

БИОТЕХНОЛОГИЯ

**Курс лекций для студентов IV курса факультета
биологии РГПУ им. А.И. Герцена**

Направление 050100 Педагогическое образование

Профиль 01 Биологическое образование

**Профессор кафедры Зоологии
проф. Цымбаленко Надежда Васильевна**

д.б.н.,

С И Н Т Е З Б Е Л К А В К Л Е Т К Е

- Синтез белка в клетке состоит из трех этапов:
- *рекогниция*,
- *трансляция* - собственно синтеза полипептида на рибосоме,
- *посттрансляционная модификация (процессинг и фолдинг)*.

Ключевым субстратом рекогниции является *транспортная РНК*.

Структура транспортной РНК

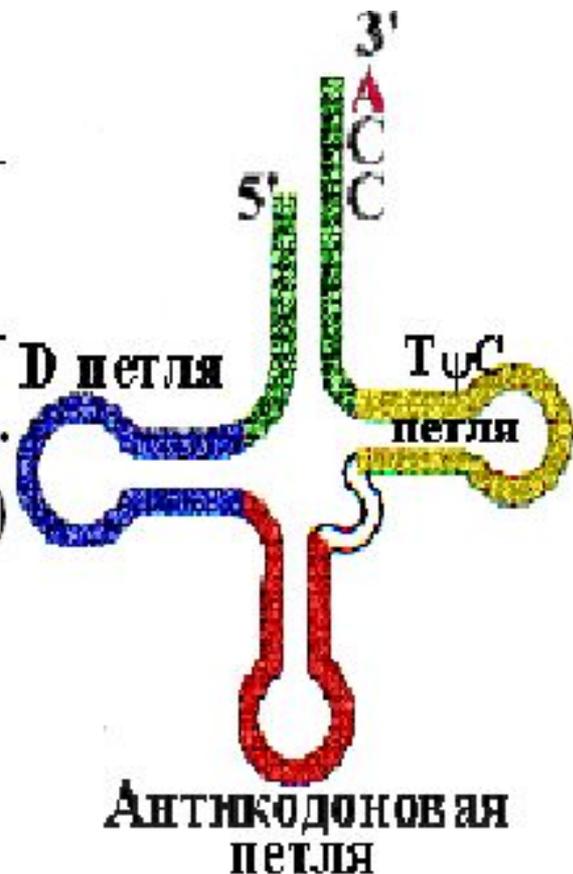
- **Транспортные РНК (тРНК)** - короткие молекулы (70-90 нукл.), имеющие и вторичную, и третичную структуру.

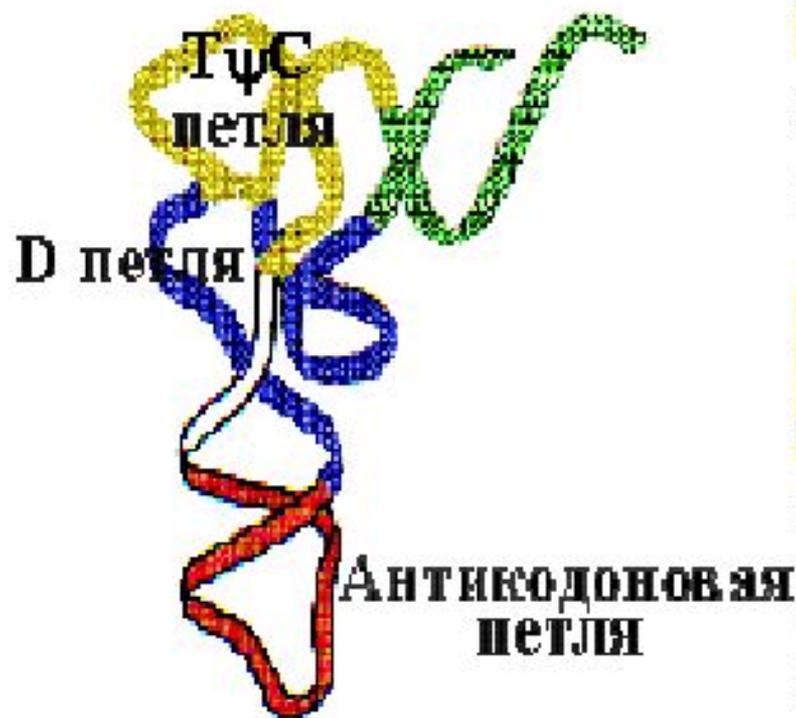
Вторичная структура

"клеверный лист".

Последовательность ССА на 3'-конце одинакова для всех тРНК.

К концевому аденозину (А) присоединяется аминокислота.





Третичная структура в проекции на плоскость имеет форму бумеранга.

