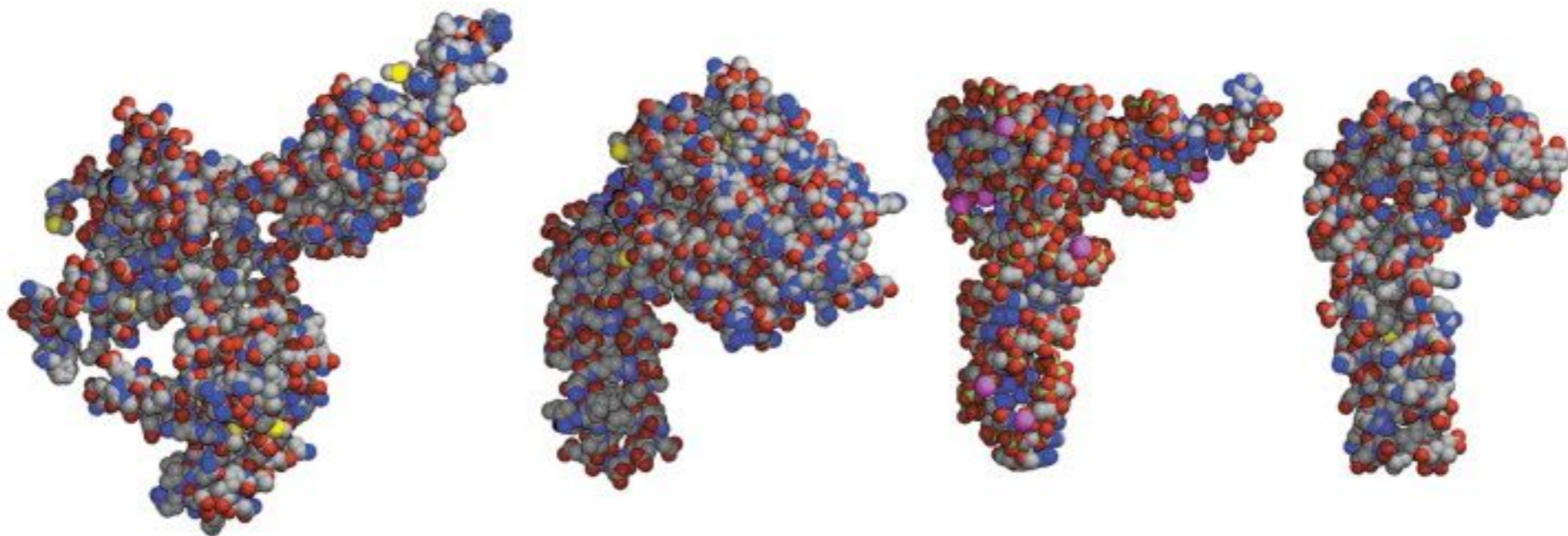


Трансляция

Биосинтез белка



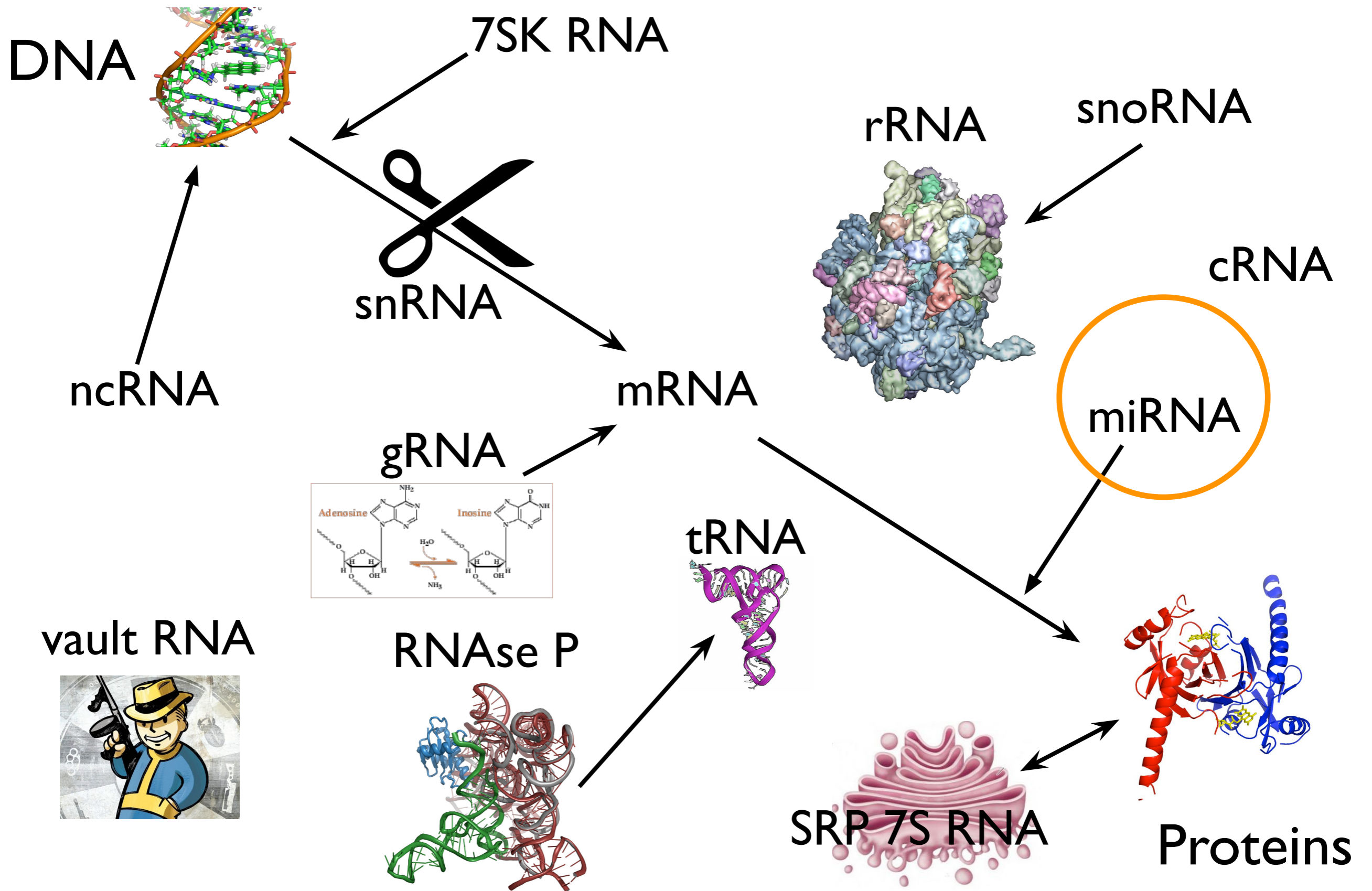
Часть I

Структура РНК

тРНК

