

Биохимия и молекулярная биология

Лекция 9. Регуляция трансляции. Посттрансляционные модификации белков

Тема лекции

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

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

Стадия	Прокариоты	Эукариоты
Активация аминокислот	20 аминокислот 20 аминоацил-тРНК-синтетаз Минимум 20 тРНК АТР, Mg²⁺	20 аминокислот 20 аминоацил-тРНК-синтетаз Минимум 20 тРНК АТР, Mg²⁺

Трансляция у про- и эукариот: отличия

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

Стадия	Прокариоты	Эукариоты
Инициация	мРНК Инициаторная аминоксил- тРНК (N-формилметеоинил-тРНК) Старт-кодон в мРНК (AUG, GUG) 30S и 50S - субчастицы рибосомы Факторы инициации: IF-1, IF-2, IF-3, GTP, Mg²⁺	мРНК Инициаторная аминоксил-тРНК (метеоинил-тРНК) Старт-кодон в мРНК (AUG) 40S и 60S - субчастицы рибосомы Факторы инициации: 13 eIF-1, eIF-2, eIF-2A, eIF-3, eIF-4, eIF-4A, eIF-4B, eIF-4C, eIF-4D, кЭП- узнающий фактор, GTP, Mg²⁺

Трансляция у про- и эукариот: отличия

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

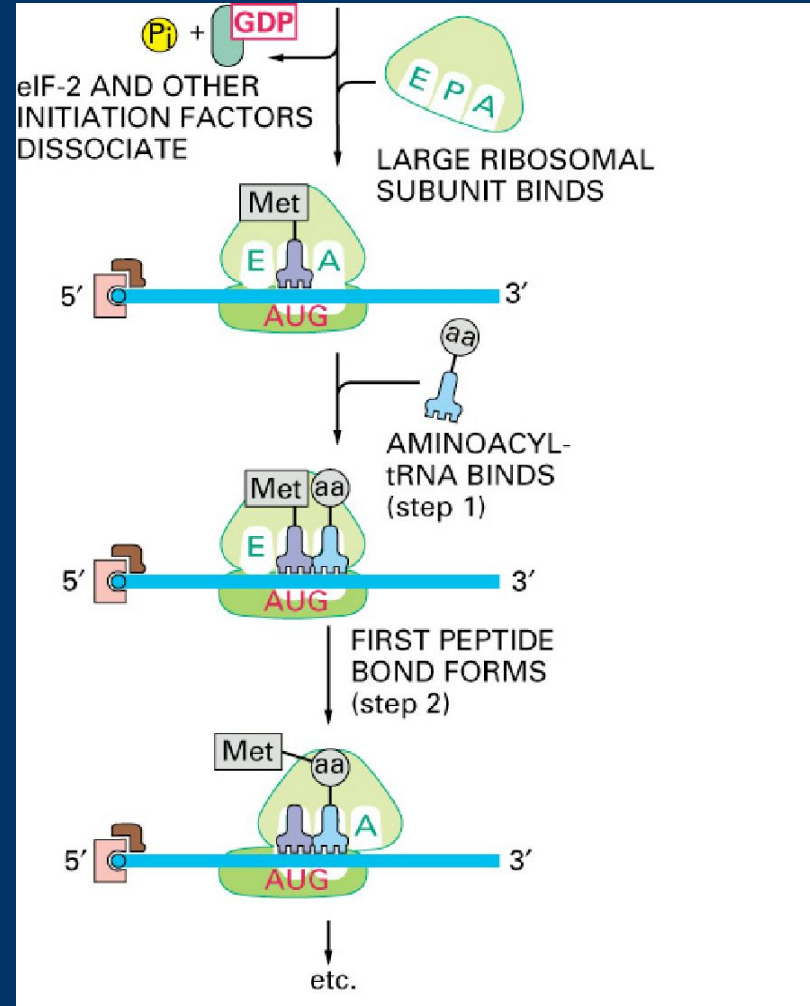
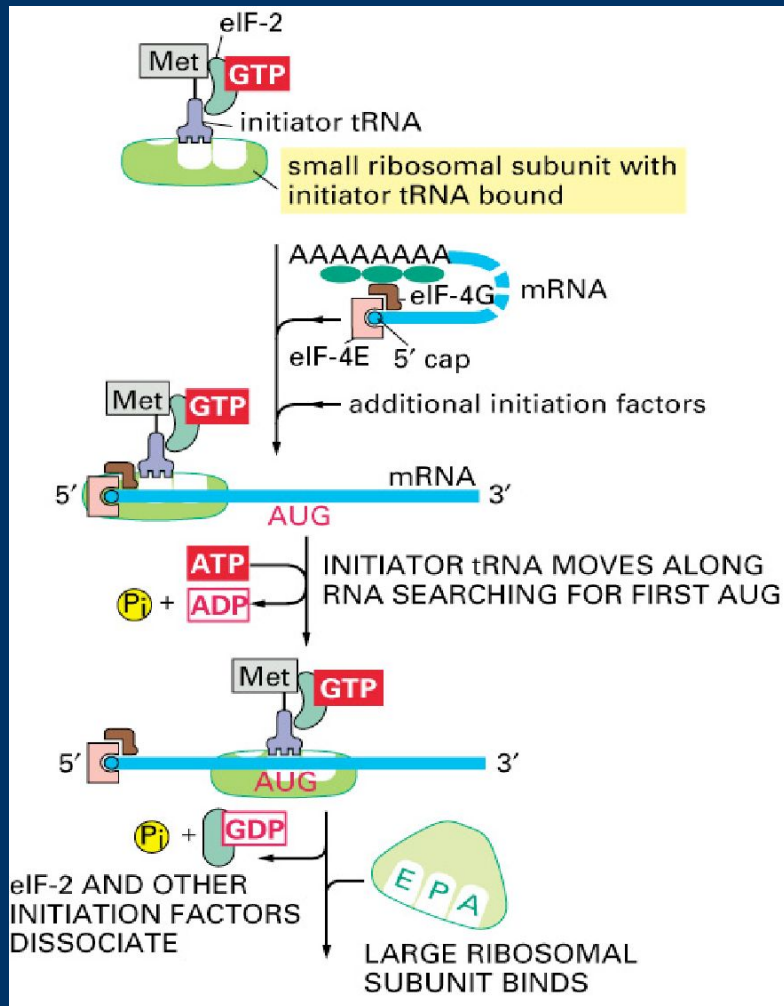
Стадия	Прокариоты	Эукариоты
Элонгация	Иницирующий комплекс (функциональная 70S-рибосома) 20 аминоксил-тРНК Факторы элонгации: EF-Tu (Tu), EF-Ts (Ts), EF-G (G), GTP, Mg²⁺ Пептидилтрансферазный центр (ПТЦ) – 23S-рРНК	Иницирующий комплекс (функциональная 80S-рибосома) 20 аминоксил-тРНК Факторы элонгации: eEF-1α, eEF-1$\beta\gamma$, eEF-2, GTP, Mg²⁺ Пептидилтрансферазный центр (ПТЦ) – 28S-рРНК

Трансляция у про- и эукариот: отличия

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

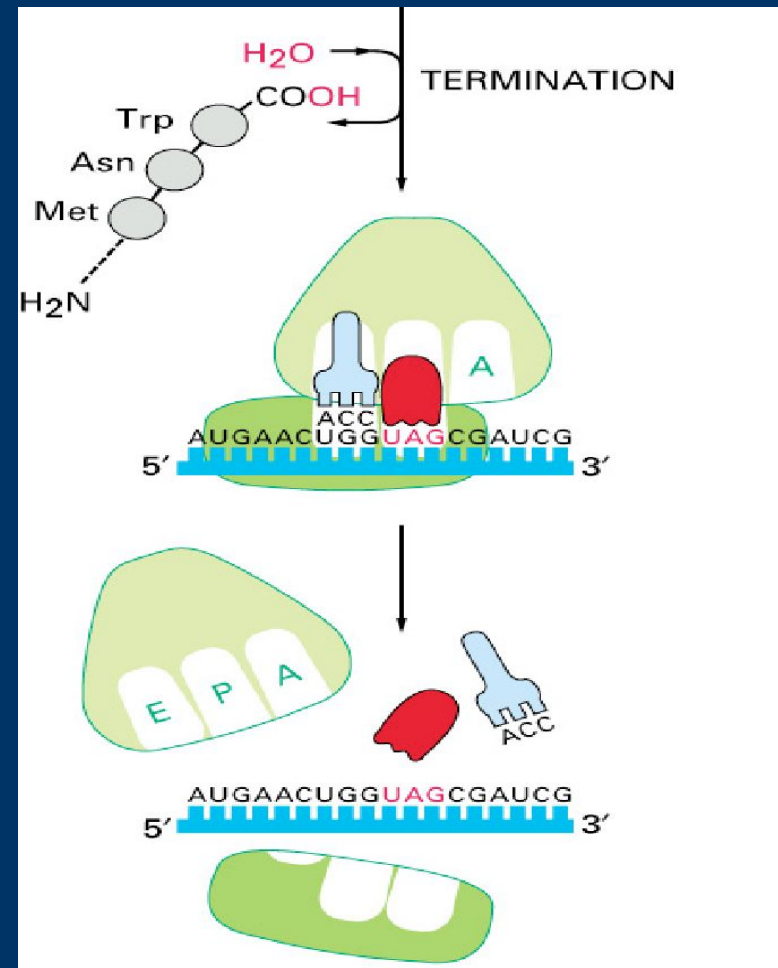
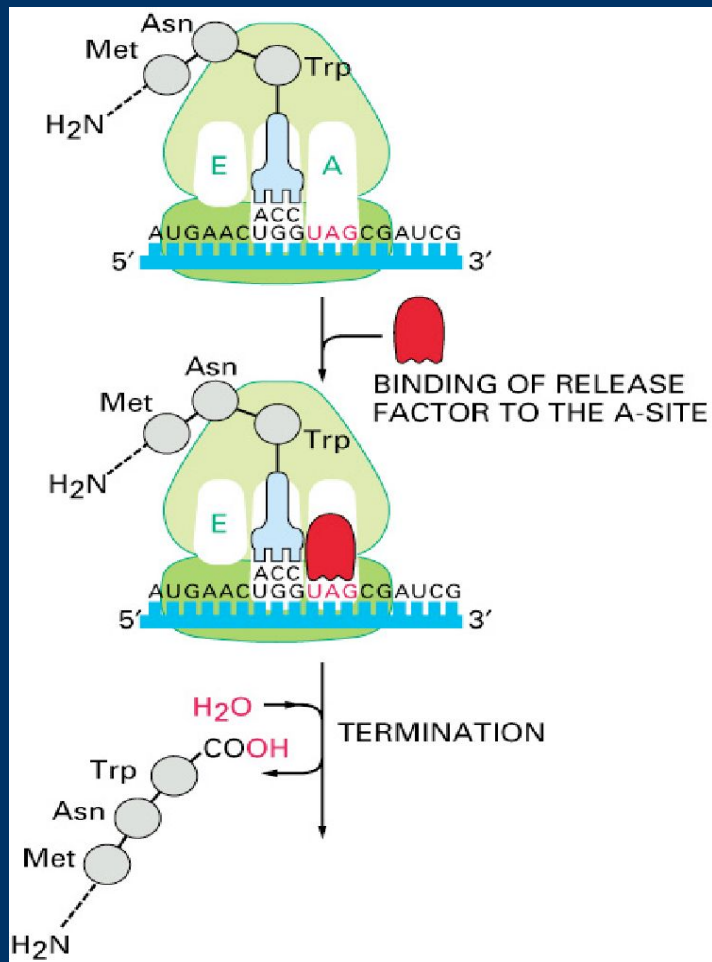
Стадия	Прокариоты	Эукариоты
Терминация	Стоп-кодоны: UAA, UAG, UGA Факторы терминации: RF1, RF2, RF3, GTP, Mg²⁺	Стоп-кодоны: UAA, UAG, UGA Факторы терминации: eRF, GTP, Mg²⁺

