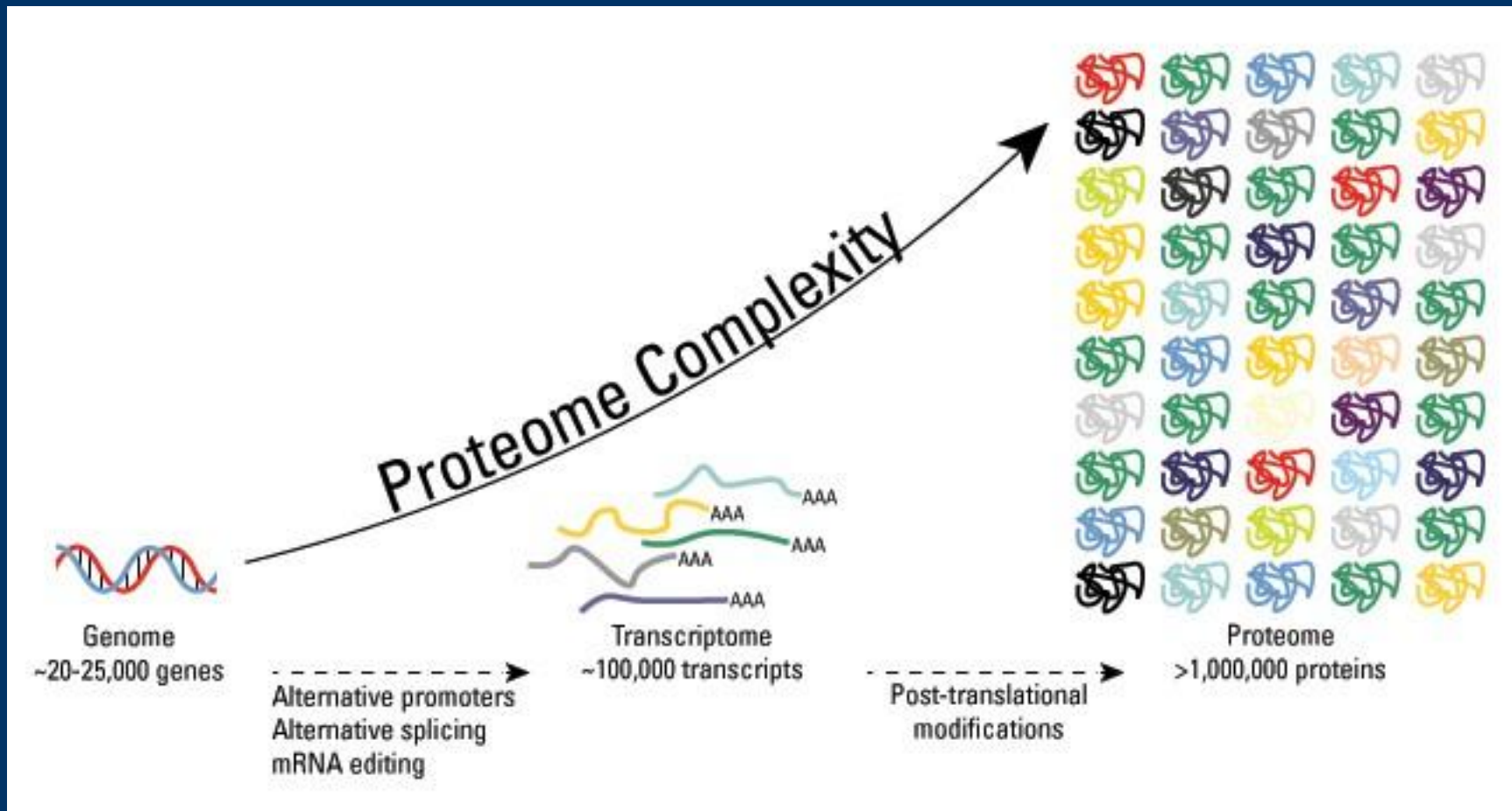


## Роль шаперонов в фолдинге белков



Синтез и фолдинг белков протекают при участии разных групп шаперонов, препятствующих нежелательным взаимодействиям белков с другими молекулами клетки и сопровождающих их до окончательного формирования нативной структуры.

## Роль посттрансляционных модификаций в многообразии белков



Посттрансляционные модификации участвуют практически во всех клеточных событиях, в том числе:

Экспрессии генов

Сигнальной трансдукции

Белок-белковых взаимодействиях

Клеточном метаболизме

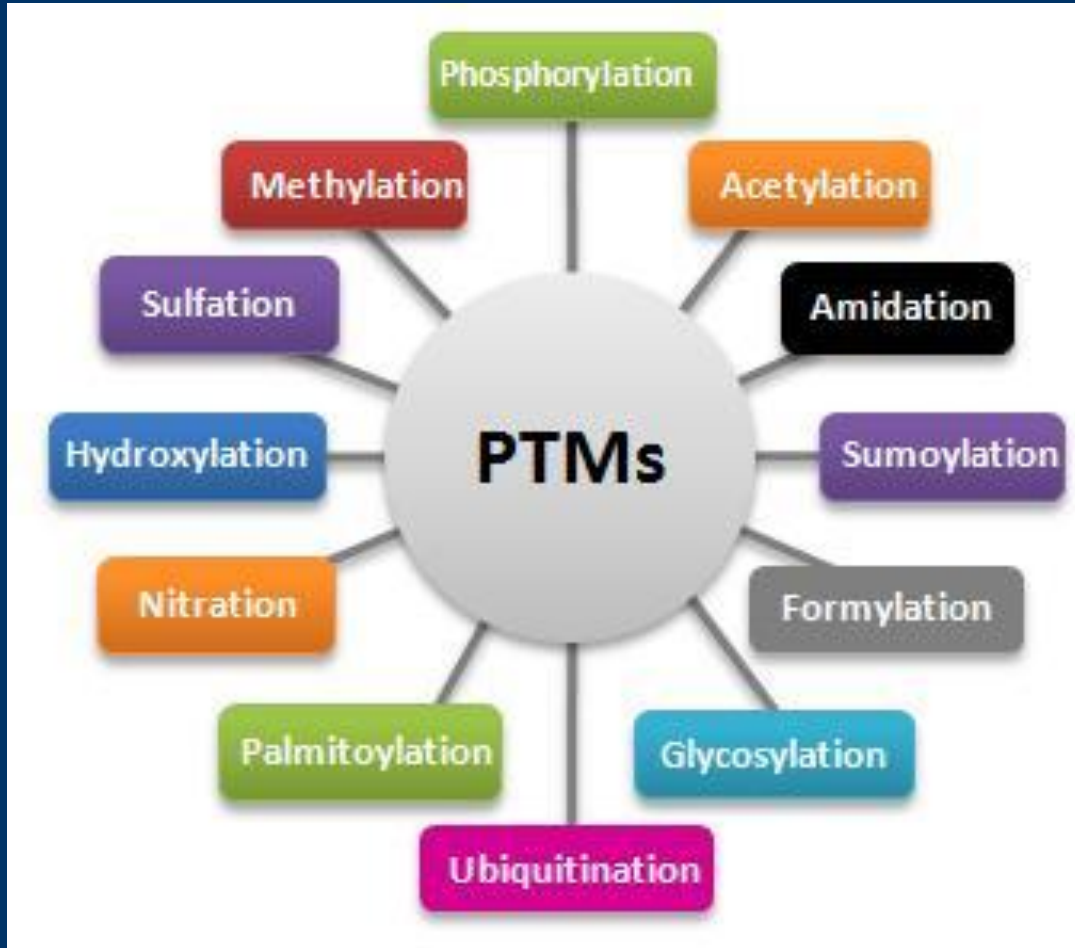
Локализации белков

Межклеточных взаимодействиях

Репарации ДНК

Транслокации белков через биологические мембраны

## Виды посттрансляционных модификаций белков



Фосфорилирование  
Ацетилирование  
Амидирование  
Сумоилирование  
Формилирование  
Гликозилирование  
Убиквитинирование  
Пальмитоилирование  
Миристоилирование  
Нитрование  
Гидроксилирование  
Сульфатирование  
Метилирование  
Йодирование

