

Биохимия и молекулярная биология

Лекция 8. Трансляция (Биосинтез белка)

Тема лекции

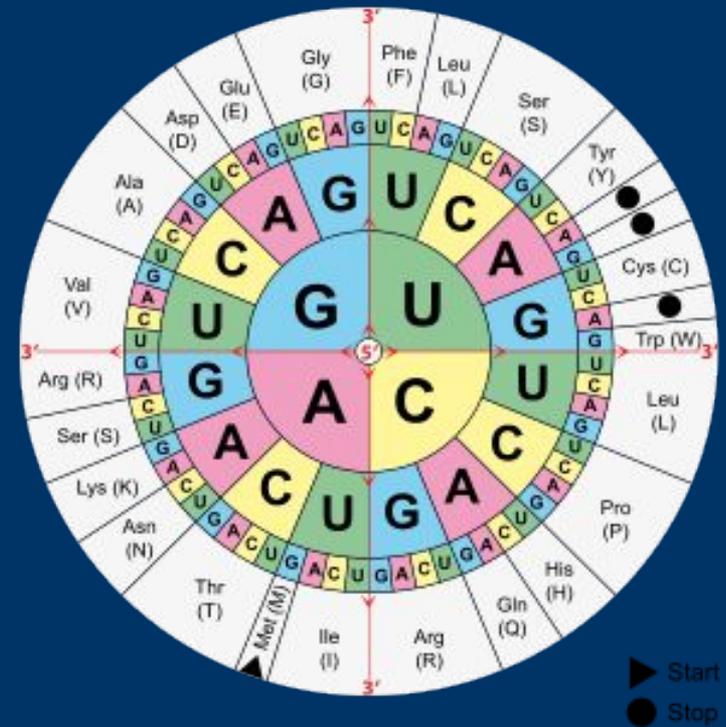
- Генетический код
- Трансляция – общие представления
- Компоненты белоксинтезирующей системы
- Активация и транспорт аминокислот в рибосомы
- Этапы трансляции: инициация, элонгация, терминация

- Трансляция (биосинтез белка) – это процесс декодирования мРНК, перевод информации, закодированной в последовательности нуклеотидов мРНК, в последовательность аминокислотных остатков полипептидной цепи. Трансляция мРНК осуществляется на рибосомах. В ходе трансляции синтезируются все белки клетки.
- Правила, которым следует трансляция, называется генетическим кодом.
- Генетический код - это свойственный живым организмам способ кодирования в молекулах нуклеиновых кислот информации о первичной структуре белка.

Генетический код, свойства

Ниренберг М., Маттеи И., Очоа С., Корана Т. – **1965** год

		Вторая буква									
		U		C		A		G			
U	Первая буква	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U	
		UUC		UCC			UAC		UGC	Cys	C
		UUA	Leu	UCA		UAA	стоп	UGA	стоп		A
		UUG		UCG		UAG	стоп	UGG	Trp		G
C		CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U	
		CUC		CCC		CAC	CGC	C			
		CUA		CCA		CAA	Gln	CGA		A	
		CUG		CCG		CAG	CGG	G			
A		AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U	
		AUC		ACC		AAC	Asn	AGC	C		
		AUA		ACA		AAA	Lys	AGA	A		
		AUG		Met		ACG	AAG	Arg	G		
G		GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U	
		GUC		GCC		GAC	Asp	GGC		C	
		GUA		GCA		GAA	Glu	GGA		A	
		GUG		GCG		GAG	GAG	GGG		G	



Секторный вариант записи генетического кода (внутренний круг – первое основание кодона от 5' - конца)

Генетический код, свойства

- Триплетность. Единицей генетического кода является кодон или триплет. Одна аминокислота кодируется **3** нуклеотидами. Синглетный код - **($4^1 = 4$)**; дуплетный - **($4^2 = 16$)**; триплетный – **64** аминокислоты **($4^3 = 64$)**.
- Код не перекрывается (прочтение кода без знаков препинания, начиная с фиксированной позиции в гене). В последовательности **ABCDEF~~G~~NM** первые три основания ABC кодируют одну аминокислоту – АК₁, **DEF** – АК₂, **GNM** – АК₃. ни один из нуклеотидов данного кодона не является составляющей частью другого, соседнего кодона. В коде отсутствуют запятые, т.е нет знаков, отделяющих один кодон от другого.
- Выврожденность (избыточность). Большинство аминокислот кодируется более чем одним кодоном. Кодоны, которые определяют одну и ту же аминокислоту, называются кодонами-синонимами. Первые два основания в кодонах-синонимах одинаковы, различия в третьем.

Pro -C-C-U-

-C-C-C-

-C-C-A-

-C-C-G-

Обратная таблица генетического кода

Ala/A	GCU, GCC, GCA, GCG	Leu/L	UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, CUG
Arg/R	CGU, CGC, CGA, CGG, AGA, AGG	Lys/K	AAA, AAG
Asn/N	AAU, AAC	Met/M	AUG
Asp/D	GAU, GAC	Phe/F	UUU, UUC
Cys/C	UGU, UGC	Pro/P	CCU, CCC, CCA, CCG
Gln/Q	CAA, CAG	Ser/S	UCU, UCC, UCA, UCG, AGU, AGC
Glu/E	GAA, GAG	Thr/T	ACU, ACC, ACA, ACG
Gly/G	GGU, GGC, GGA, GGG	Trp/W	UGG
His/H	CAU, CAC	Tyr/Y	UAU, UAC
Ile/I	AUU, AUC, AUA	Val/V	GUU, GUC, GUA, GUG
START	AUG	STOP	UAA, UGA, UAG

Генетический код, свойства

61 кодон из **64** кодирует определенную аминокислоту, а три, так называемые, стоп-кодона (нонсенс-кодона) определяют окончание синтеза п/п цепи. **UAA, UAG, UGA** – **стоп-кодона** .

■ **Рамка считывания** – задает положение первого основания кодона мРНК (или гена). Поскольку код триплетен, число возможных рамок считывания равно трем. Обычно функциональный белок синтезируется только при одной рамке считывания, исключения из этого правила очень мало. Некоторые вирусы используют две и даже три рамки считывания, при которых синтезируются разные белки. Примером могут служить белки, кодируемые К-, С- и А-генами вируса **G4**.

1-я рамка считывания	5'- ABC-DEF-GLN-KMN -3' N- AK₁ AK₂ AK₃ AK₄ -C	белок, кодируемый геном К
2-я рамка считывания	5'-A-BCD-EFG-LNK-MN-3' N-AK₁'-AK₂'-AK₃'- C	белок, кодируемый геном С
3-я рамка считывания	5'- AB-CDE-FGL-NKM-N-3' N-AK₁''-AK₂''-AK₃''- C	белок, кодируемый геном А

Генетический код, свойства

- Специфичность – каждый триплет кодирует только одну аминокислоту.
- Коллинеарность (соответствие линейной последовательности кодонов мРНК и последовательности аминокислот в кодируемой белке).
- Генетический код универсален, т. е. ядерные гены всех организмов одинаковым образом кодируют информацию о белках вне зависимости от уровня организации и систематического положения этих организмов.

Отклонения от стандартного генетического кода

Пример	Кодон	Обычное значение	Читается как:
Митохондрии высших растений	CGG	Аргинин	Триптофан
Митохондрии млекопитающих, дрозофилы, <i>S. cerevisiae</i> и многих простейших	AUA	Изолейцин	Метионин= Старт
Прокариоты	GUG	Валин	Старт
Митохондрии млекопитающих	AGC, AGU	Серин	Стоп
Митохондрии млекопитающих	AG(A, G)	Аргинин	Стоп

Трансляция – общие представления

- Трансляция (биосинтез белка) осуществляется на рибосомах.
- Декодирование мРНК осуществляется в направлении **5′→3′**, как и в процессе репликации и транскрипции. Полипептидная цепь синтезируется от **N-** к **C-**концу.
- Трансляция осуществляется в несколько стадий:
 - 1)** активация аминокислот, аминоацилирование тРНК;
 - 2)** собственно трансляция (инициация, элонгация, терминация);
 - 3)** посттрансляционная модификация (процессинг) полипептидной цепи.