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).

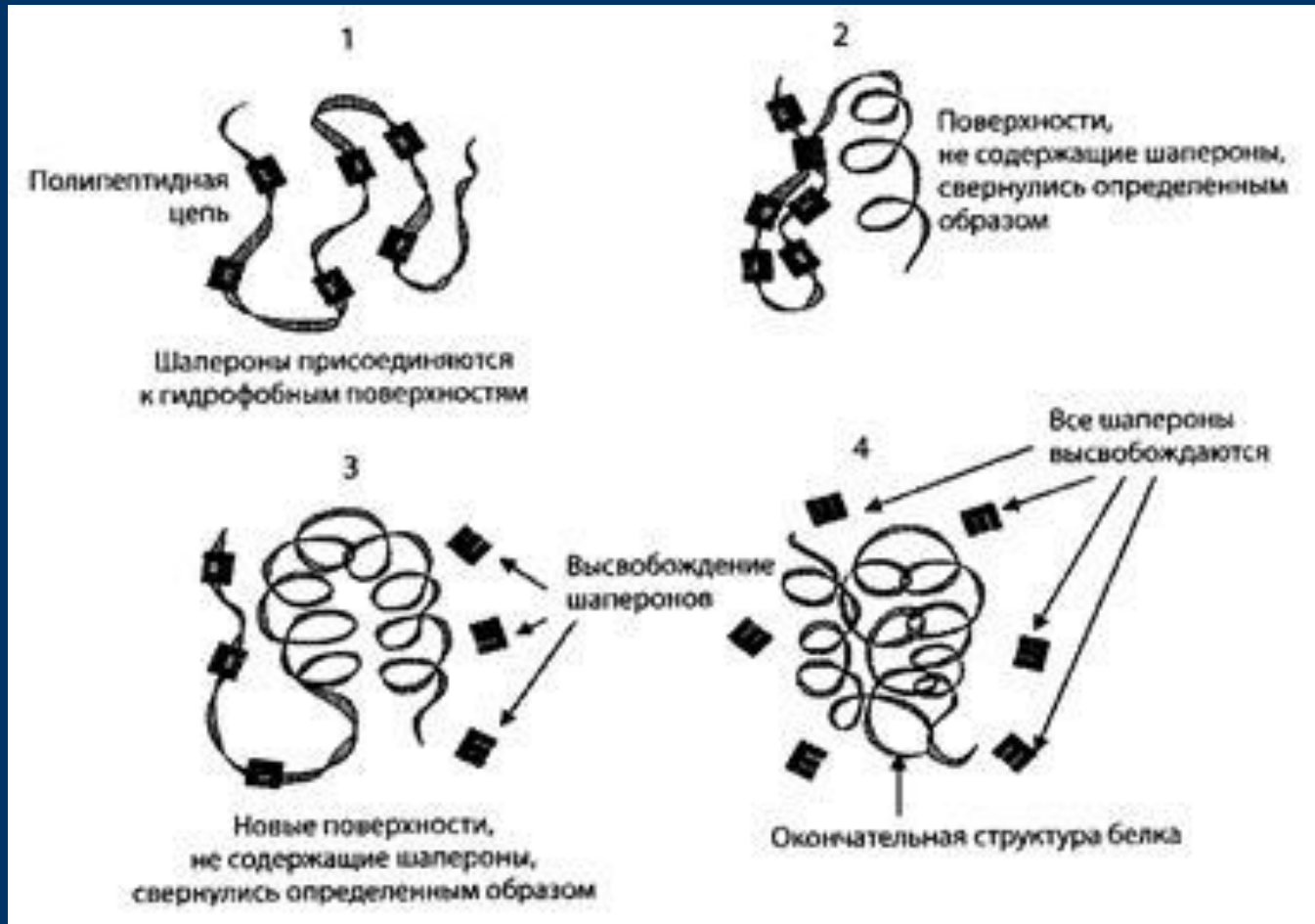
Шапероны

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

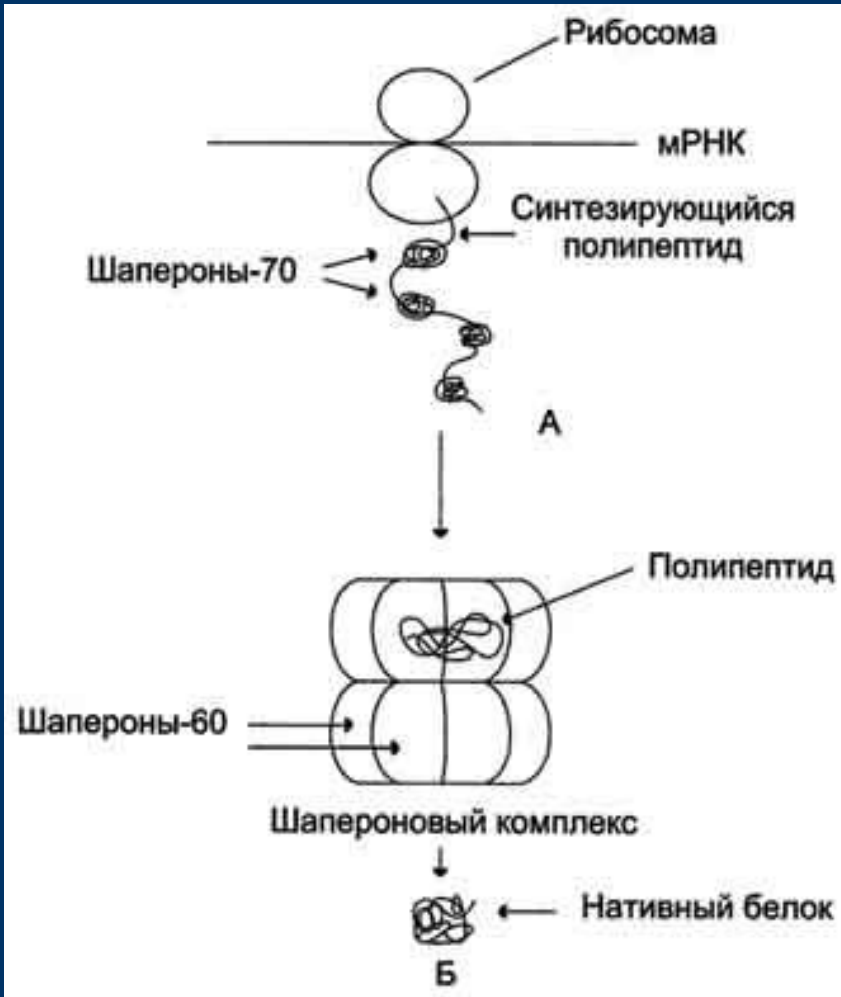
Шапероны могут быть как конститутивными, так и индуцибельными.