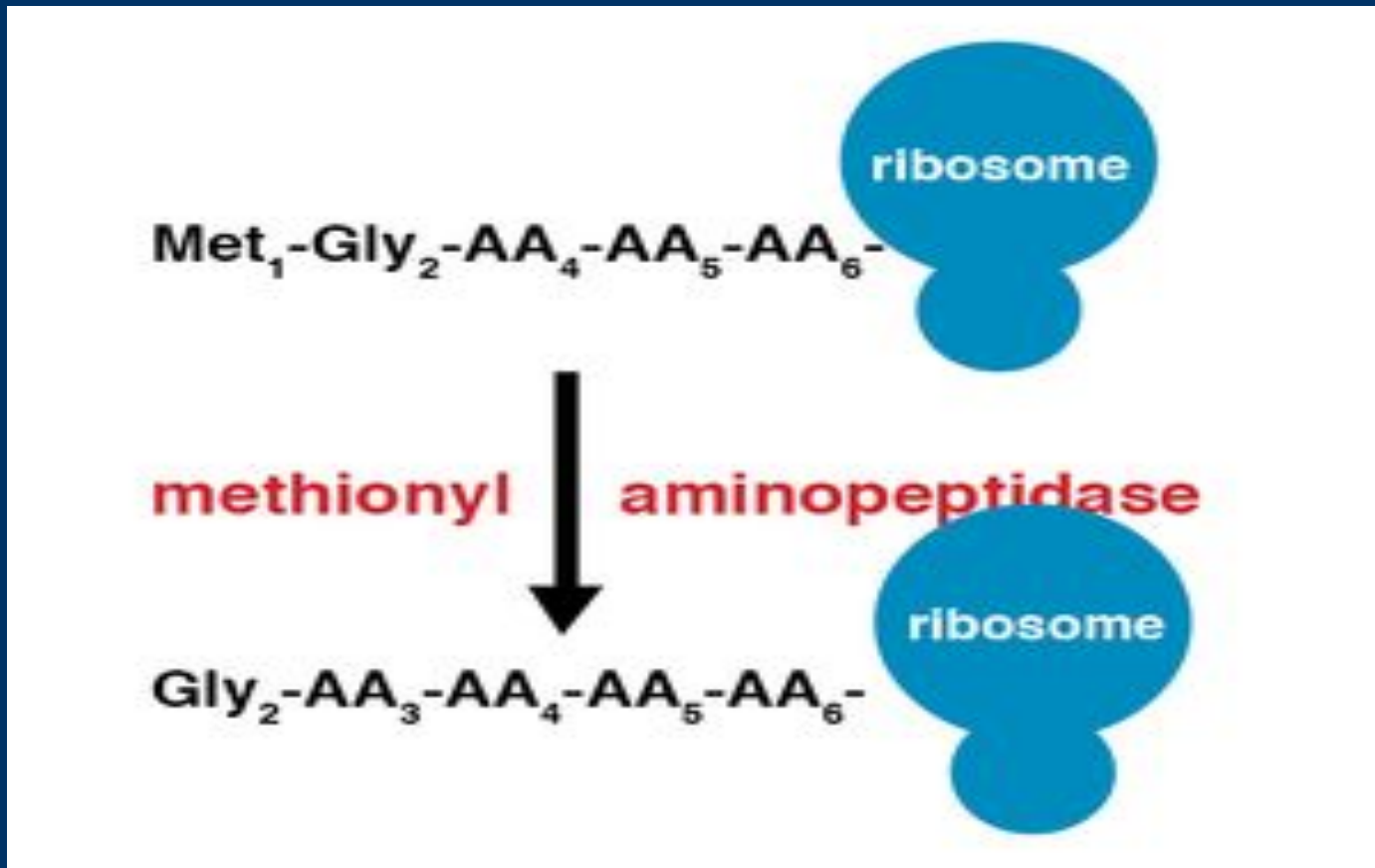


Чаще всего в результате трансляции полипептидные цепи образуются в неактивной форме, поэтому необходимы дополнительные изменения – **процессинг** или **посттрансляционные модификации**.

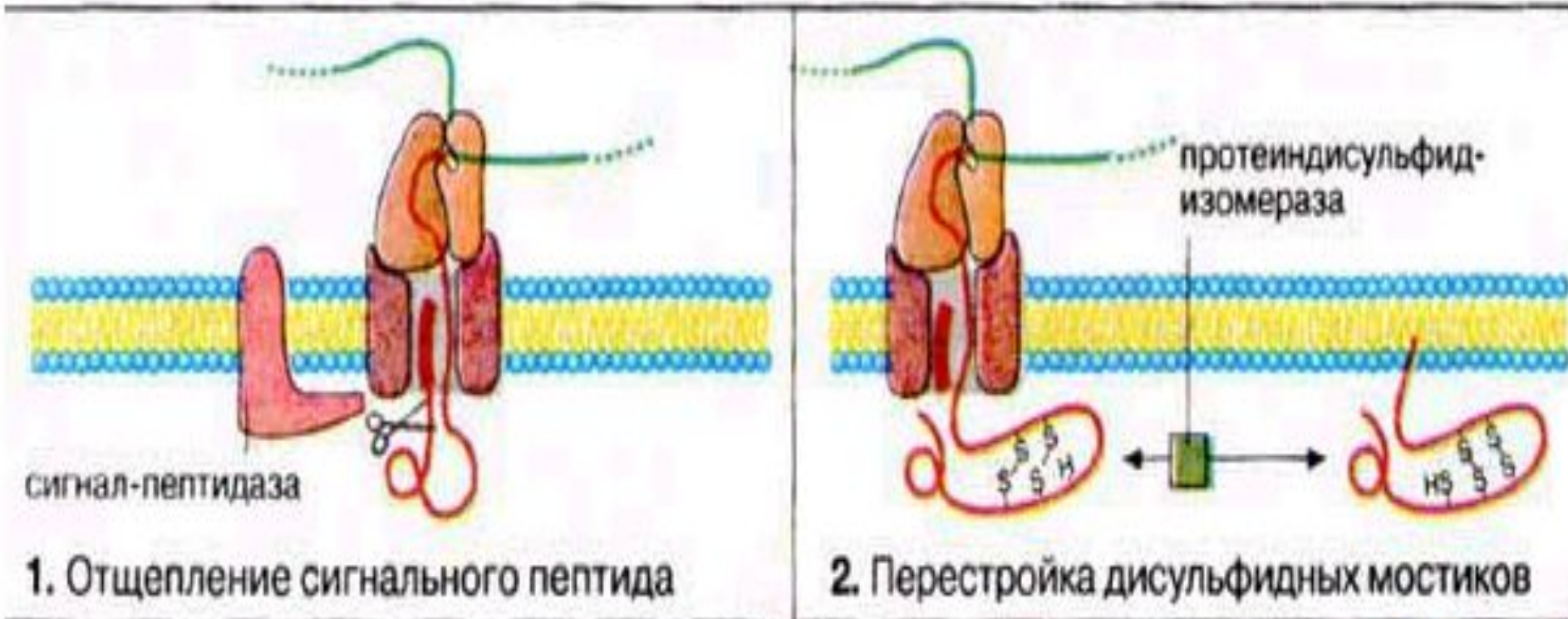
К ним относятся:

- 1.** Удаление с **N**-конца формилметионина (метионина) или даже нескольких аминокислот специфичными аминопептидазами;
- 2.** Образование дисульфидных мостиков между остатками цистеина;
- 3.** Ограниченный протеолиз – удаление части пептидной цепи, как в случае с инсулином или протеолитическими ферментами ЖКТ;