Разнообразие первичных структур тРНК - 61+1 - по количеству кодонов

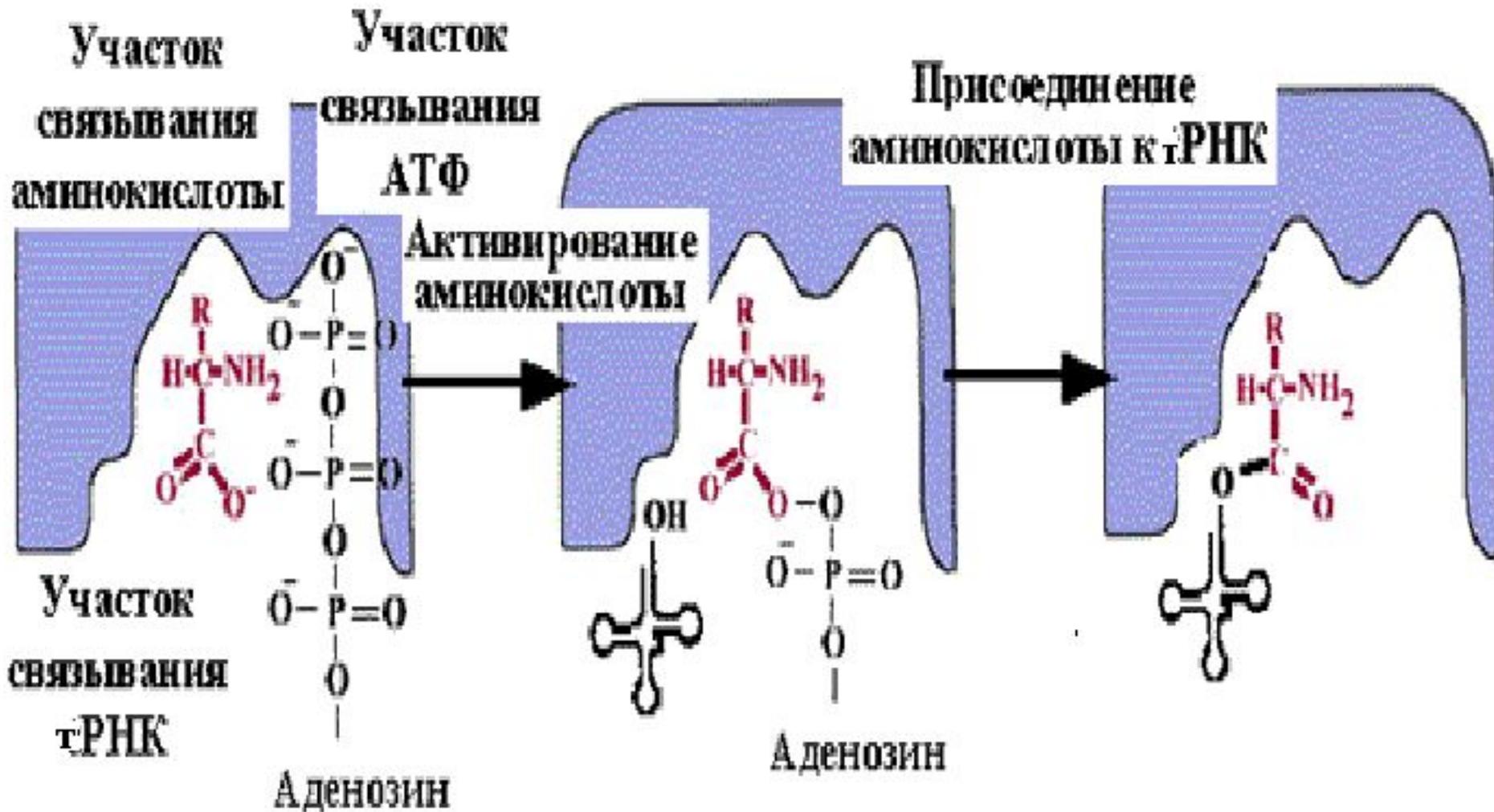
(соответственно числу антикодонов в тРНК) + формилметиониновая тРНК, у которой антикодон такой же, как у метиониновой тРНК.

Разнообразие третичных структур - 20 (по количеству аминокислот).

Рекогниция

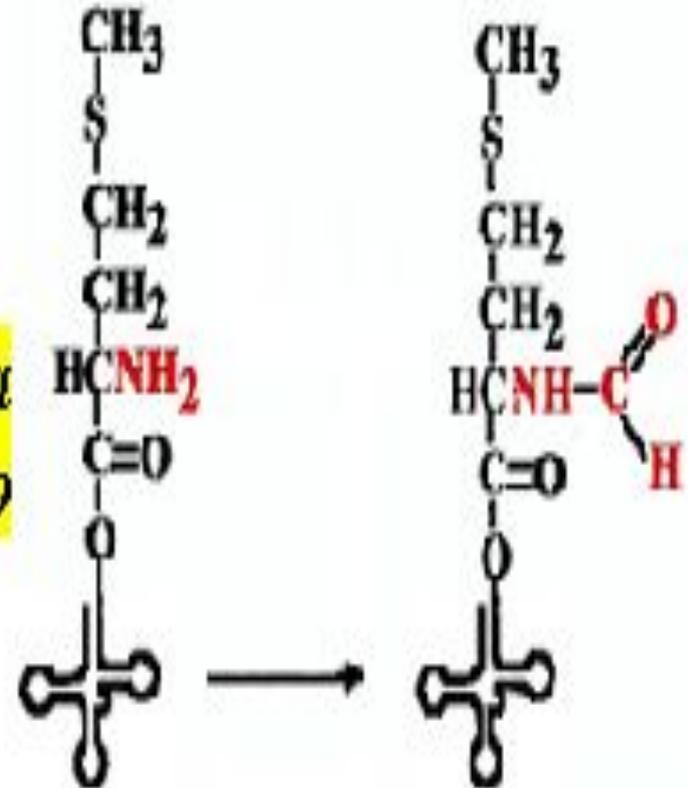
- **Рекогниция** - это подготовительный этап трансляции, суть которого в образовании ковалентной связи между тРНК и соответствующей аминокислотой.
- **1. Активирование аминокислоты.**
- **2. Присоединение аминокислоты к тРНК - аминоацилирование.**
- Обе стадии рекогниции осуществляются ферментом аминоацил-тРНК-синтетазой (АРС-азой, кодазой).
- Существует 20 вариантов кодаз (по числу аминокислот). У каждой кодазы 3 центра опознавания. Каждая АРС-аза узнает третичную структуру тРНК.