Индукцибельные 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

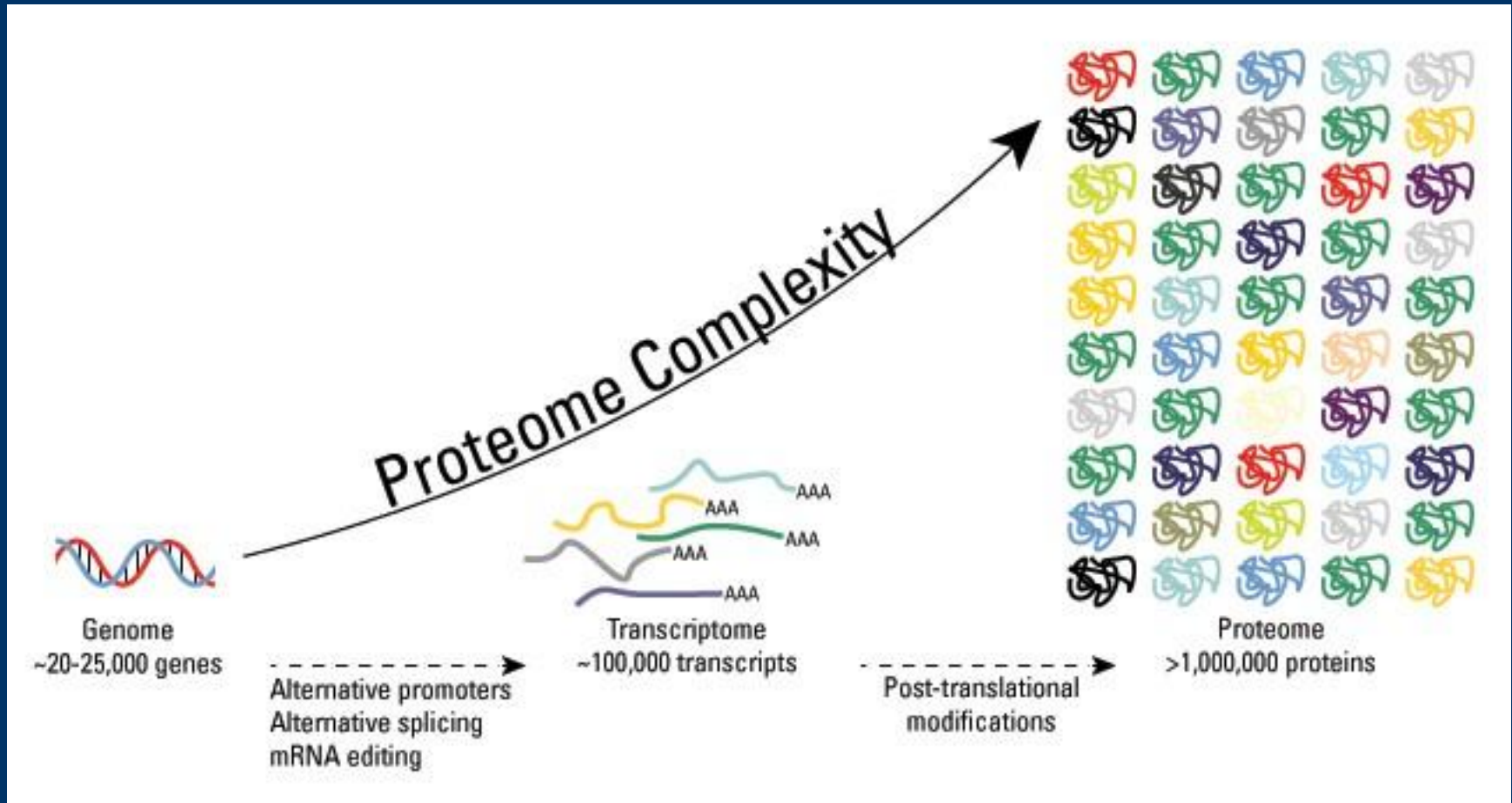


Роль шаперонов в фолдинге белков



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

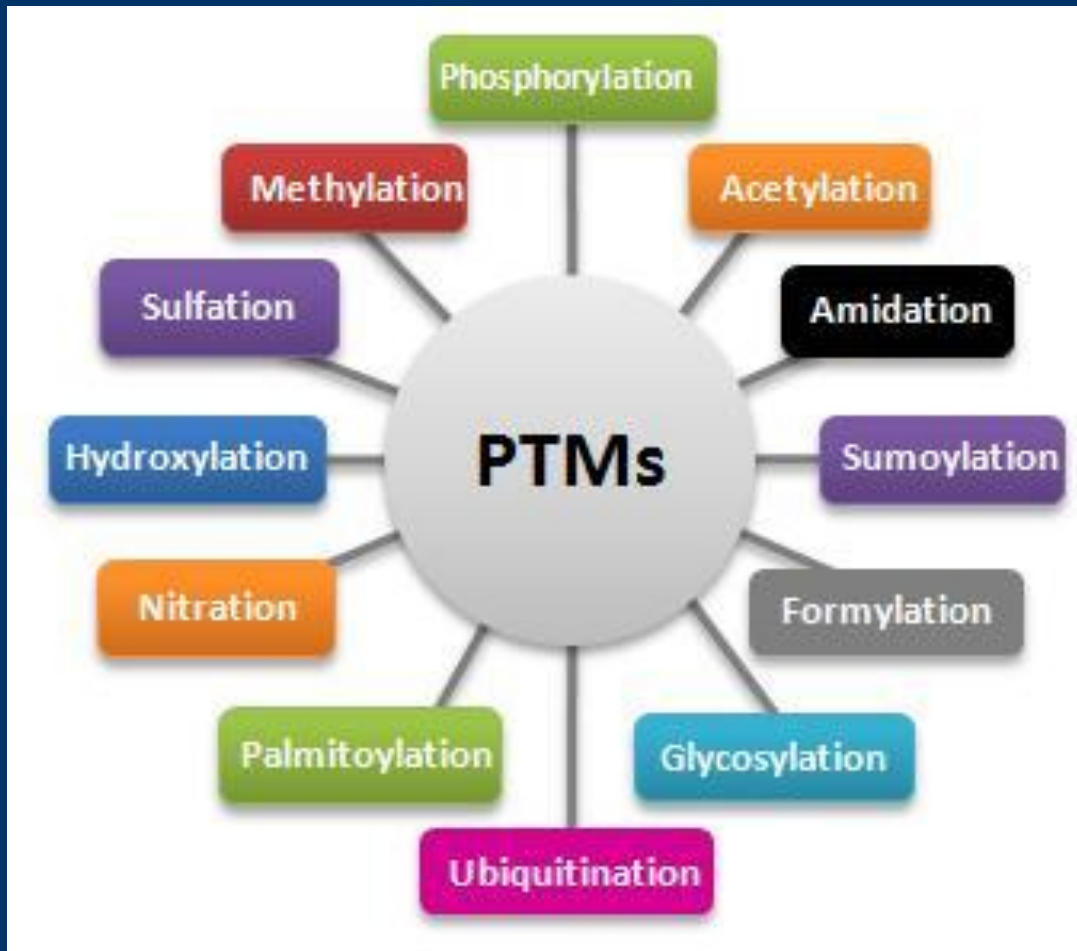
Локализации белков

Межклеточных взаимодействиях

Репарации ДНК

Транслокации белков через биологические мембраны

Виды посттрансляционных модификаций белков



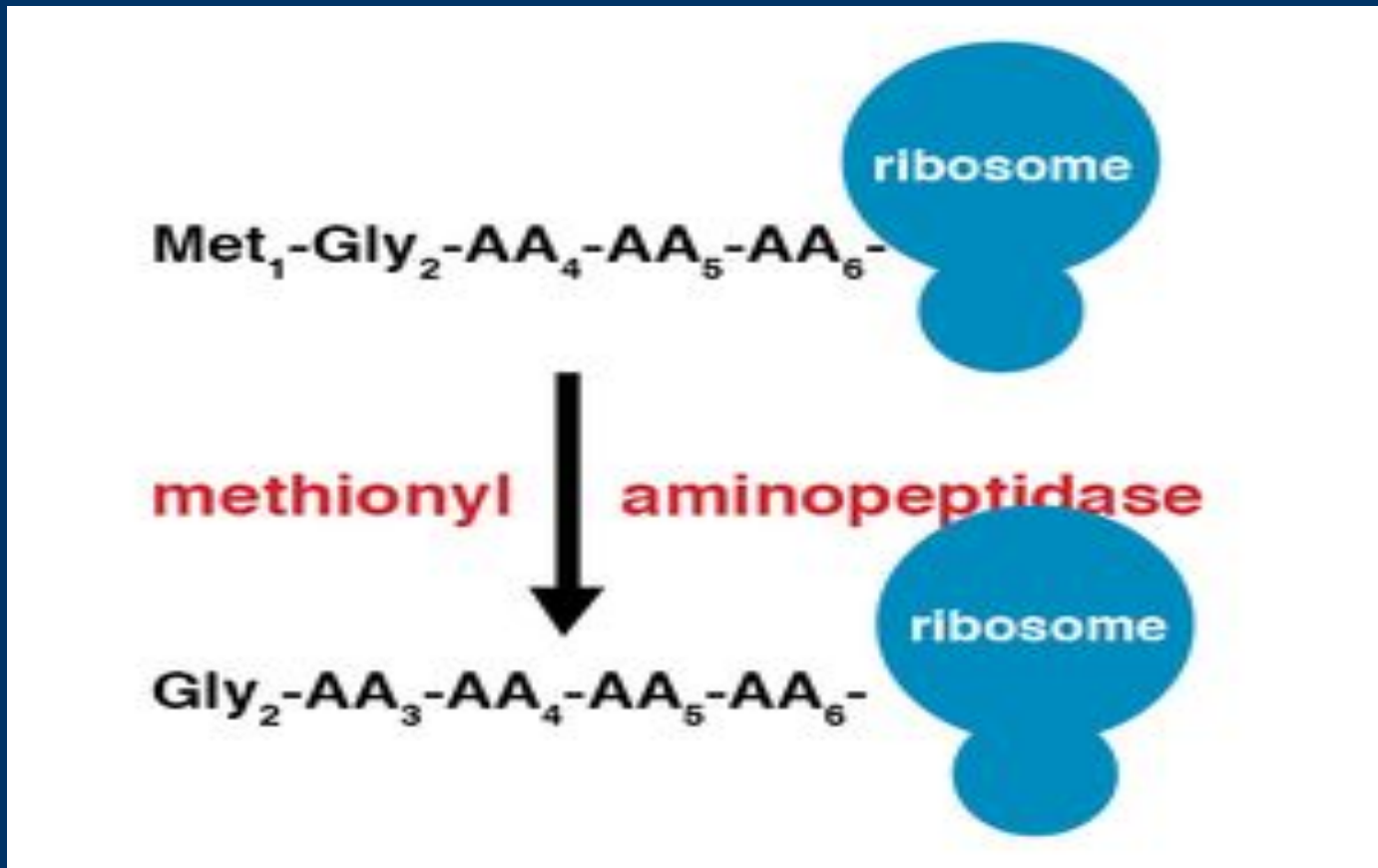
Фосфорилирование
Ацетилирование
Амидирование
Сумоилирование
Формилирование
Гликозилирование
Убиквитинирование
Пальмитоилирование
Миристоилирование
Нитрование
Гидроксилирование
Сульфатирование
Метилирование
Йодирование