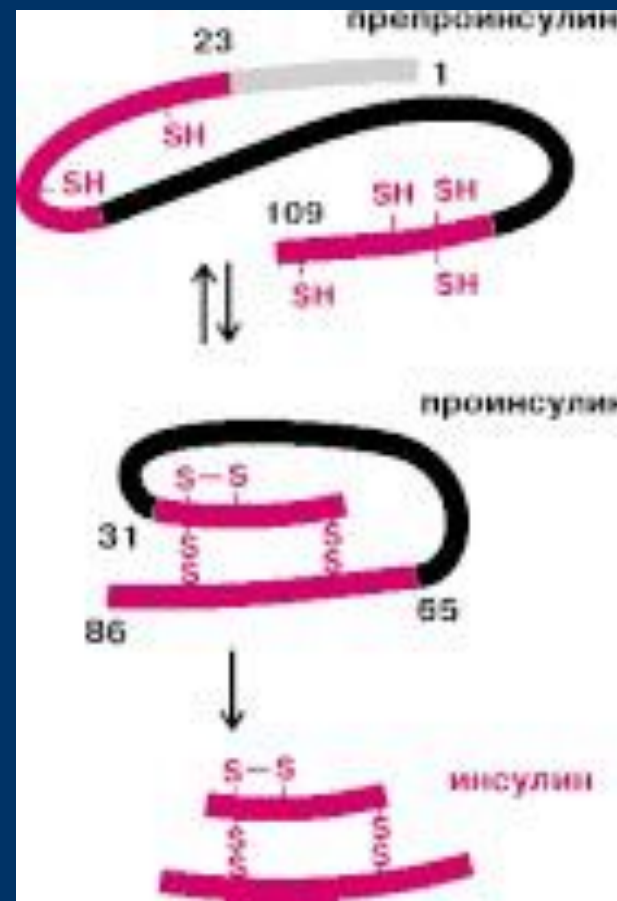
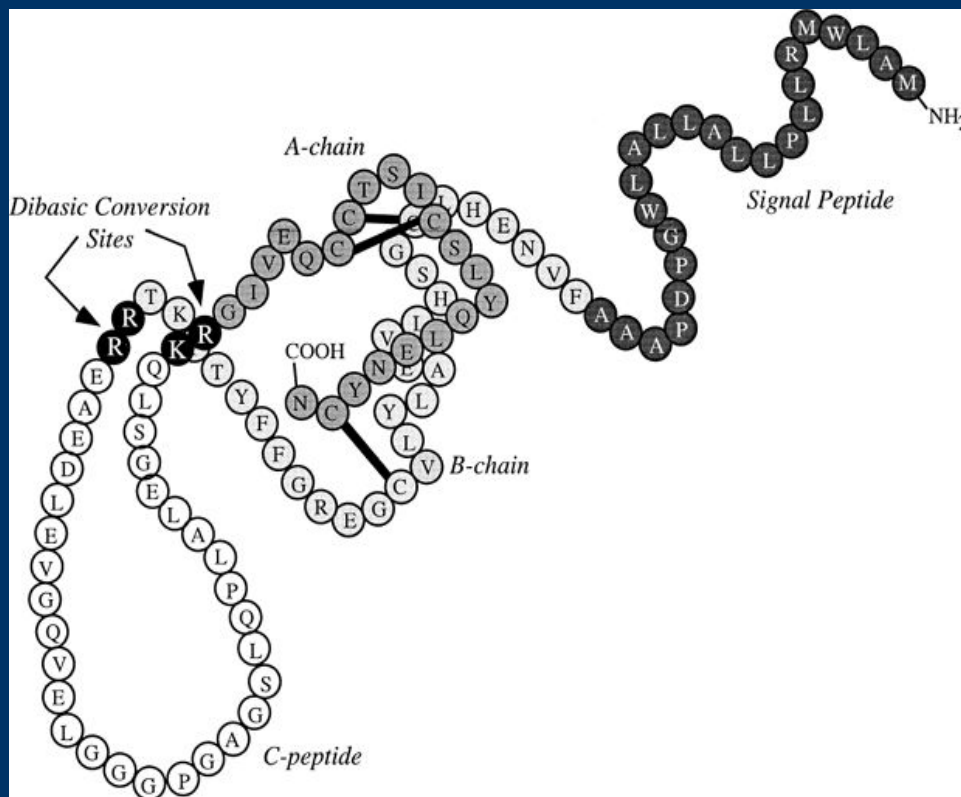
Удаление метионина (формилметионина) с **N**-конца полипептидной цепи



## Посттрансляционный процессинг



## Частичный протеолиз препроинсулина

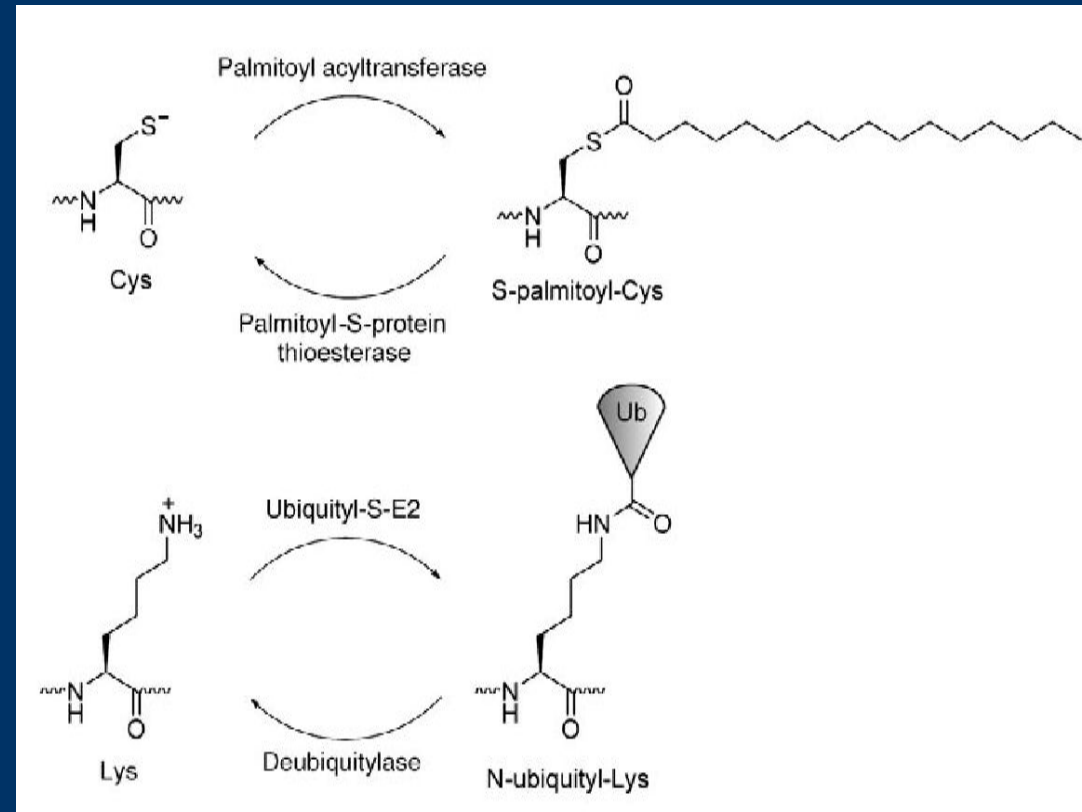
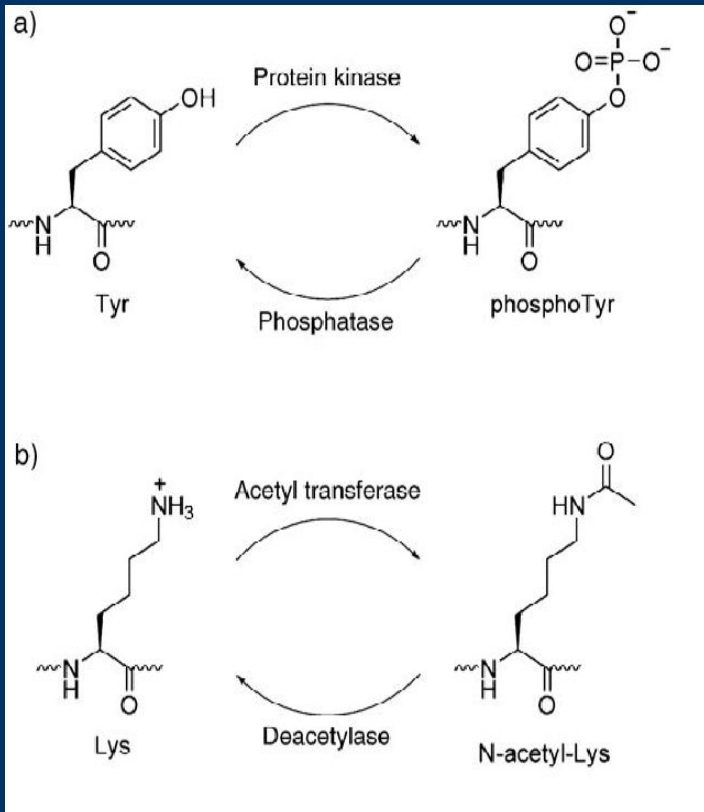