- **Аминоацилирование** - это образование связи между аминокислотой и тРНК.



tРНК, имеющие разную первичную, но одинаковую третичную структуру, акцептируют одну и ту же аминокислоту и называются **изоакцепторными**

Именно с формилметионина начинается синтез любого полипептида у прокариот.



Структура рибосом

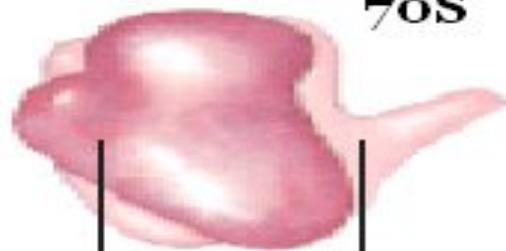
- **Рибосомы** - немембранные самые мелкие клеточные органеллы
- 1. *Прокариотические 70S.*
- 2. *Эукариотические 80S.*
- 3. *Рибосомы митохондрий (55S - у животных, 75S - у грибов).*
- 4. *Рибосомы хлоропластов (70S у высших растений).*
- **S - коэффициент седиментации или константа Сведберга.** Отражает скорость осаждения молекул или их компонентов при центрифугировании, зависящую от конформации и молекулярного веса.

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

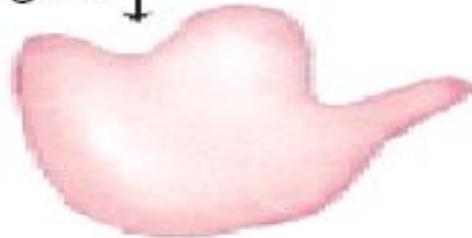
<i>Прокариотическая рибосома</i>		<i>Эукариотическая рибосома</i>	
70S		80S	
50S	30S	60S	40S
5S рРНК 23S рРНК	16S рРНК	5S рРНК 5.8S рРНК 28S рРНК	18S рРНК
34 молекулы белков, из них 31 разные	21 белок	не менее 50 разных белков	не менее 33 разных белков