■ Для синтеза белка необходимы:

- 1) информация о структуре синтезируемого белка (мРНК);
- 2) рибосомы;
- 3) тРНК;
- 4) **20** аминокислот;
- 5) ферменты аминоацил-тРНК-синтетазы;
- 6) инициаторная аминоацил-тРНК;
- 7) белковые факторы инициации, элонгации и терминации трансляции;
- 8) АТФ и **GTP**;
- 9) неорганические катионы **Mg²⁺** или **Ca²⁺** и одновалентные (**K⁺** или **NH₄⁺**) в определенной концентрации.

Аминоацил-тРНК-синтетазы выполняют важную роль в реализации генетической информации.

С помощью этих ферментов осуществляется специфический отбор аминокислот и зашифровка, которая заключается в присоединении каждой аминокислоты к специальному адаптору, способному узнавать для нее кодон на мРНК. Именно на уровне аа-тРНК-синтетаз происходит специфическая подготовка к переводу **4-х буквенного генетического кода в **20**-ти буквенный код белков. Ферментативное аминоацилирование тРНК, несомненно, выполняет кодирующую функцию.**

Аминоацил-тРНК-синтетаза

Mg²⁺

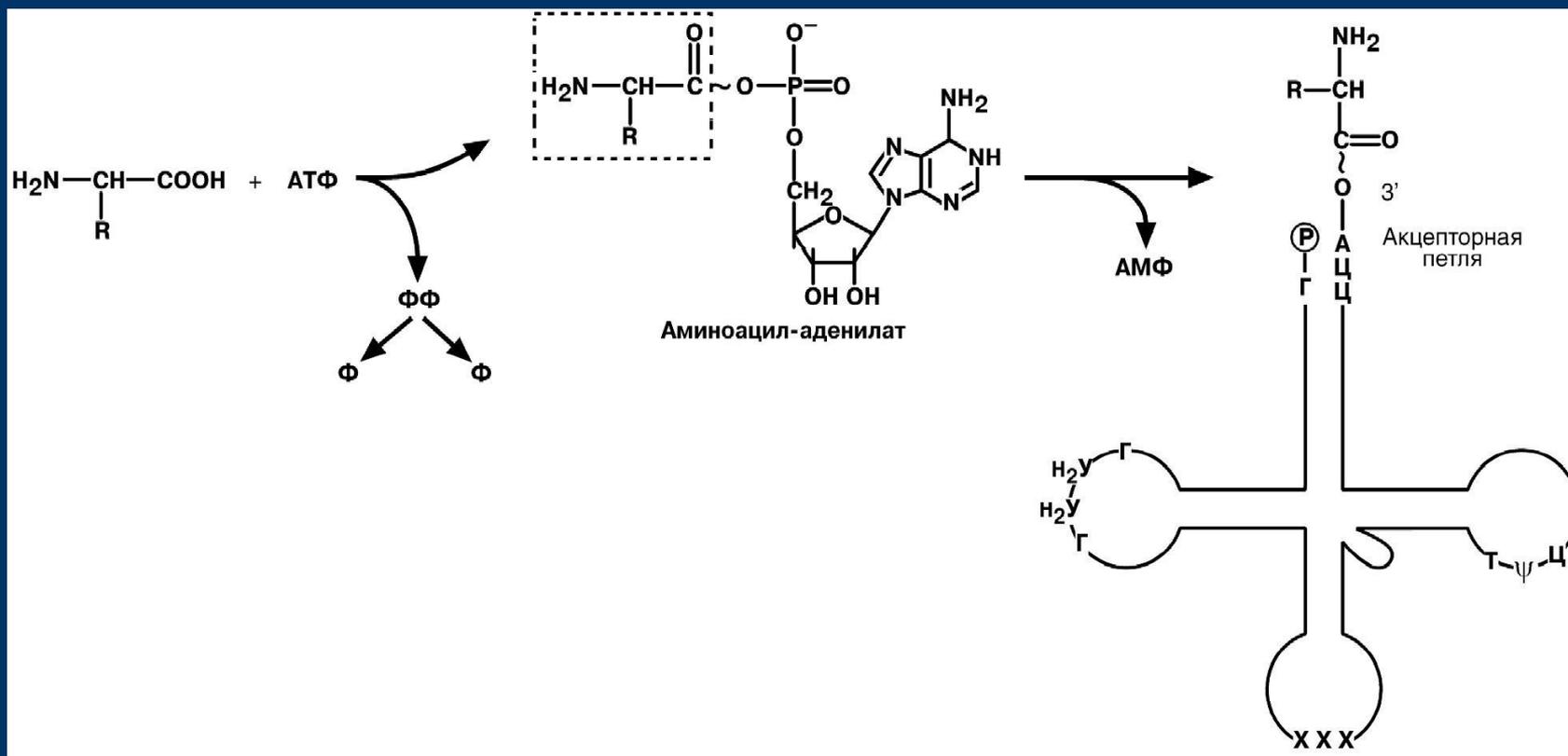


Mg²⁺

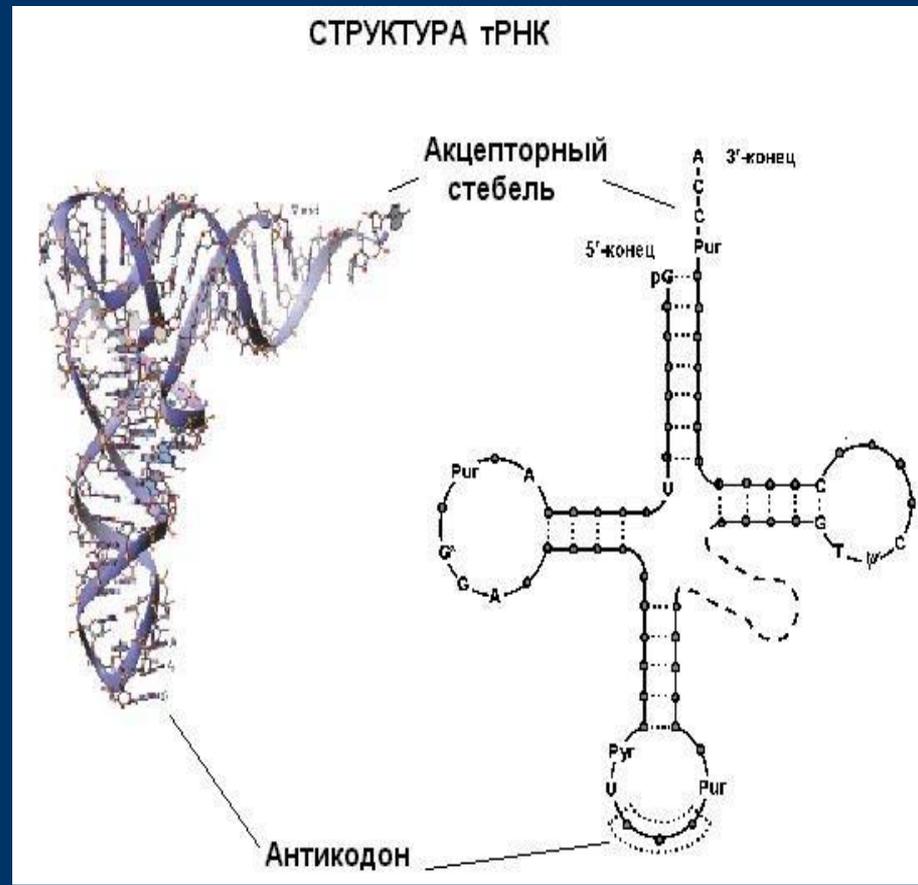
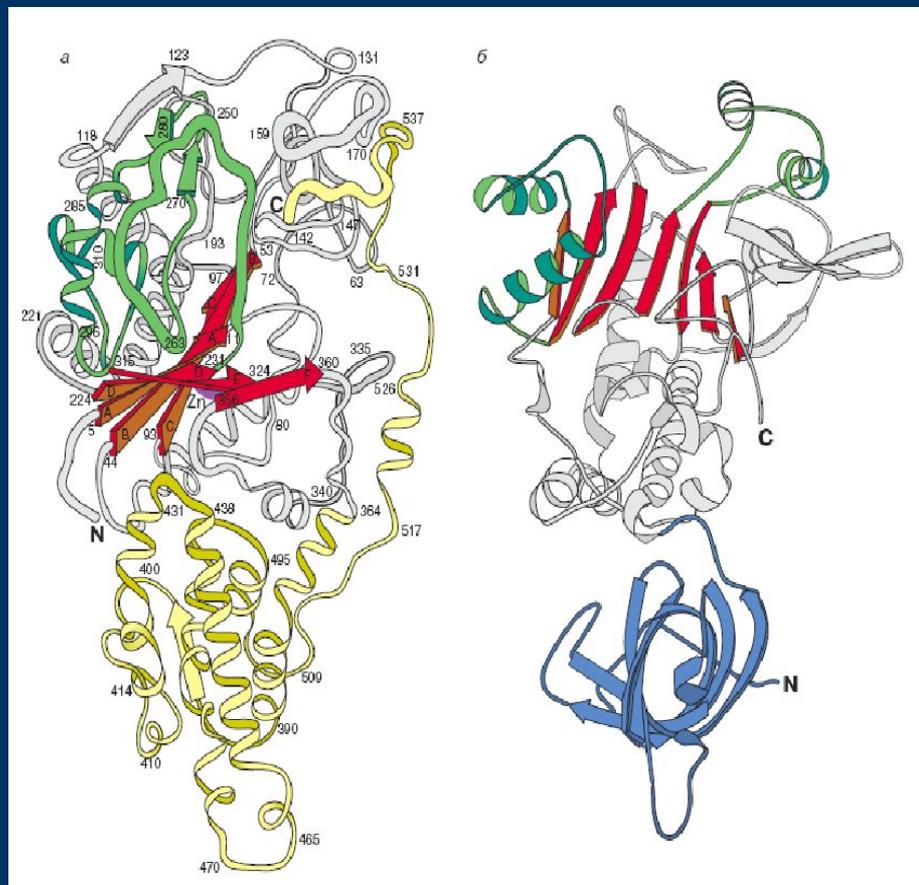