**NH<sub>2</sub>**-сигнальный пептид-цепь В-С-пептид-цепь А-СООН

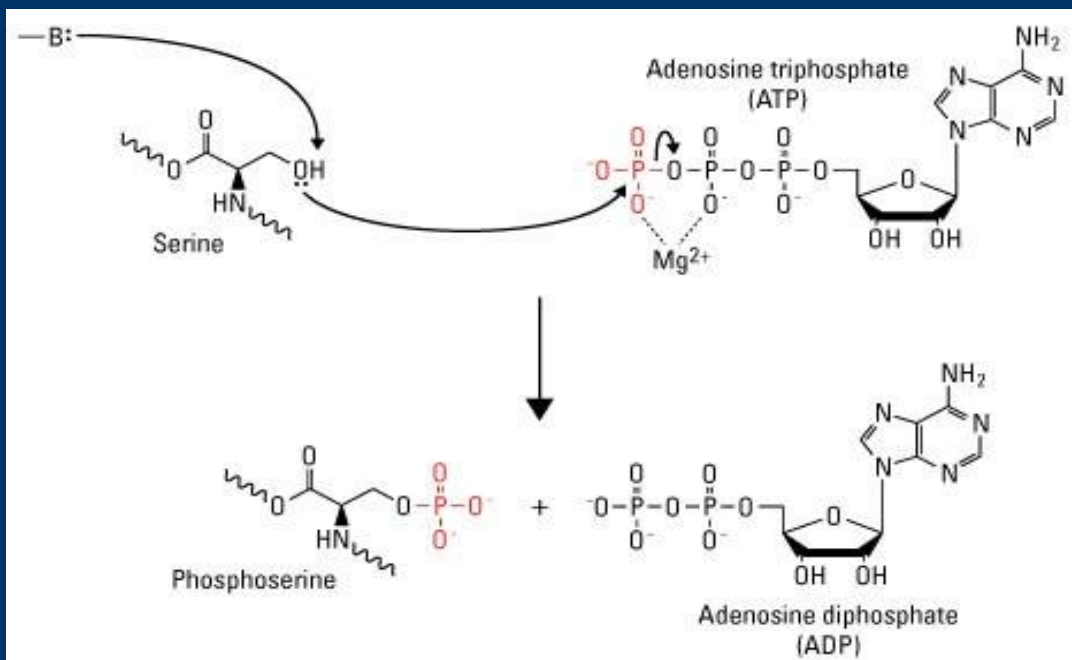
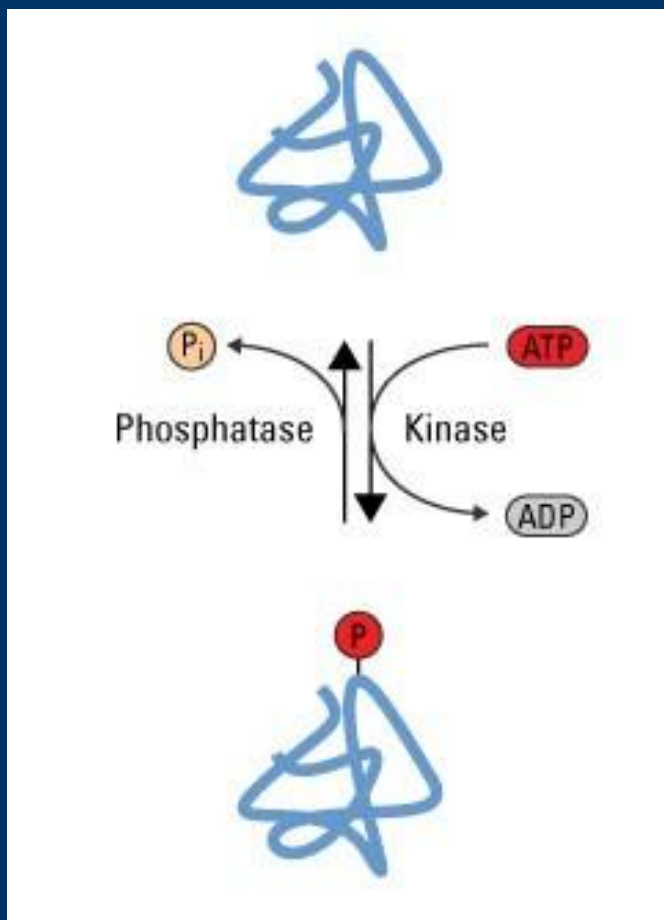
#### 4. Присоединение химической группы к аминокислотным остаткам:

- фосфорилирование;
- карбоксилирование;
- метилирование;
- гидроксилирование;
- гликозилирование.

# Обратимые модификации



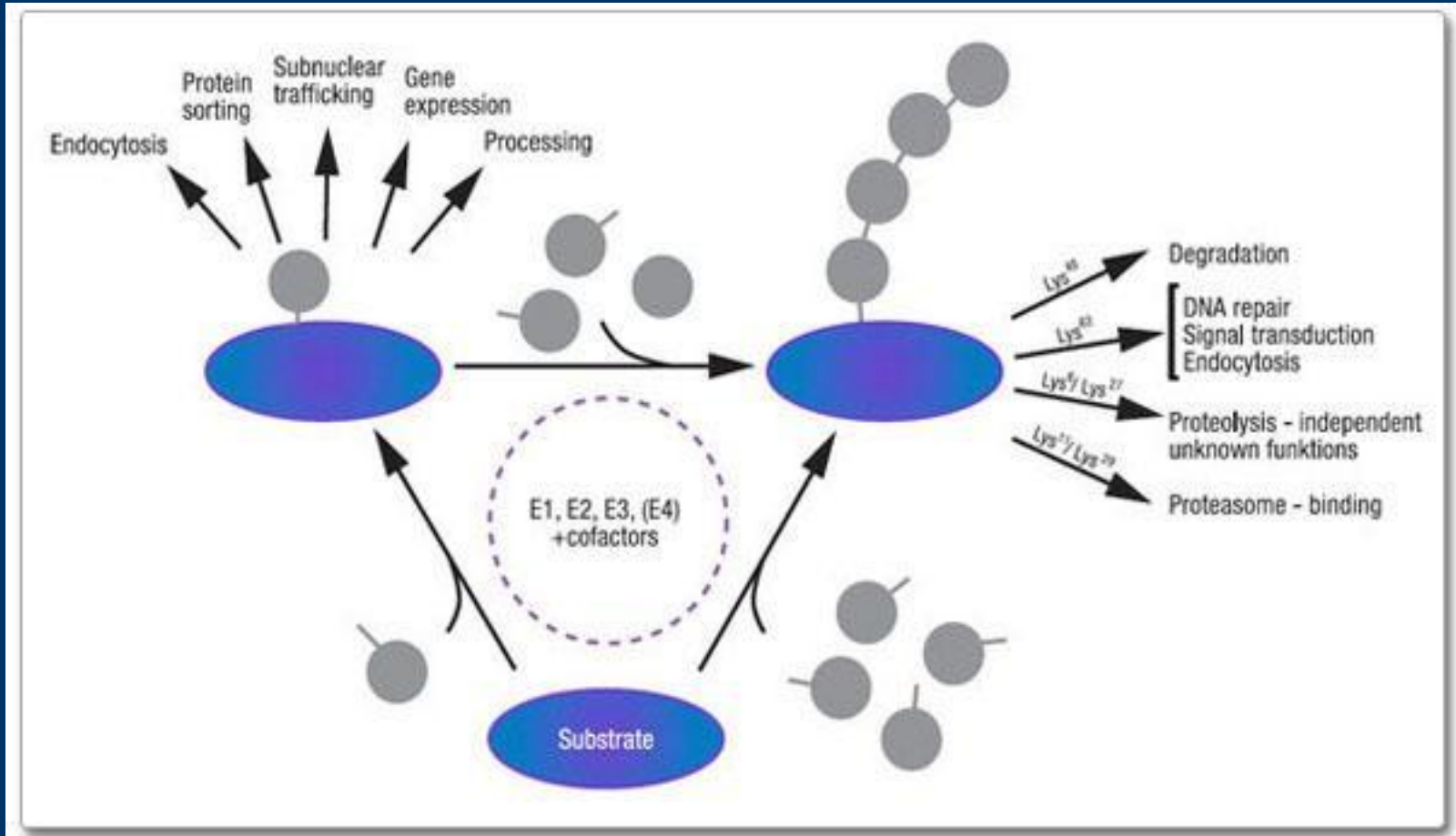
# Фосфорилирование



Обратимое фосфорилирование по Сер, Тре, Тир используется при регуляции активности ферментов или для связывания ионов кальция