бактериальная рибосома

70S



50S



5S рРНК
23S рРНК
26 белков

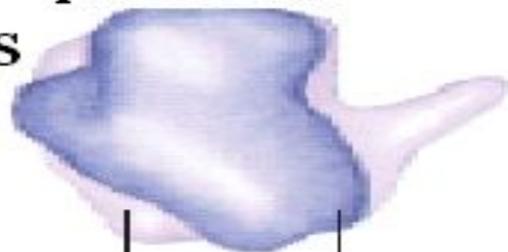
30S



16S рРНК
21 белок

эукариотическая рибосома

80S



60S



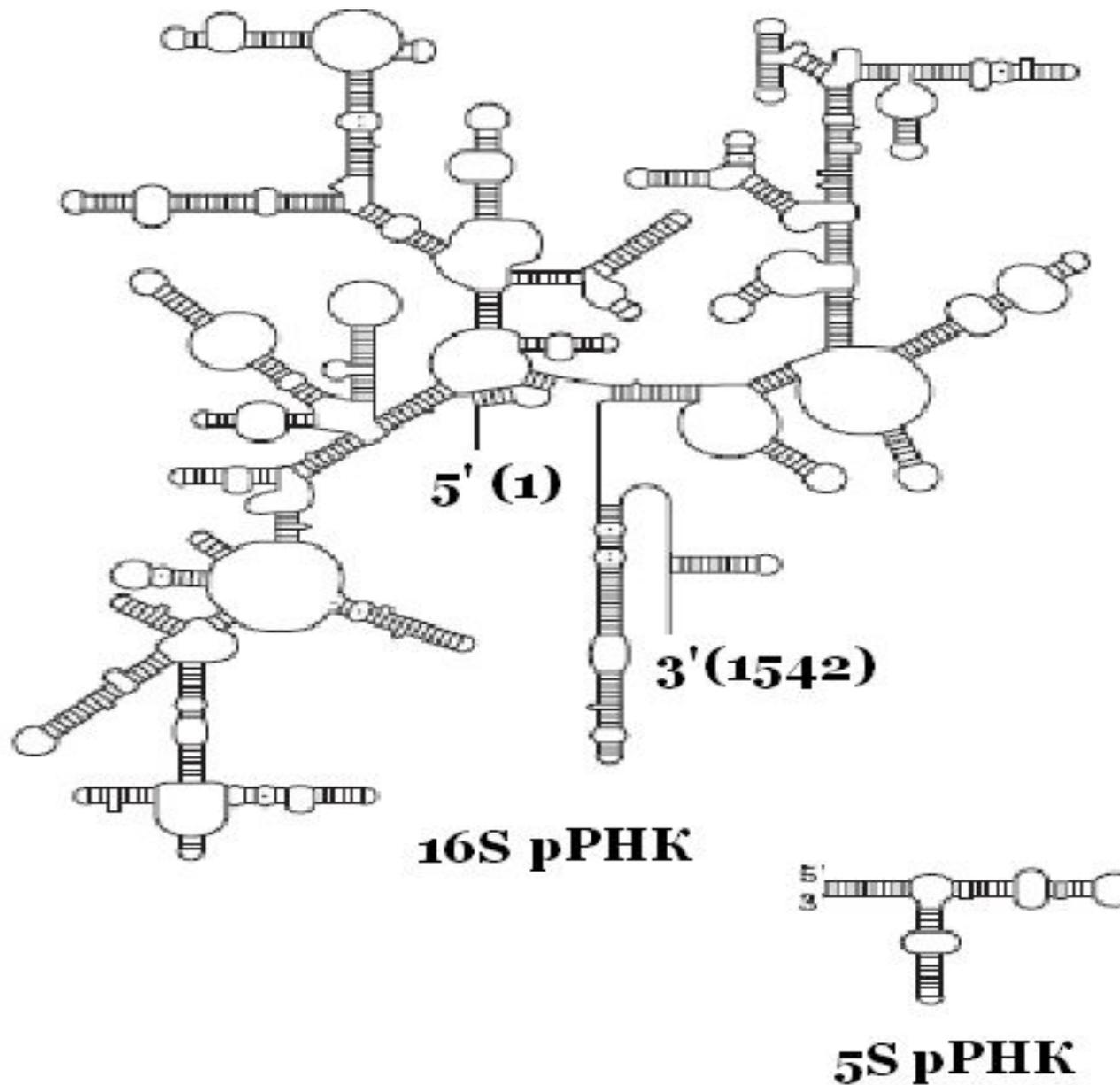
5S рРНК
28S рРНК
5,8S рРНК
49 белков

40S



18 рРНК
33 белка

Диаграмма вторичной структуры бактериальных рибосомальных (16S и 5S) рРНК



Синтез полипептидов на рибосоме

У прокариот перед каждым геном и соответственно в мРНК перед копией каждого гена имеется **лидерная последовательность (сайт связывания с рибосомой)**.

Назначение

комплементарного

взаимодействия

концевого участка 16S

рРНК и полипуриновой

последовательности

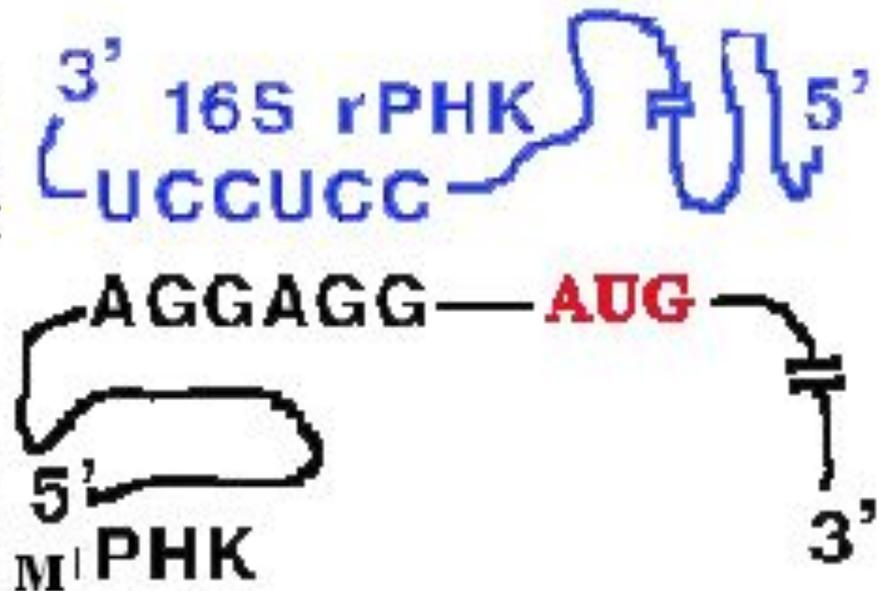
Шайна-Дальгарно

правильная установка

иницирующего кодона

AUG на малой

субъединице рибосомы.

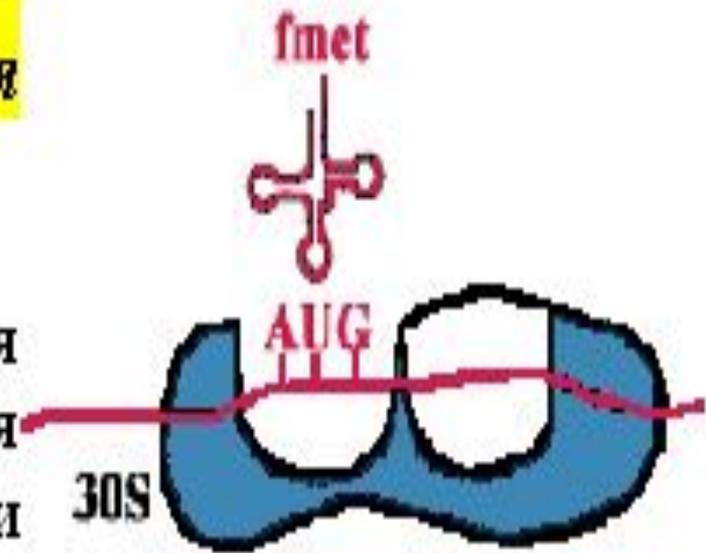


Иницирующий кодон находится на расстоянии 3-10 нукл. от последовательности Шайна-Дальгарно.

