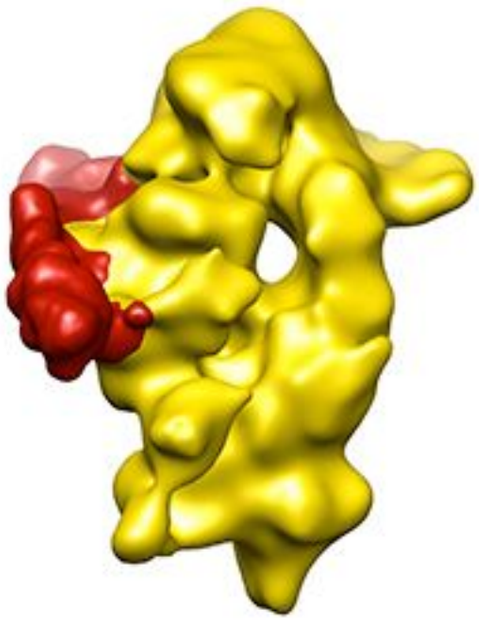
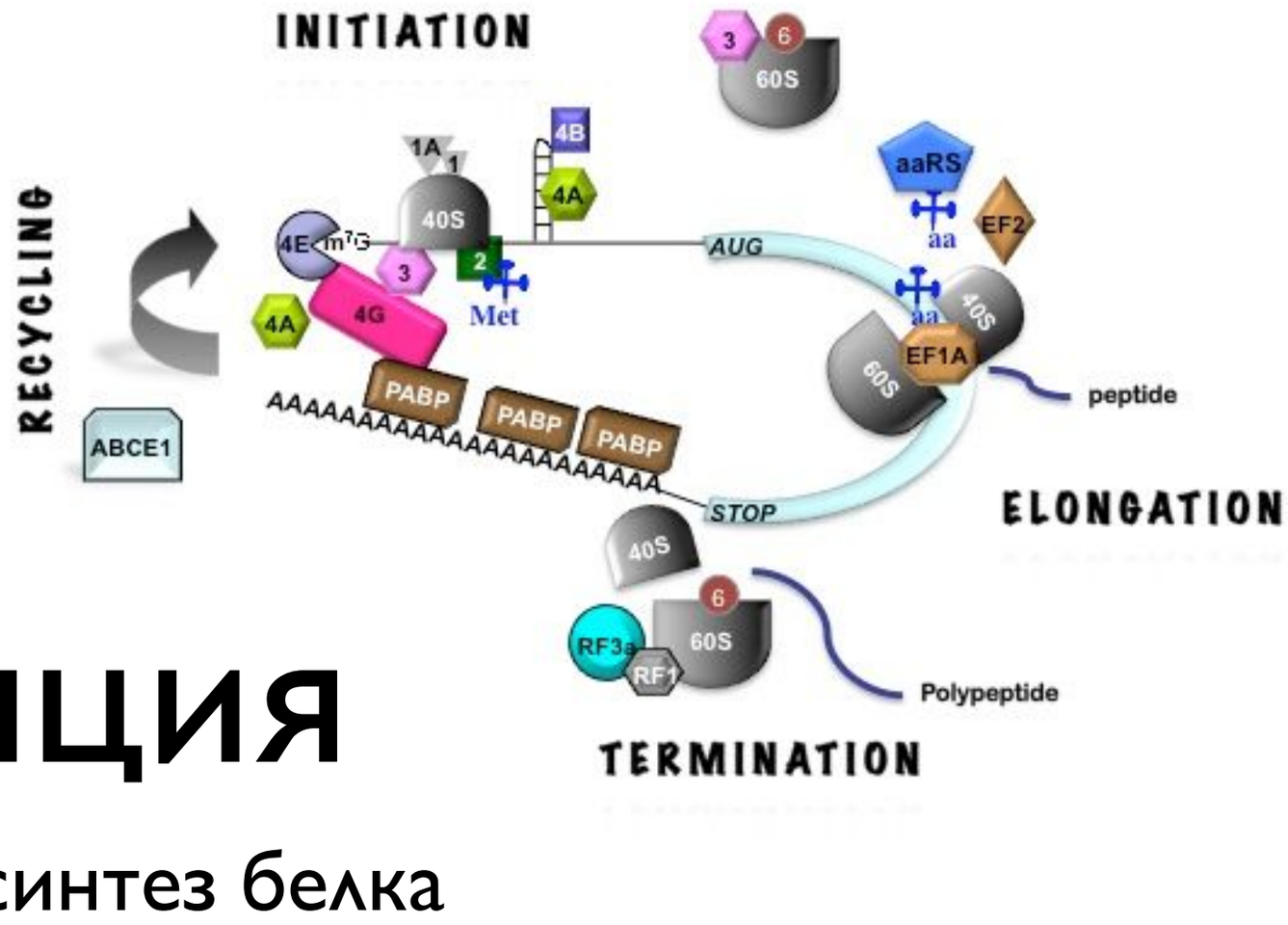
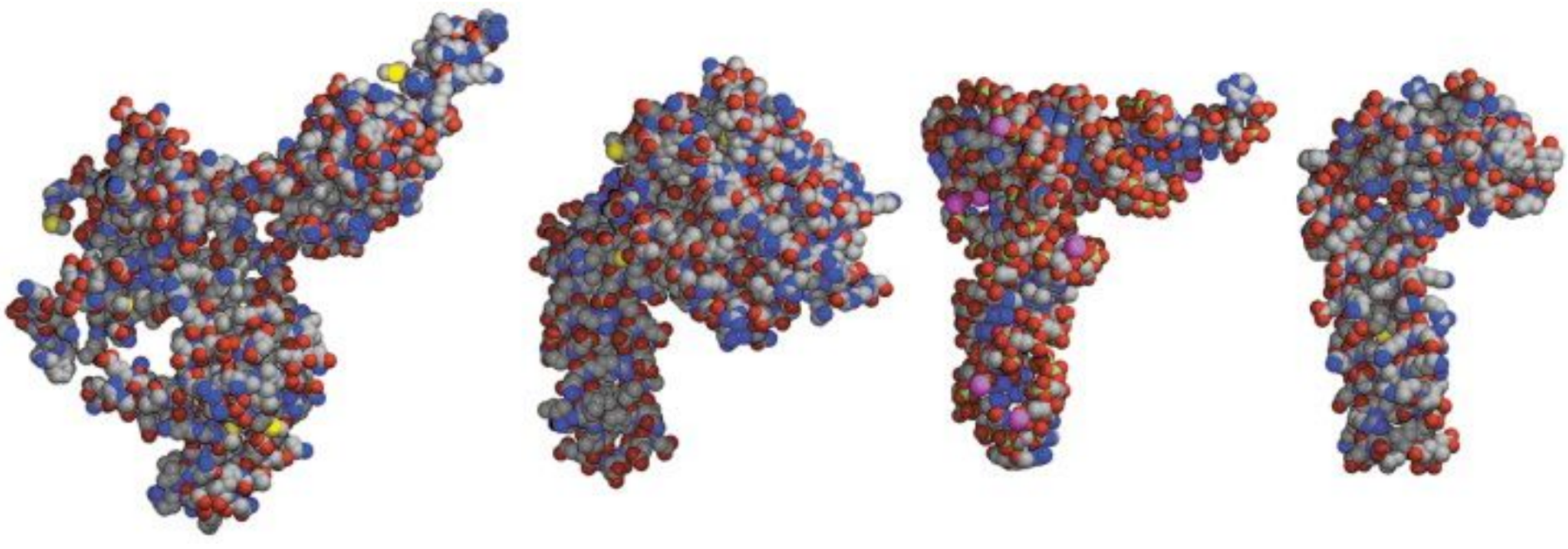




Трансляция

Биосинтез белка

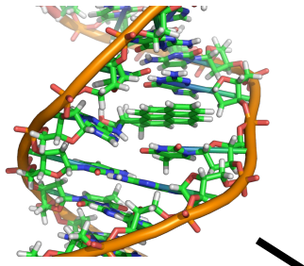


Часть I

Структура РНК
тРНК
Рибосома

РНК в клетке

DNA



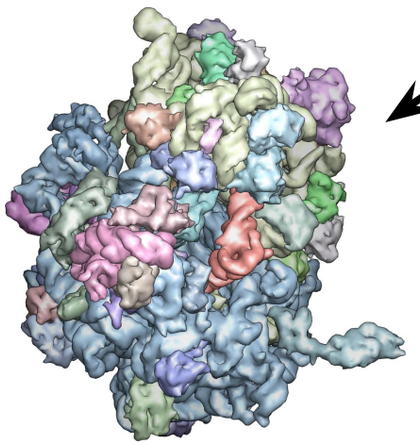
7SK RNA

snRNA

ncRNA

mRNA

rRNA

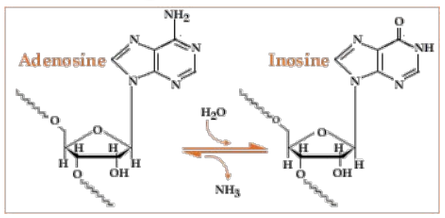


snoRNA

cRNA

miRNA

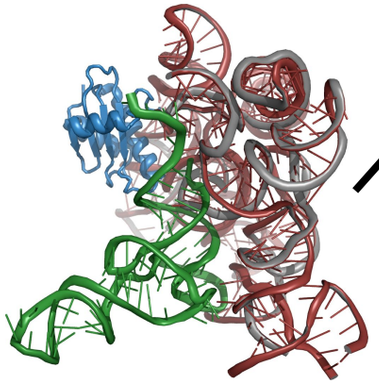
gRNA

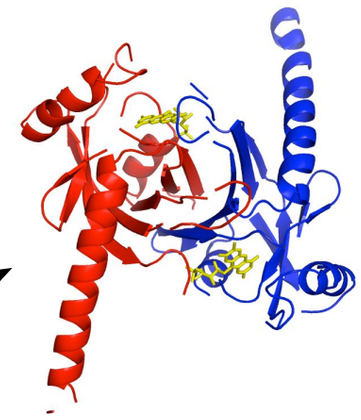


tRNA

vault RNA

RNAse P

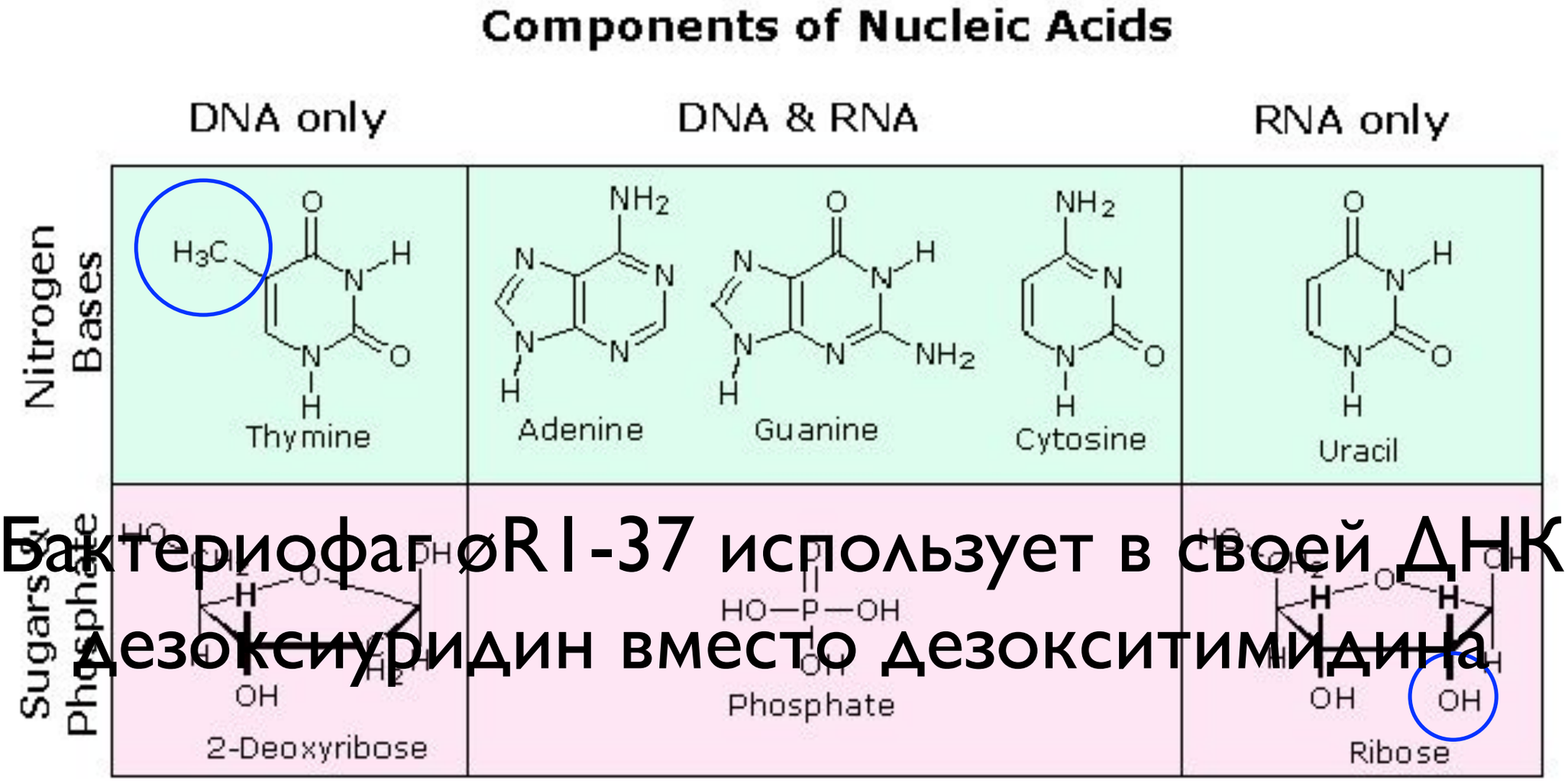




SRP 7S RNA

Proteins

RNA vs DNA



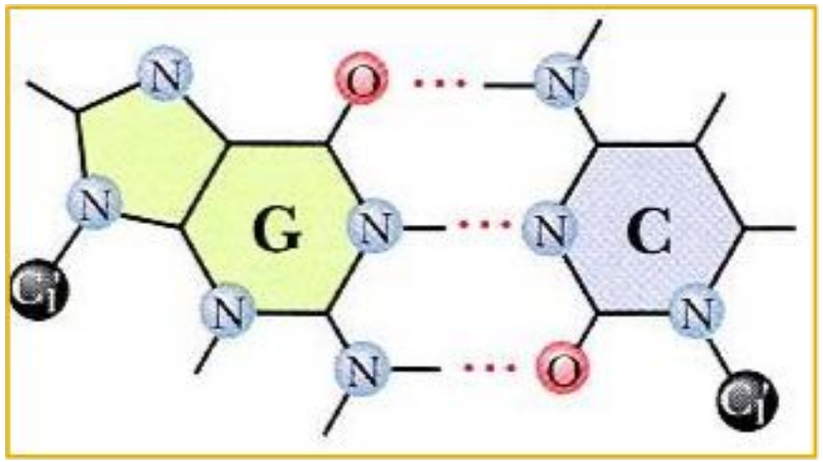
Бактериофаг øR1-37 использует в своей ДНК дезоксиуридин вместо дезокситимидина

Вторичная и третичная структура РНК

- Вторичная структура - совокупность комплементарных взаимодействий
- Третичная структура - 3D-атомарная структура

Вторичная структура РНК

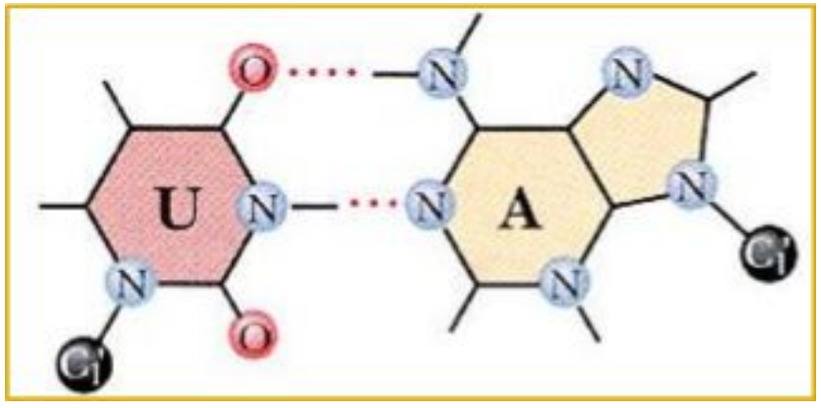
- G≡C (3 H-связи)



- A=U
- G=U

Вторичная структура РНК

- G≡C

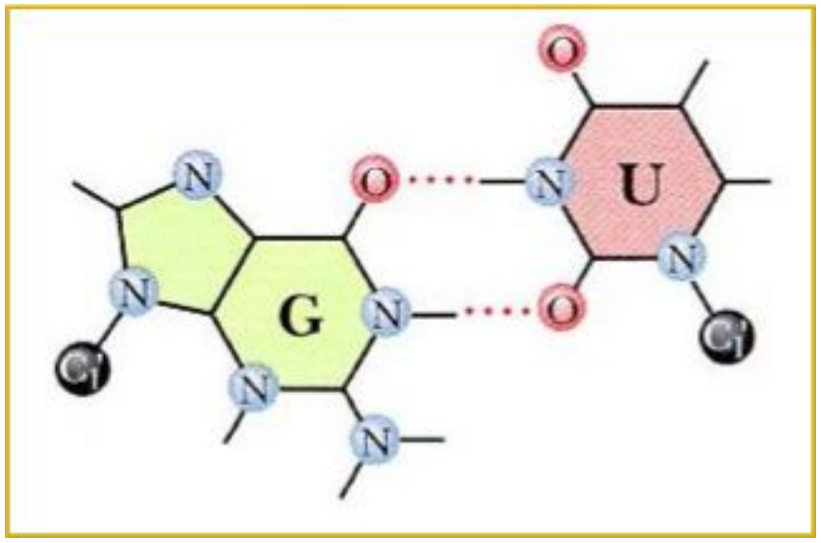


- A=U (2 H-связи)