Активация и транспорт аминокислот в рибосомы

Реакция, катализируемая аминоацил-тРНК-синтетазой



Активация и транспорт аминокислот в рибосомы



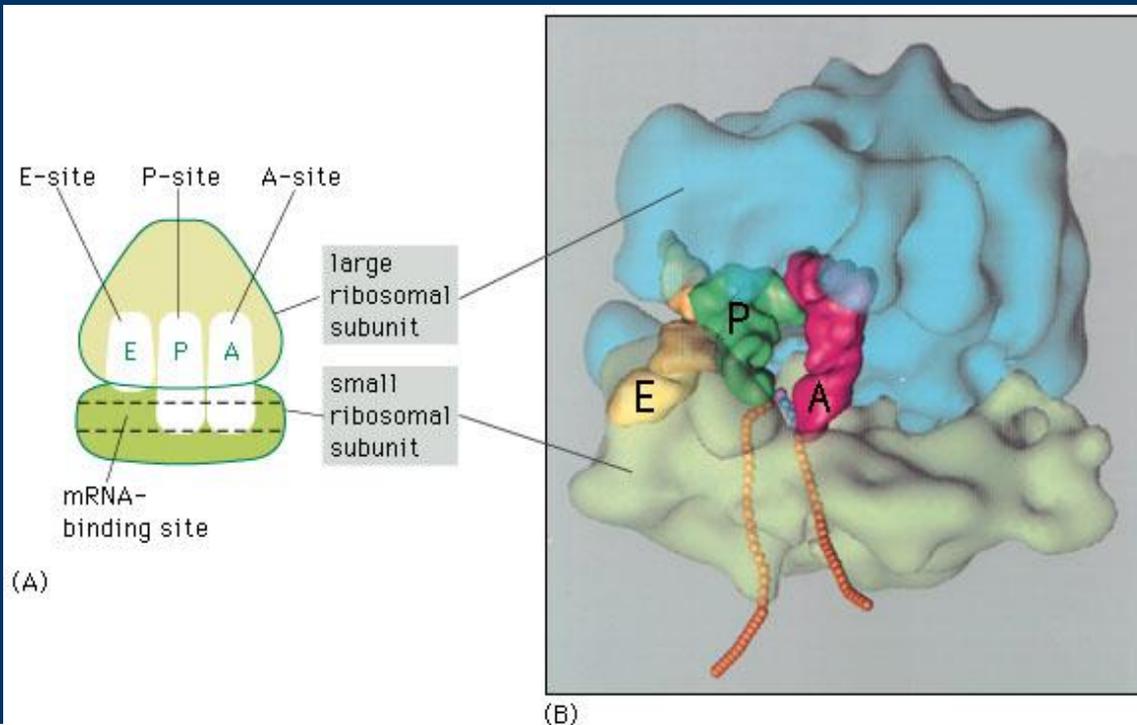
Строение аминокил-тРНК-синтетаз: а) класс **1**; б) класс **2**

Роль тРНК в трансляции

- 1) Акцепторная.** С помощью специфического фермента **aa-тРНК-синтетазы** тРНК присоединяет на одном из концов своей молекулы соответствующую аминокислоту, в результате образуется комплекс **аминоацил-тРНК**.
- 2) Транспортная.** тРНК доставляет аминокислоту в форме **aa-тРНК** на рибосому для включения ее в растущую полипептидную цепь.
- 3) Адапторная.** С помощью своего антикодона тРНК специфически взаимодействует с комплементарным ему кодоном мРНК, обеспечивая необходимую последовательность включения аминокислот в синтезируемую полипептидную цепь в соответствии с программой, заданной мРНК. Благодаря этой функции тРНК дешифрует генетический код в РНК-матрице и переводит в аминокислотный код белка.

Рибосомы

Рибосомы - рибонуклеопротеиновые частицы, в составе которых отношение РНК/белок составляет **50/50** у высших животных и **(60-65)/(35-40)** у бактерий. Каждая рибосома имеет сайт связывания для мРНК и **3** сайта связывания для тРНК



А – аминоацил-тРНК-
связывающий участок;
Р - пептидил-тРНК-
связывающий участок;
Е - участок выхода тРНК

Белоксинтезирующая система

Рибосома прокариот:

70S, размер - **21x29** нм, М **~2.8** млн. Да,
состоит из двух субъединиц.

Большая субъединица М=**1.8** млн Да - **50S**

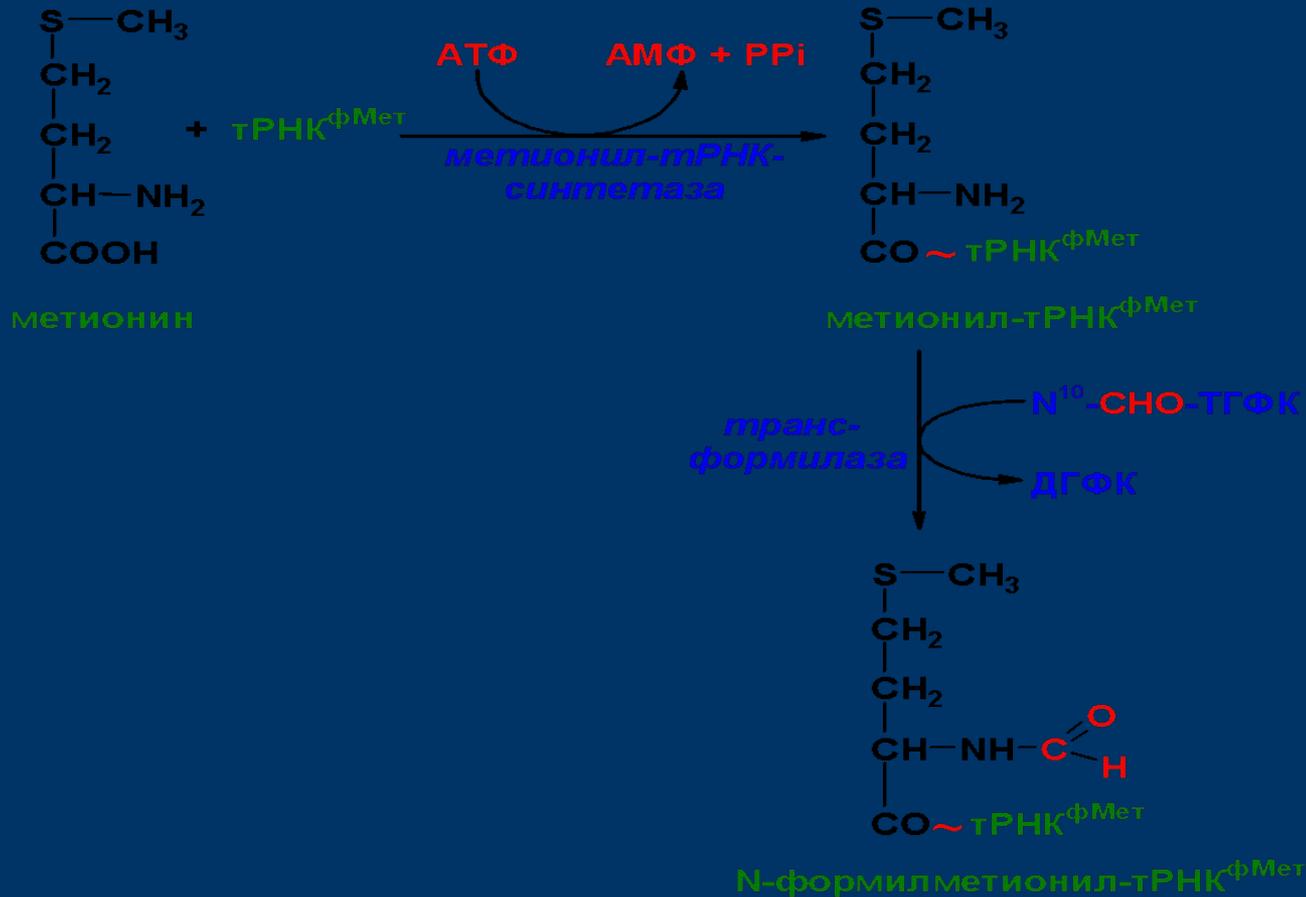
1 рРНК **23S** (~**2904** н), **1** рРНК **5S** (~**120** н), **35** белков
(**L1 - L35**).