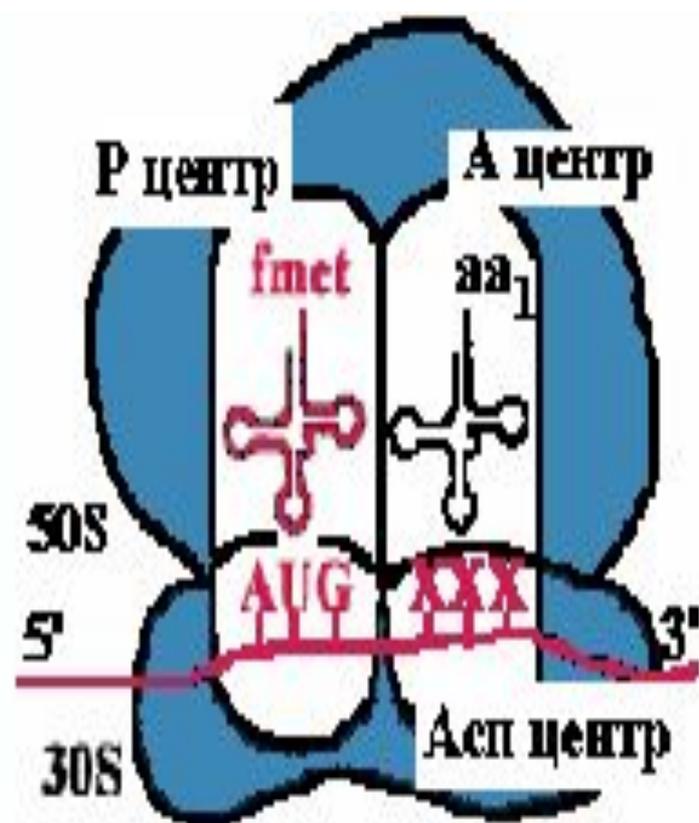
Инициаторный комплекс:

30S субъединица рибосомы + мРНК + формилметионовая тРНК-формилметионин.

Затем происходит ассоциация рибосомы. При этом изменяется конформация 16S рРНК и нарушается связь между ней и последовательностью Шайна-Дальгарно.

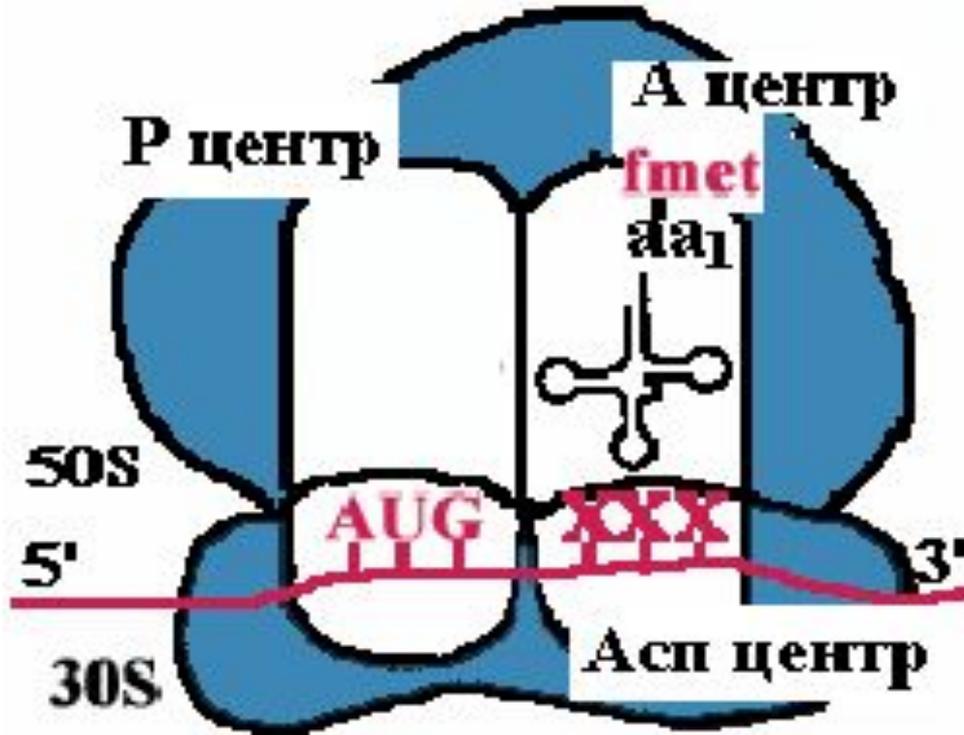


1

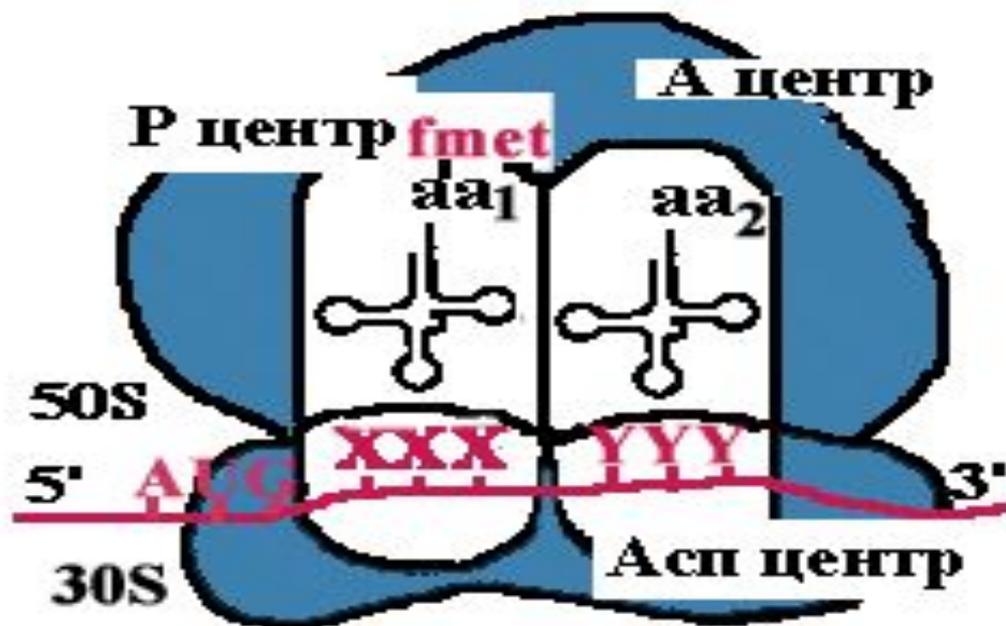


Аминоацильный конец
формилметиониновой тРНК
оказывается в Р-центре. Второй
кодон гена оказывается в Асп-
центре. Соответствующая ему
аминоацил-тРНК устанавливается
таким образом, что ее
аминоацильный конец попадает в
А-центр.