- G=U

Вторичная структура РНК

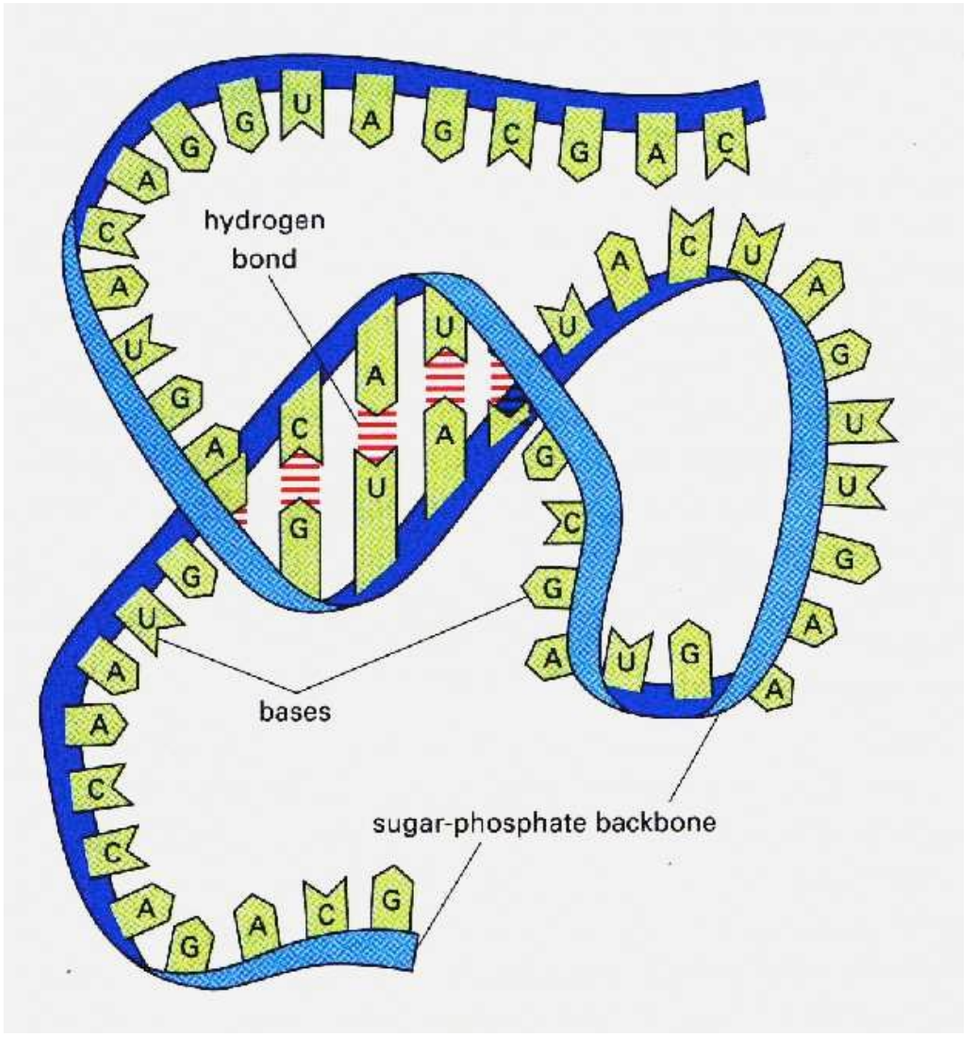
- G≡C

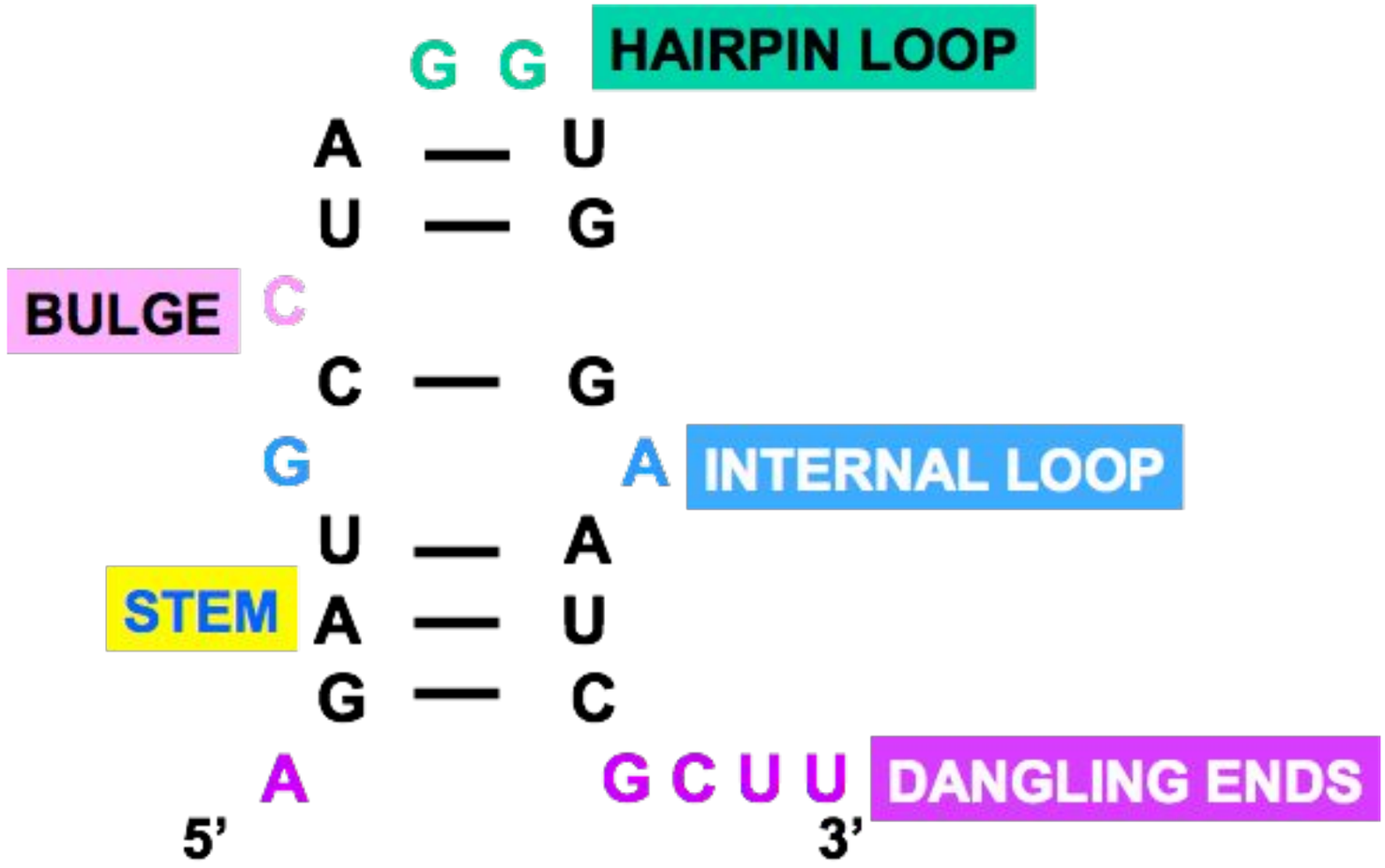


- A=U

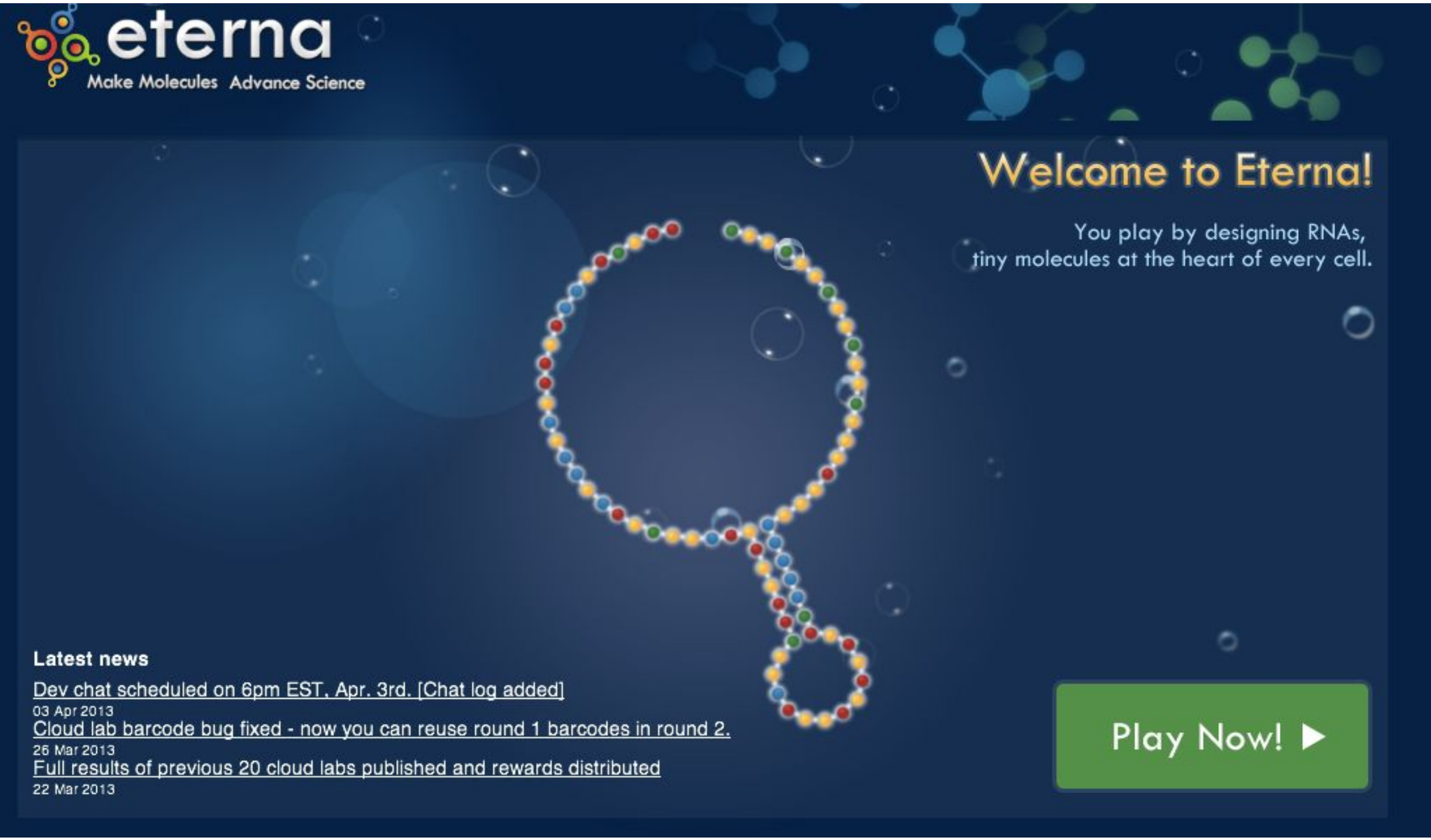
- G=U (2 Н-связи)

Вторичная структура РНК

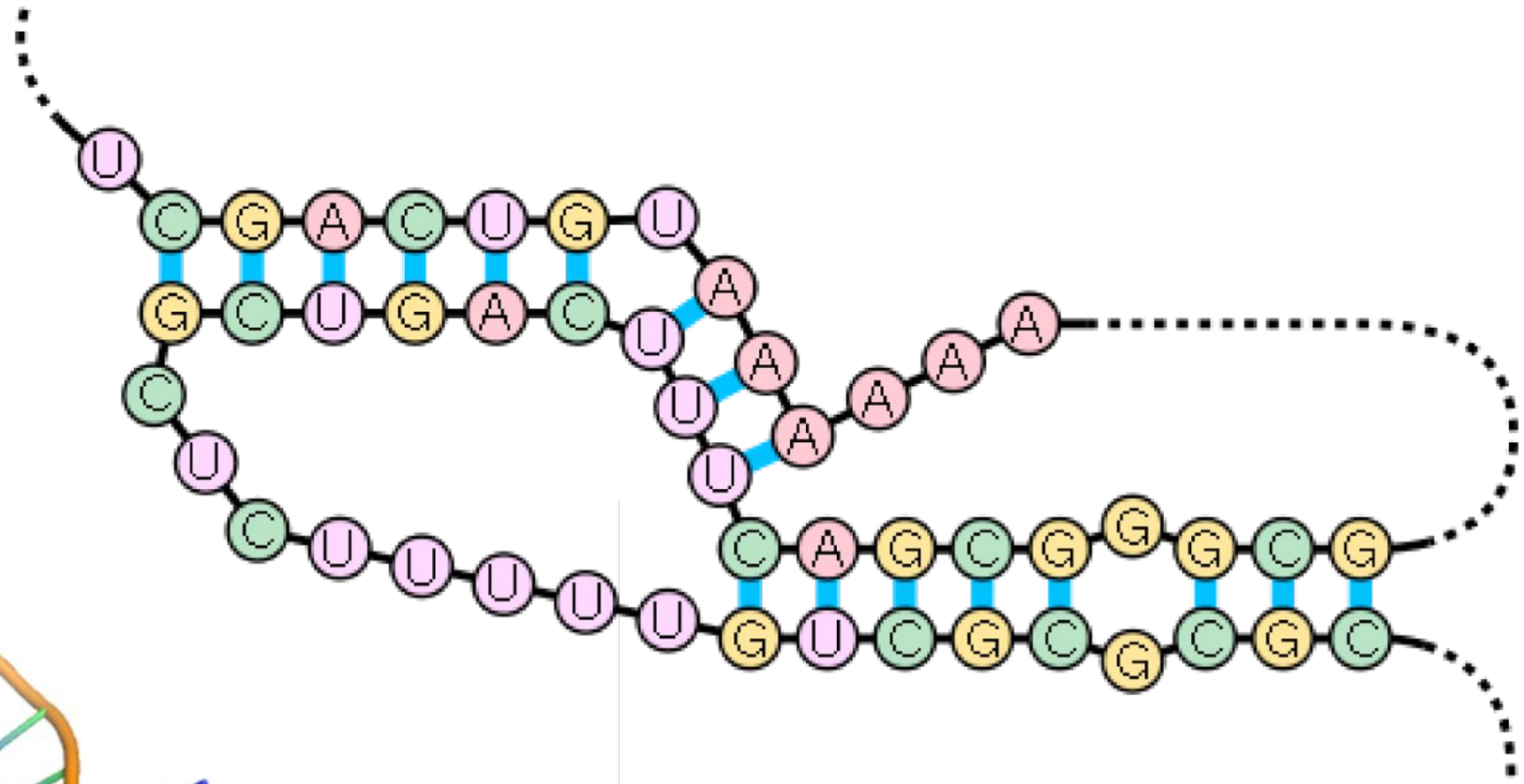


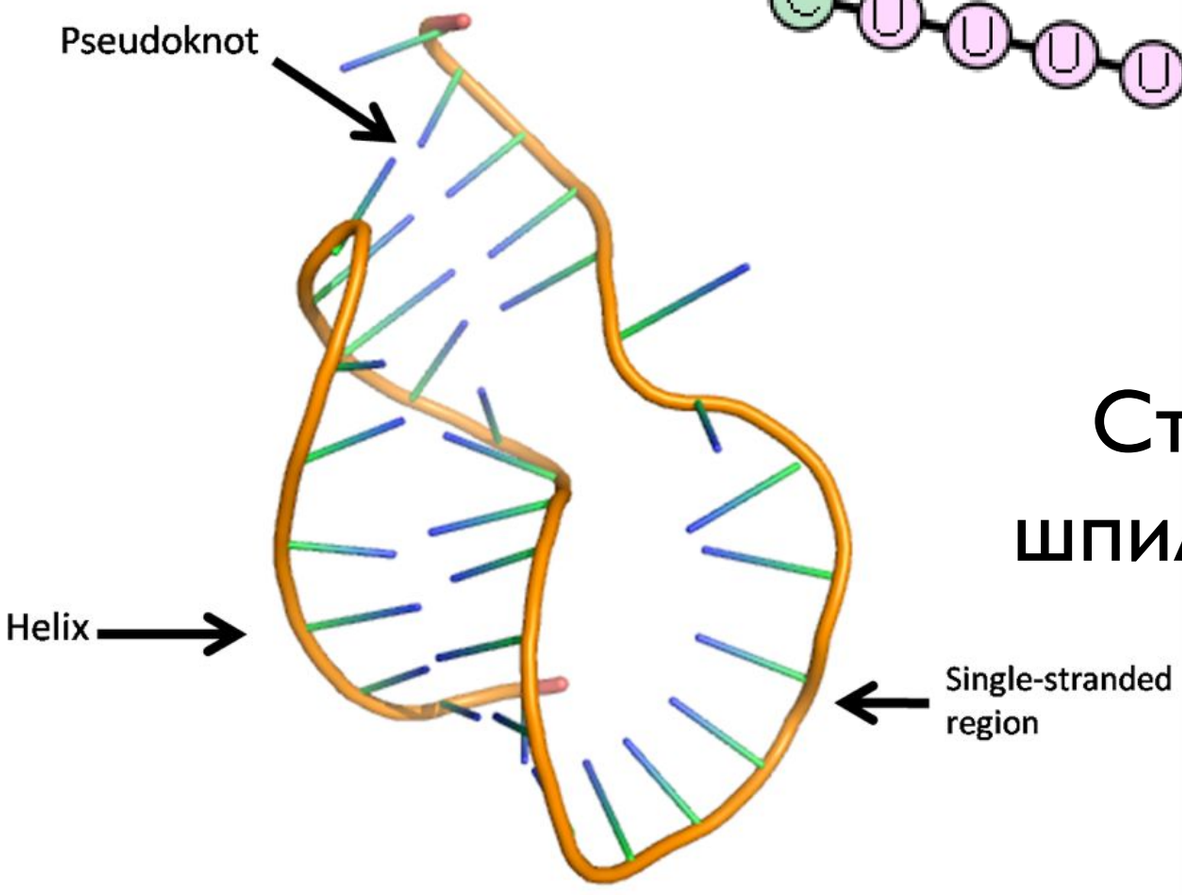


http://www.eternagame.org/web/



Pseudoknots - псевдоузлы



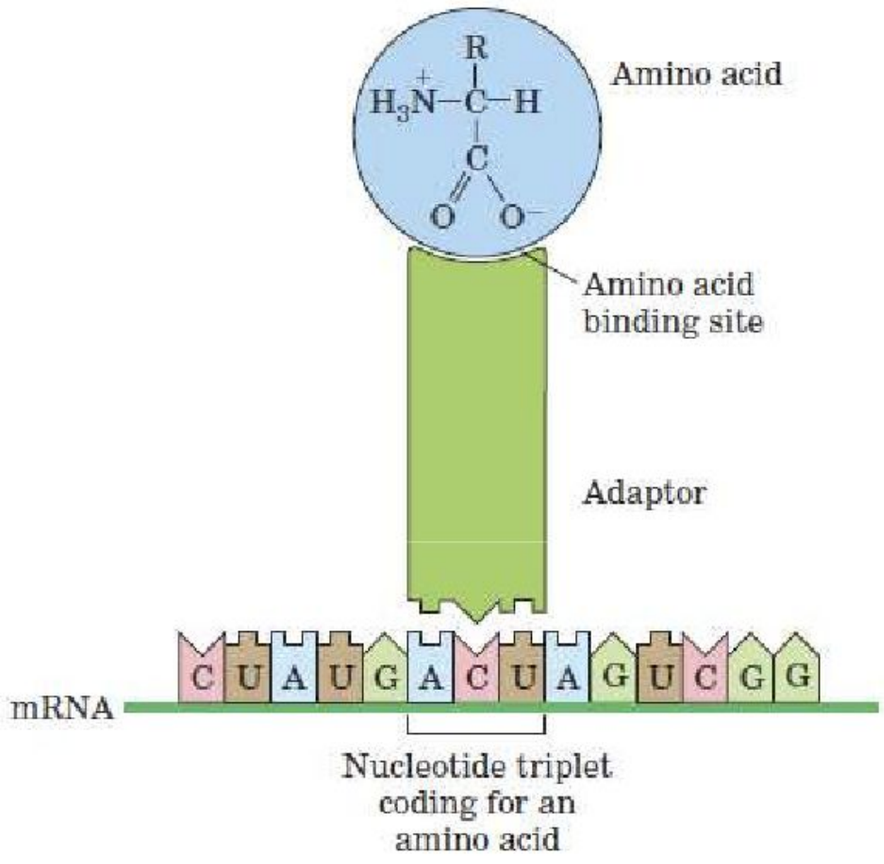


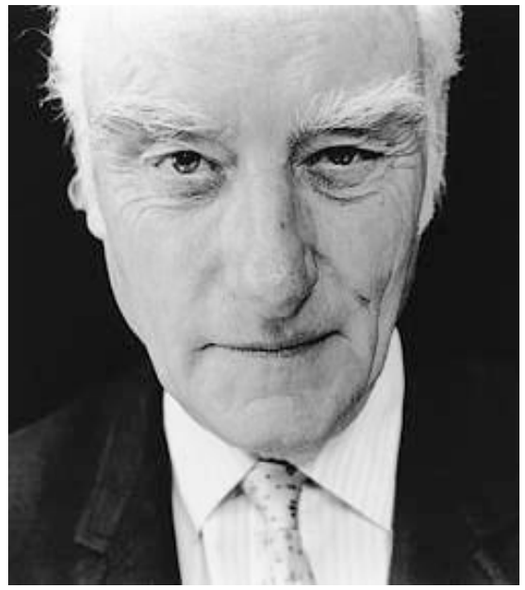
Структуры, в которых петля шпильки сама образует шпильку

Вопрос:

- Что будет, если длина шпилек в псевдоузле будет, скажем, 12 нуклеотидов?

Адапторная гипотеза (1955)





Francis Crick
(1916-2004)

- Между мРНК и белками существует *адаптор*, ставящий в соответствие генетическую информацию и аминокислоты

Трехбуквенный код (1953)

- 20 аминокислот
- 4 нуклеотида

Георгий Гамов
(1904-1968)

- 1-битный код: 4 варианта
- 2-битный код: 16 вариантов
- 3-битный код: 64 варианта

64 намного больше чем 20!

Универсальный генетический код

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

61 смысловой триплет. Но у человека только 38 разных тРНК. Как такое может быть?!

Отклонения от генетического кода

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Table 18.1 Deviations from the "Universal" Genetic Code

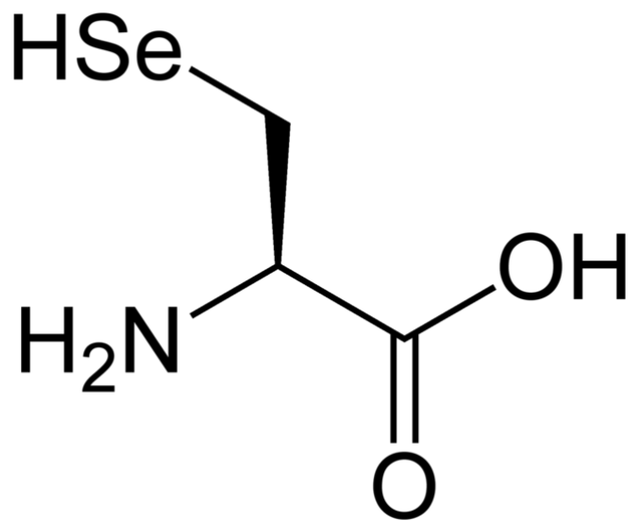
Source	Codon	Usual Meaning	New Meaning
Fruit fly mitochondria	UGA	Stop	Tryptophan
	AGA & AGG	Arginine	Serine
	AUA	Isoleucine	Methionine
Mammalian mitochondria	AGA & AGG	Arginine	Stop
	AUA	Isoleucine	Methionine
	UGA	Stop	Tryptophan
Yeast mitochondria	CUN*	Leucine	Threonine
	AUA	Isoleucine	Methionine
	UGA	Stop	Tryptophan
Higher plant mitochondria	UGA	Stop	Tryptophan
	CGG	Arginine	Tryptophan
Candida albicans nuclei	CTG	Leucine	Serine
Protozoa nuclei	UAA & UAG	Stop	Glutamine
Mycoplasma	UGA	Stop	Tryptophan

*N = Any base

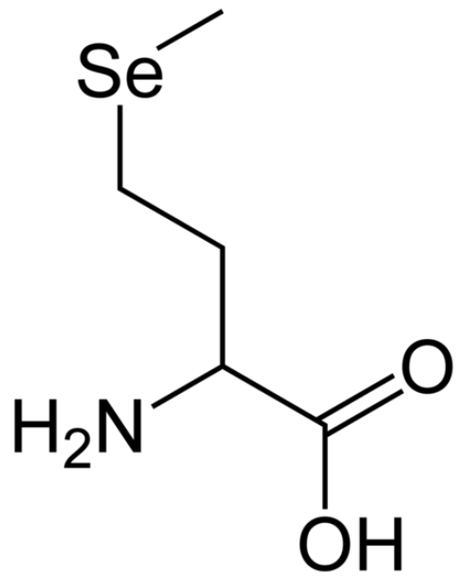
- Митохондрии, некоторые бактерии и простейшие

Неканонические аминокислоты

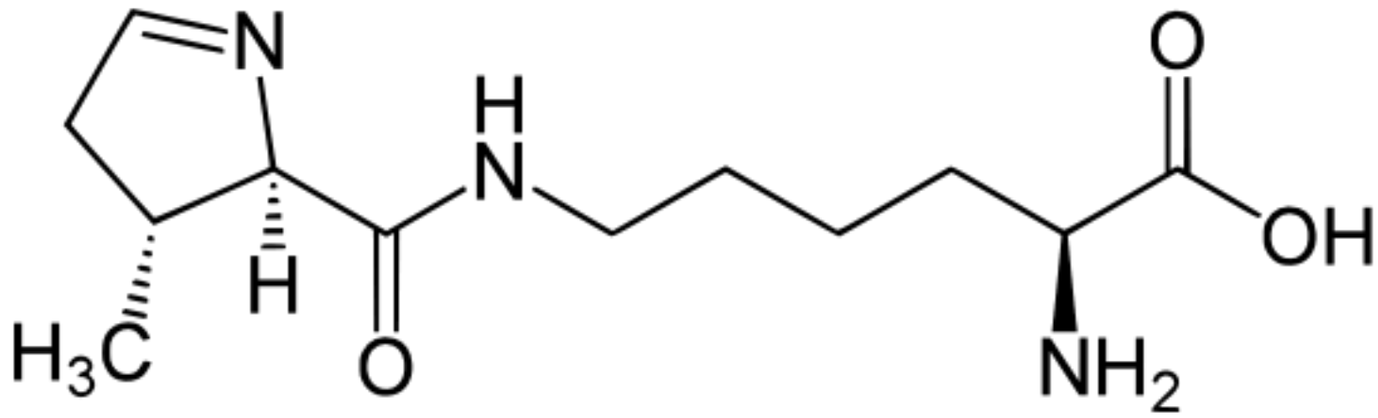
- Селеноцистеин (UGA)