Малая субъединица М=**1.0** млн Да - **30S**

1 рРНК **16S** (~**1542** н), **21** белок (**S1 - S21**).

В клетке **E.coli** содержится **~20** тыс. рибосом, что составляет
– **1/4** сухой массы клетки.

Образование инициаторной формилметеонил-тРНК у прокариот



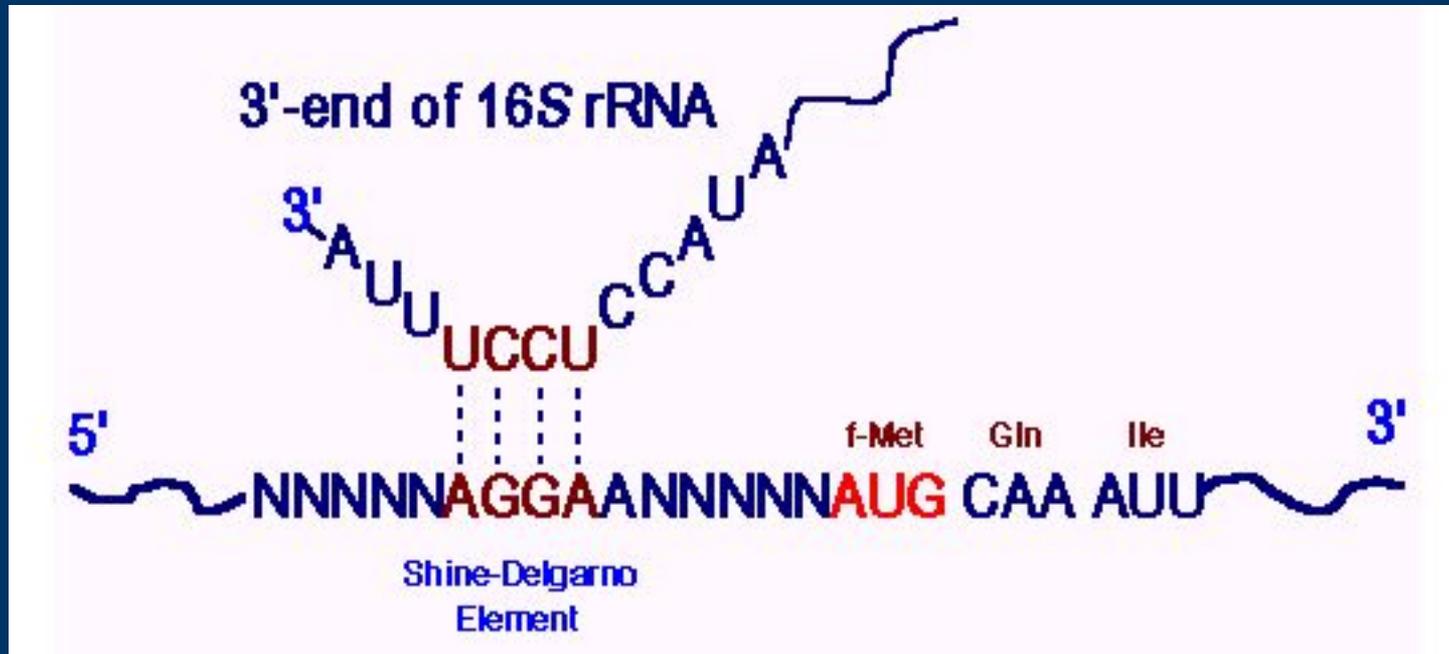
Белковые факторы инициации трансляции (**initiation factor**): **IF1, IF2, IF3.**

Белковые факторы элонгации трансляции (**elongation factor**): **EF-Tu, EF-Ts, EF-G (Tu, Ts, G).**

Белковые факторы терминации трансляции (**releasing factor**) : **RF1, RF2, RF3.**