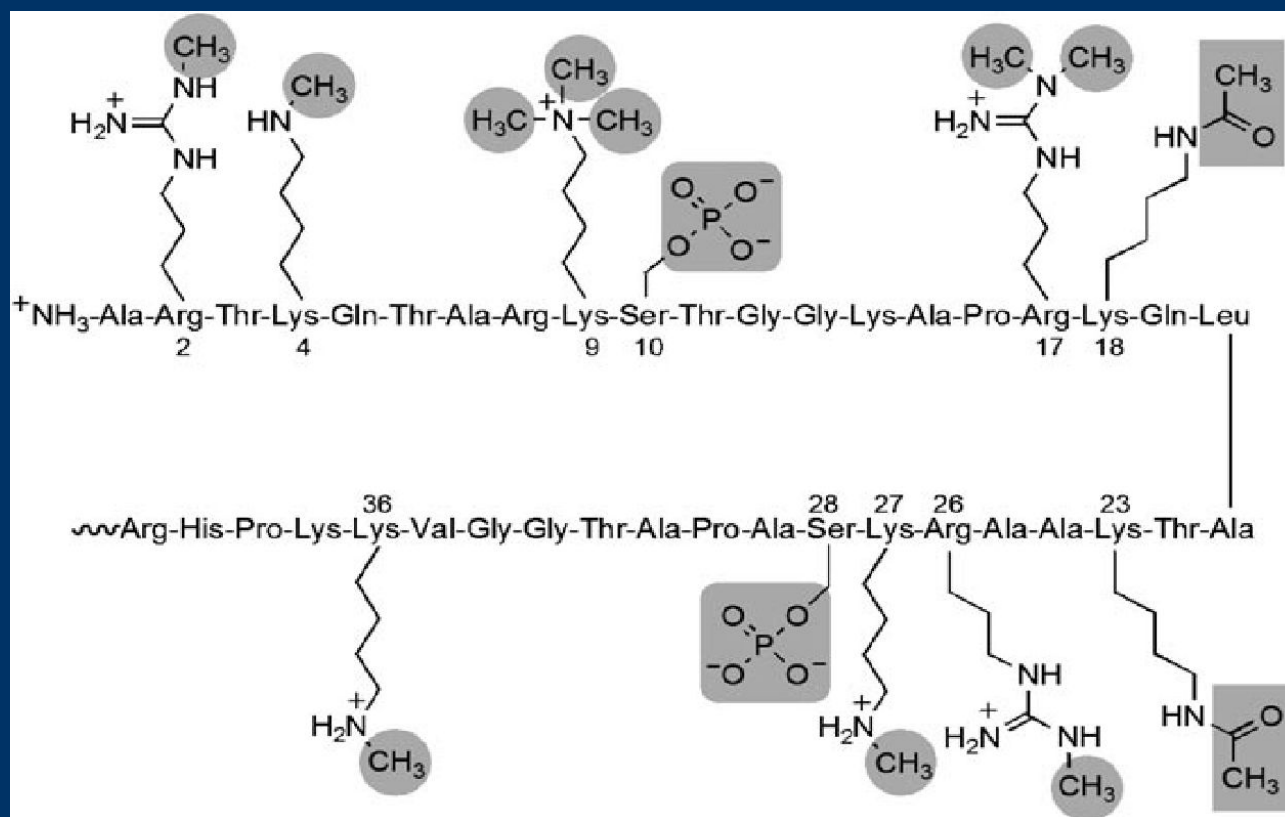
# Убиквитинирование





## Метилирование

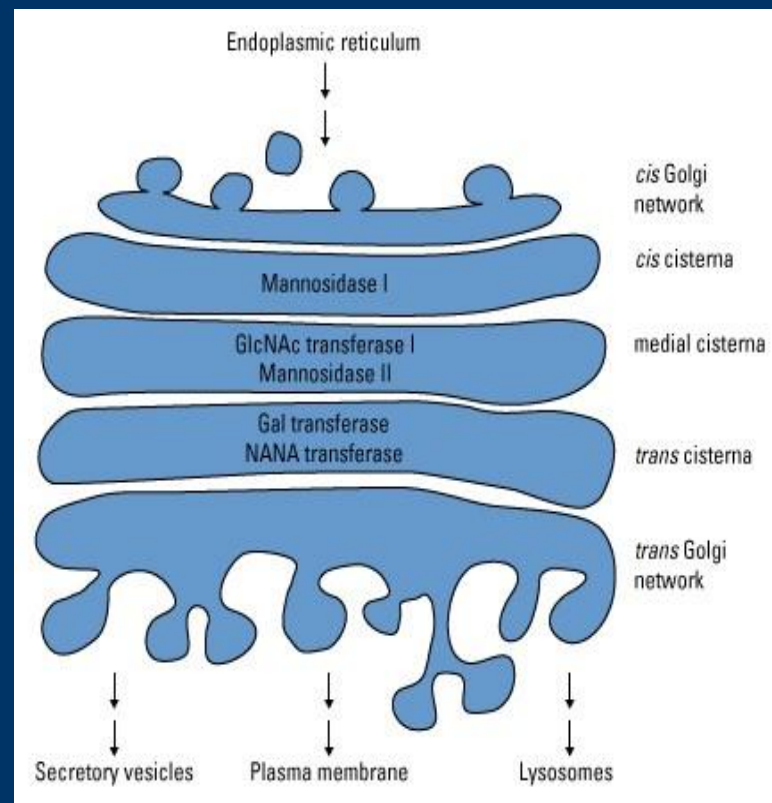
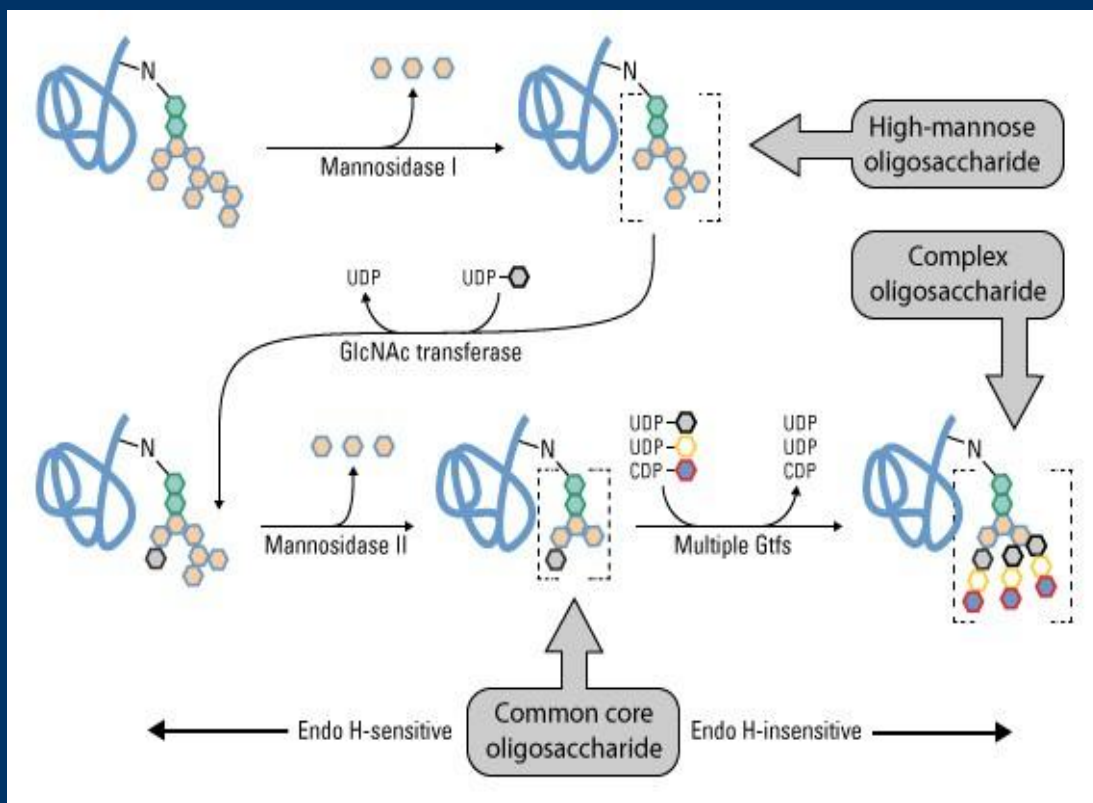
Метилирование Арг и Лиз в составе гистонов необходимо для регуляции активности генома.