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

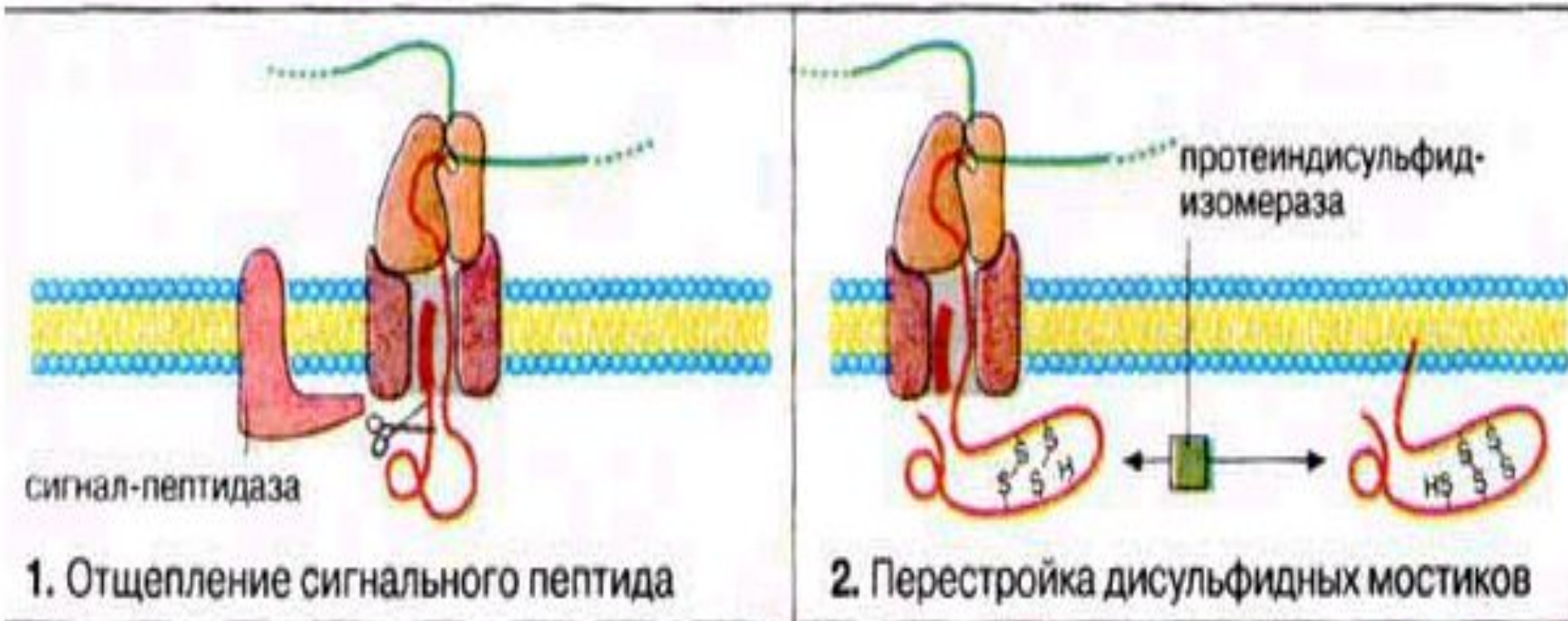
К ним относятся:

- 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;

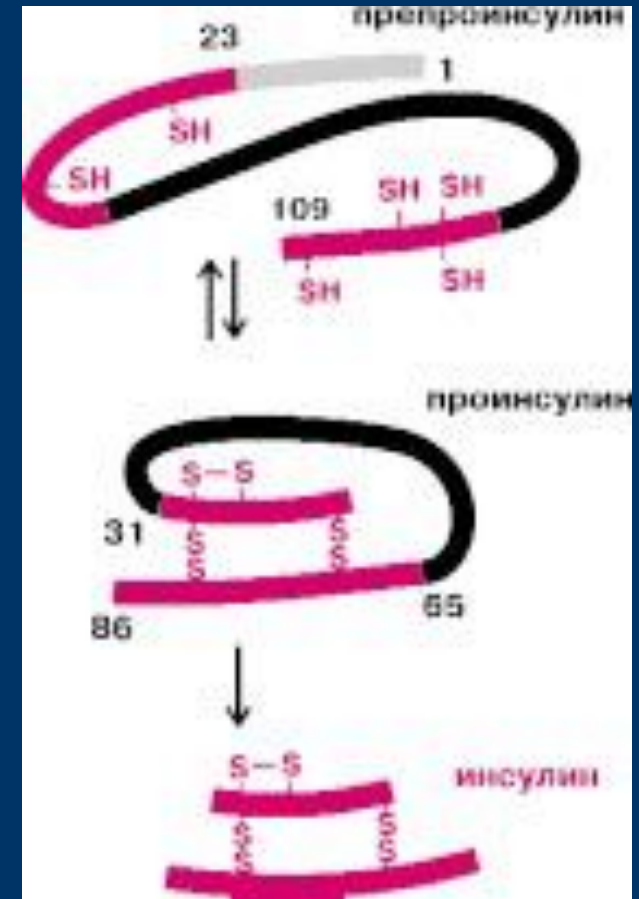
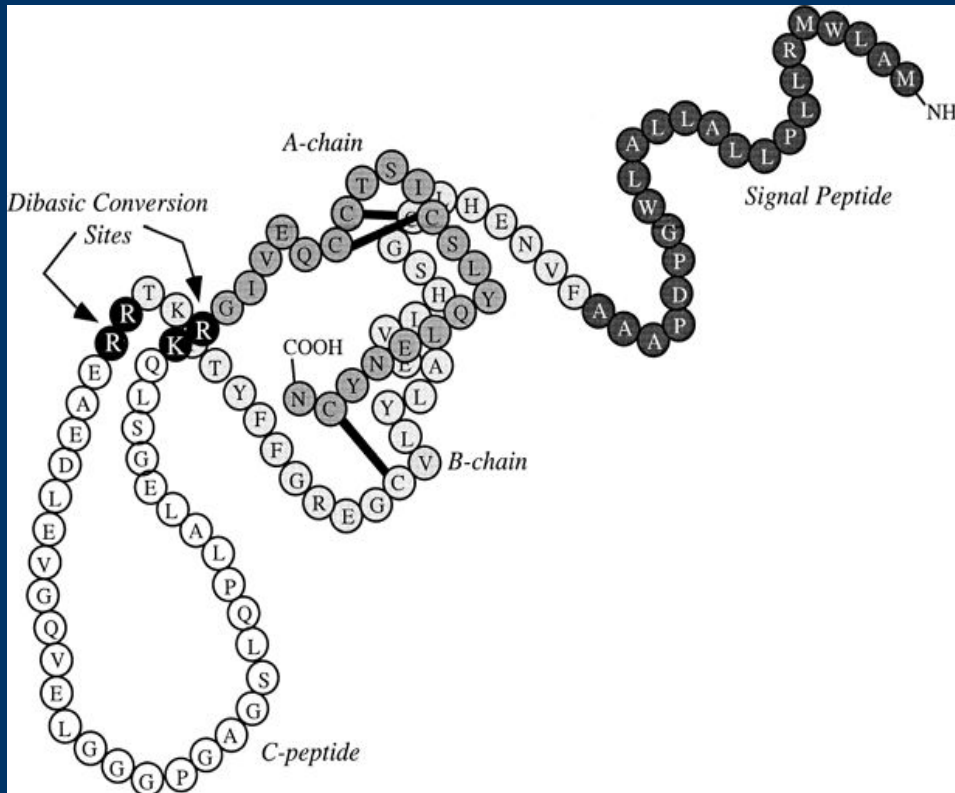
Удаление метионина (формилметионина) с **N**-конца полипептидной цепи