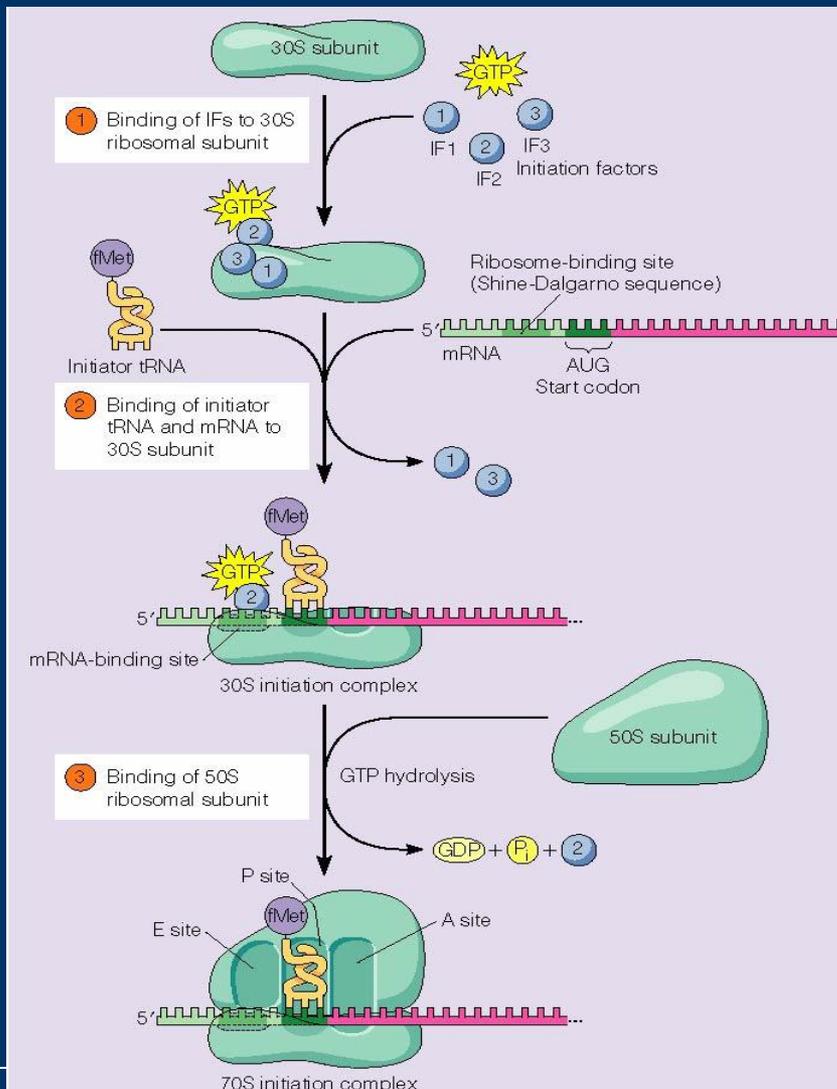
Этапы трансляции

Инициация трансляции



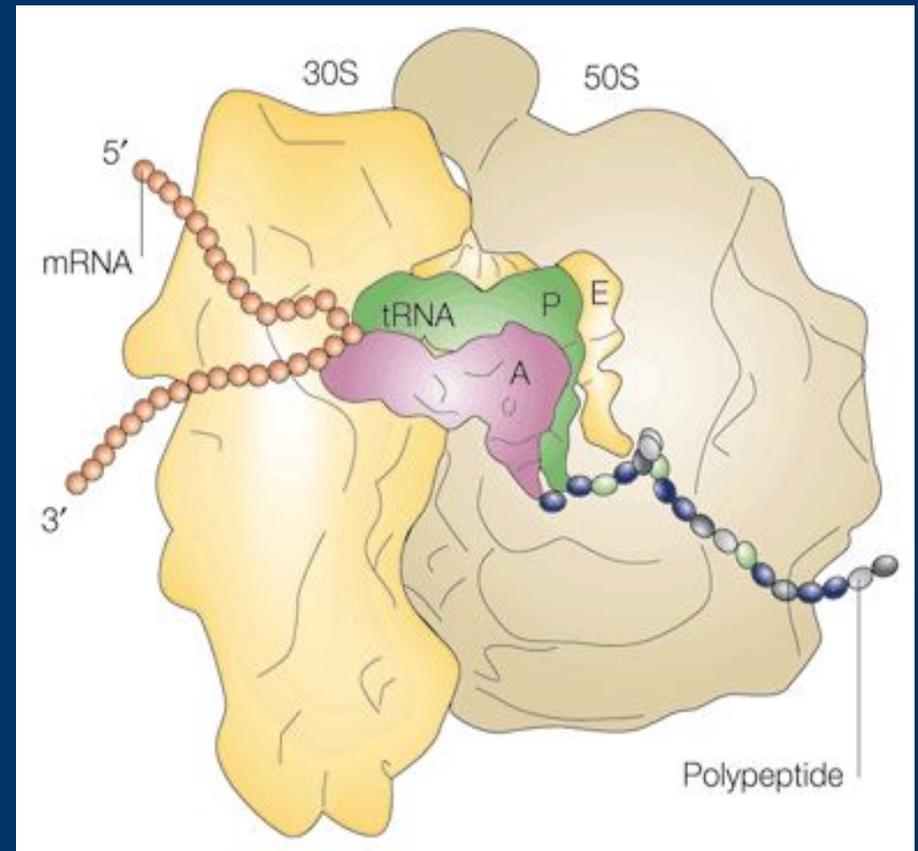
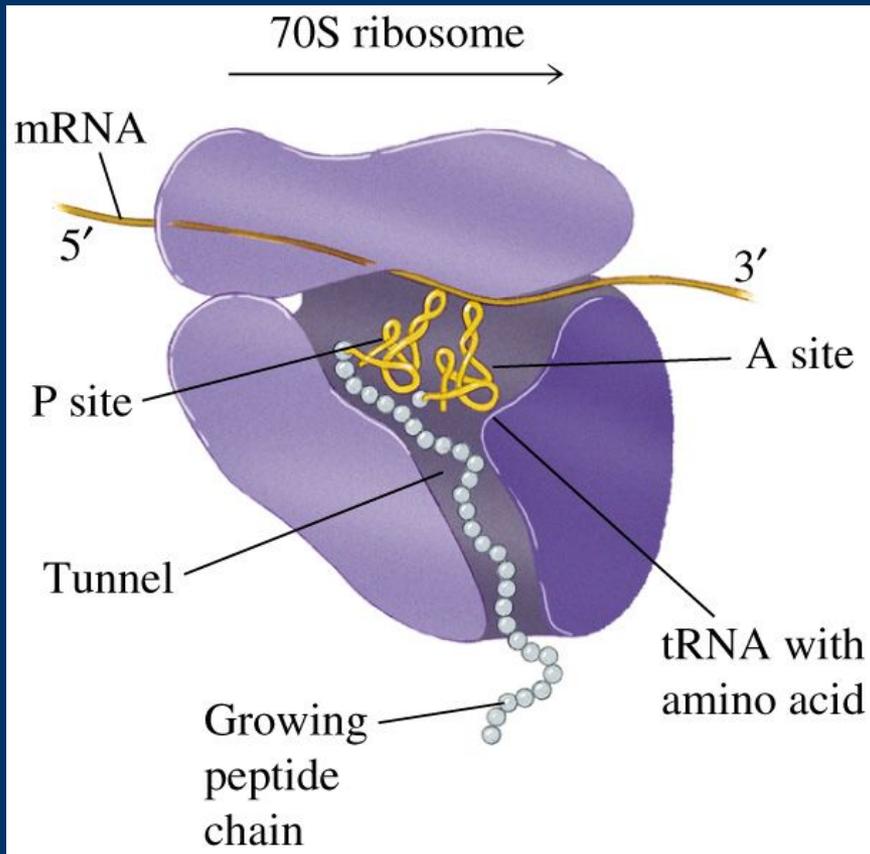
Взаимодействие **16S** рРНК с последовательностью Шайно-Дальгарно в прокариотической мРНК.

Инициация трансляции

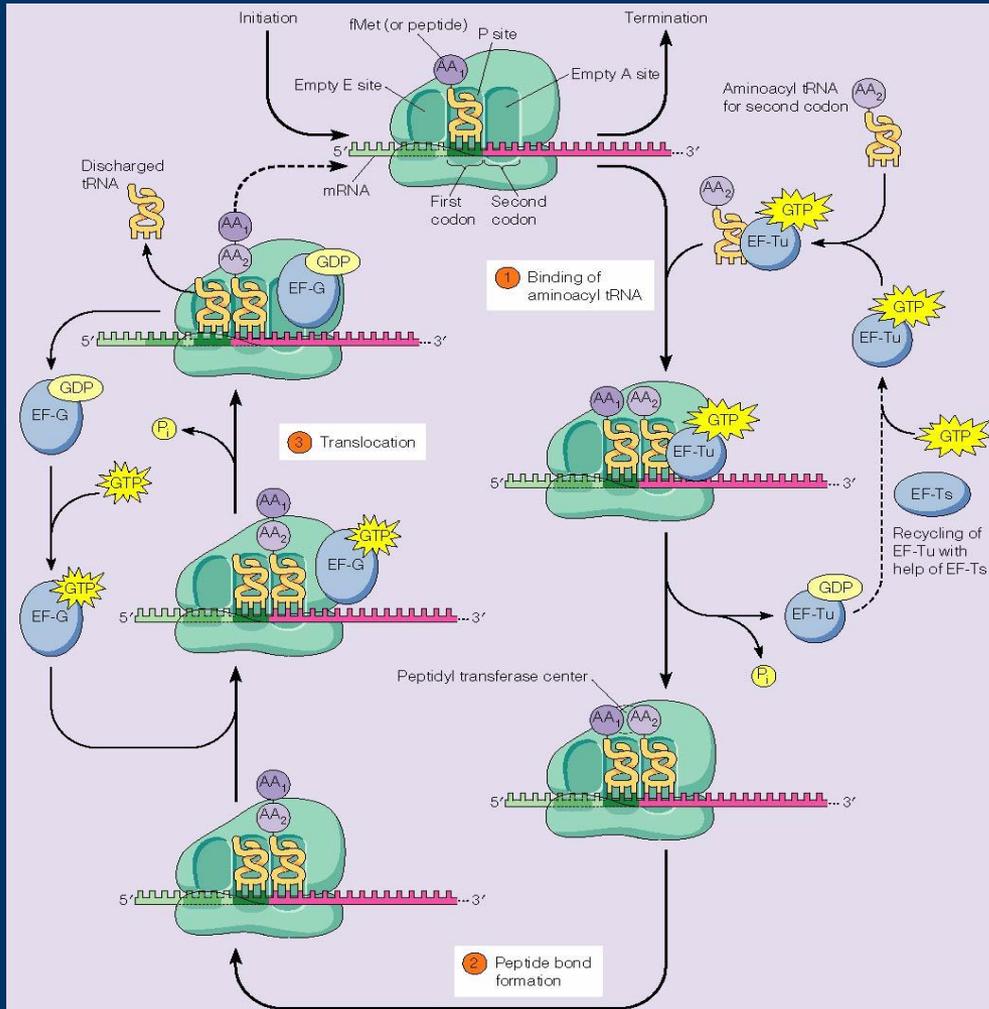


- 1. IF1, IF2-GTP, IF3** СВЯЗЫВАЮТ **с 30S** субчастицей.
- Связывание инициаторной тРНК и мРНК с **30S** субчастицей. **30S** субчастица взаимодействует с мРНК, узнавая последовательность Шайно-Дальгарно и иницирующий кодон. Происходит отделение **IF1** и **IF3**. Образуется **30S** иницирующий комплекс.
- Присоединение **50S** к **30S**-иницирующему комплексу. Высвобождение **IF2-GDP** и **Pi**. Образование **70S** иницирующего комплекса с **fMet**-тРНК в Р-сайте.