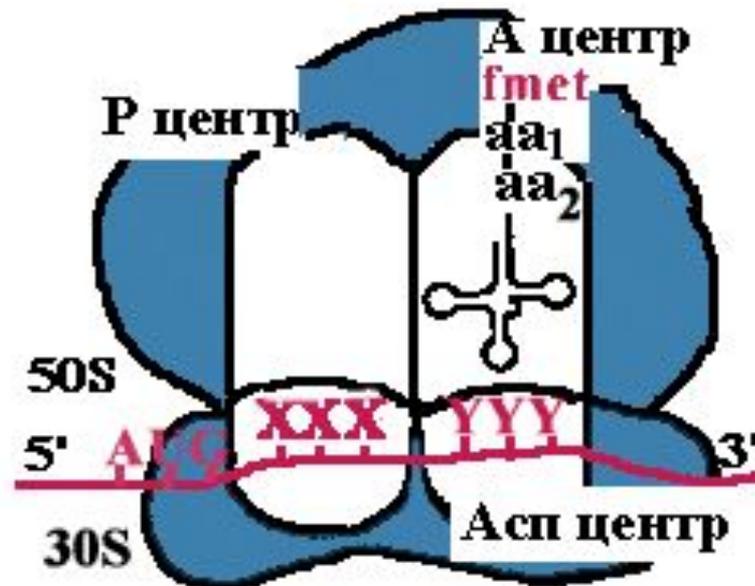
2. Пептидилтрансфераза отрывает формилметионин в Р-центре и переносит его в А-центр. Образуется пептидная связь между формилметионином и аминоксил-тРНК.



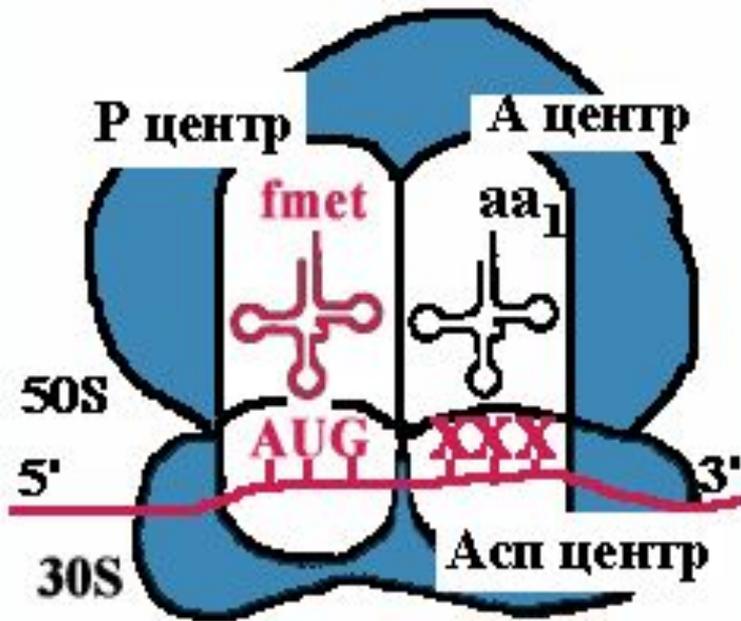
3. Рибосома претерпевает конформационные изменения и сдвигается на один кодон. Формилметиониновая тРНК покидает рибосому. Второй кодон оказывается напротив Р-центра. Сюда же переходит тРНК, несущая на хвосте дипептид. В Асп-центр попадает третий кодон, а в А-центр очередная аминоксил-тРНК.



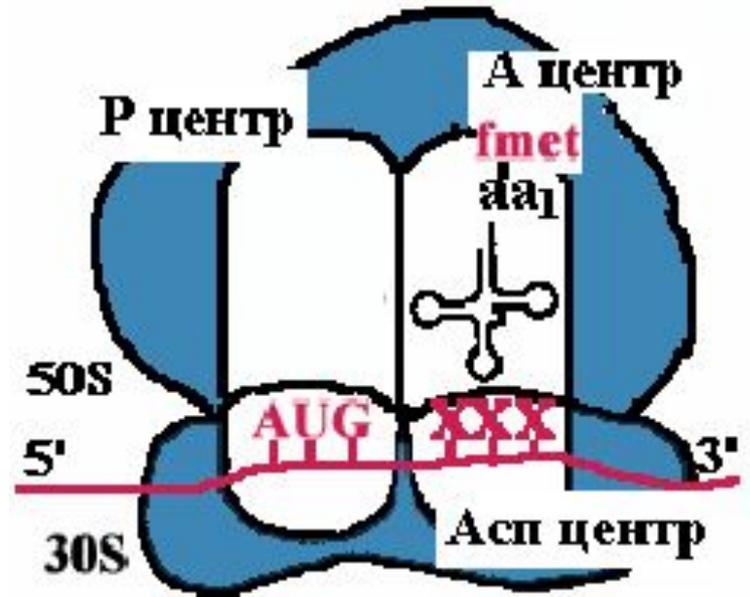
4. Теперь в Р-центре отрывается дипептид, переносится в А-центр и соединяется с третьей аминоксил-тРНК. Так продолжается до тех пор, пока в Асп-центр не приходит терминирующий кодон. Полипептид отрывается в Р-центре, переносится в А-центр и, т.к. присоединиться ему не к чему, он отваливается от рибосомы. Рибосома диссоциирует и малая субъединица сканирует мРНК.