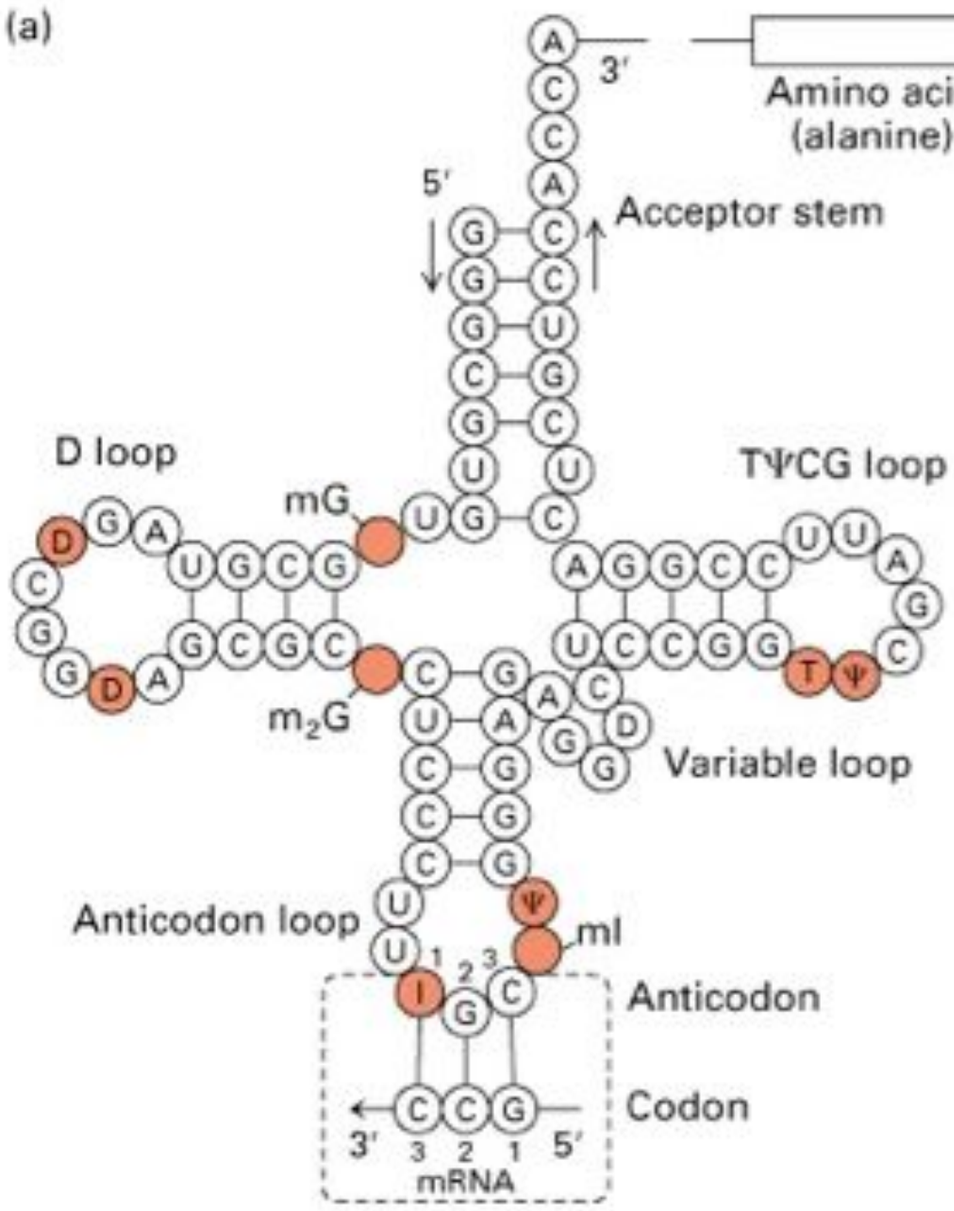
- Селенометионин (AUG)

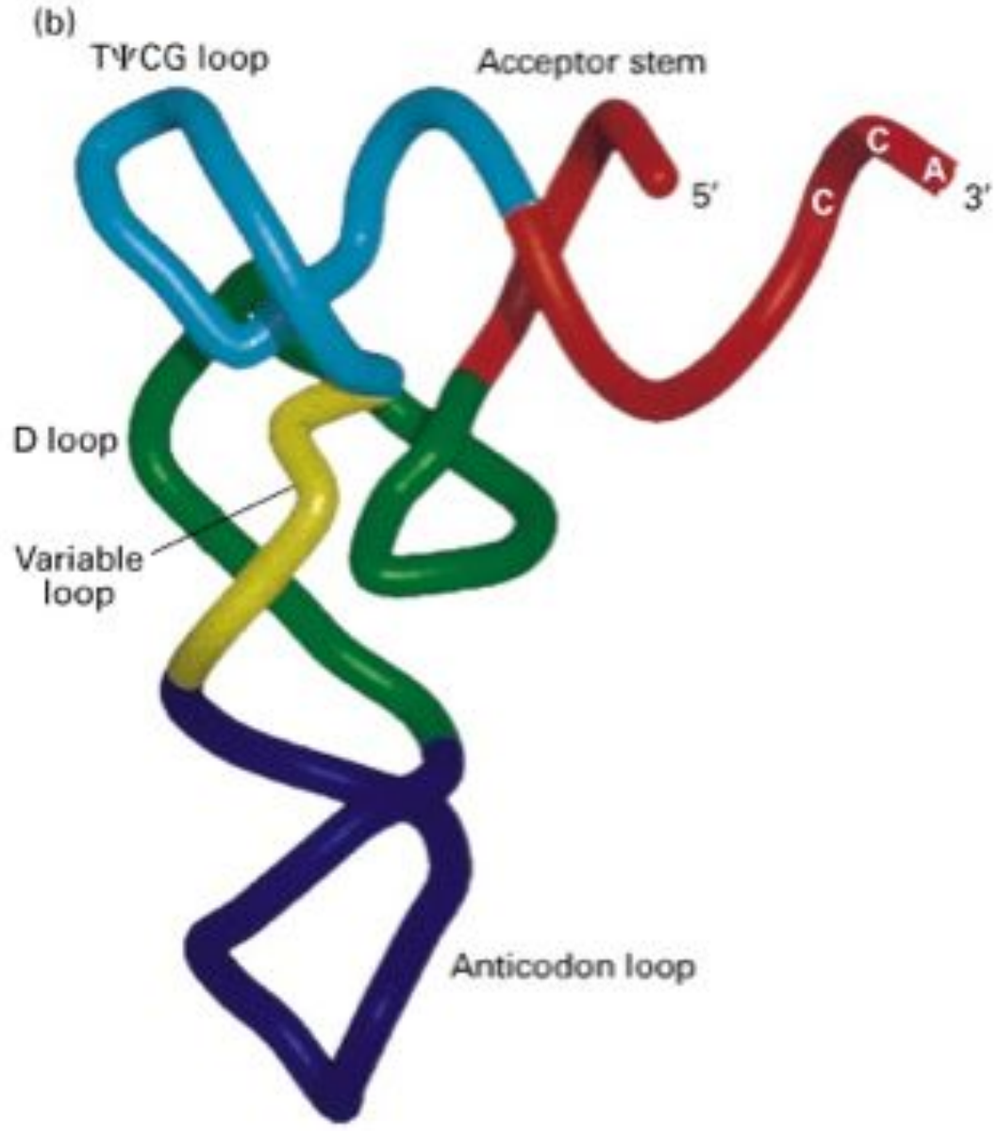


- Пирролизин (UGA)



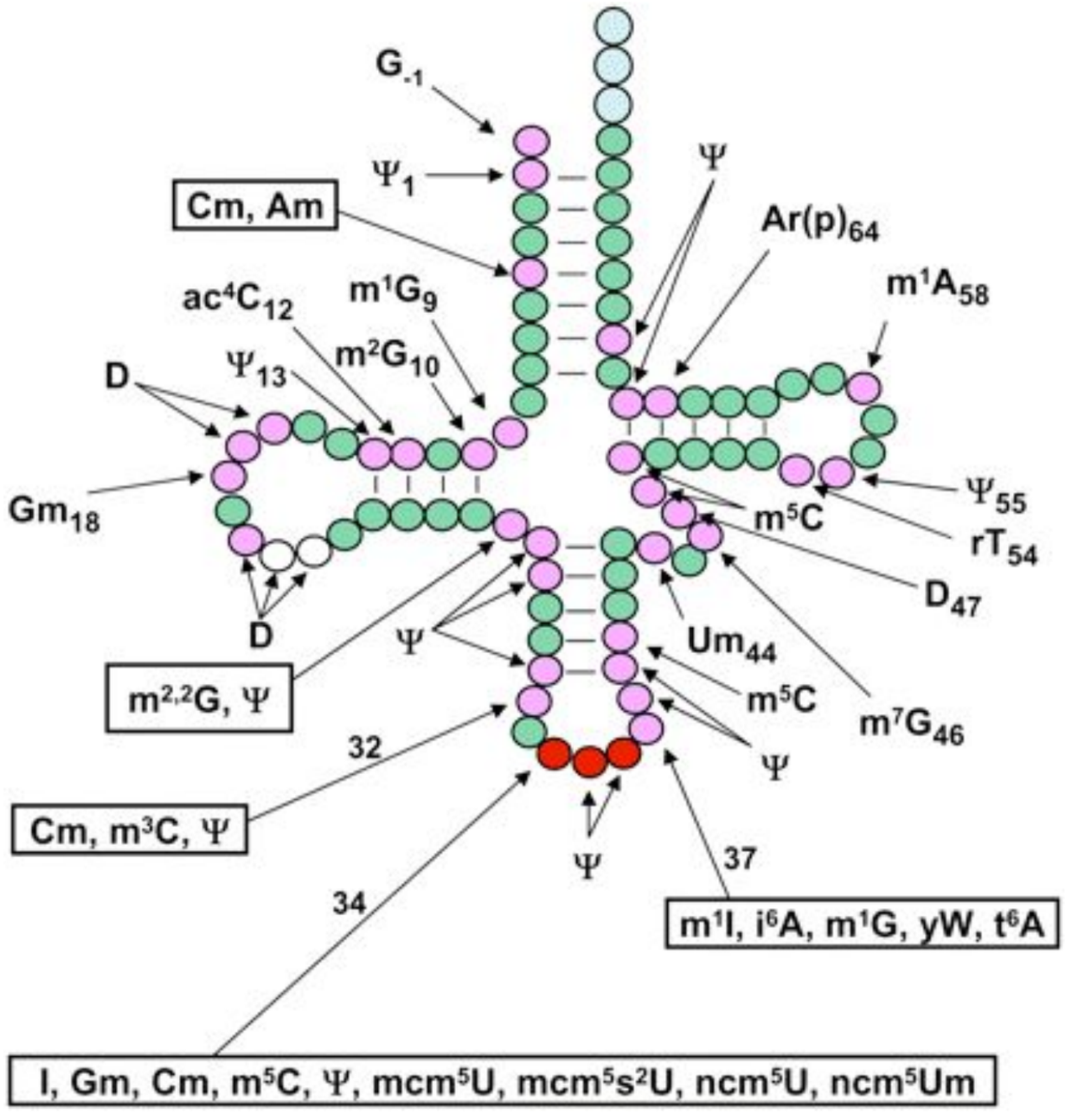
Пространственная структура тРНК





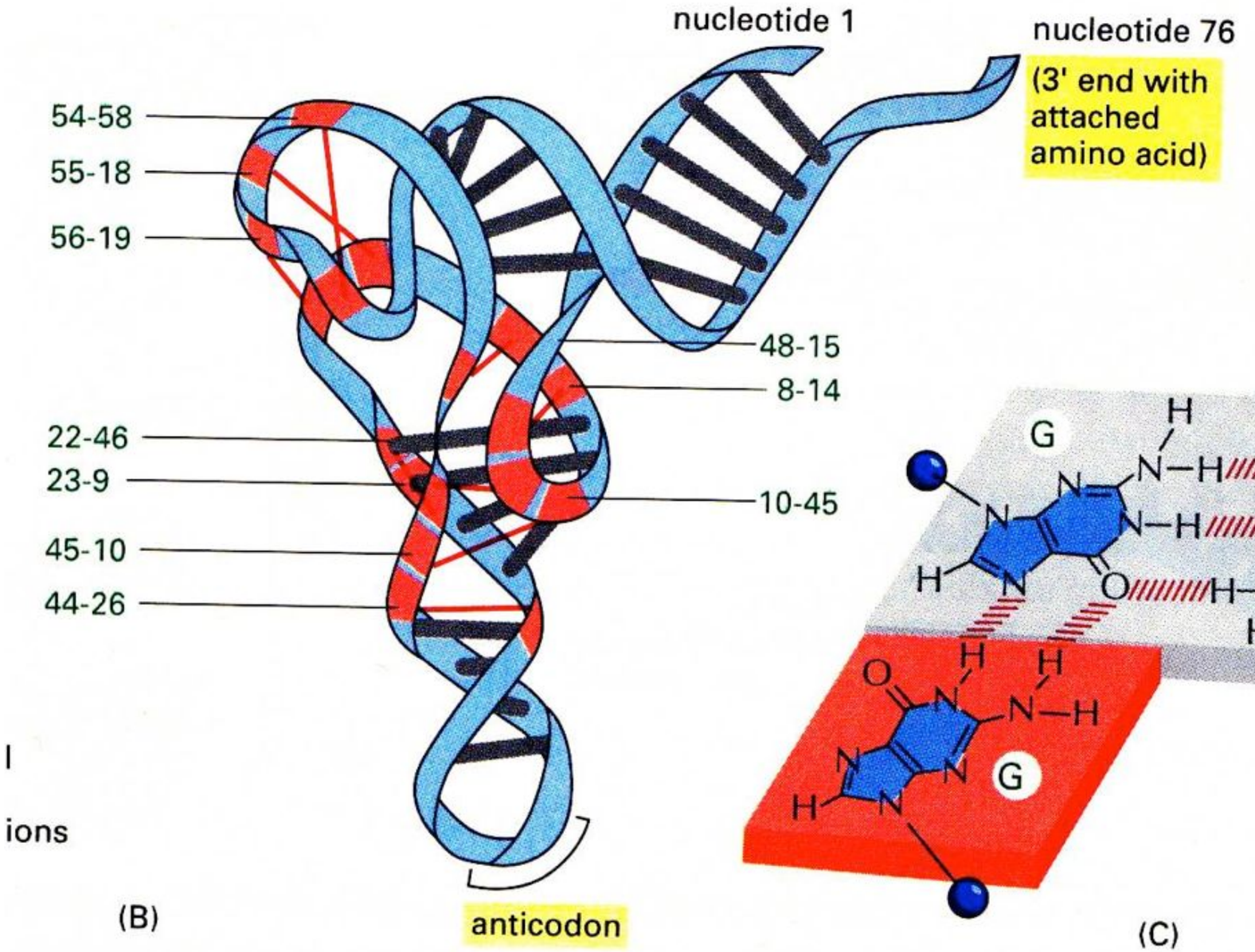
Модифицированные нуклеотиды в тРНК

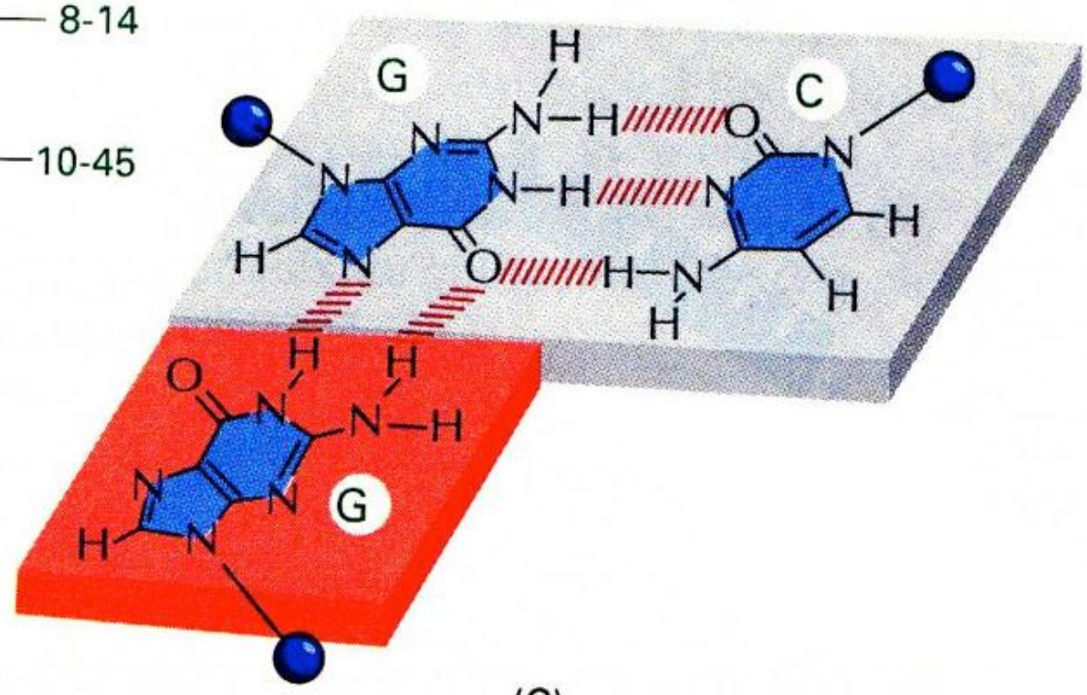
- 2’-O-methyl (A, C, U, G)
- m^7G, m^1G, m^2G, $m^{2,2}G$, m^5C, m^3C
- I, ψ, W, rT, D
- 4-Ac-A
- …



http://modomics.genesilico.pl/

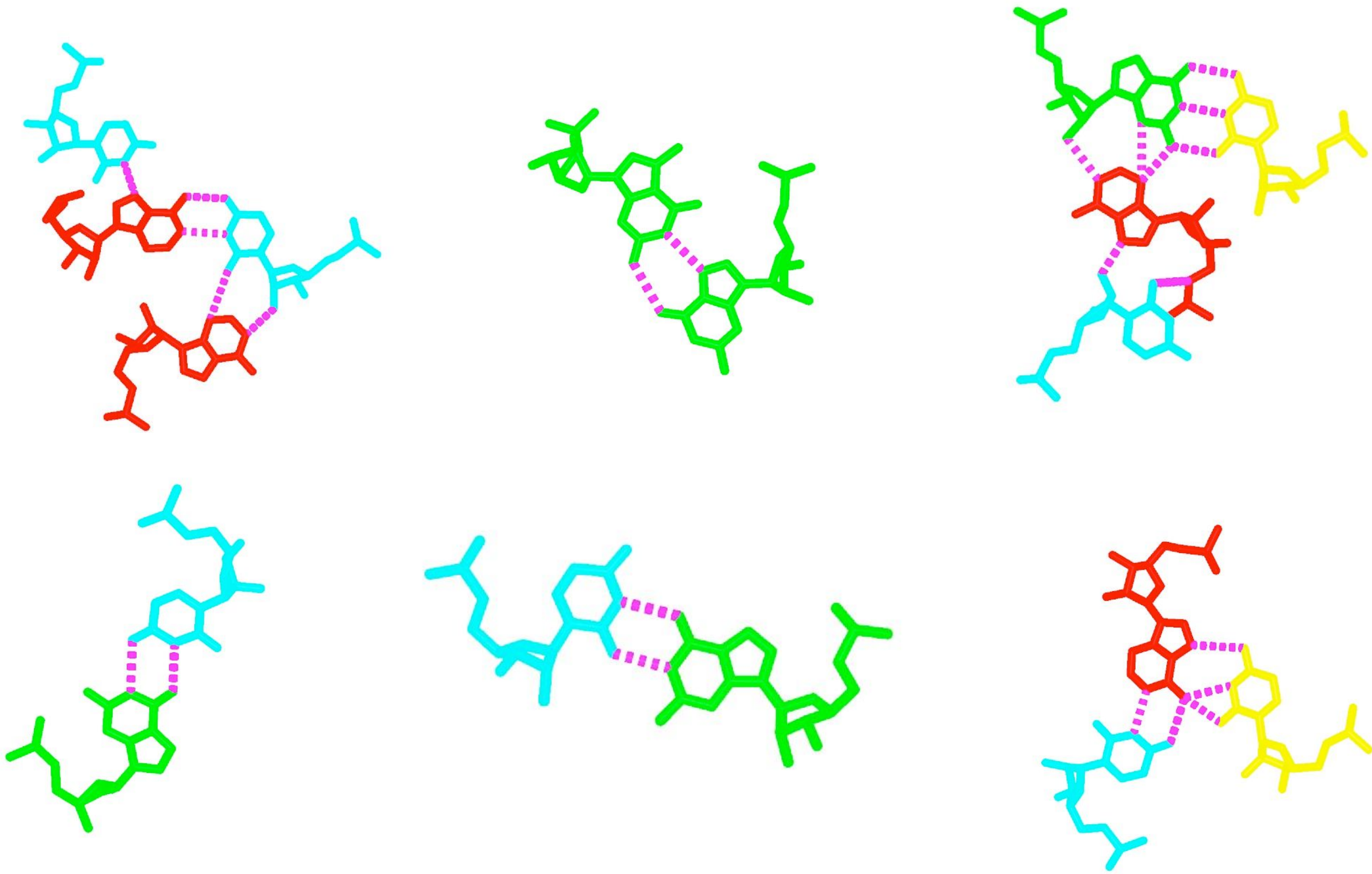
Неканонические структуры в РНК





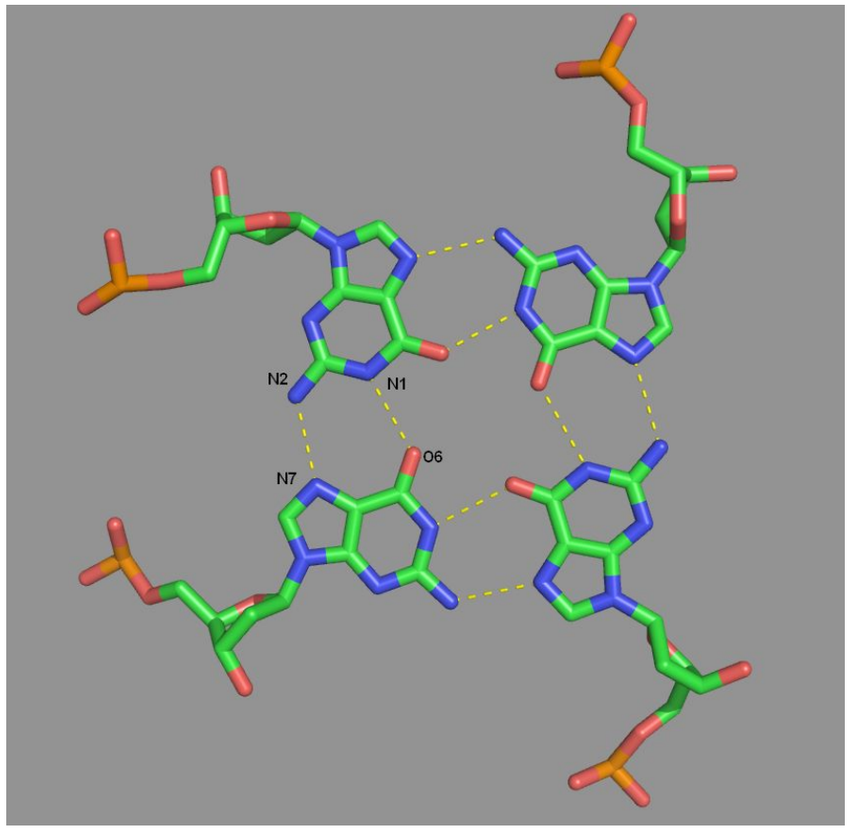
(C)