70 S рибосома



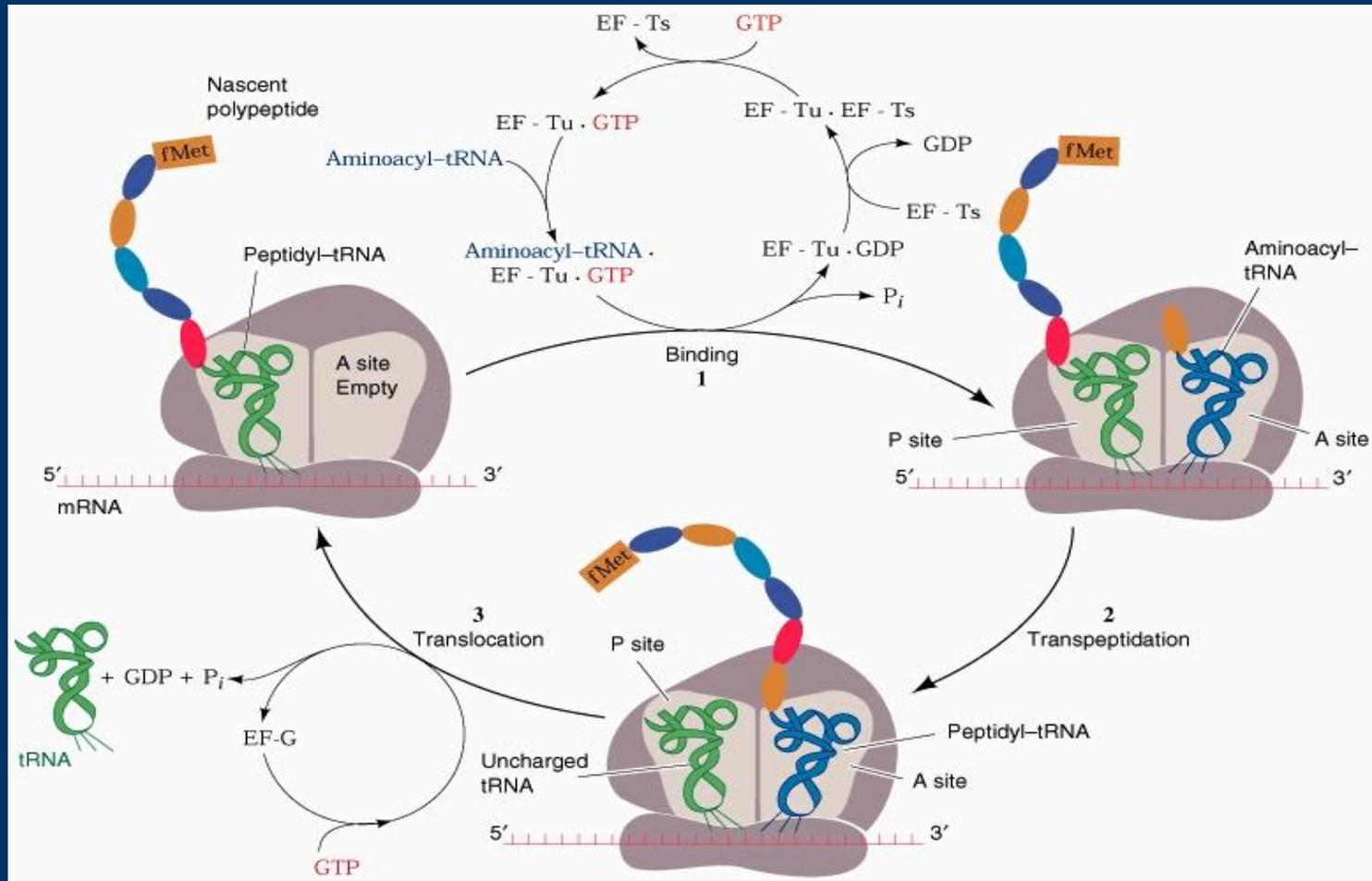
Элонгация трансляции у прокариот



1. Аминоацил-тРНК позиционируется в А-сайте.
2. Пептидилтрансферазная реакция – образование пептидной связи. Образованная пептидил-тРНК находится в А-сайте.
3. Транслокация – пептидил-тРНК перемещается в Р-сайт, деацилированная тРНК удаляется из Е-сайта, А-сайт свободен. Рибосома перемещается на один кодон по мРНК.

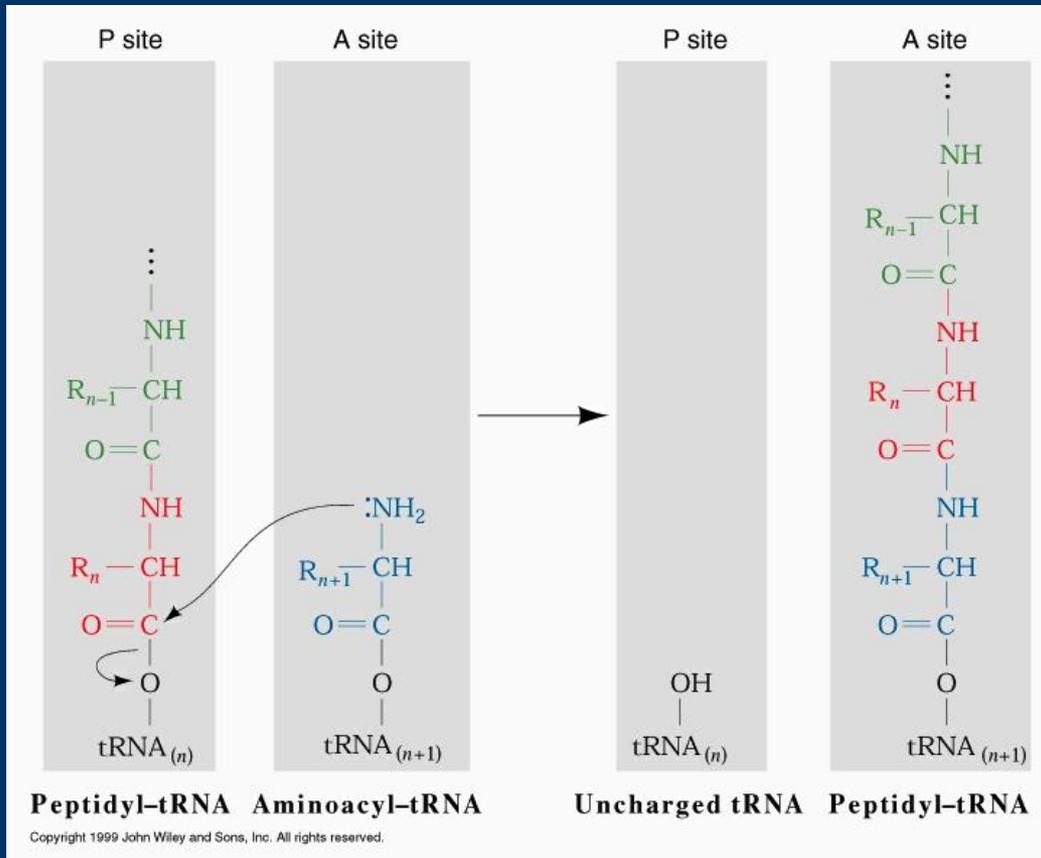
Этапы трансляции

Один цикл элонгация трансляции у прокариот



Трансляция (Биосинтез белка)

Пептидилтрансферазная реакция



1. Пептидилтрансферазный центр находится на большой субчастице рибосомы.
2. Реакция транспептидации осуществляется между пептидил-тРНК (Р-сайт) и аминоксил-тРНК (А-сайт).
3. Происходит перенос карбоксильной группы пептидильного остатка на аминогруппу аминоксил-тРНК в А-сайте. Образуется пептидная связь. Пептидильный остаток удлиняется на одну аминоксилоту. Пептидилтрансферазную активность проявляет **23S** рРНК.