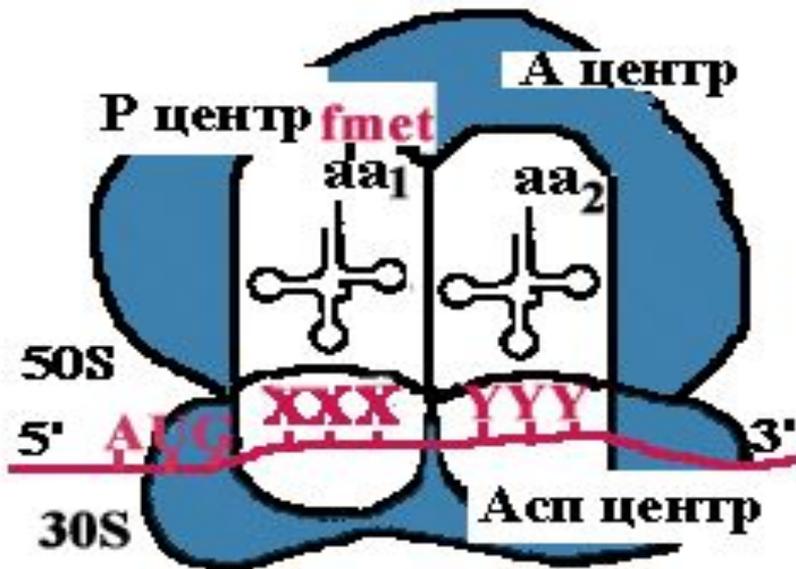
1



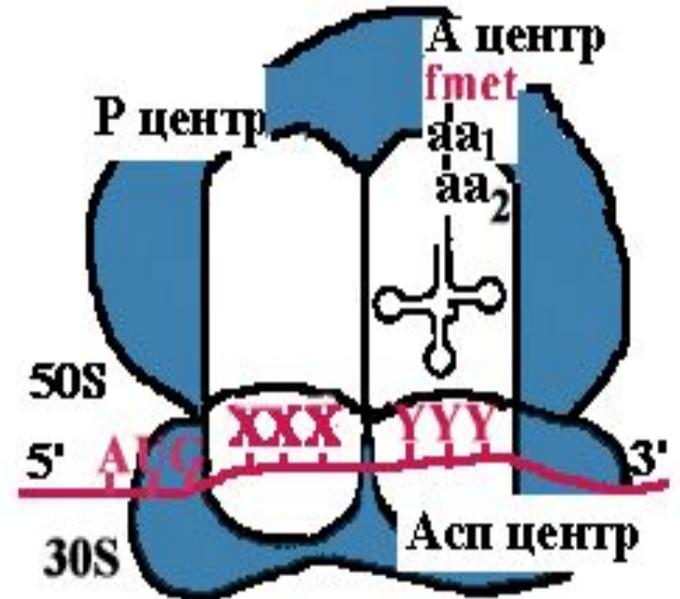
2



3



4

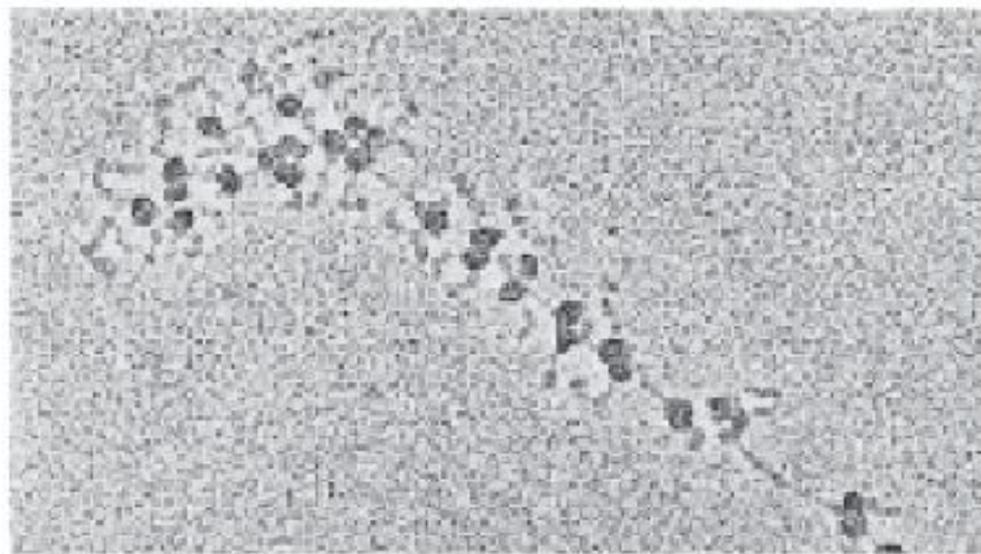
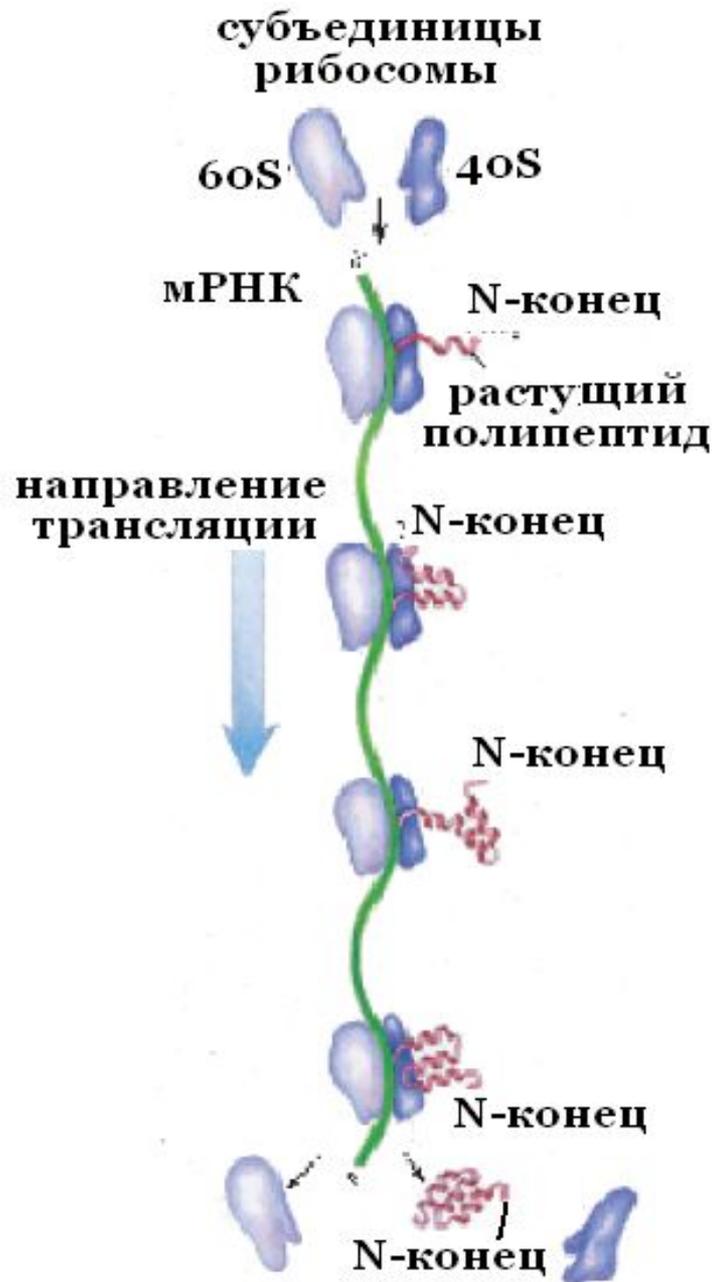


- ***In vivo* на каждой стадии (образования инициаторного комплекса, инициации, элонгации и терминации) участвуют различные белковые факторы, которые препятствуют посадке на рибосому деацилированных тРНК или запрещают посадку формилметиониновой-тРНК в А-центр.**
- **На всех этапах принимают участие молекулы ГТФ, которые дефосфорилируются.**
- **Смысл гидролиза ГТФ не в отдаче энергии, а в свидетельстве того, что данный этап трансляции пройден.**

Компоненты, необходимые для пяти основных стадий синтеза белка у E.coli

Stage	Essential components
1. Activation of amino acids	20 amino acids 20 aminoacyl-tRNA synthetases 32 or more tRNAs ATP Mg ²⁺
2. Initiation	mRNA N-Formylmethionyl-tRNA ^{fmet} Initiation codon in mRNA (AUG) 30S ribosomal subunit 50S ribosomal subunit Initiation factors (IF-1, IF-2, IF-3) GTP Mg ²⁺
3. Elongation	Functional 70S ribosome (initiation complex) Aminoacyl-tRNAs specified by codons Elongation factors (EF-Tu, EF-Ts, EF-G) GTP Mg ²⁺
4. Termination and release	Termination codon in mRNA Release factors (RF-1, RF-2, RF-3)