Неканонические пары в тРНК

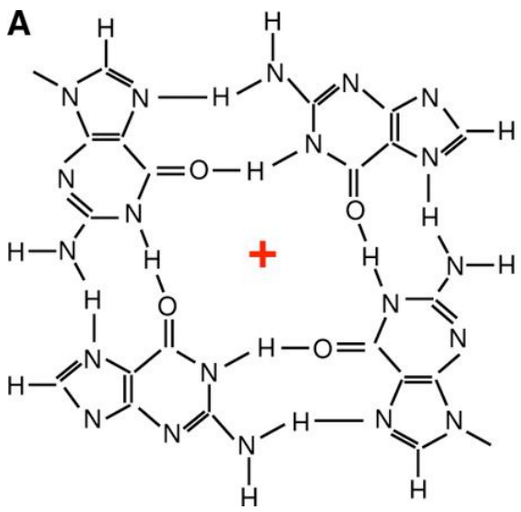


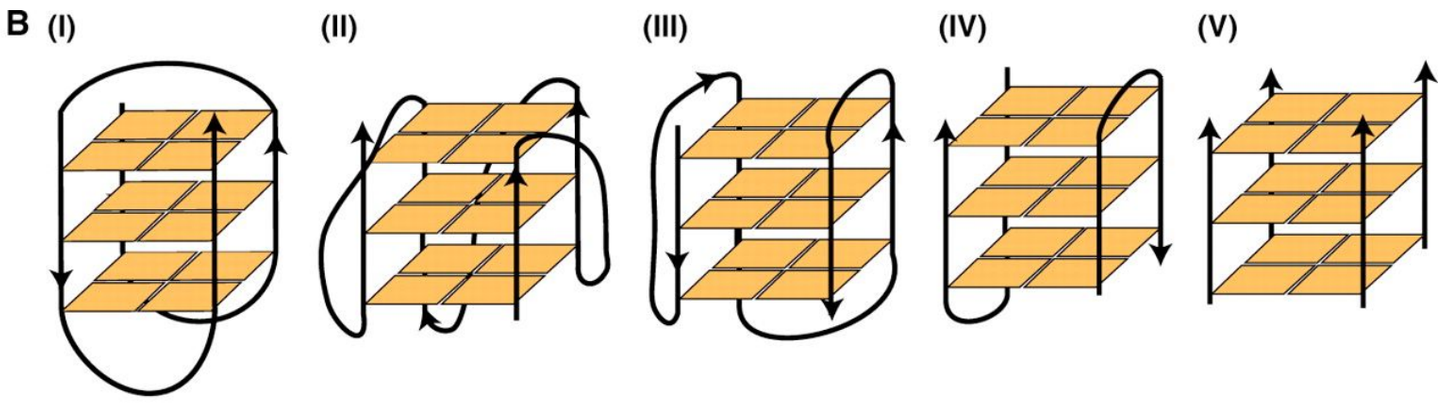
http://bps.rutgers.edu/bps

G-Quadruplex

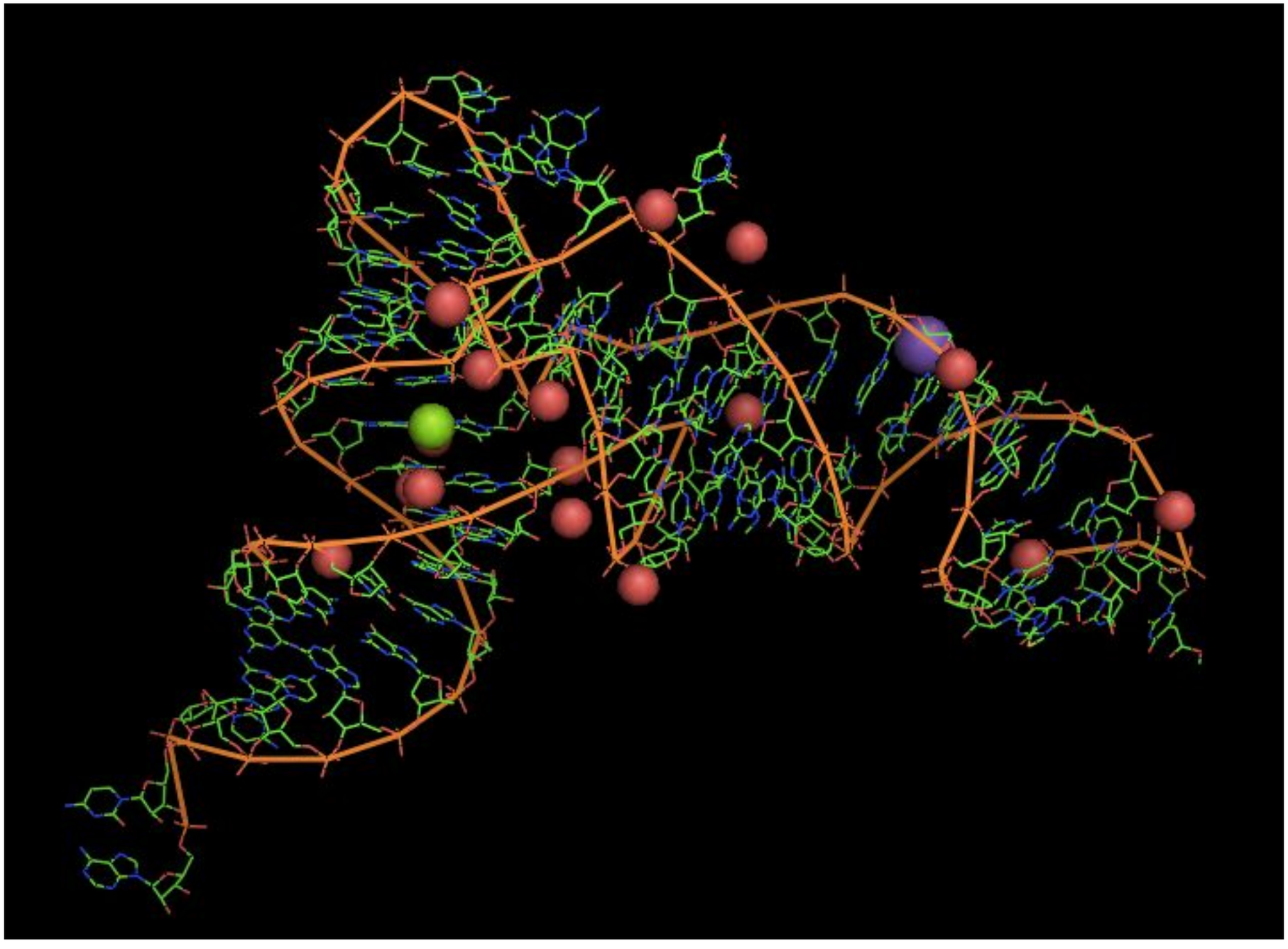


- Внутримолекулярные и межмолекулярные
- Теломеры
- Промоторы
- мРНК



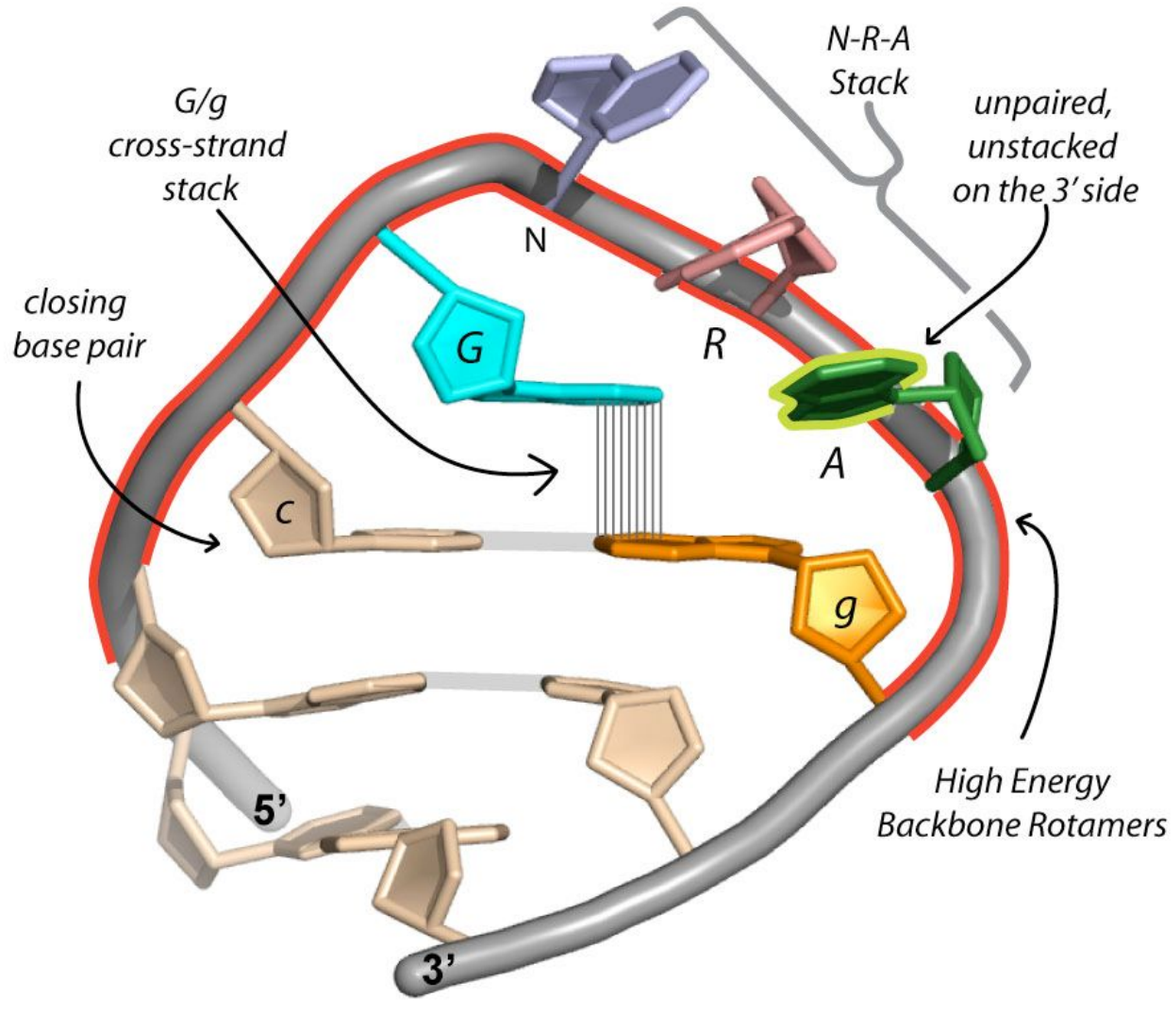


Неорганические ионы в структуре тРНК

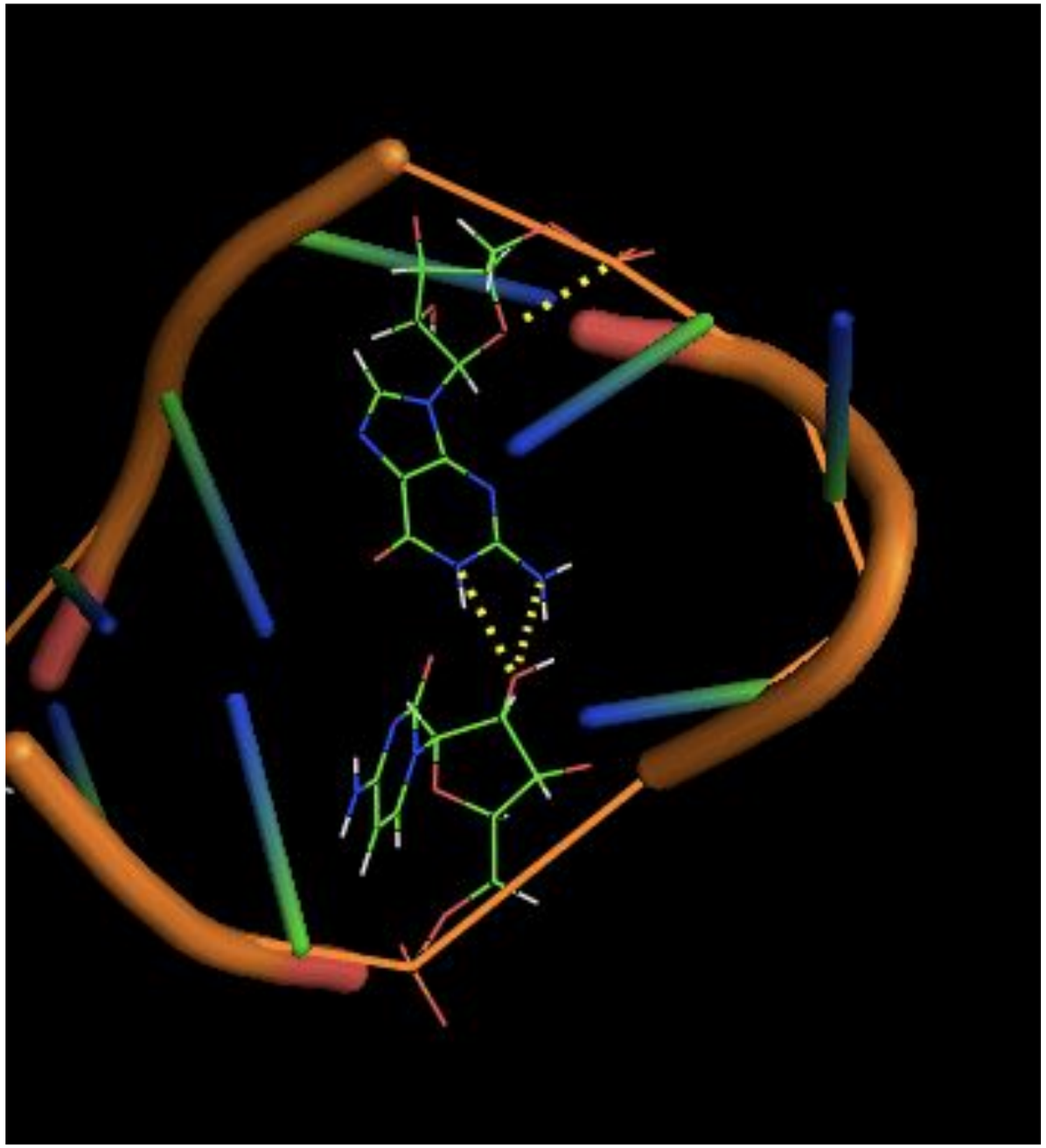


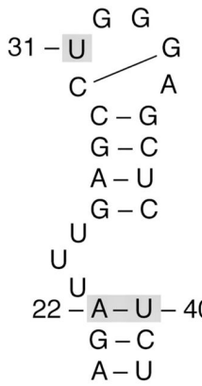
Стабильные тетралупы

- GNRA-tetraloop
- Стабилизируется стекинг-взаимодействиями

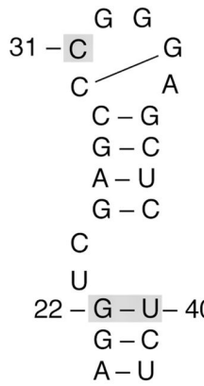


TAR HIV-1

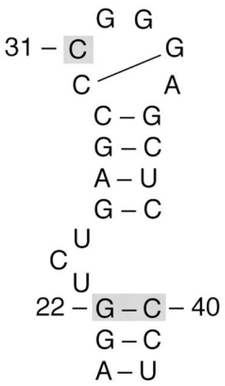




HIV-1: LAI (B)

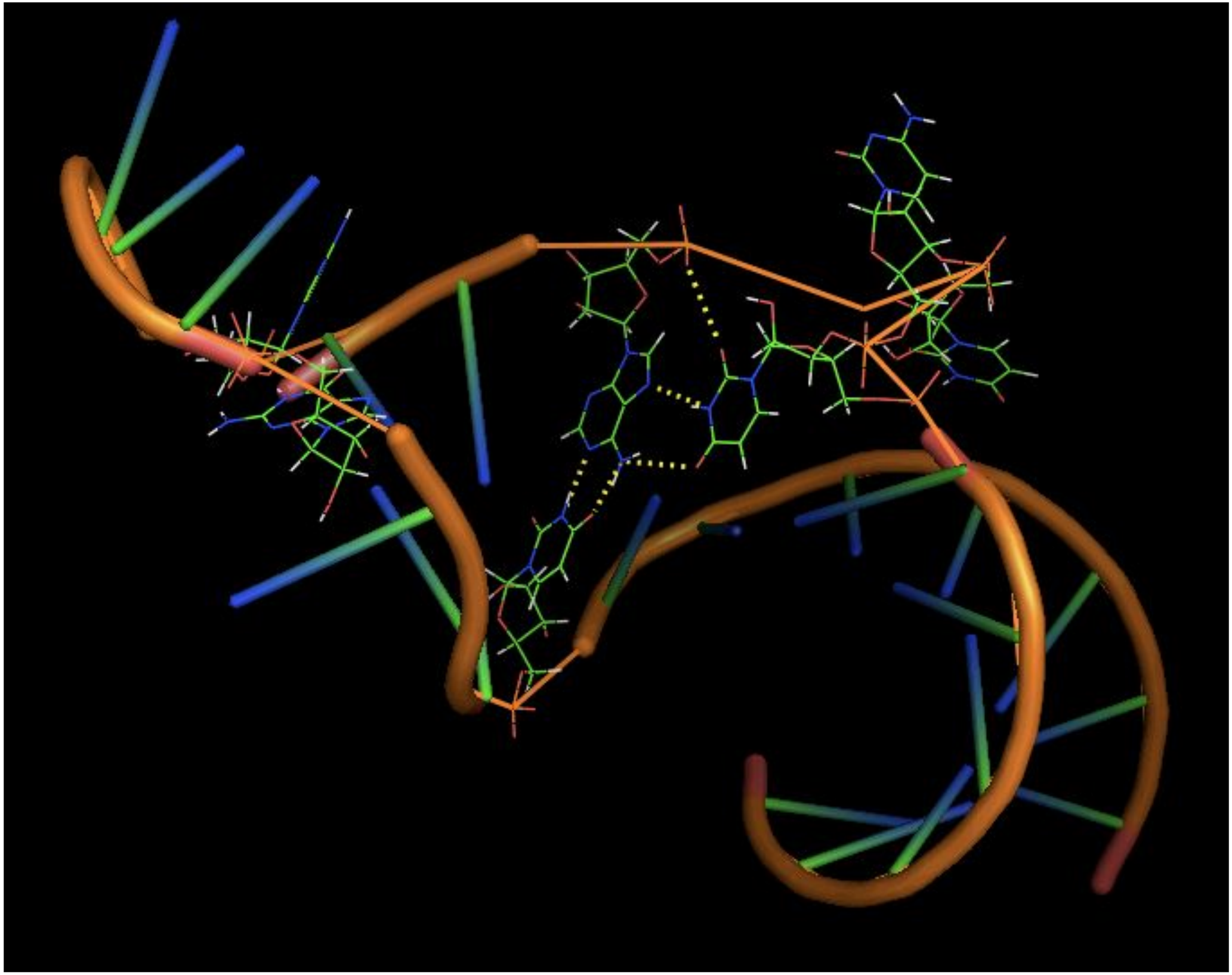


HIV-1: subtype A and E



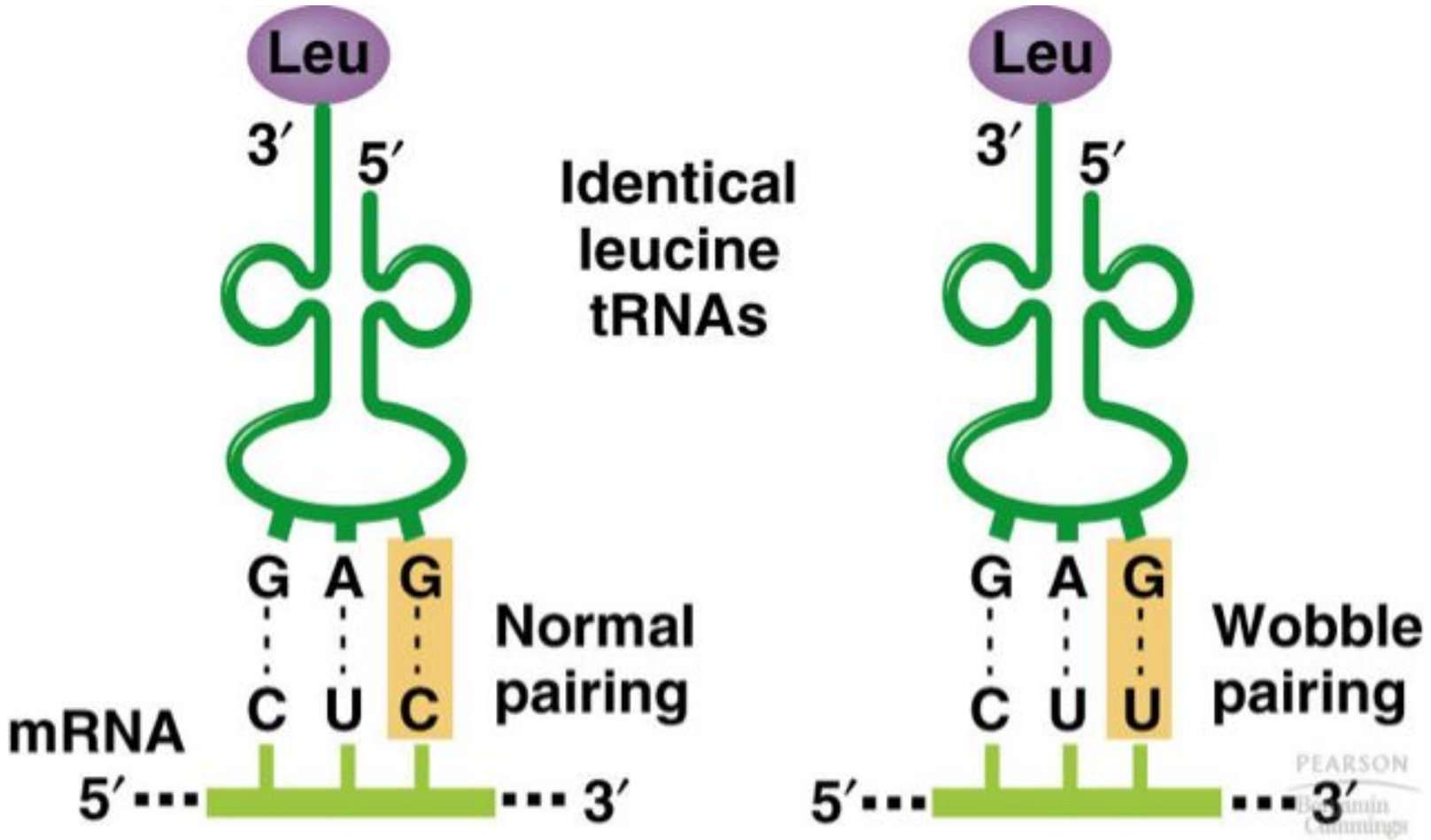
HIV-1: O group

Triple contact in TAR



Как 38 тРНК могут «обслуживать» 61 кодон?!