Посттрансляционный процессинг



Частичный протеолиз препроинсулина

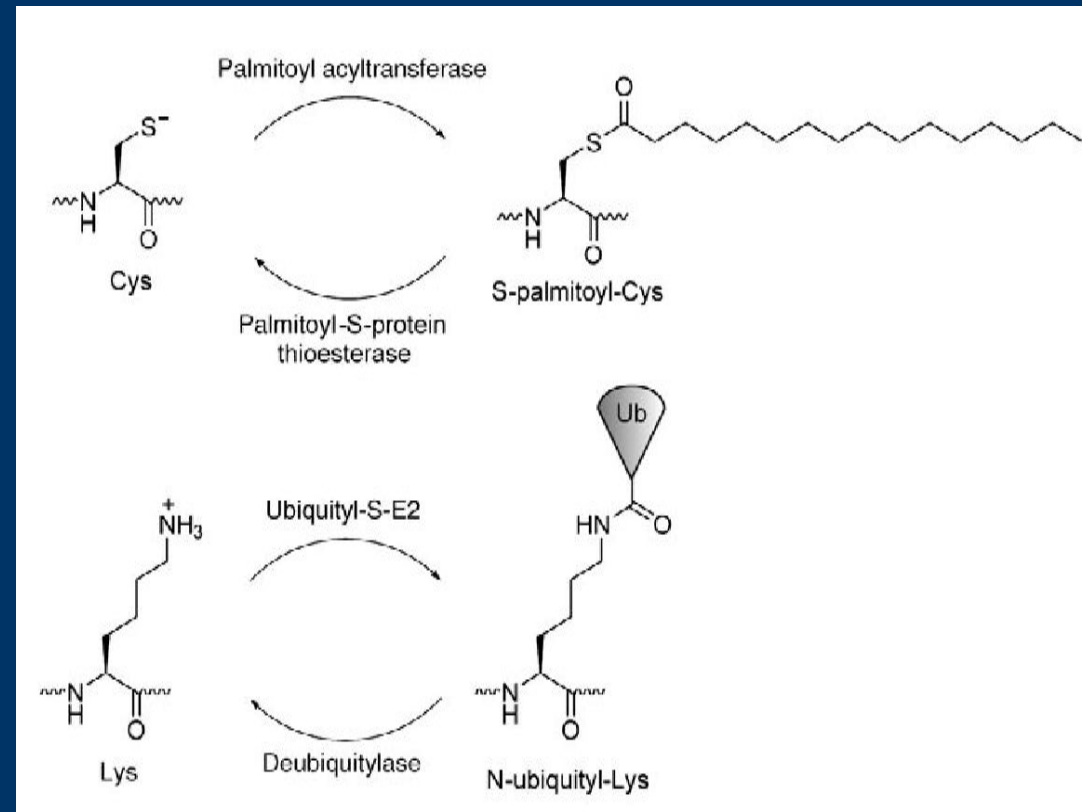
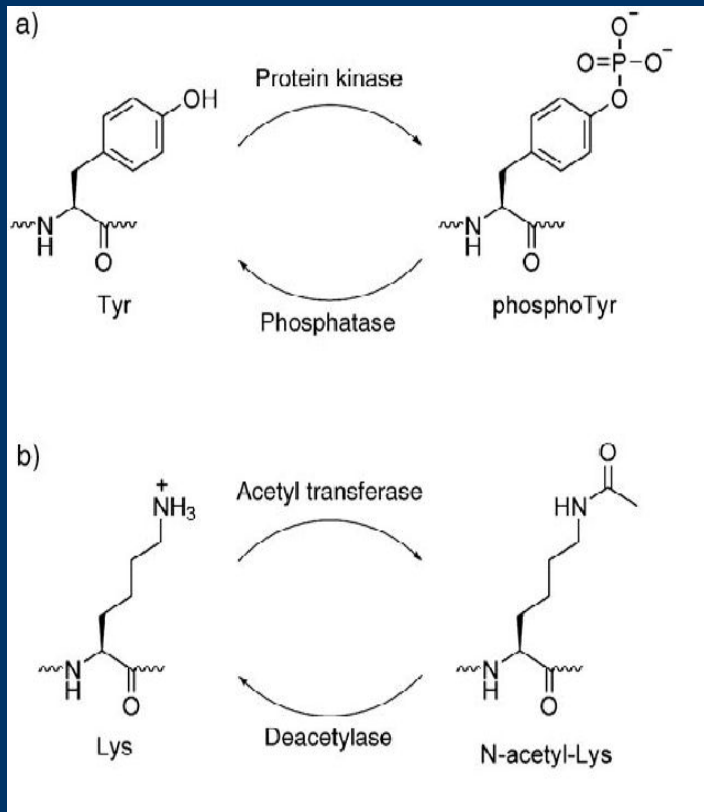


NH₂-сигнальный пептид-цепь В-С-пептид-цепь А-СООН

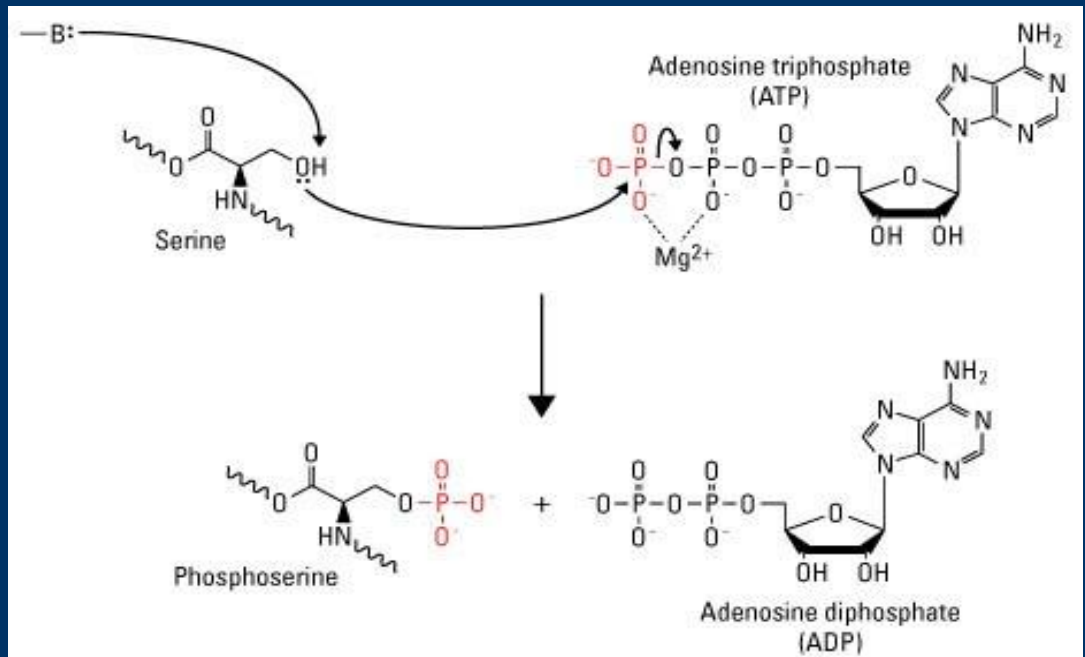
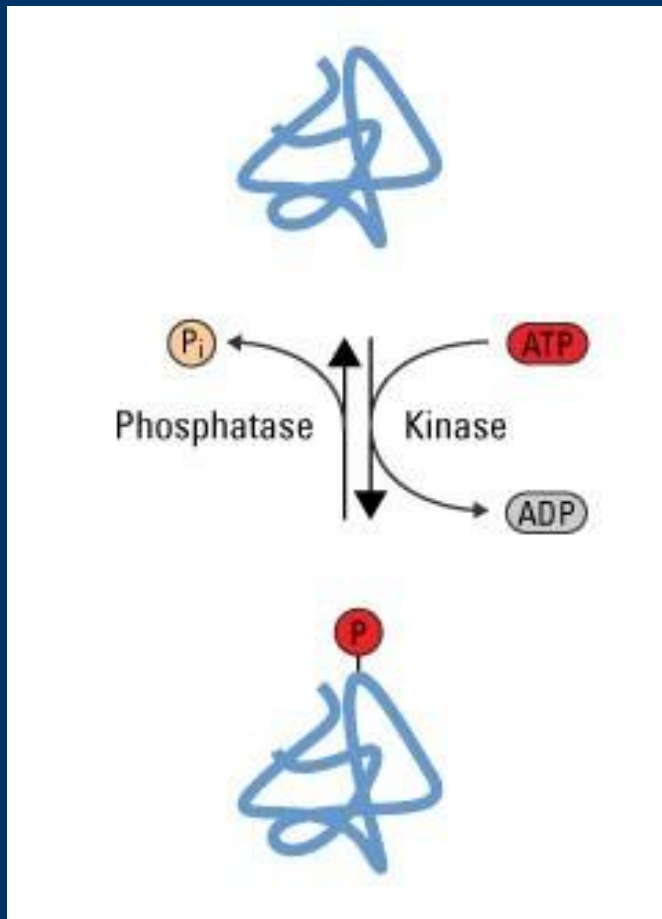
4. Присоединение химической группы к аминокислотным остаткам:

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

Обратимые модификации



Фосфорилирование

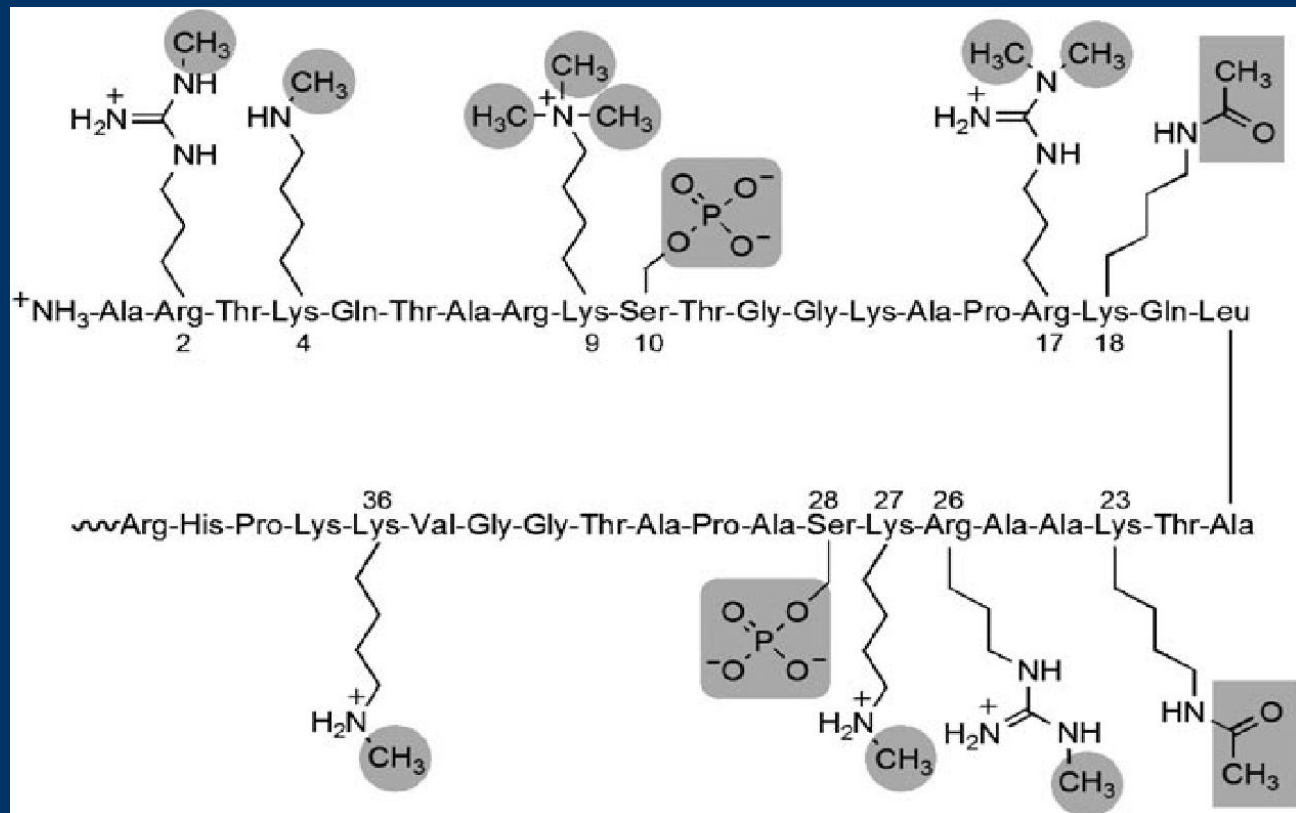


Обратимое фосфорилирование по Сер, Тре, Тир используется при регуляции активности ферментов или для связывания ионов кальция