5. Folding and posttranslational processing	Specific enzymes, cofactors, and other components for removal of initiating residues and signal sequences, additional proteolytic processing, modification of terminal residues, and attachment of phosphate, methyl, carboxyl, carbohydrate, or prosthetic groups

Полисомы



ПОСТТРАНСЛЯЦИОННАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ

(фолдинг и процессинг)

- 1. Частичный протеолиз.**
- 2. Модификация аминокислот (карбоксилирование, фосфорилирование, иодирование, гидроксипирование, ацилирование, гликозилирование).**
- 3. Фолдинг – формирование пространственной структуры с помощью шаперонов для правильной укладки полипептидной цепи).**
- 4. Образование дисульфидных связей.**
- 5. Присоединение простетических групп**
- 6. Образование олигомерных структур (четвертичная структура) с участием шаперонов.**

ИНГИБИТОРЫ СИНТЕЗА БЕЛКА

Пурамицин — связывается с А центром рибосомы за счет сходства структуры с 3-концом тРНК, прекращает трансляцию, отрывая строящийся полипептид.

Тетрациклин - блокирует А центр рибосомы, препятствует связыванию тРНК.

Хлорамфеникол – блокирует перенос пептидила (у бактерий, в митохондриях и хлоропластах).

Рицин (белок) – очень токсический белок деструктурирует эукариотические рибосомы путем депуринизации рРНК.

• Таблица матричных синтезов

	Репликация	Транскрипция	Трансляция
Субстрат			
Источник энергии			
Ферменты			
Кофакторы			
Направление синтеза новой цепи			
Локализация процесса			
Характеристика продукта			