Wobble-гипотеза (F.Crick, 1966)



- Объясняет, почему тРНК меньше, чем кодонов

Варианты wobble-взаимодействий

Table 6.1 **Wobble in the Genetic Code**

Nucleotide at 5′ End of Anticodon		Nucleotide at 3′ End of Codon
G	can pair with	U or C
C	can pair with	G
A	can pair with	U
U	can pair with	A or G
I (inosine)	can pair with	A, U, or C

PEARSON Benjamin Cummings

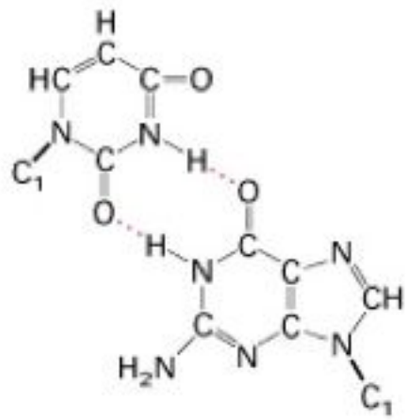
Revised wobble rules

Nucleotide of anticodon	Third nucleotide of codon
G	C, U
C	G
A	U, C, (A), G
U	A, U, G, (C)
I	U, C, A
xm^5s^2U, xm^5U^5, Um, xm^5U	A, (G)
xo^5U	U, A, G
k^2C	A

(b)

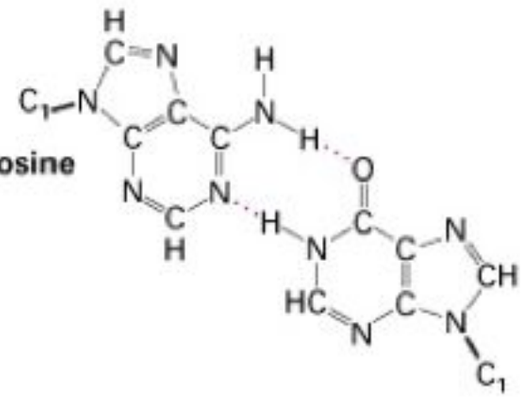
Неканонические пары в кодон-антикодоновом взаимодействии

Uridine



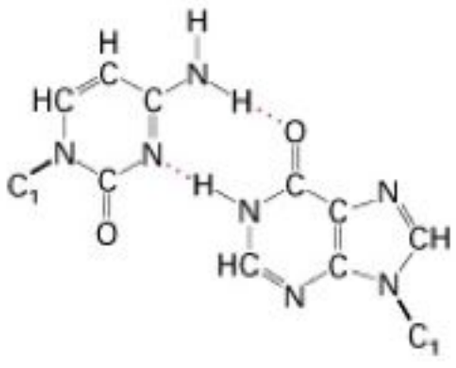
Guanine

Adenosine



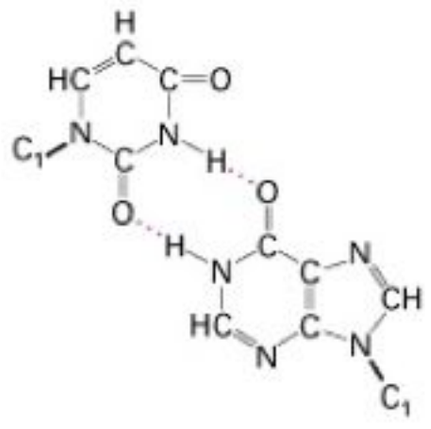
Inosine

Cytidine



Inosine

Uridine



Inosine

3 $tRNA^{Ser}$ - 6 триплетов

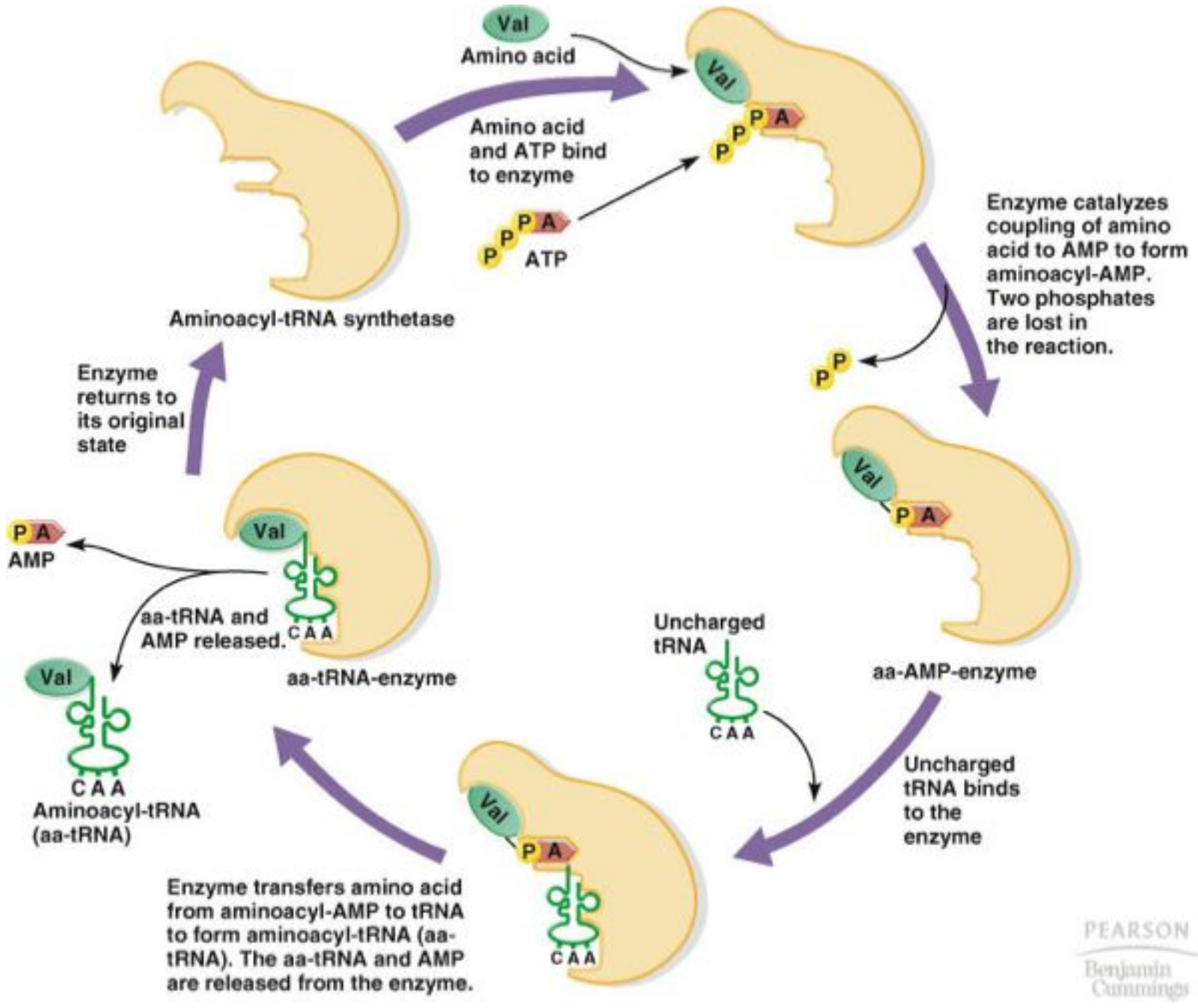
Table 9-2 Different tRNAs That Can Service Codons for Serine

tRNA	Anticodon	Codon
$tRNA^{Ser}_1$	ACG + wobble	UCC UCU
$tRNA^{Ser}_2$	AGU + wobble	UCA UCG
$tRNA^{Ser}_3$	UCG + wobble	AGC AGU

Table 9-2
Introduction to Genetic Analysis, Ninth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Кто заметил ошибку на предыдущем слайде? :)

Аминоацил-тРНК синтетазы

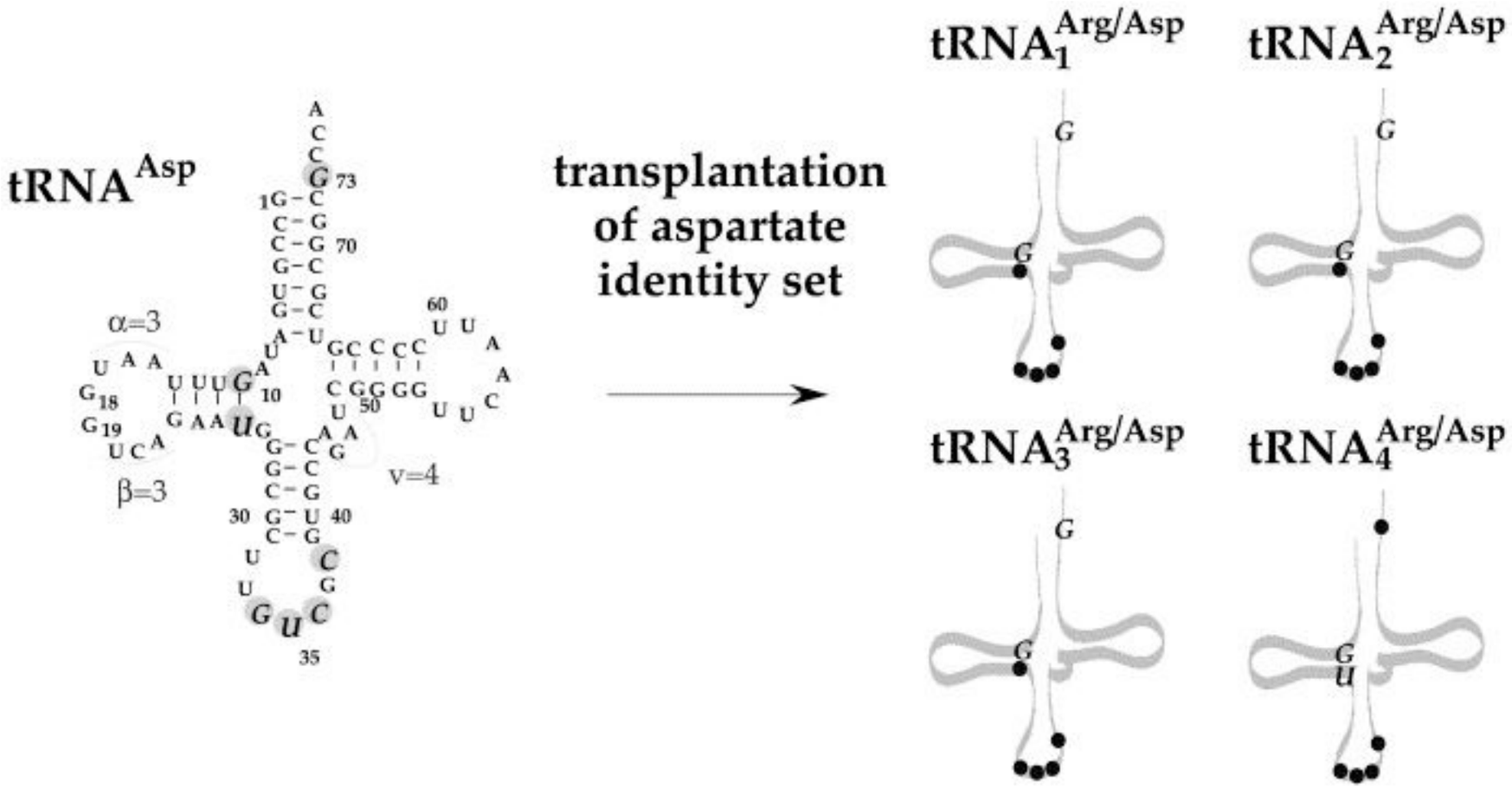


- Некоторые ARSase могут деацилировать неправильно ацилированные тРНК

У вас должны были возникнуть вопросы:

- К какому концу тРНК пришивается аминокислота?
- Как аминоацил тРНК синтетаза распознает свою тРНК?

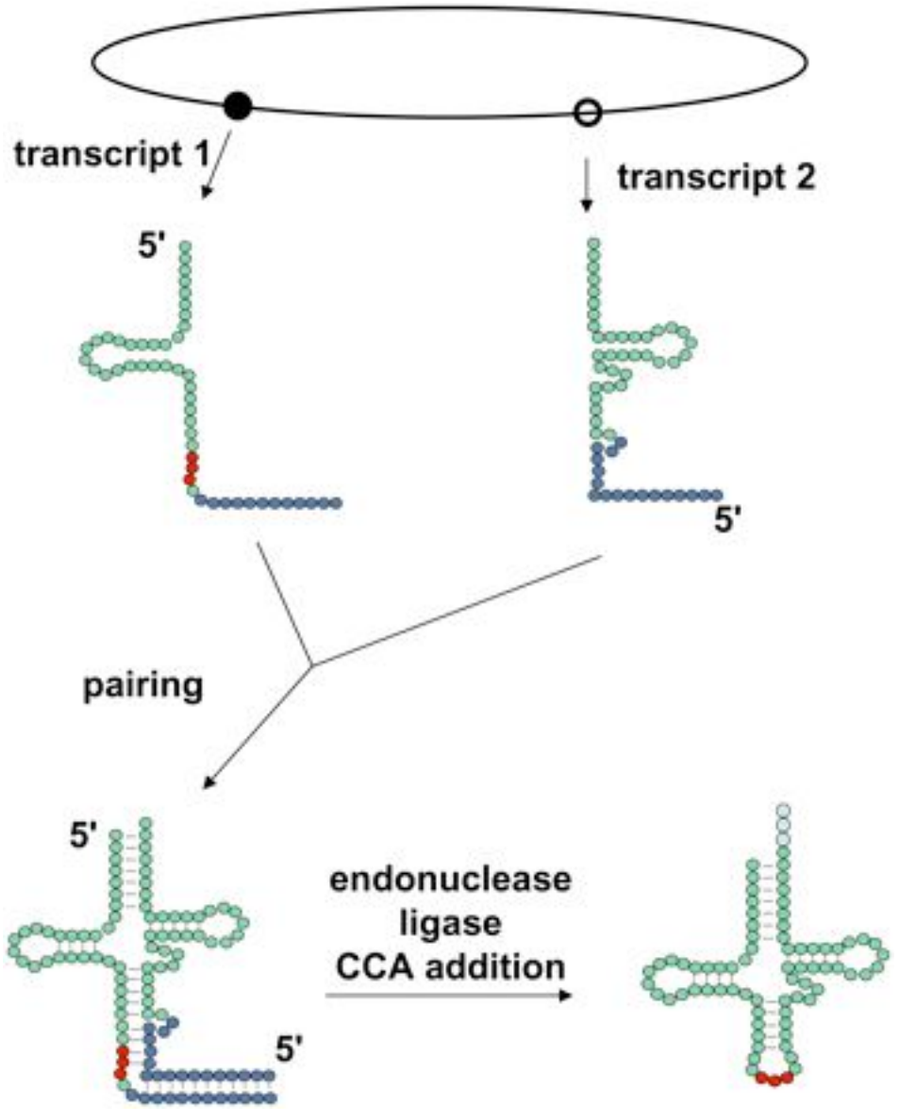
Identity Elements



Изменяя identity elements, можно обмануть ARSase - и она начнет навешивать не ту аминокислоту