Метилирование

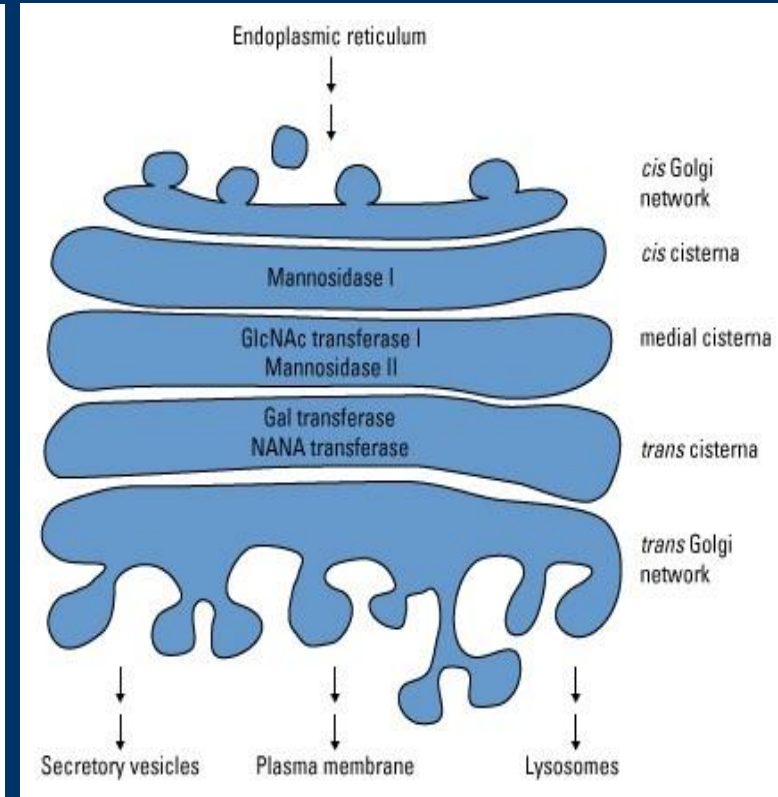
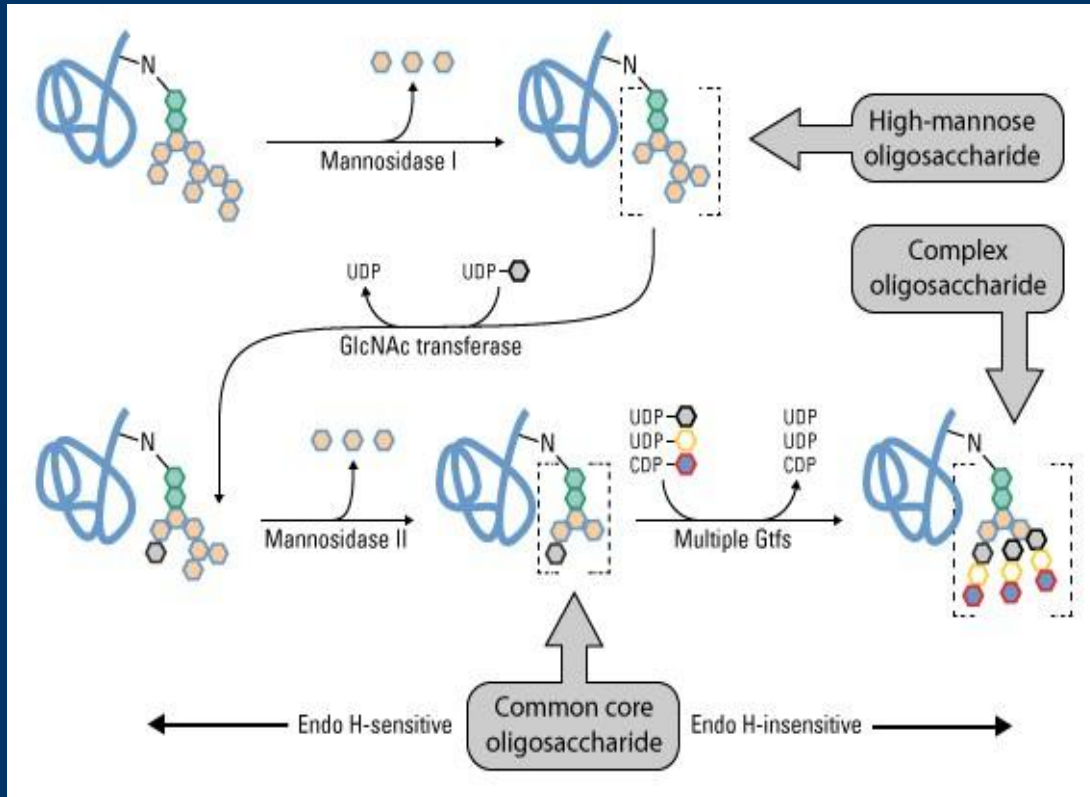
Метилирование Арг и Лиз в составе гистонов необходимо для регуляции активности генома.

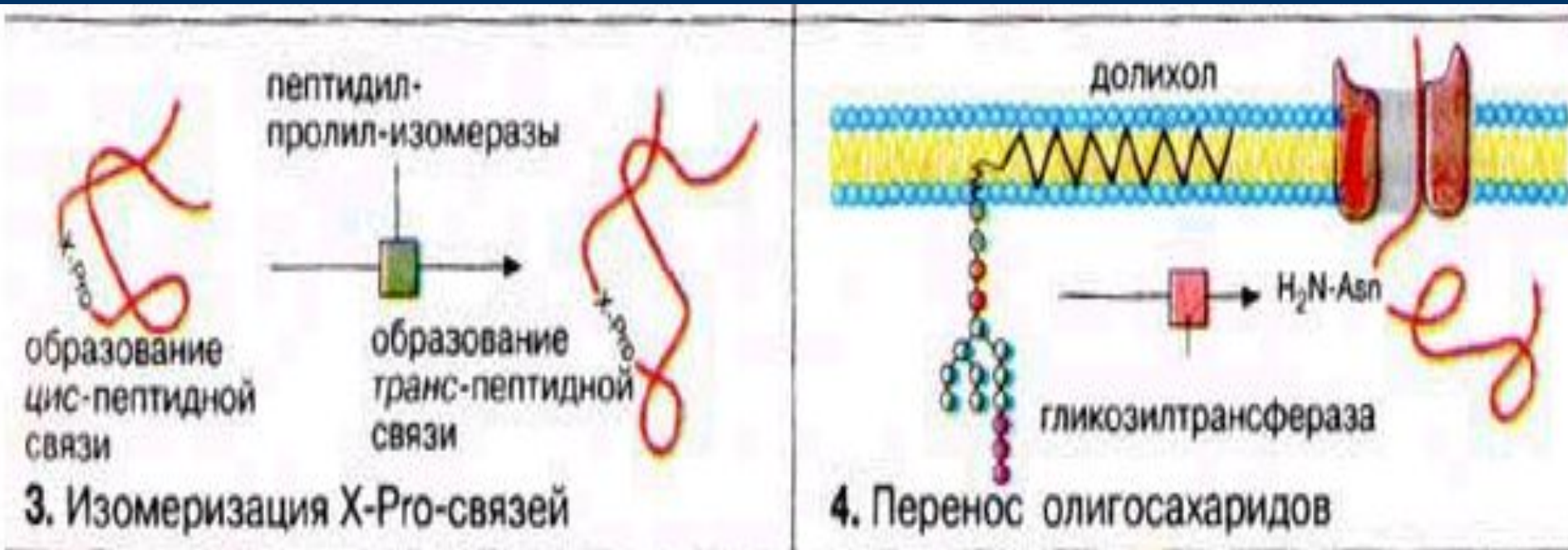


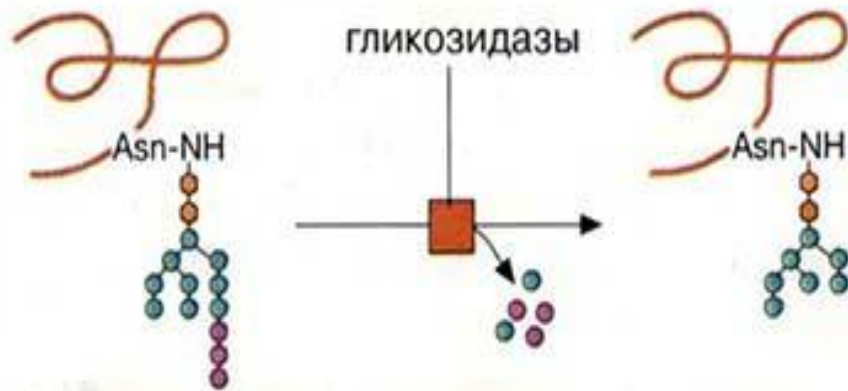
Посттрансляционный процессинг

Гликозилирование

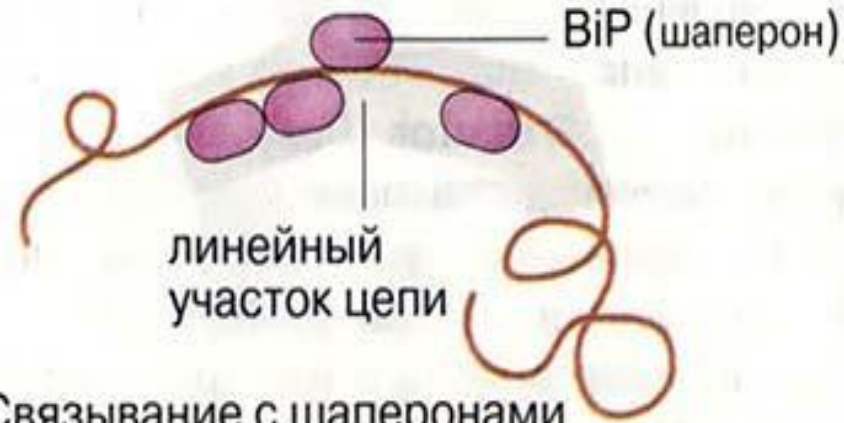
Гликолизирование — присоединение углеводных фрагментов к полипептидной цепи — необходимый этап биосинтеза гликопротеинов.