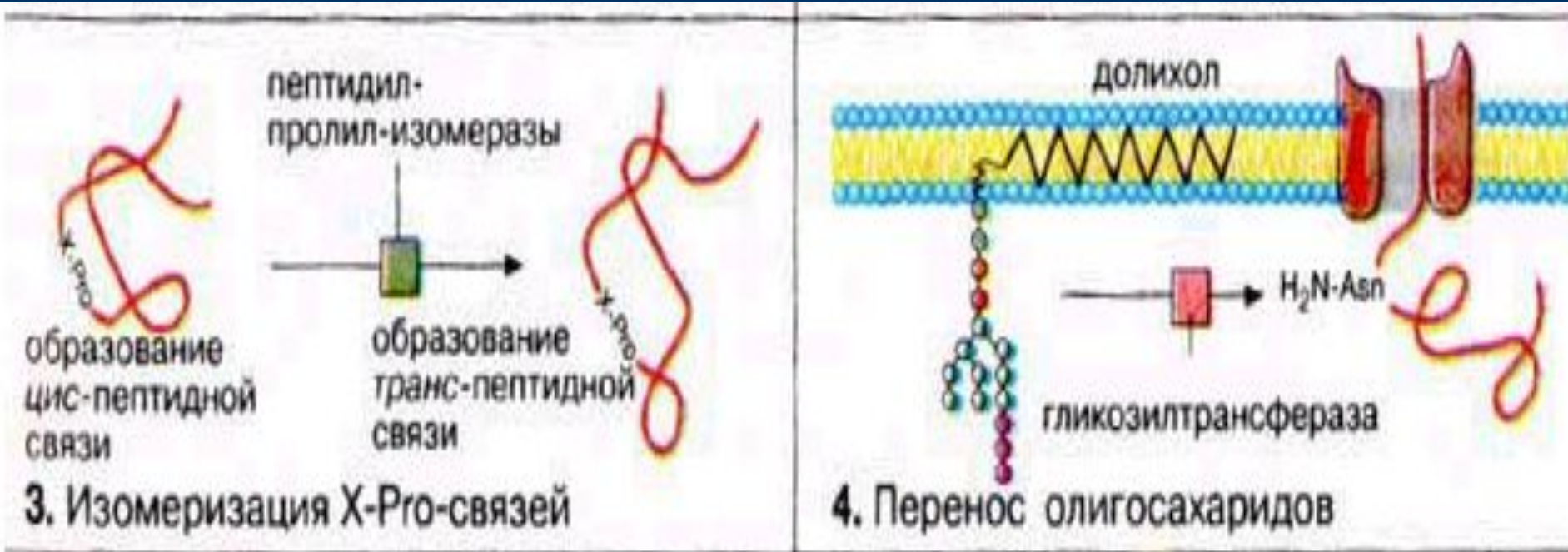
## Посттрансляционный процессинг

# Гликозилирование

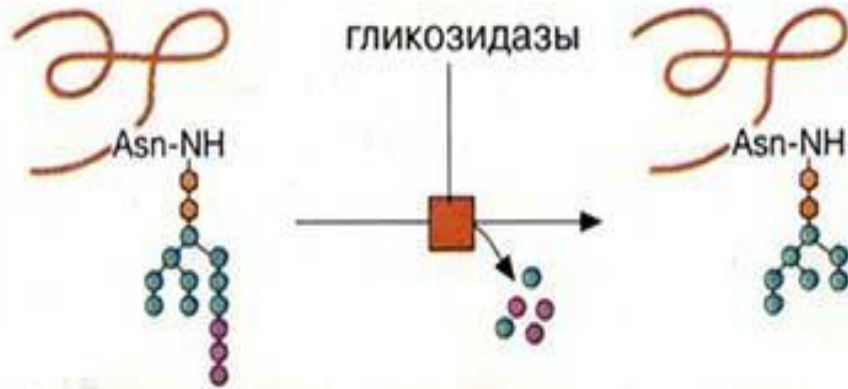
Гликозилирование – присоединение углеводных фрагментов к полипептидной цепи – необходимый этап биосинтеза гликопротеинов.



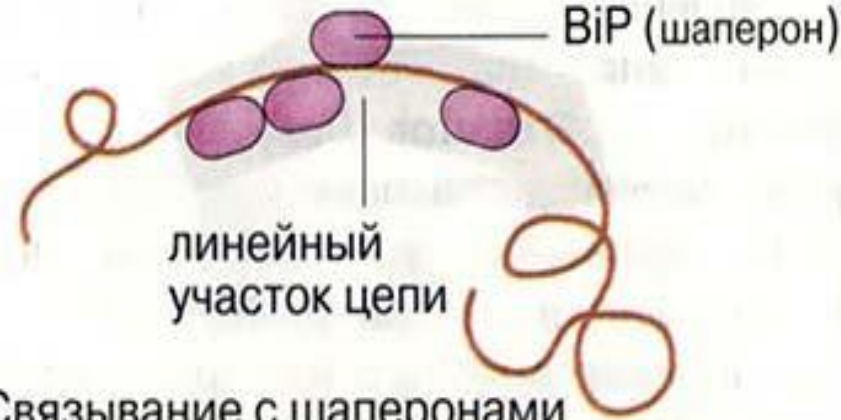
# Посттрансляционный процессинг



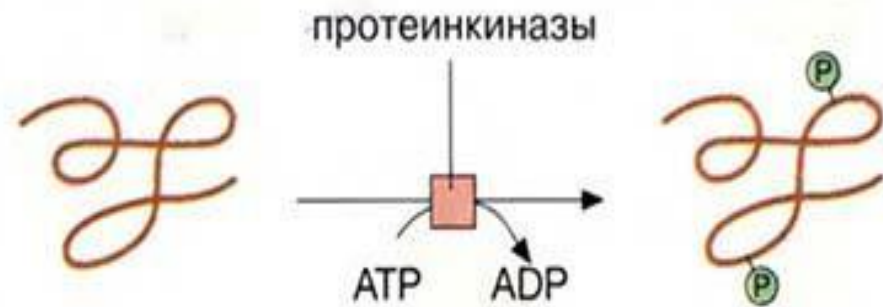
# Посттрансляционный процессинг



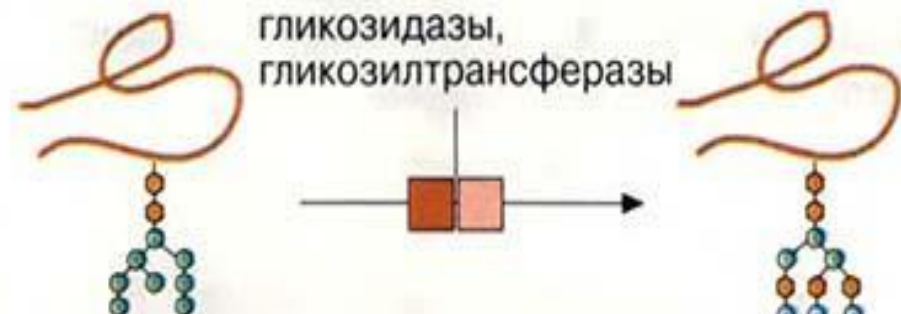
5. Укорачивание олигосахаридов



6. Связывание с шаперонами



7. Фосфорилирование



8. Модификация олигосахаридов

## **5. Включение простетической группы:**

- гема – при синтезе гемоглобина, миоглобина, цитохромов, каталазы;
- витаминных коферментов – биотина, **FAD**, пиридоксальфосфата и т.п.

**6. Объединение протомеров в единый олигомерный белок, например, гемоглобин, лактатдегидрогеназа.**

## Регуляция трансляции у прокариот на примере **Lac-оперона**

Лактозный оперон (***lac operon***) состоит из трех структурных генов, промотора, оператора и терминатора. Принимается, что в состав оперона входит также ген-регулятор, который кодирует белок-репрессор.

Структурные гены лактозного оперона — ***lacZ***, ***lacY*** и ***lacA***:

- ***lacZ*** кодирует фермент  $\beta$ -галактозидазу, которая расщепляет дисахарид лактозу на глюкозу и галактозу,
- ***lacY*** кодирует  $\beta$ -галактозидпермеазу, мембранный транспортный белок, который переносит лактозу внутрь клетки.
- ***lacA*** кодирует  $\beta$ -галактозидтрансациетилазу, фермент, переносящий ацетильную группу от ацетил-СоА на бета-галактозиды. Функция до сих пор не выяснена.