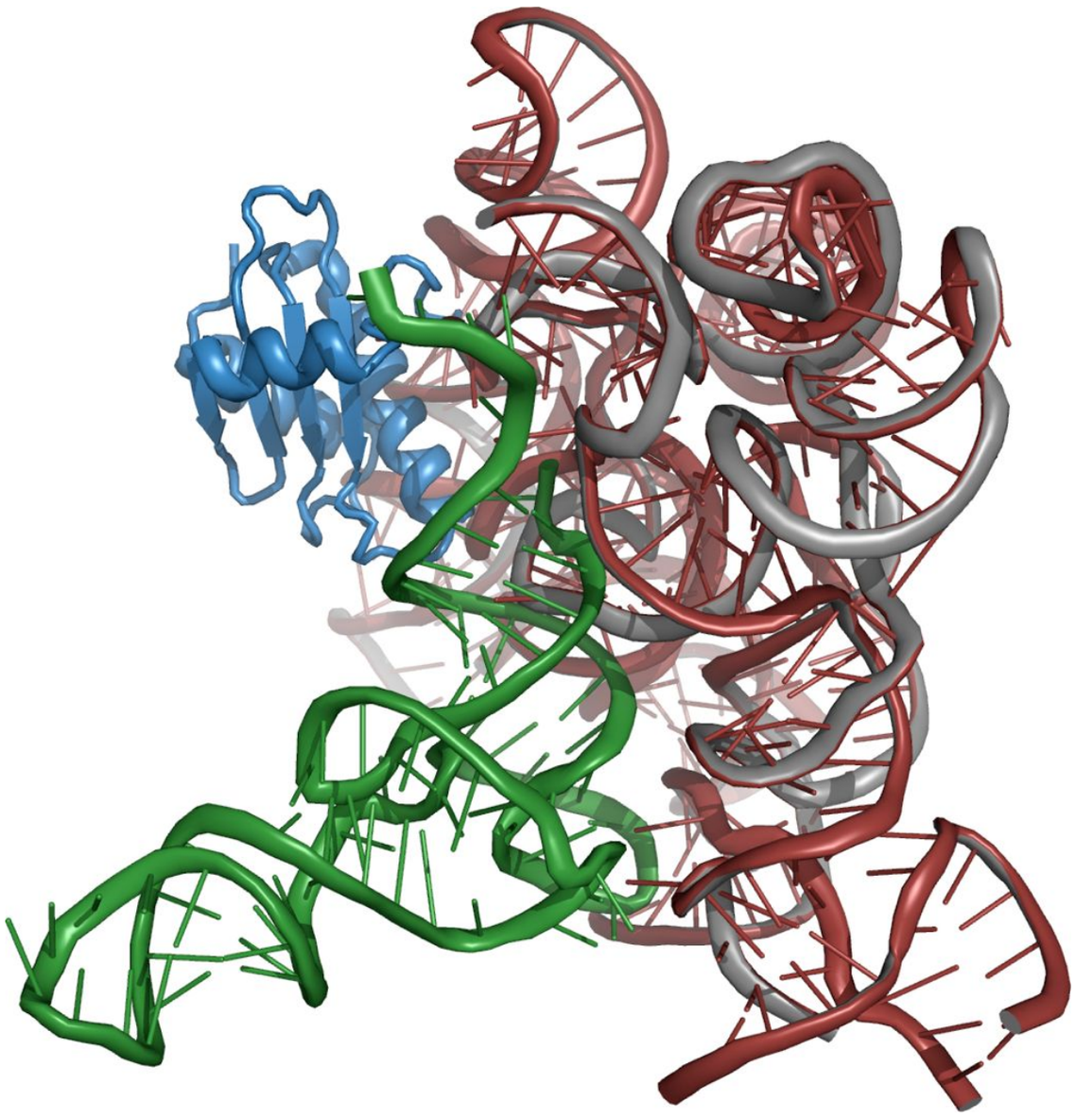
Созревание тРНК *N. equitans*

- Две половинки тРНК закодированы в разных генах на разных хромосомах

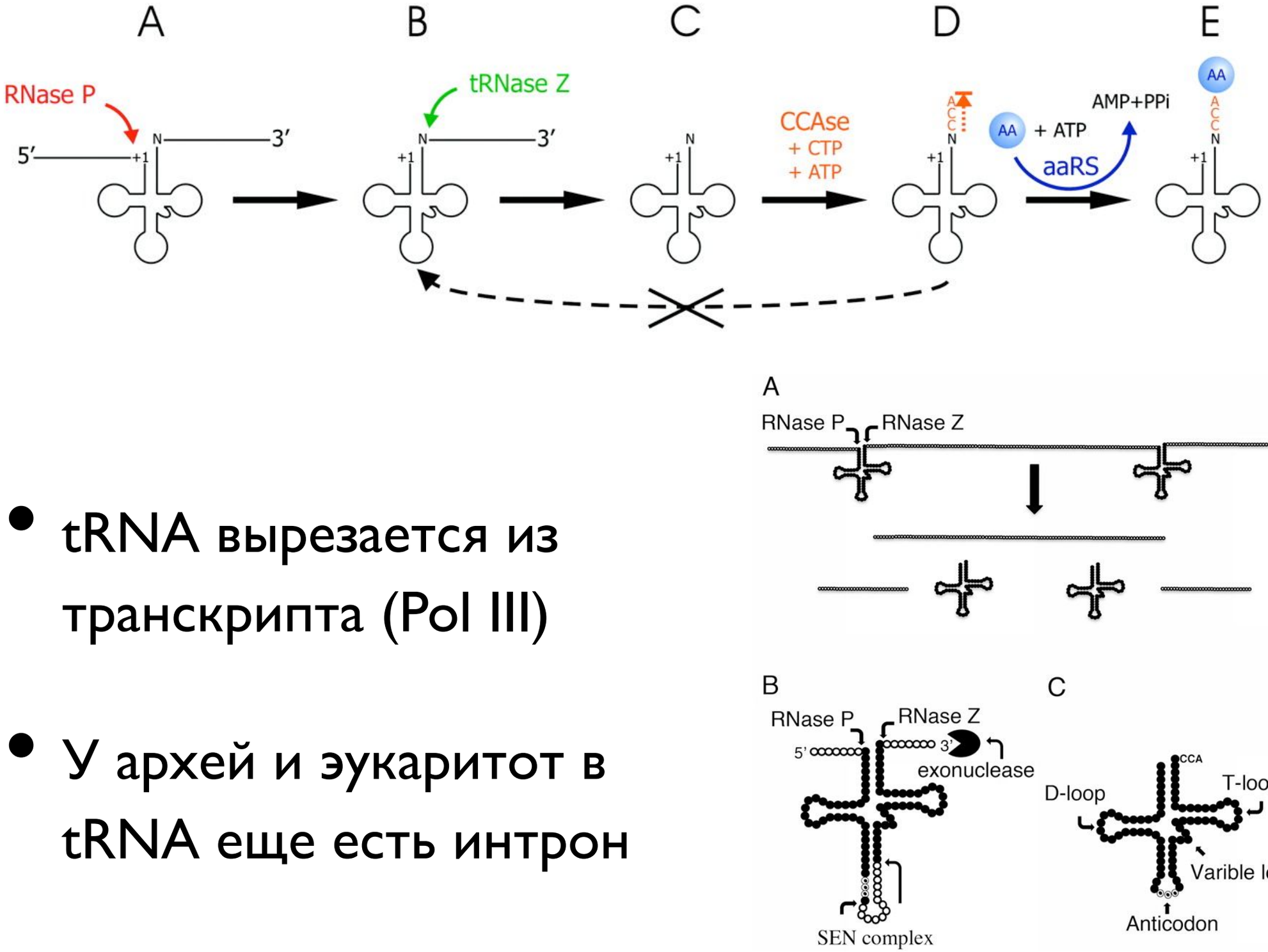


RNAse P

- RNP - рибонуклеопротеин
- RNAse P - рибозим
- Но! RNAse P из митохондрий человека не содержит RNA



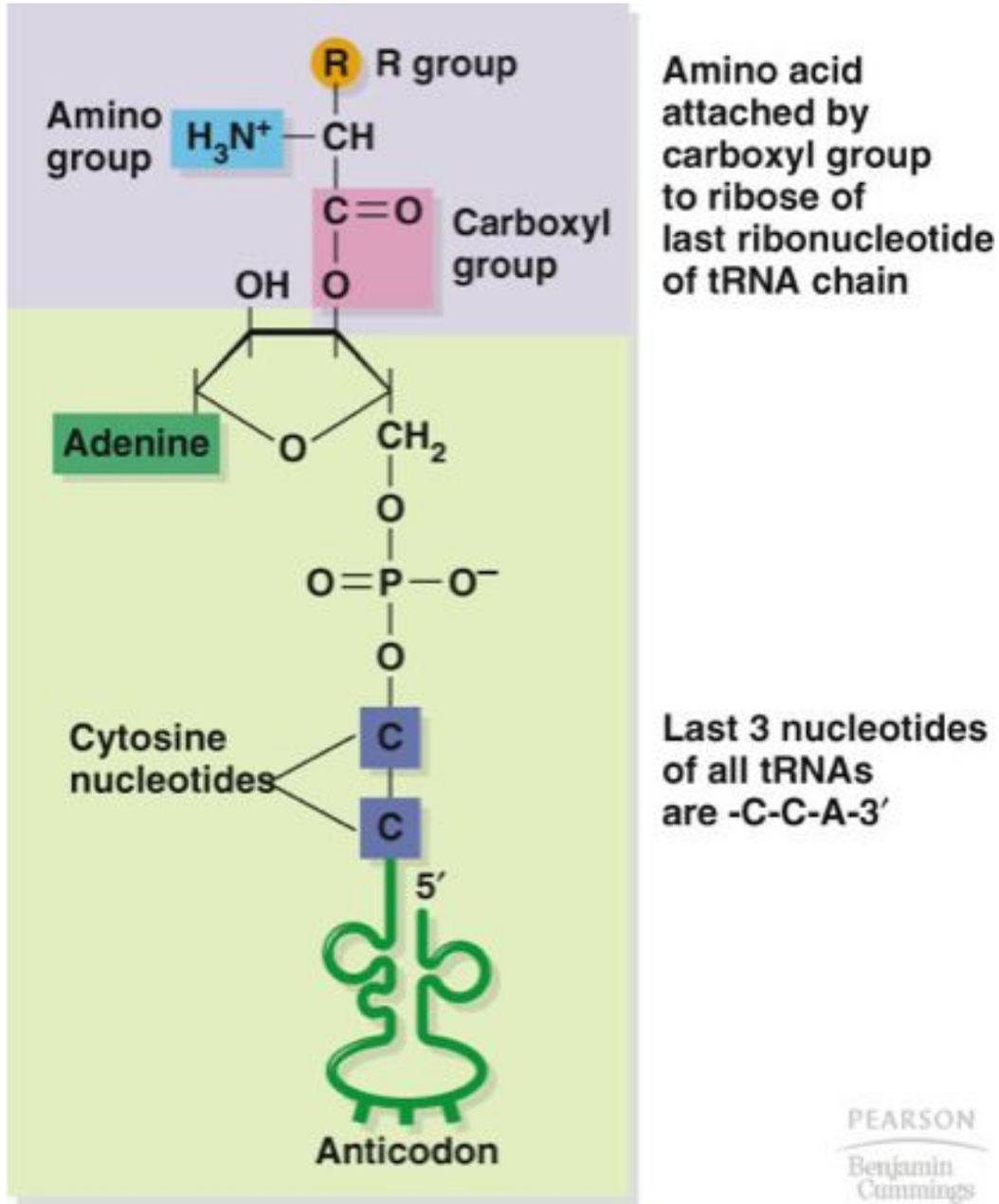
Процессинг тРНК



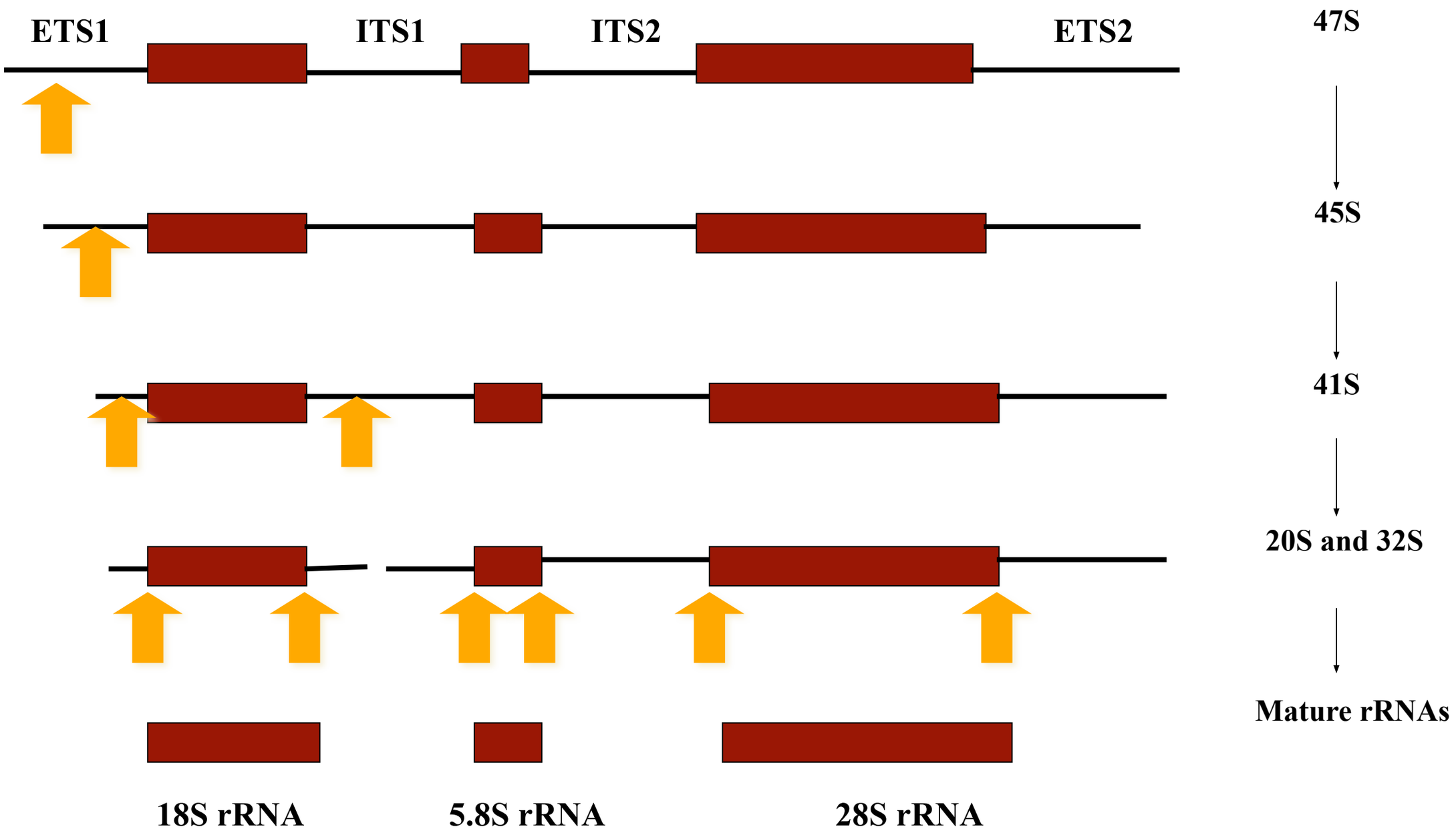
- tRNA вырезается из транскрипта (Pol III)
- У архей и эукаритот в tRNA еще есть интрон

Аминоацил-тРНК

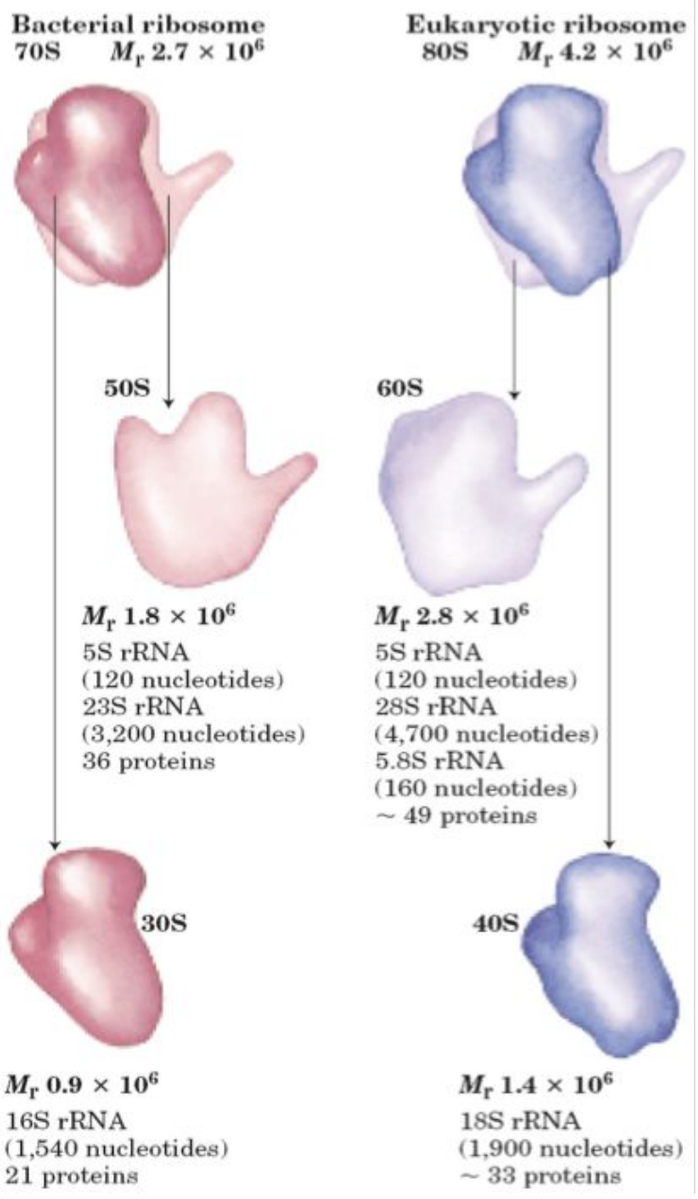
- На 3’-конце всех тРНК находится CCA-триплет
- Он не закодирован в ДНК, а довешивается пост-транскрипционно



Процессинг рибосомных РНК



Сравнение прокариотических и эукариотических рибосом

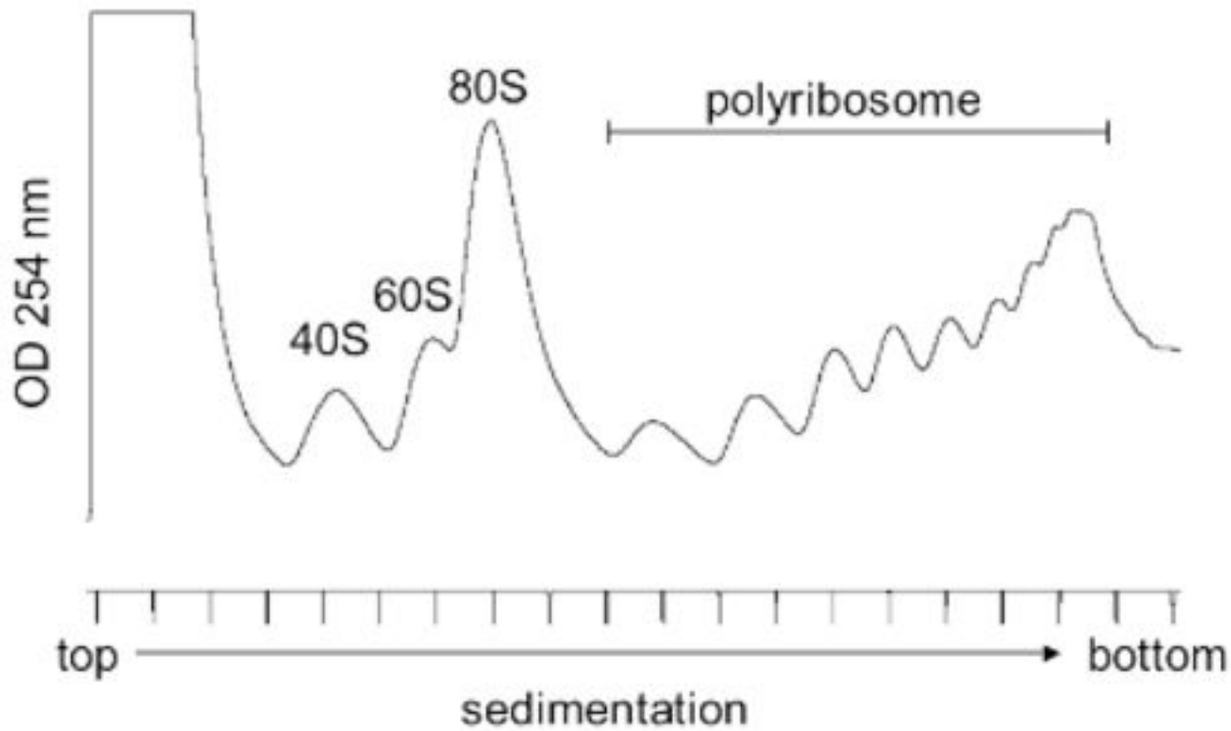


Prokaryotic[a]		Eukaryotic[b]	
Component	Mass, kDa	Component	Mass, kDa
Small (30S) subunit	850	Small (40S) subunit	1440
16S RNA	500	18S RNA	700
Proteins (21)	350 (total)	Proteins (~30)	740
Large (50S) subunit	1450	Large (60S) subunit	2800
23S RNA	950	28S RNA	1700
5S RNA	40	5.8S RNA	51
		5S RNA	39
Proteins (32–34)	460	Proteins (~46)	1010
Complete (70S) ribosome	2300	Complete (80S) ribosome	4240

[a] Data from Wittmann, H. G. (1982) *Ann. Rev. Biochem.* **51**, 155–183. Based on sequences of all components. Presence of spermine, K^+, etc., may add 10%.

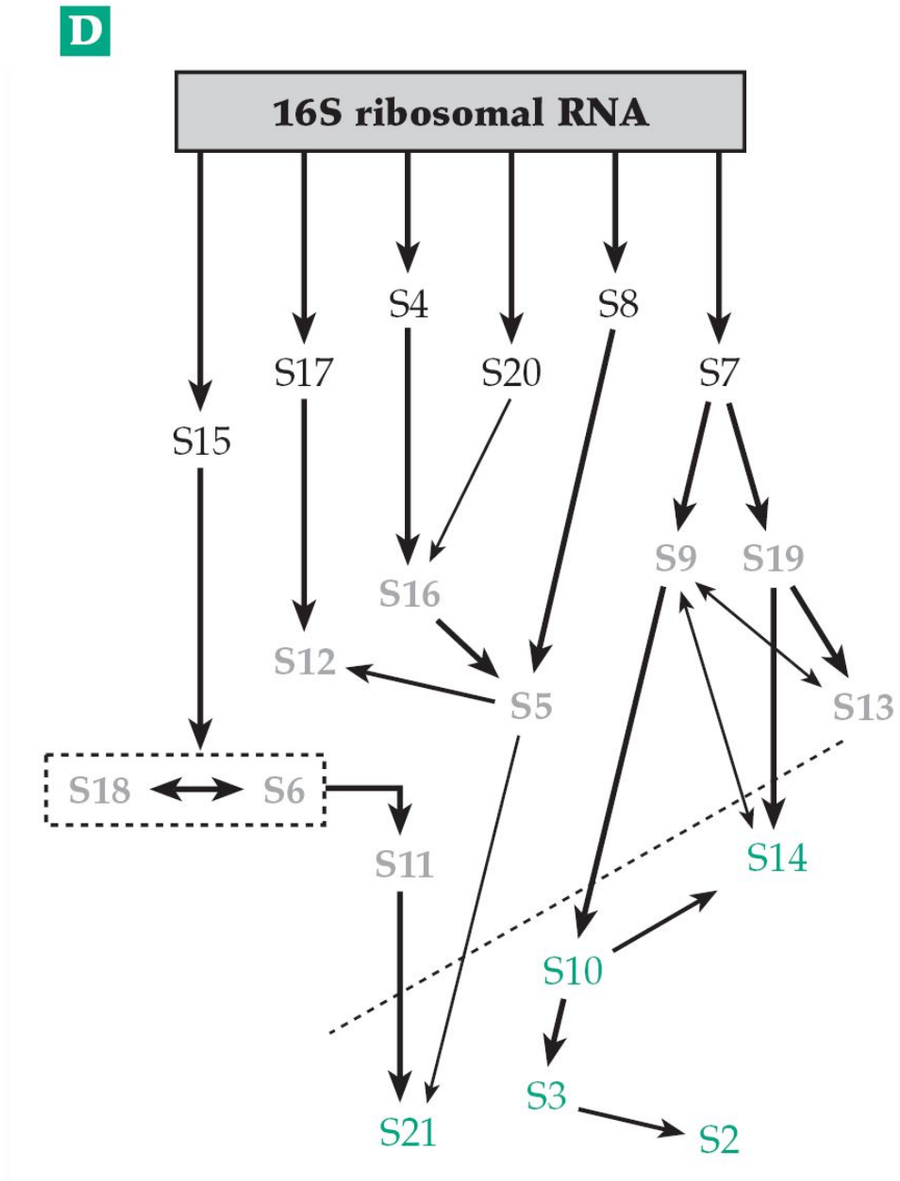
[b] Data from Freifelder, D. (1983) *Molecular Biology*, 2nd ed., Jones and Bartlett, Boston, Massachusetts (p. 419) and Mao, H., and Williamson, J. R. (1999) *J. Mol. Biol.* **292**, 345–349.