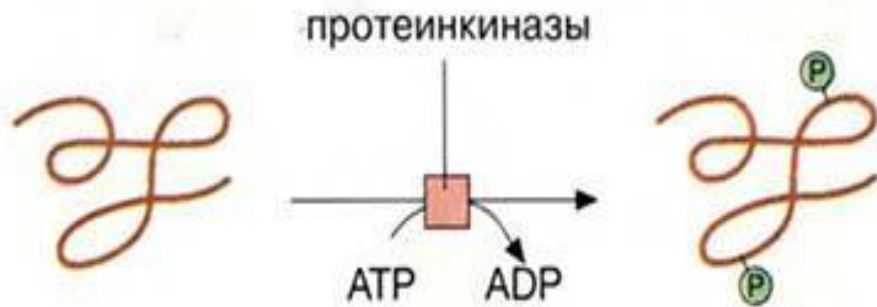




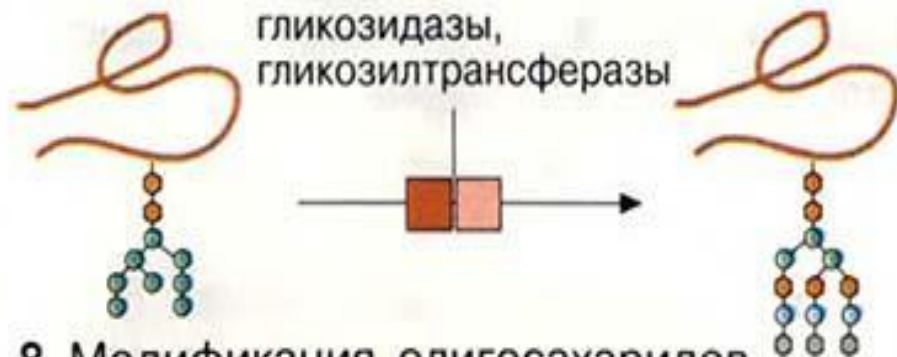
5. Укорачивание олигосахаридов



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***:

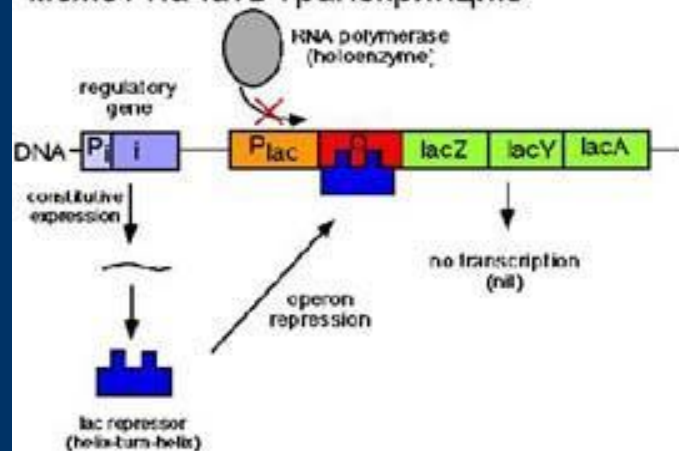
- ***lacZ*** кодирует фермент β -галактозидазу, которая расщепляет дисахарид лактозу на глюкозу и галактозу,
- ***lacY*** кодирует β -галактозидпермеазу, мембранный транспортный белок, который переносит лактозу внутрь клетки.
- ***lacA*** кодирует β -галактозидтрансацилазу, фермент, переносящий ацетильную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

Регуляция трансляции у прокариот

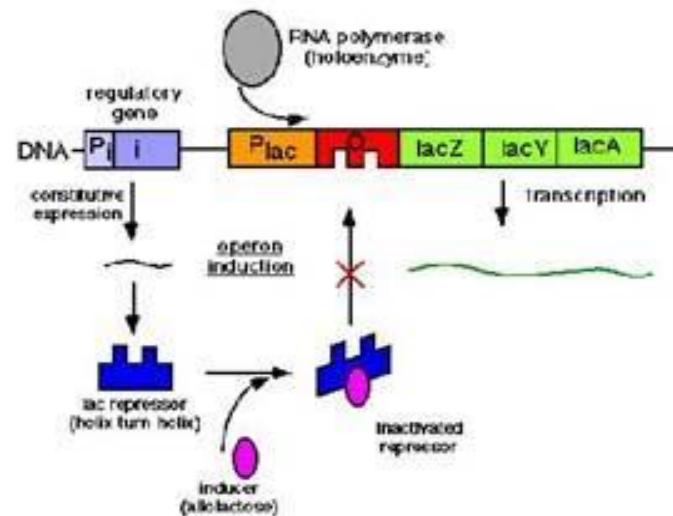
Регуляция активности генов: *lac*-оперон бактерии *E.coli*

гены метаболизма лактозы работают, когда лактоза есть в клетке

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

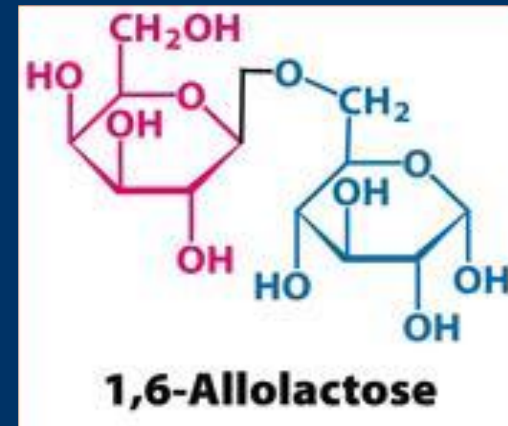
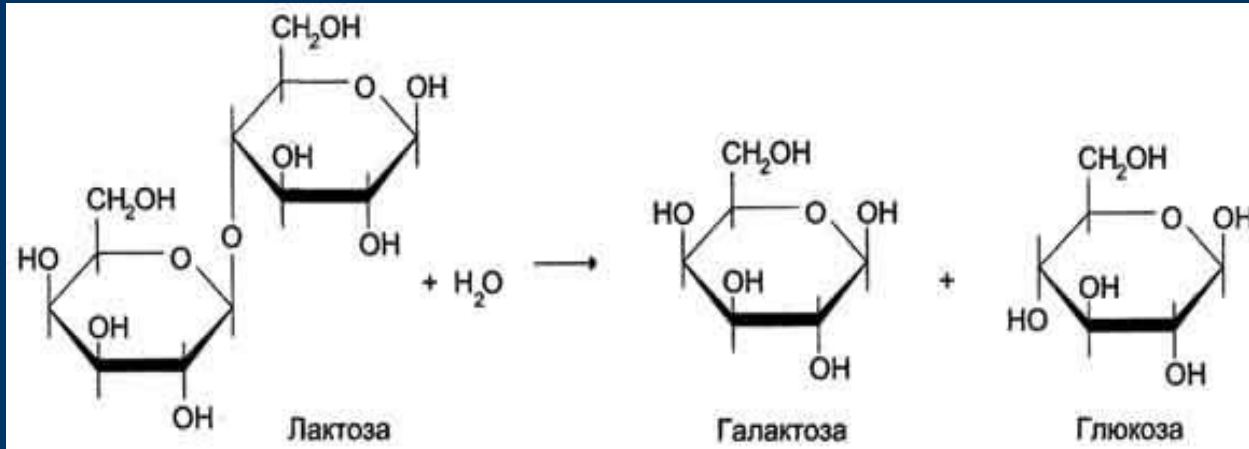


Лактоза инактивирует белок-репрессор и он теряет сродство к оперону. Транскрипция возможна.