Терминация трансляции у прокариот

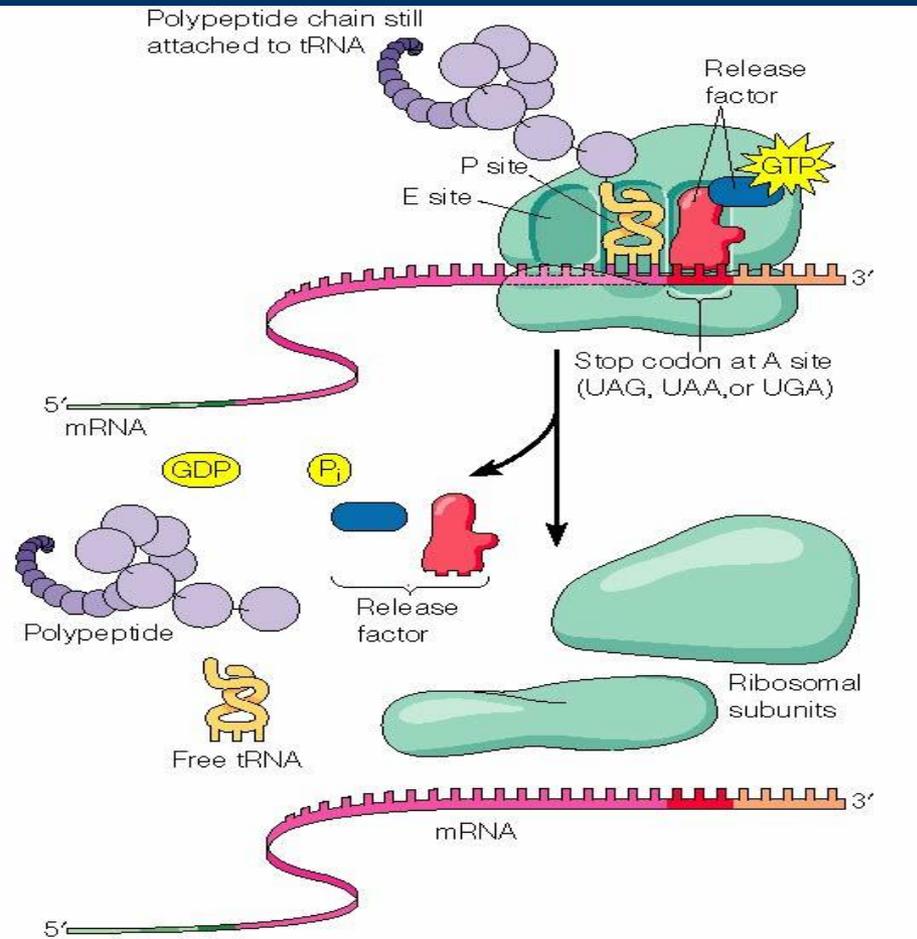
Терминация трансляции – это процесс завершения синтеза полипептидной цепи и освобождение ее из связи с последней тРНК и рибосомой.

Сигнал о завершении трансляции - один из трех бессмысленных кодонов: **UAA, UAG, UGA.**

В терминации трансляции участвуют три белковых фактора – **RF1, RF2, RF3.**

Стадии терминации: **1)** узнавание терминирующего кодона; **2)** гидролиз связи между С-концом пептидила и ССА-концом тРНК; **3)** освобождение рибосомы из комплекса с мРНК и тРНК; **4)** диссоциация **70S** рибосомы.

Терминация трансляции

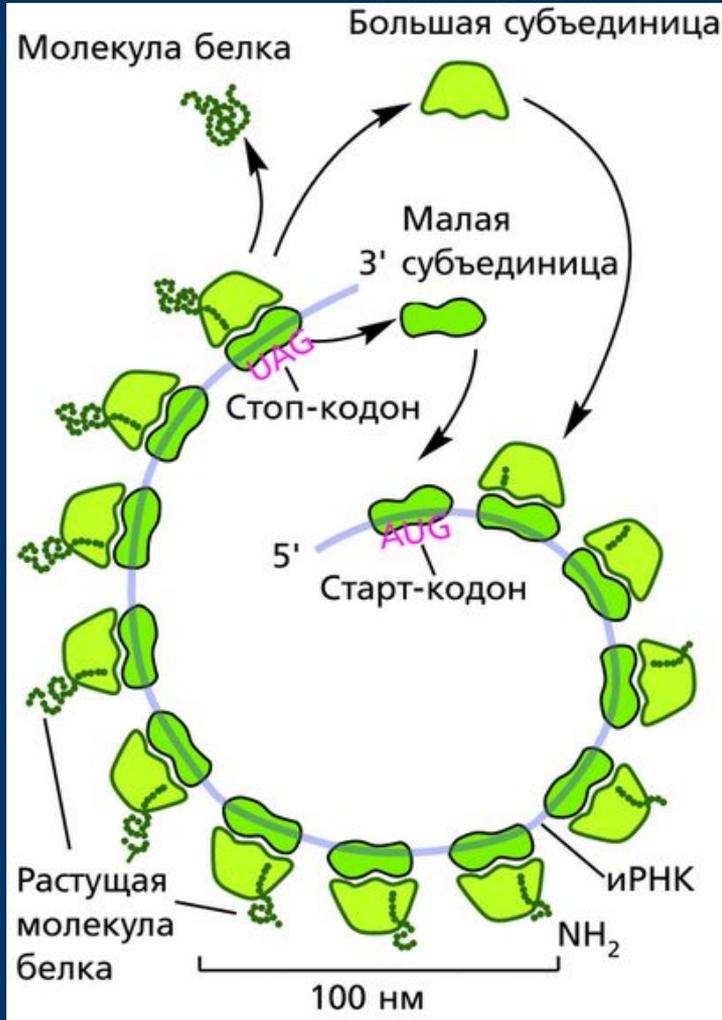


- В А-участок поступает один из **3-х** терминирующих кодонов – **UAG, UAA** или **UGA**.
- Из-за отсутствия тРНК, соответствующих этим кодоном, пептидил-тРНК остаётся связанной с Р-сайтом рибосомы.
- **RF1** узнает в А-участке кодон **UAA** или **UAG**.
- **RF2** включается в том случае, когда в А-участке оказывается **UAA** или **UGA**.
- **RF3** облегчает работу двух других факторов.

Терминация трансляции у прокариот

- С **UAA** терминация эффективнее, чем с другими стоп-кодонами.
 - Гидролиз сложноэфирной связи между С-концом пептидила и ССА-концом донорной тРНК. Эта реакция осуществляется ПТЦ рибосомы. Полипептидная цепь отделяется от рибосомы. мРНК и деацилированная тРНК еще остаются связанными с рибосомой.
 - При участии фактора **RF3** и молекулы **GTP** происходит Удаление мРНК, тРНК и диссоциация рибосомы на **30S** и **50S** субчастицы.
- На терминацию затрачивается молекула.
- Если терминирующим кодоном является **UAA**, то эффективность процесса терминации оказывается наибольшей, поскольку этот кодон узнают оба фактора – **RF1** и **RF2**.