Центрифугирование в градиенте сахарозы



Коэффициент седиментации (S):
зависит от формы частицы
зависит от массы частицы

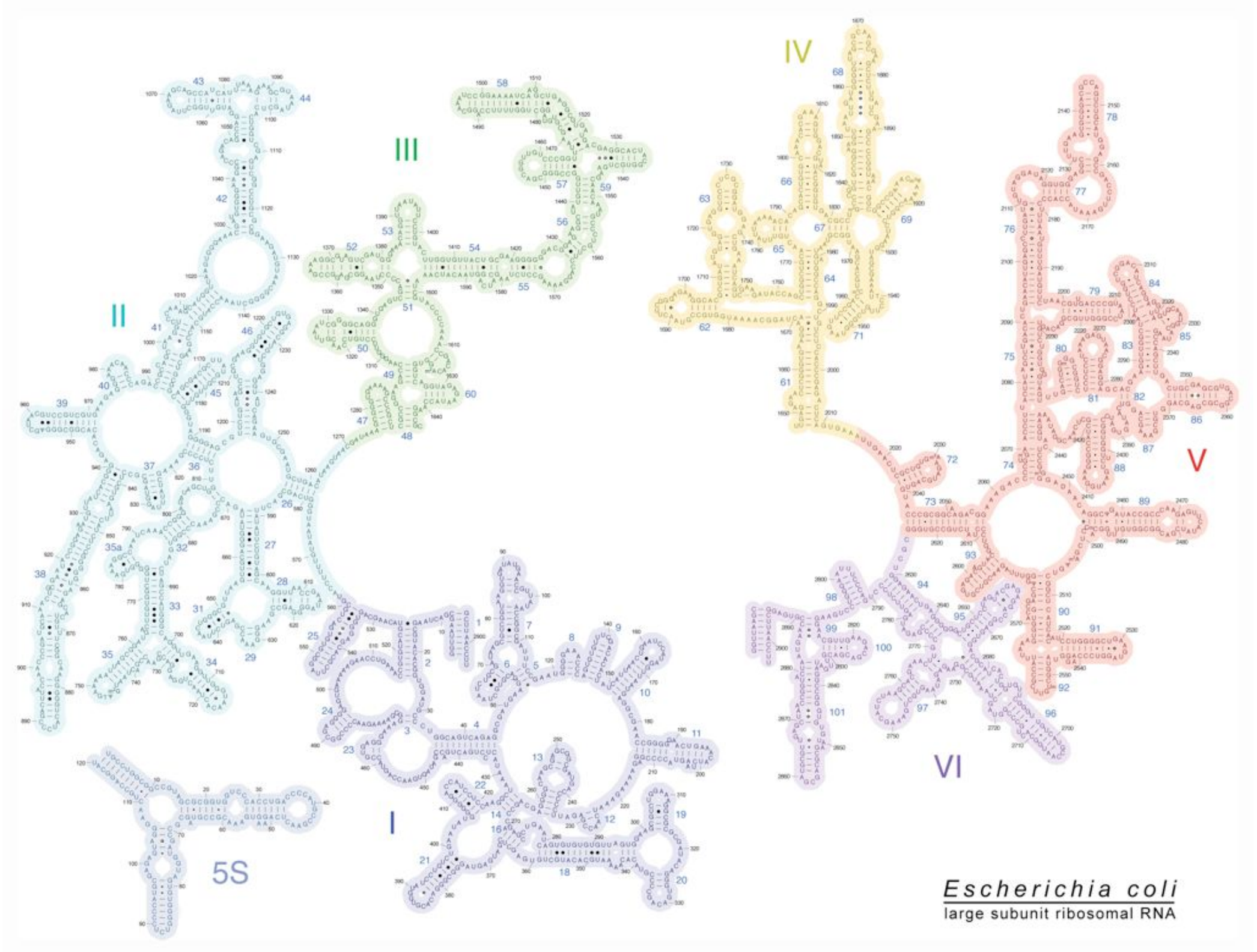
Сборка рибосомы



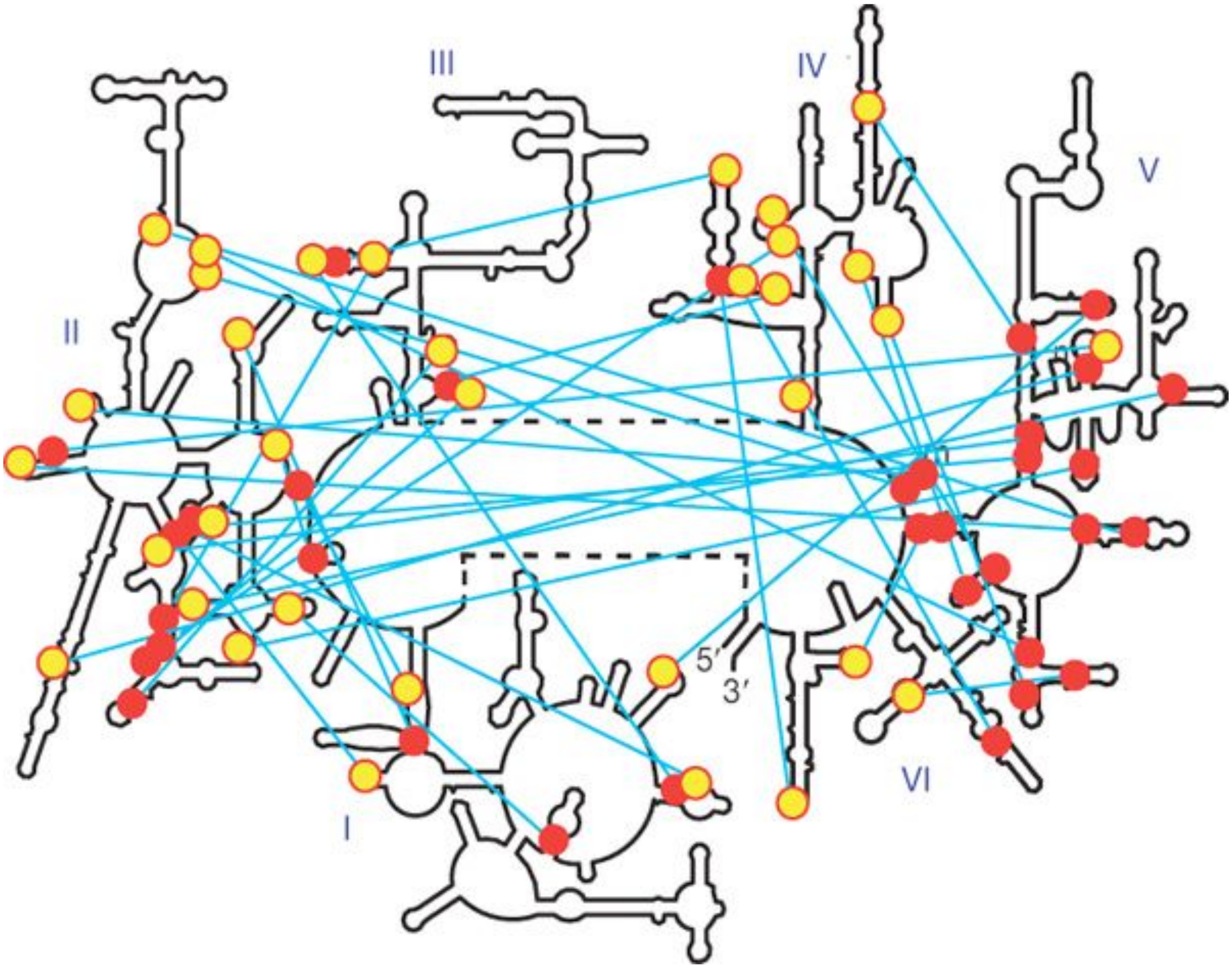
Masayasu Nomura

- Умение разбирать и собирать рибосому позволило локализовать на ней многие важные участки

23S rRNA


I
II
III
IV
V
VI
5S
Escherichia coli
large subunit ribosomal RNA

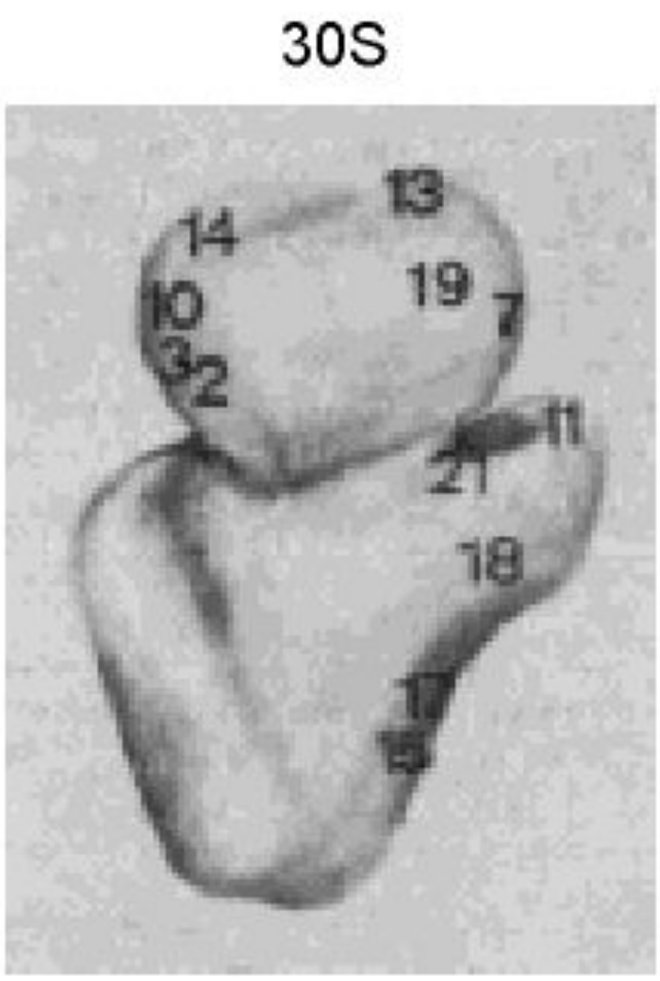
23S rRNA

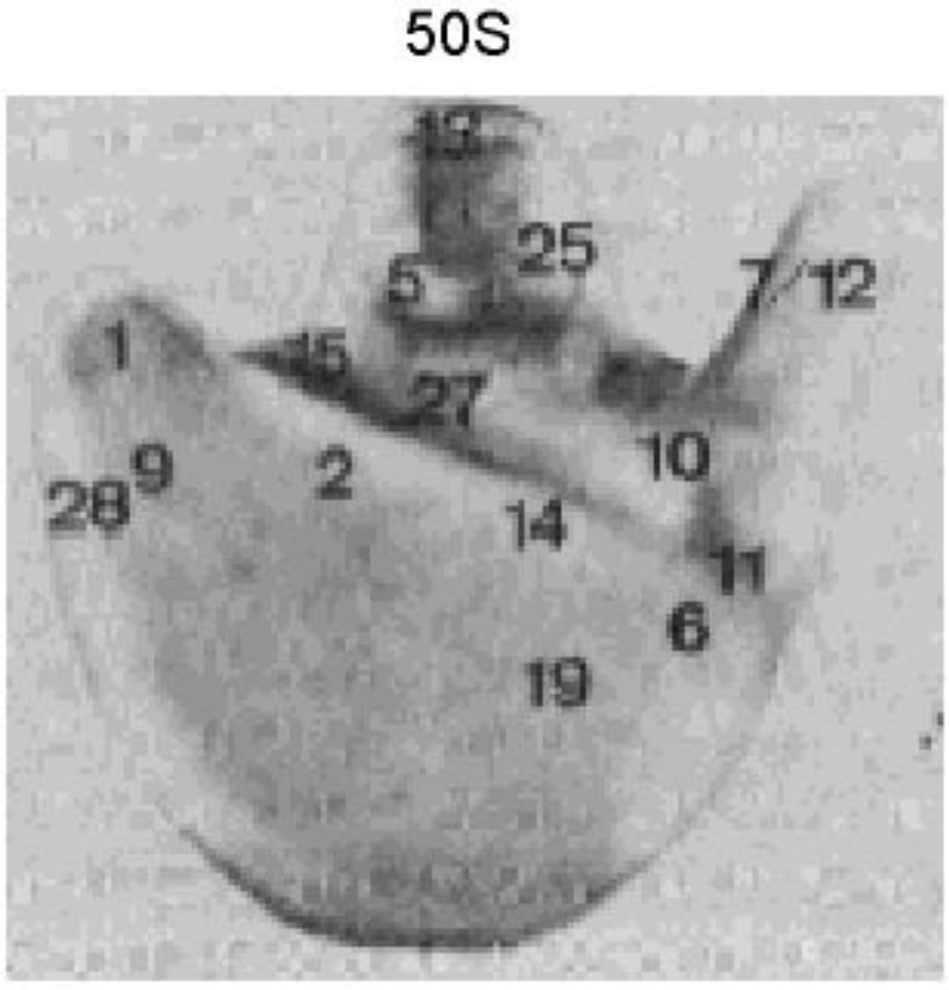


Структурный анализ рибосом

- 2000 - 70S из *Thermus thermophilis*, 3,3Å
- 2000 - 50S из *Haloarcula marismortui*, 2,4Å
- 2001 - 30S из *Thermus thermophilis* с IF1, 3,2Å
- 2004 - 80S из *Saccharomyces cerevisiae* со связанным eEF2, 11,7Å, cryo-EM
- 2009 - 80S из *Thermomyces lanuginosus*, 8,9Å, cryo-EM
- 2010 - 80S из *Triticum aestivum*, 5,5Å, cryo-EM
- 2011 - 80S из *Saccharomyces cerevisiae*, 3Å
- 2011 - 40S из *Tetrahymena thermophila* со связанным с ней eIF1, 3,9Å
- 2013 - 60S из *Tetrahymena thermophila* со связанным с ней eIF6, 3,5Å
- 2013 - 80S из Trypanosoma brucei, 5Å, cryo-EM

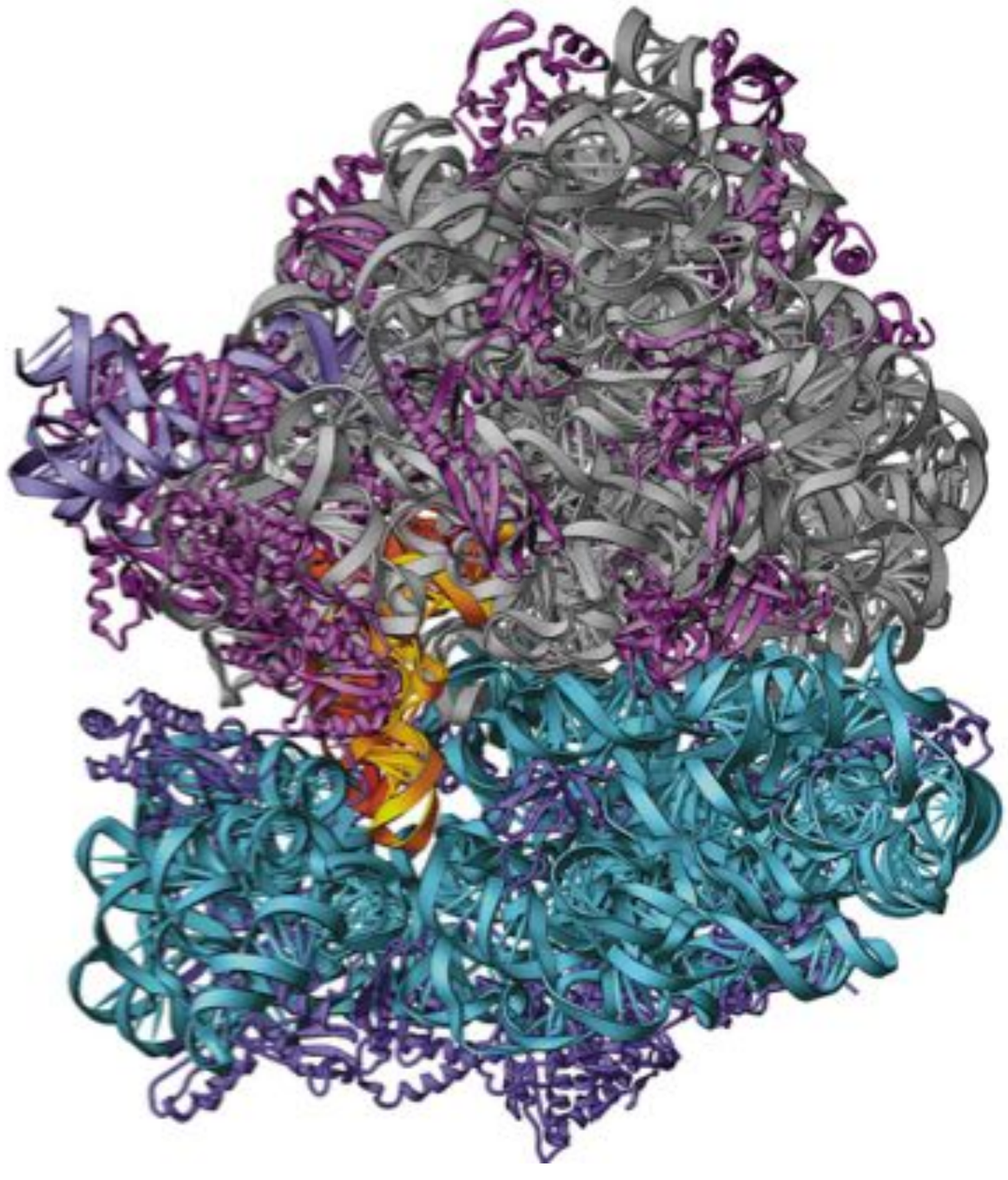
Рибосома *E.coli* (конец 80-х)



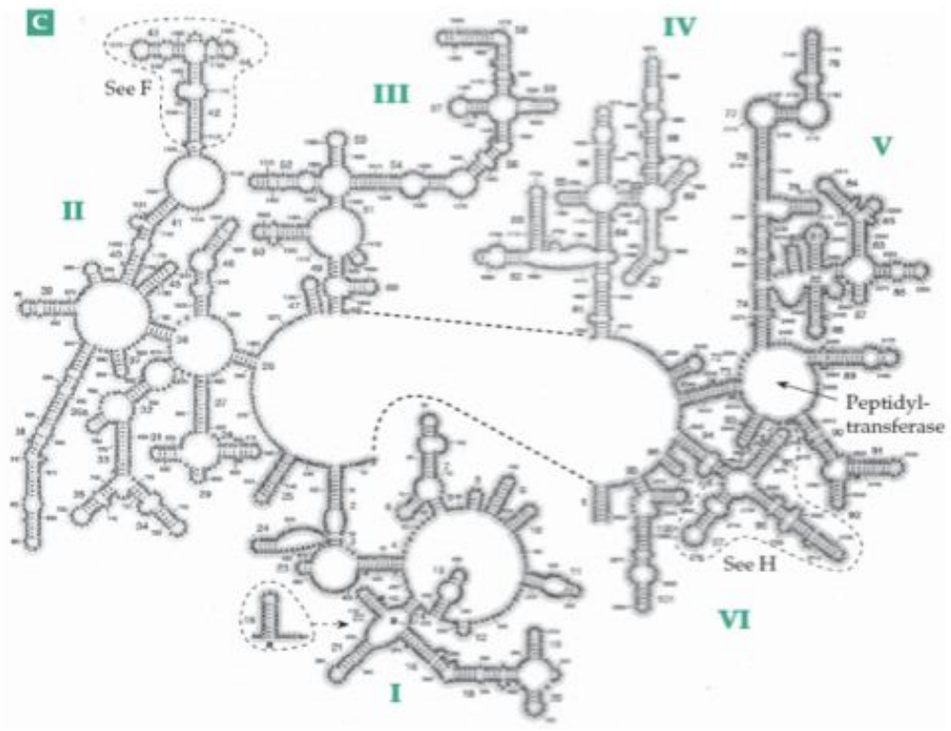


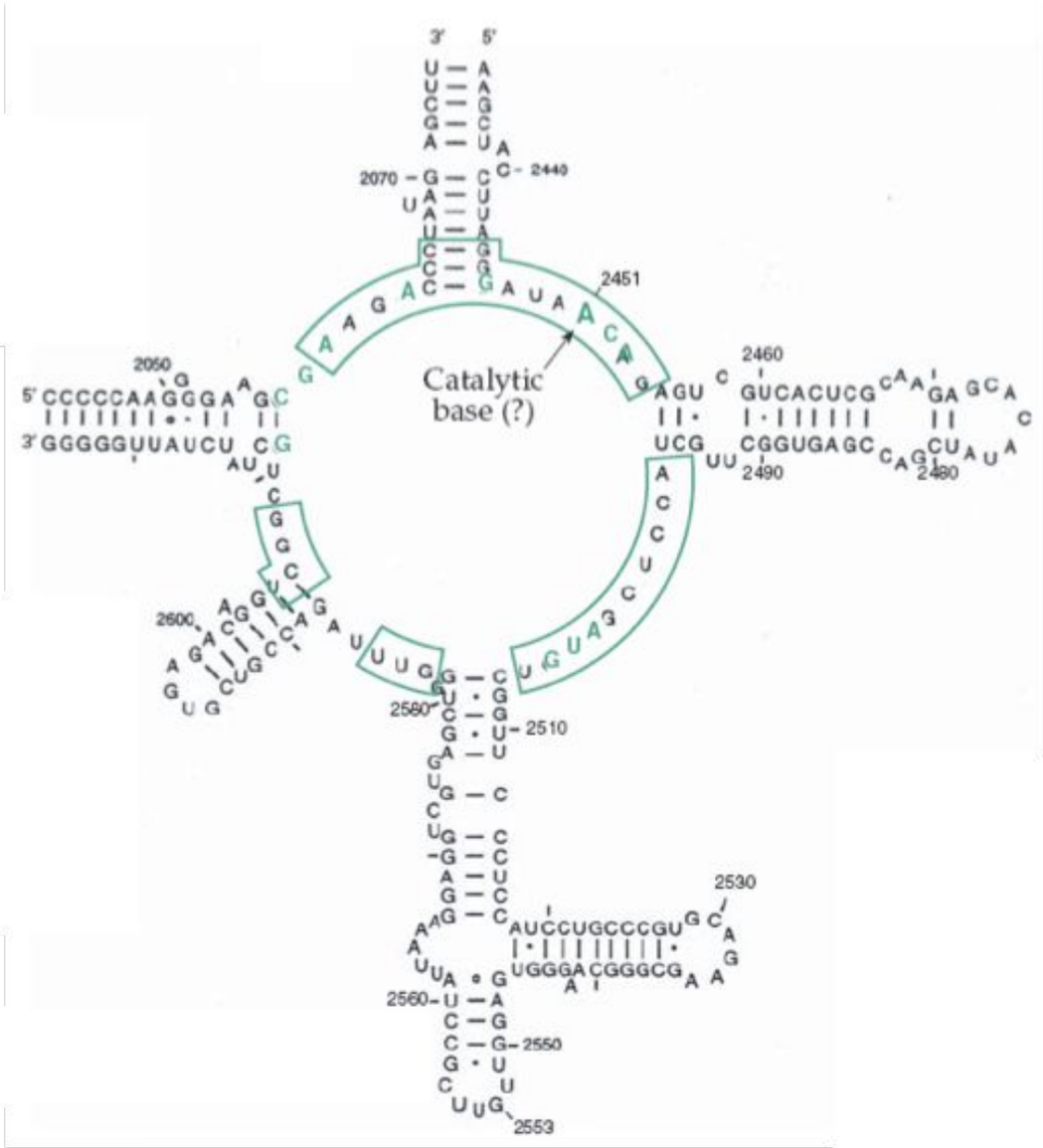
Thermus thermophilis 70S

(Yusupov et. al, 2001)