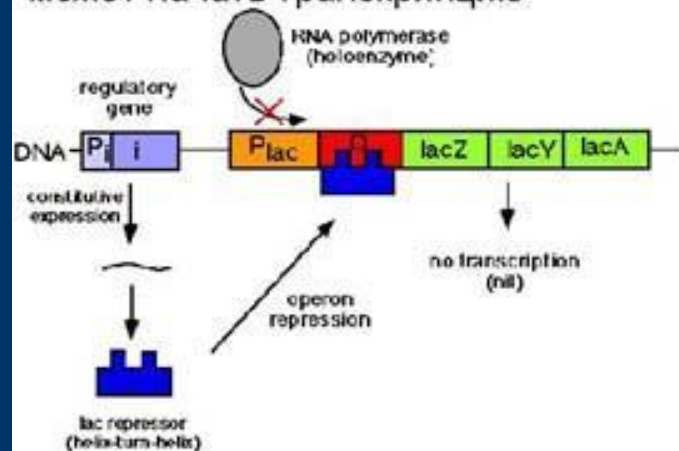


## Регуляция трансляции у прокариот

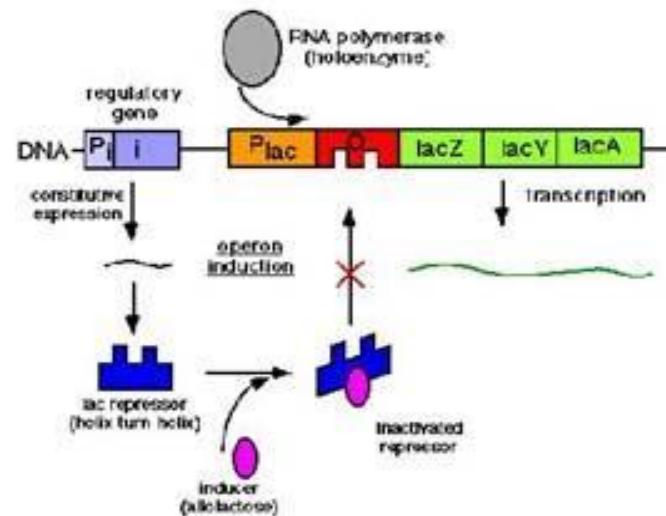
### Регуляция активности генов: *lac*-оперон бактерии *E.coli*

гены метаболизма лактозы работают, когда лактоза есть в клетке

В отсутствии лактозы белок-репрессор связывается с оператором. РНК-полимераза не может начать транскрипцию

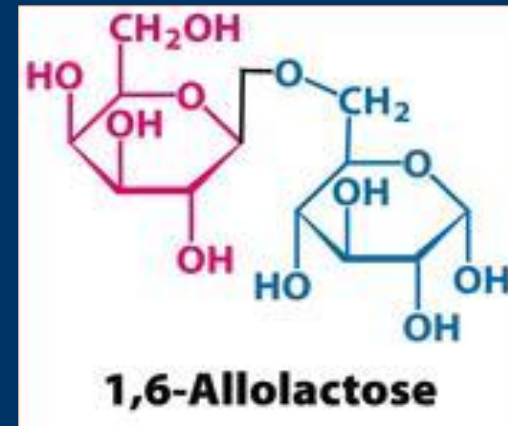
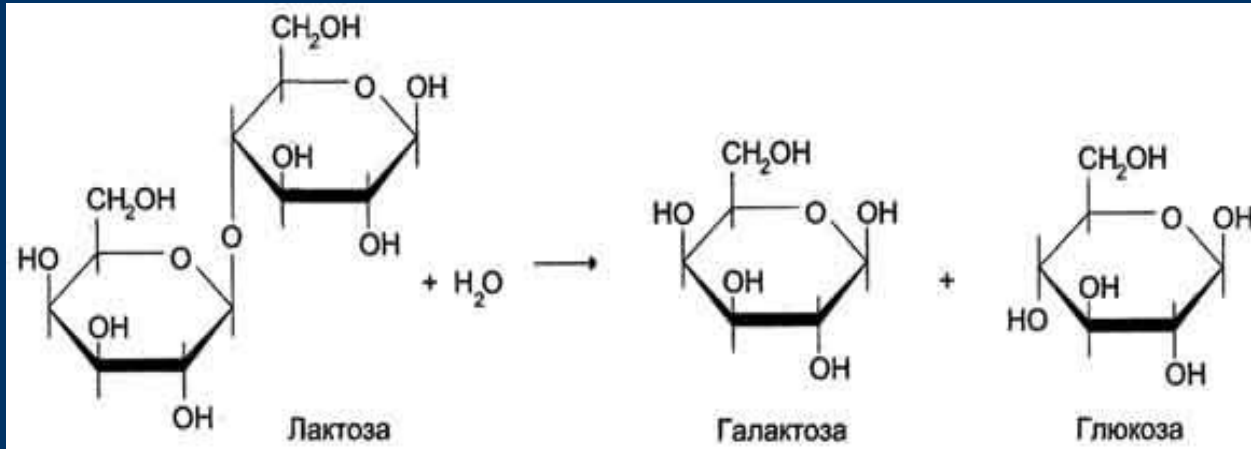


Лактоза инактивирует белок-репрессор и он теряет сродство к оперону. Транскрипция возможна.



Оперон - группа генов, транскрибируемых с одного промотора.