Полирибосомы



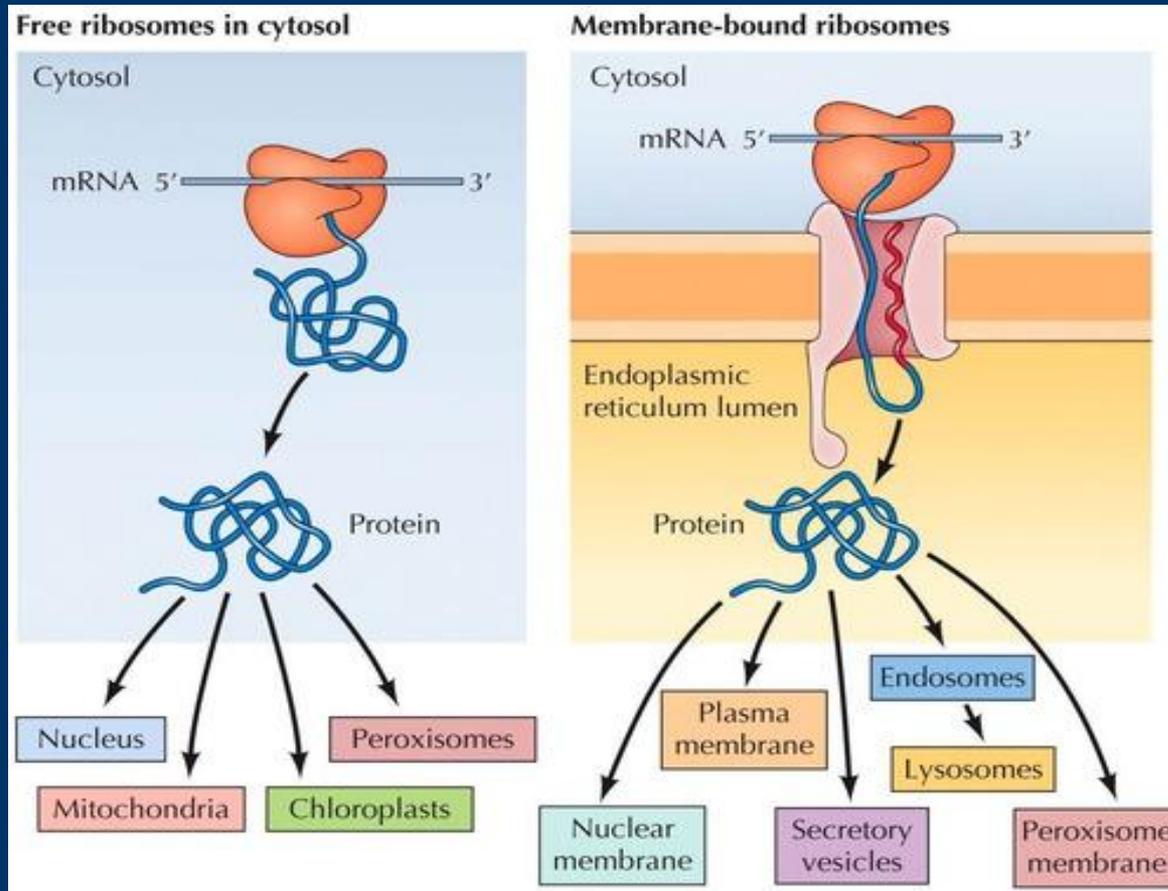
Продолжительность жизни матричных РНК невелика, перед клеткой стоит задача использовать их максимально эффективно, т.е. получить максимальное количество «белковых копий».

Для достижения этой цели на каждой мРНК может располагаться не одна, а несколько рибосом, встающих последовательно друг за другом и синтезирующих пептидные цепи. Такие образования называются

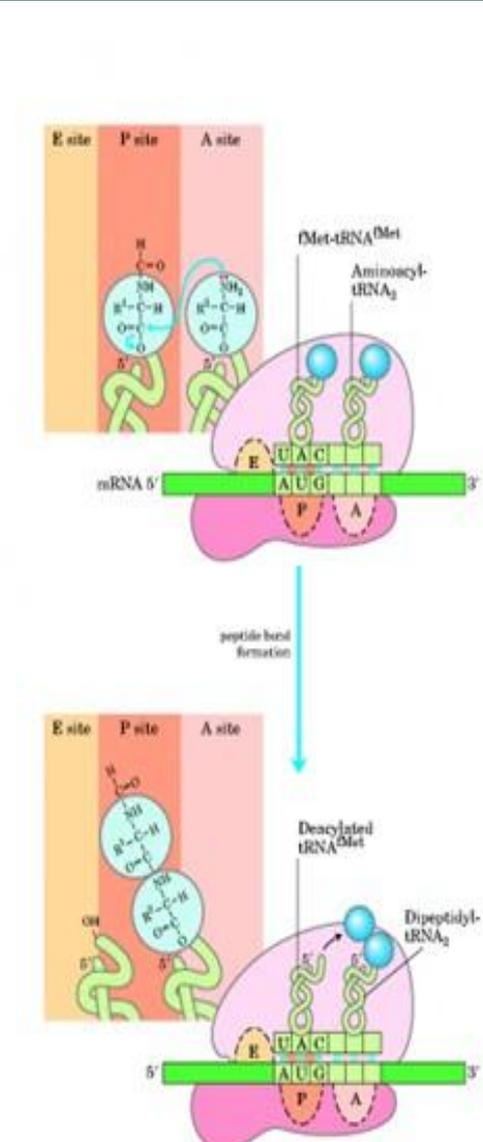
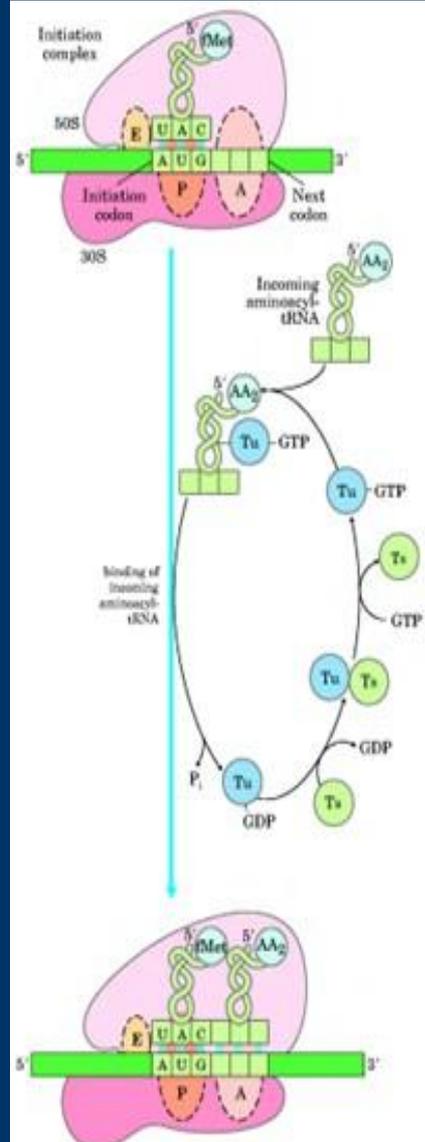
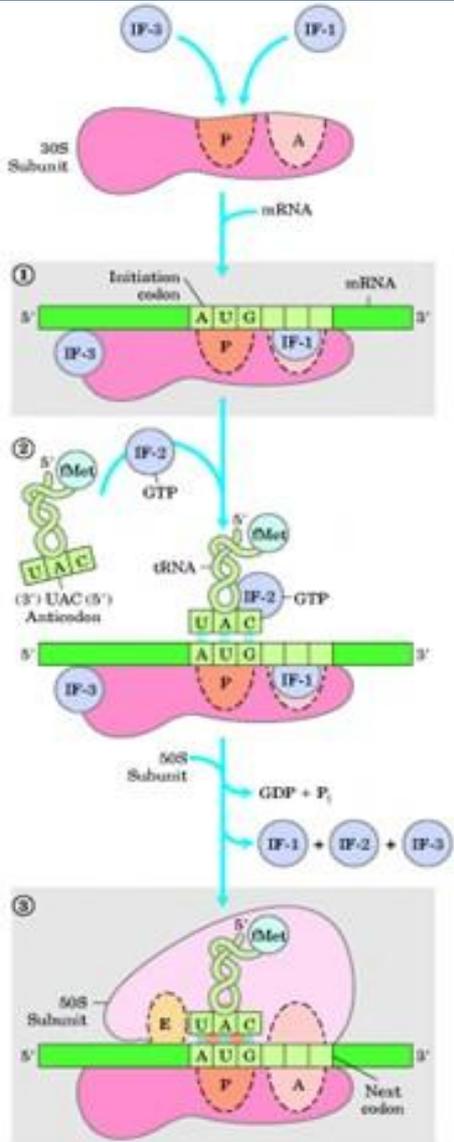
полирибосомы.

Каждая рибосома занимает участок, равный примерно **80** нуклеотидам мРНК. Таким образом, рибосомы располагаются на мРНК с интервалами около **100** нуклеотидов.

Синтез белка свободными и мембраносвязанными рибосомами



Этапы трансляции



Трансляция (Биосинтез белка)