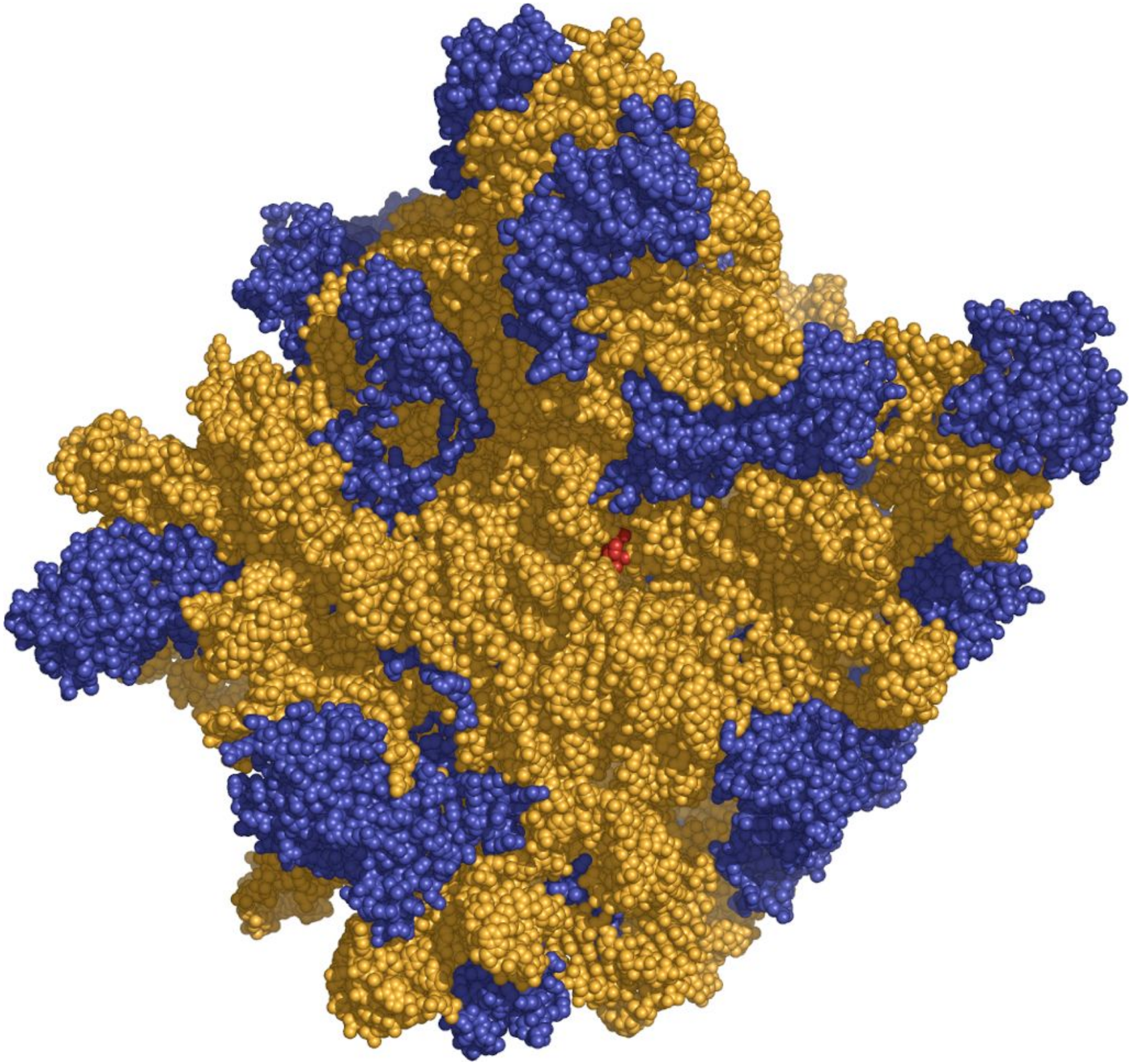


Каталитический центр рибосомы «сделан» из РНК?

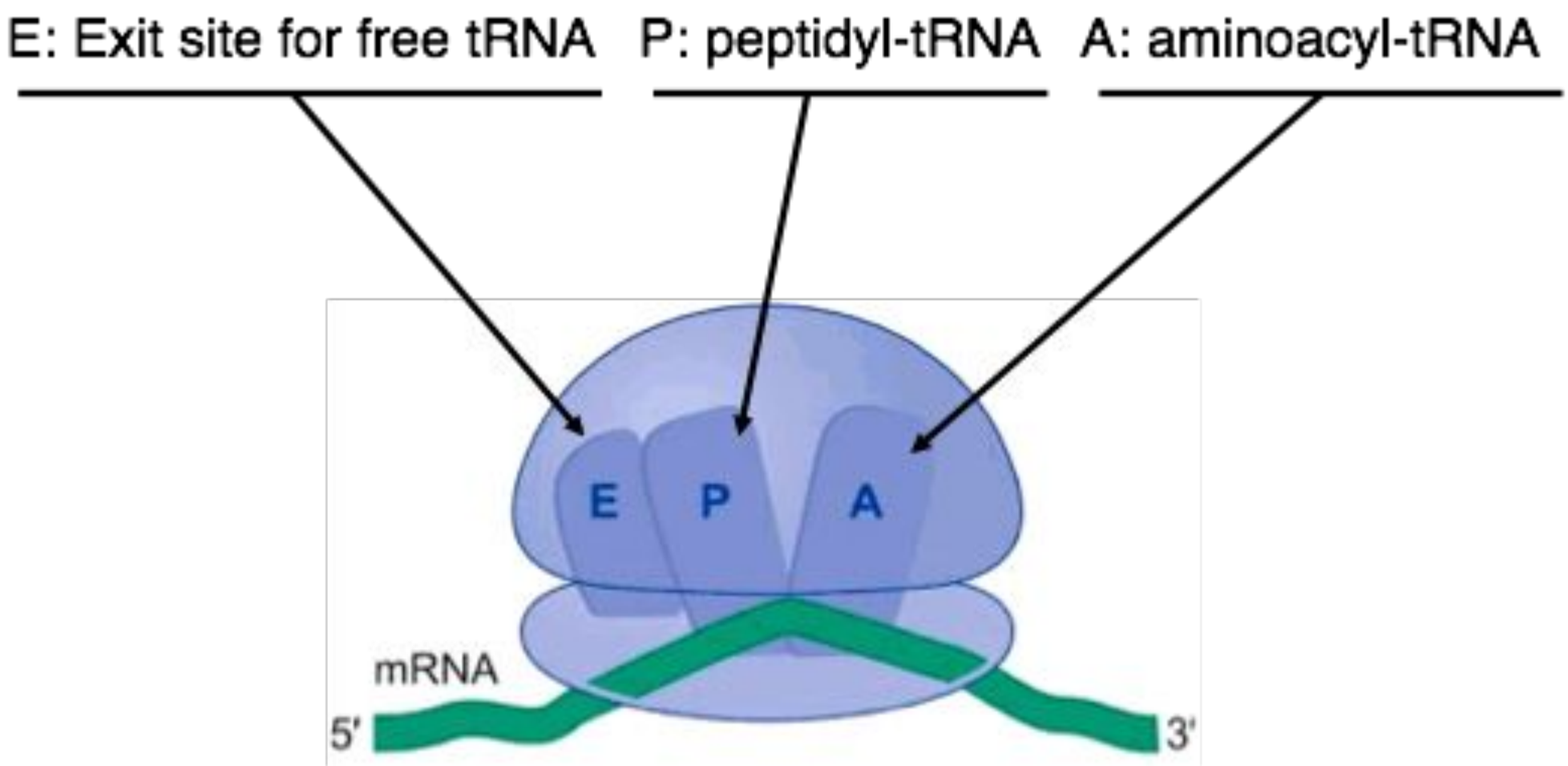




50S ribosome

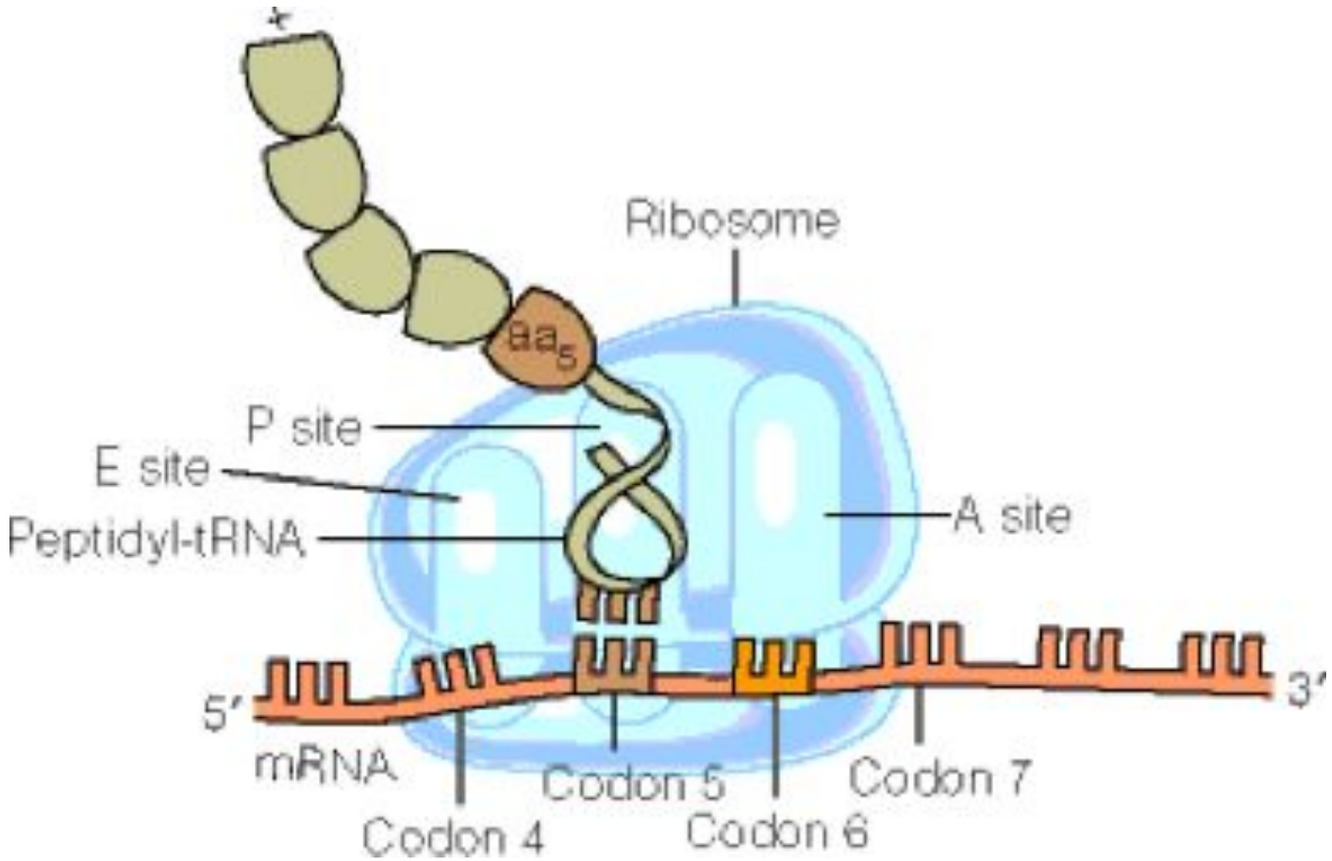


3 участка связывания тРНК на рибосоме



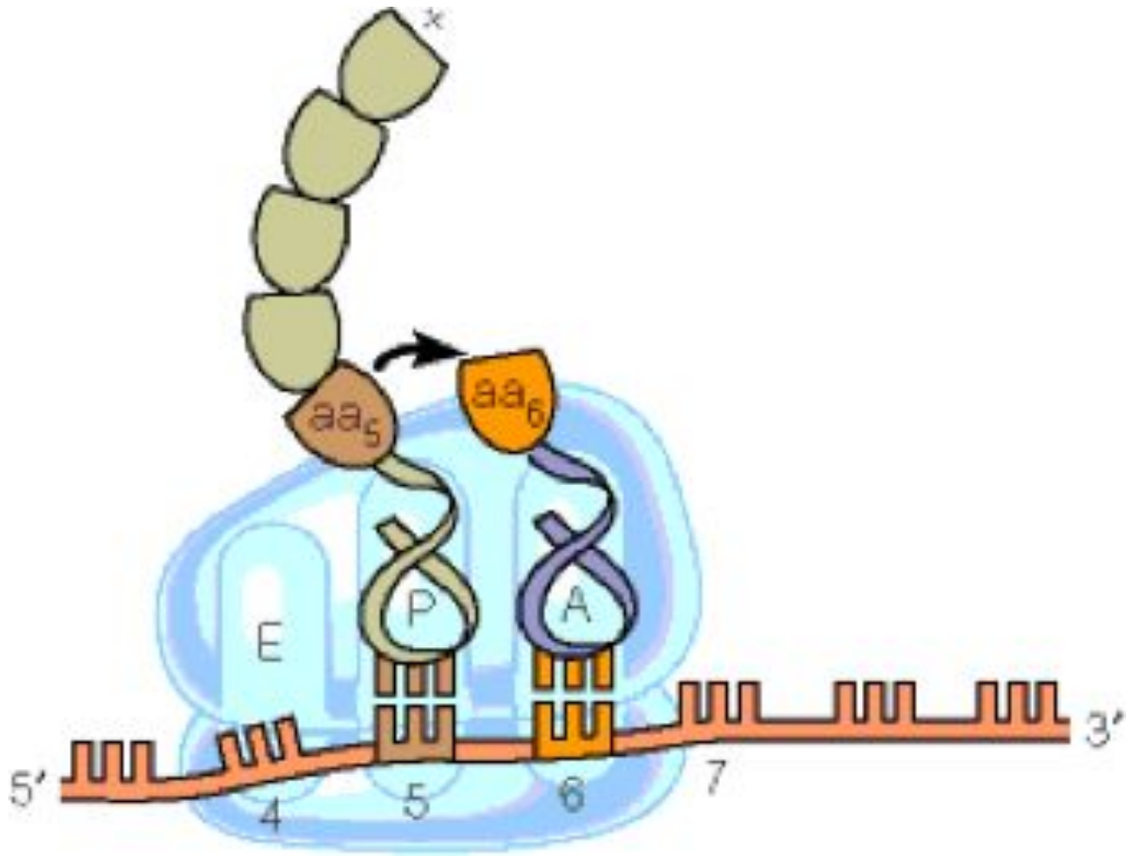
- Инициация: тРНК связывается с Р-сайтом
- Элонгация: тРНК связывается с А-сайтом

Элонгация трансляции. Шаг 1.



- Инициаторная Мет-тРНК в Р-сайте
- А-сайт свободен

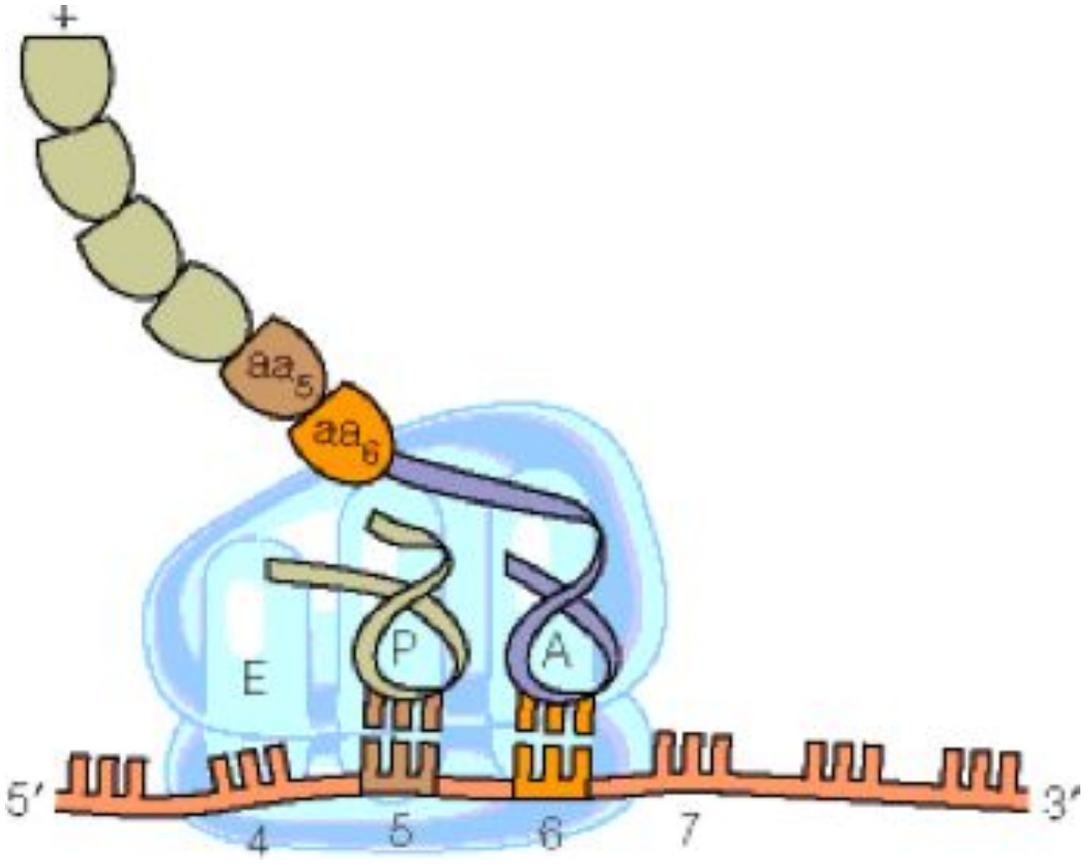
Элонгация трансляции. Шаг II.



- Р-сайт занят **п**ептидил-тРНК
- В А-сайт связывается новая **а**миноацил-тРНК

Элонгация трансляции. Шаг III.

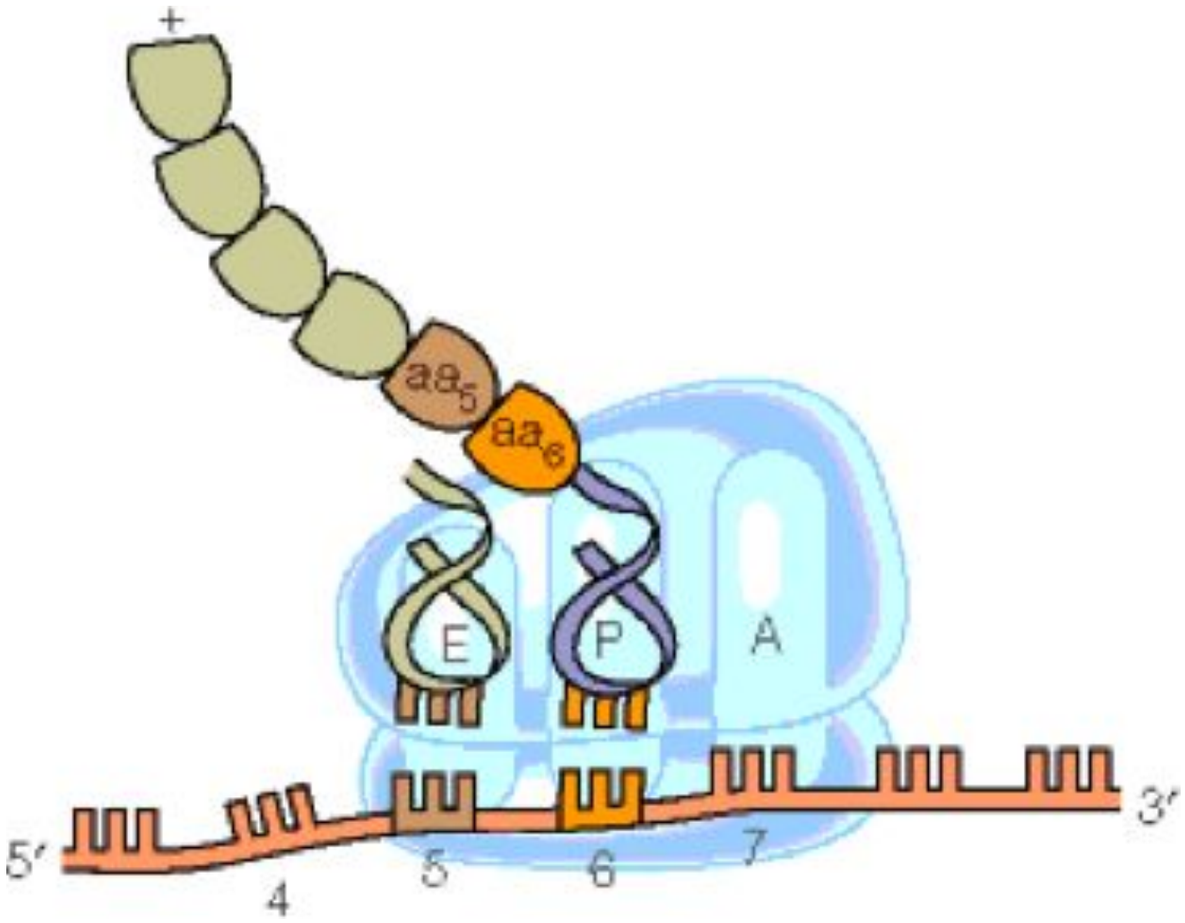
Транспептидация.



- тРНК в Р-сайте без аминокислоты, но пептид - в Р-сайте
- тРНК в А-сайте связана с пептидом

Элонгация трансляции. Шаг IV.

Транслокация.



- Рибосома перемещается по мРНК
- В Е-сайте - деацилированная тРНК
- В Р-сайте - пептидил-тРНК
- А-сайт пустой

Рибосомный туннель

Конец