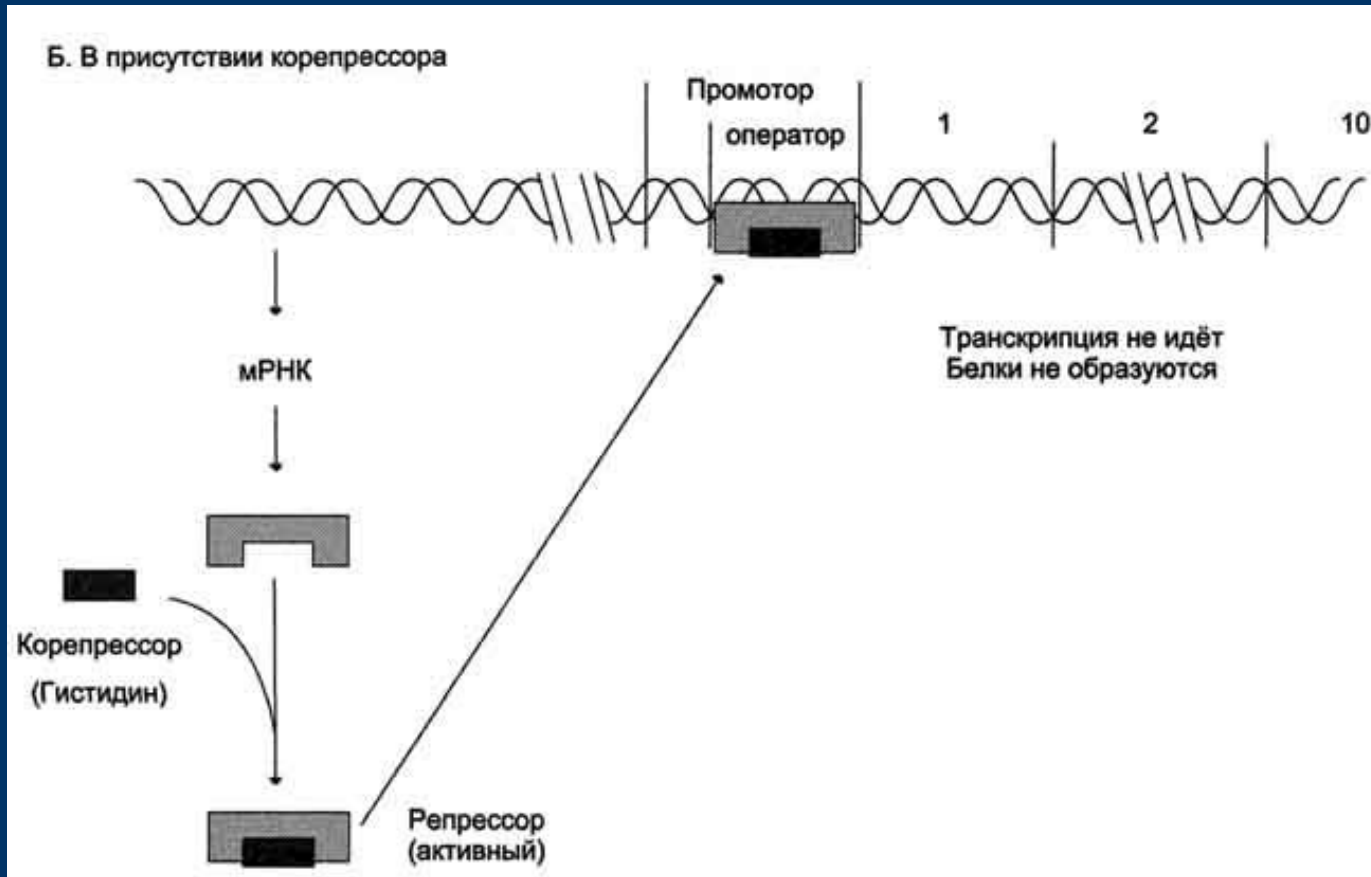
## Регуляция трансляции у прокариот



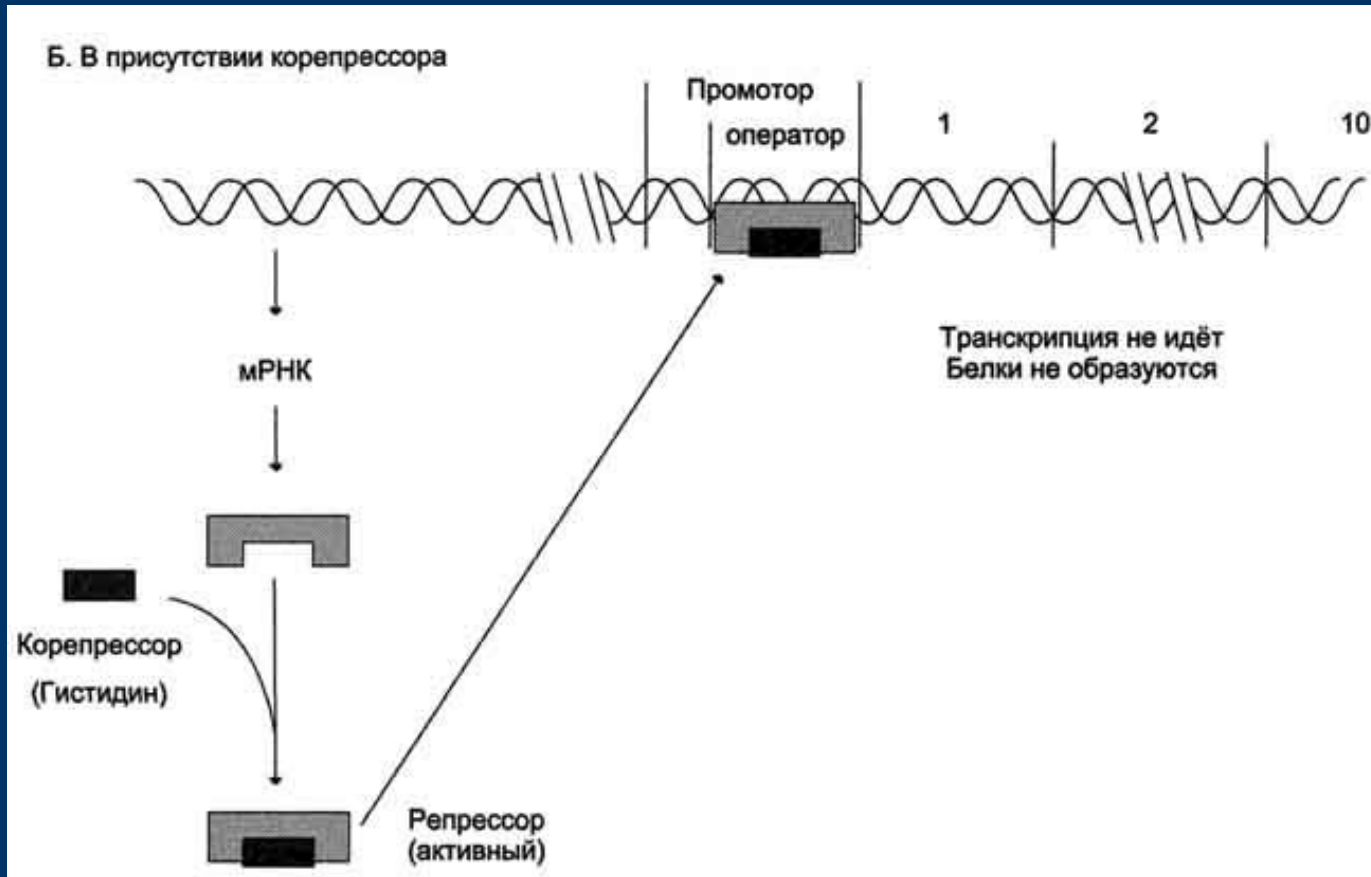
**Lac I** - репрессор [**32 kDa**], тетрамер  
**Z** -  $\beta$ -галактозидаза [**116 kDa**], тетрамер  
**Y** - пермеаза [**46 kDa**], мономер  
**A** - трансацетилаза [**22 kDa**], димер



## Регуляция **His**-оперона



## Регуляция **His**-оперона



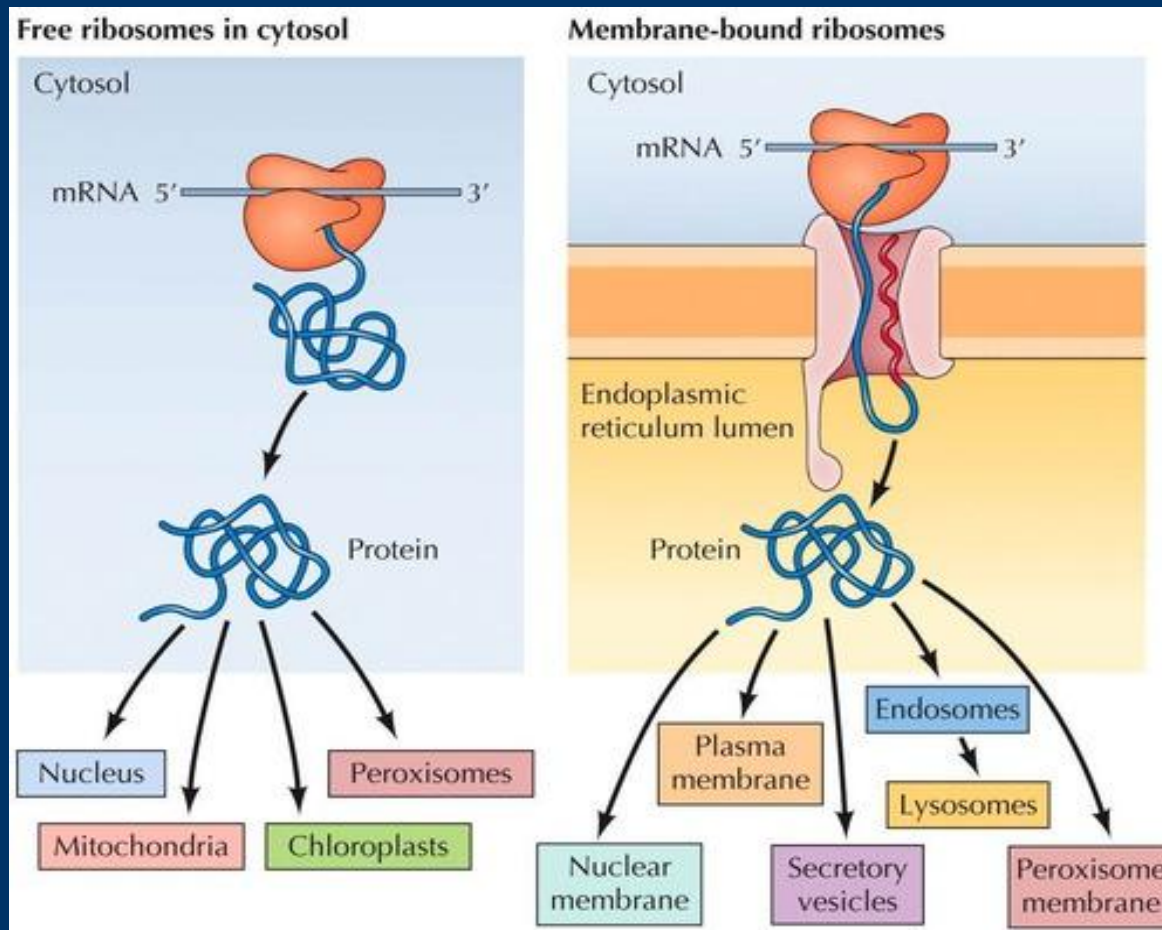
# Молекулярные механизмы транспорта белков

Синтезируемые в цитоплазме эукариотической клетки белки должны транспортироваться в разные компартменты : ядро, митохондрии, ЭПР, аппарат Гольджи, лизосомы и др., а некоторые белки должны попасть во внеклеточную среду.

Для транспорта в определённый компартмент белок должен обладать специфической меткой (сигнальным пептидом, сигнальной последовательностью). Такой меткой является часть аминокислотной последовательности самого белка , но в некоторых случаях меткой служат посттрансляционно присоединённые к белку олигосахариды.

## Транспорт белков

### Пути перемещения белков после синтеза на рибосомах



## **Молекулярные механизмы транспорта белков**

Транспорт белков в ЭПР осуществляется по мере их синтеза, так как рибосомы, синтезирующие белки с сигнальной последовательностью для ЭПР, «сажаются» на специальные белки на его внешней мембране. Из ЭПР в аппарат Гольджи, а оттуда в лизосомы и на внешнюю мембрану или во внеклеточную среду белки попадают путём везикулярного транспорта. В ядро белки, обладающие сигналом ядерной локализации, попадают через ядерные поры. В митохондриях и хлоропластах белки, обладающие соответствующими сигнальными последовательностями, попадают через специфические белковые поры-транслокаторы при участии шаперонов.

## Посттрансляционный процессинг

### Два варианта транспортных сигналов