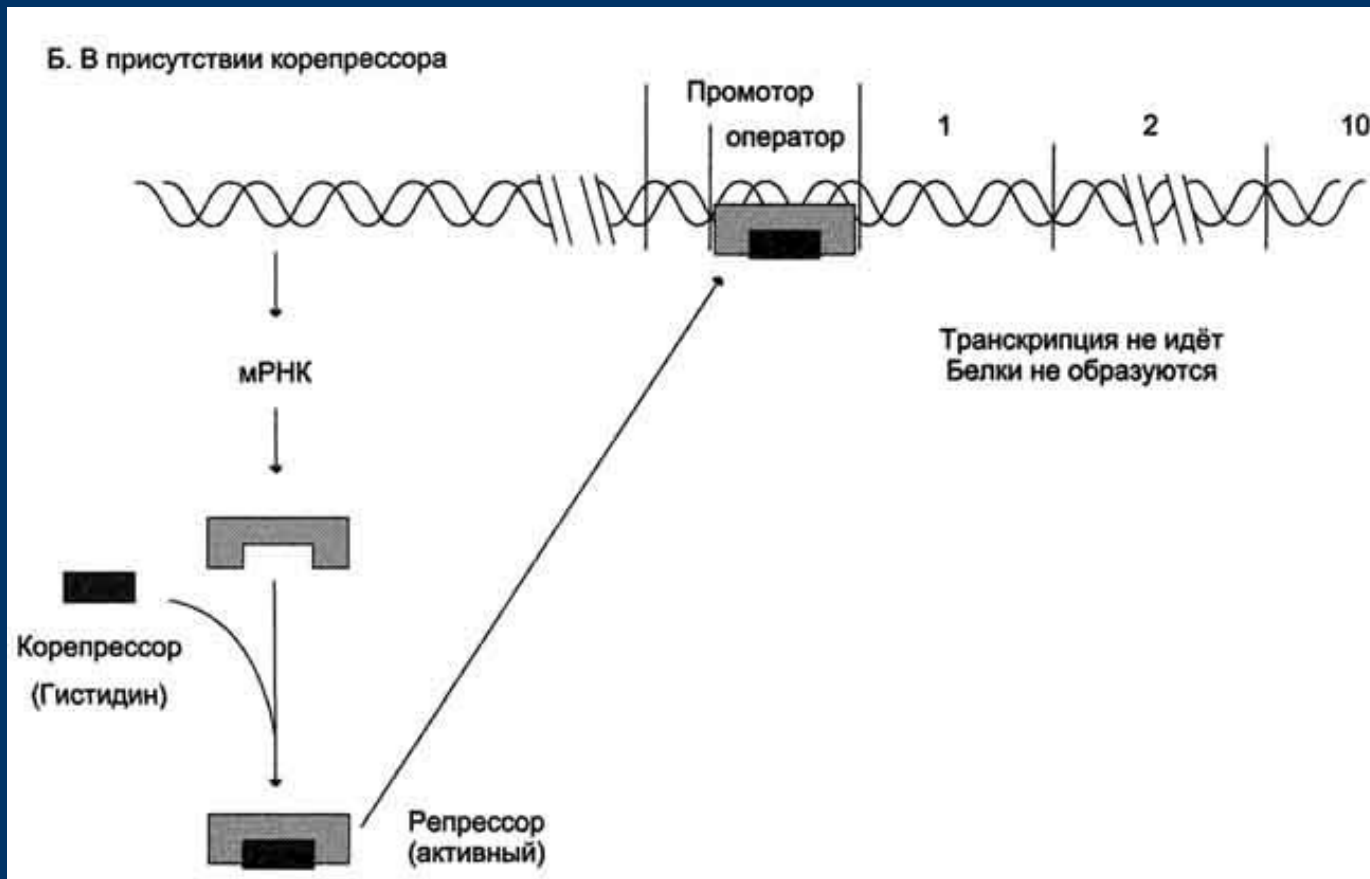
Оперон - группа генов, транскрибируемых с одного промотора.

Регуляция трансляции у прокариот

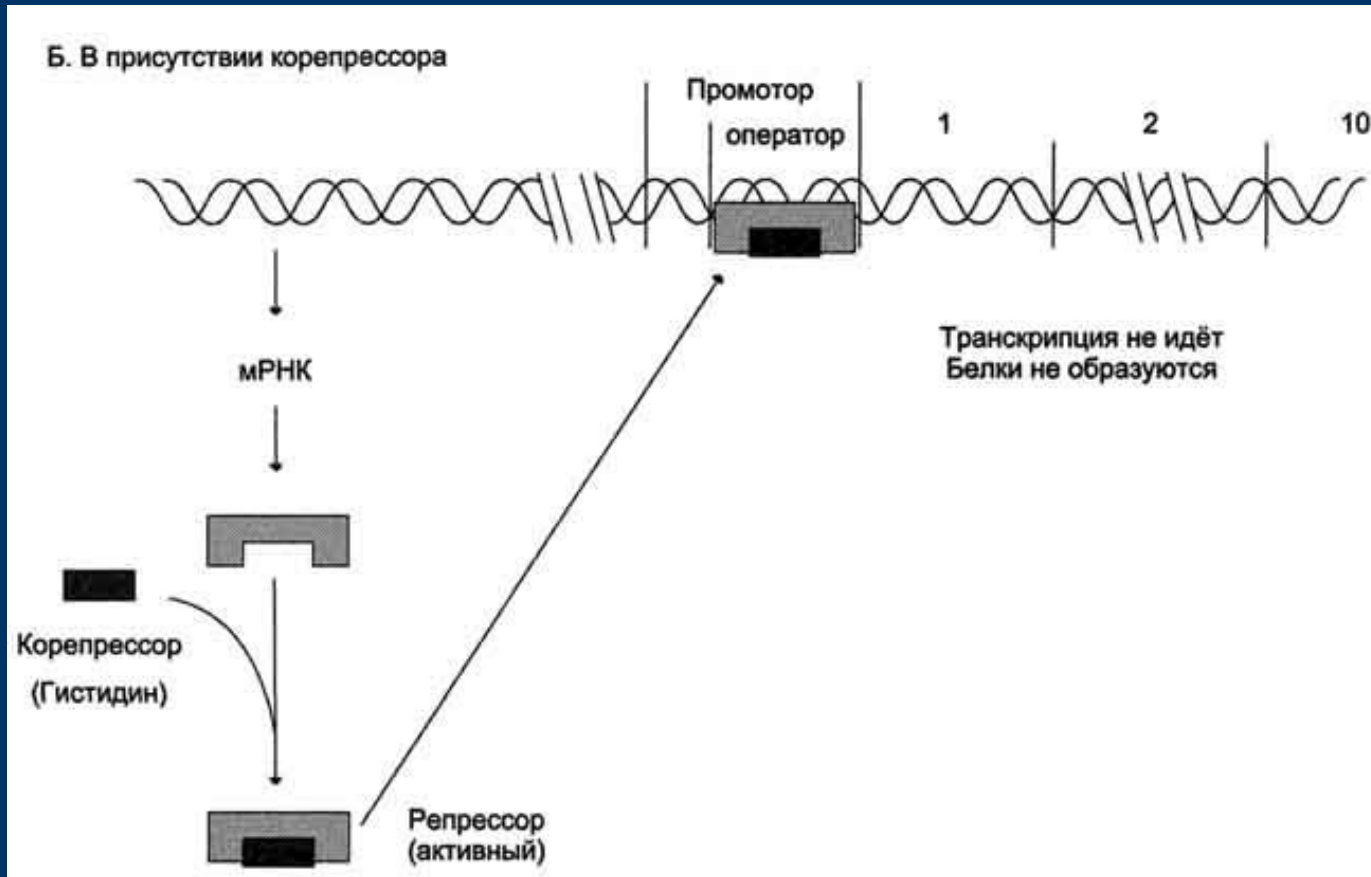


Лас I - репрессор **[32 kDa]**, тетрамер
Z - β -галактозидаза **[116 kDa]**, тетрамер
Y - пермеаза **[46 kDa]**, мономер
A - трансацетилаза **[22 kDa]**, димер

Регуляция **His**-оперона



Регуляция **His**-оперона



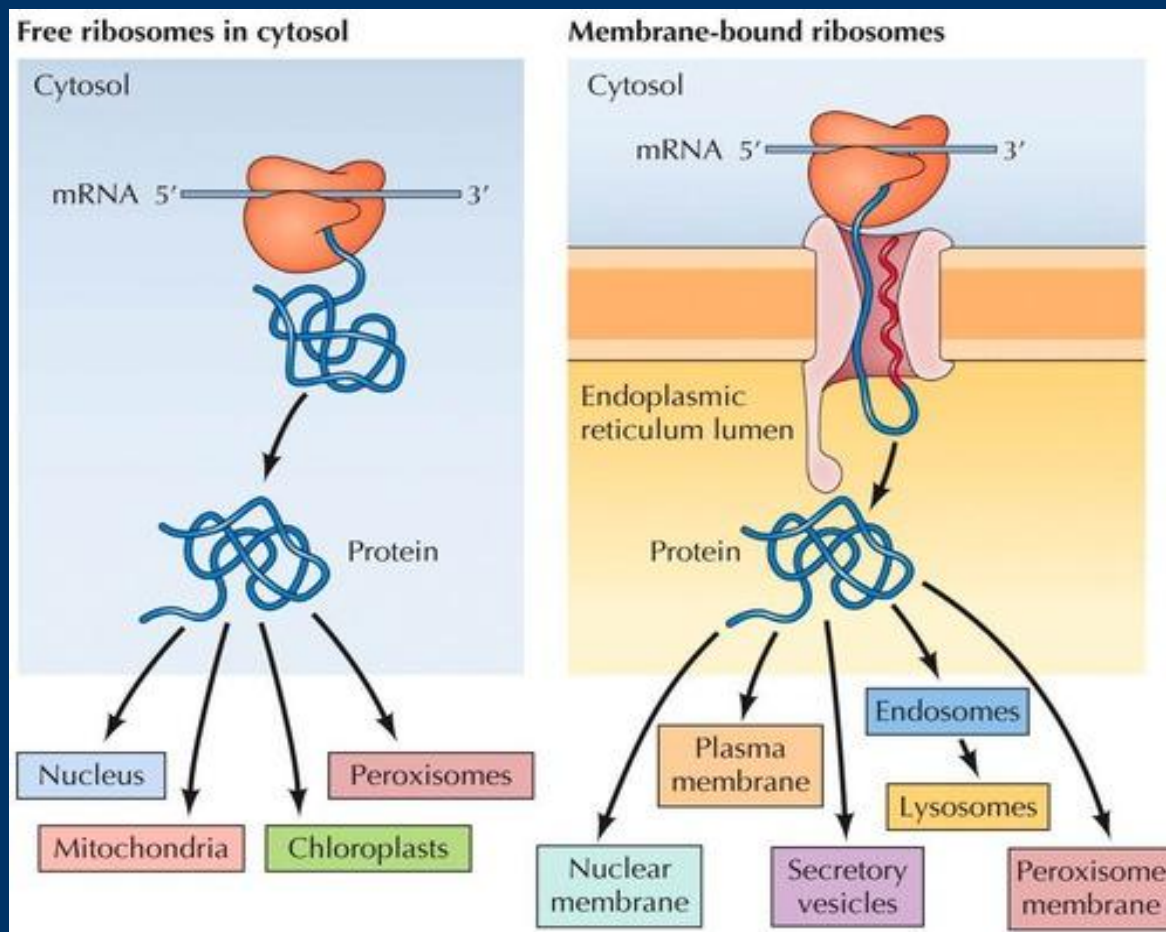
Молекулярные механизмы транспорта белков

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 митохондрии и хлоропласты белки, обладающие соответствующими сигнальными последовательностями, попадают через специфические белковые поры-транслокаторы при участии шаперонов.

Посттрансляционный процессинг

Два варианта транспортных сигналов