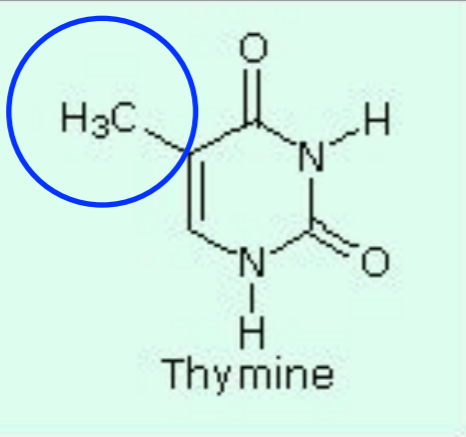
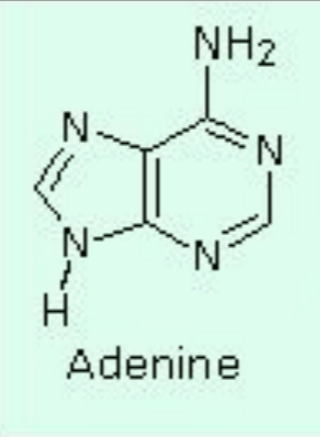
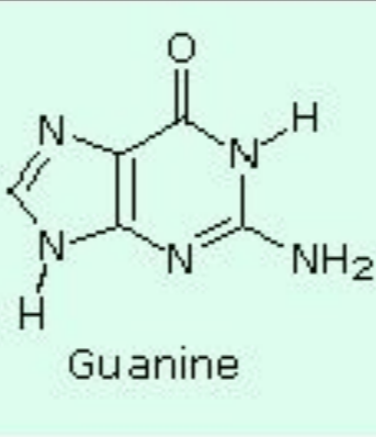
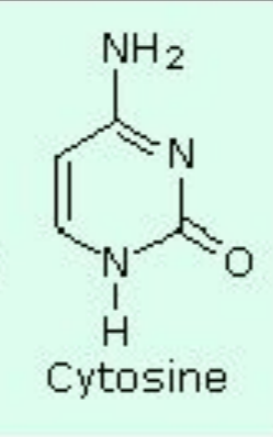

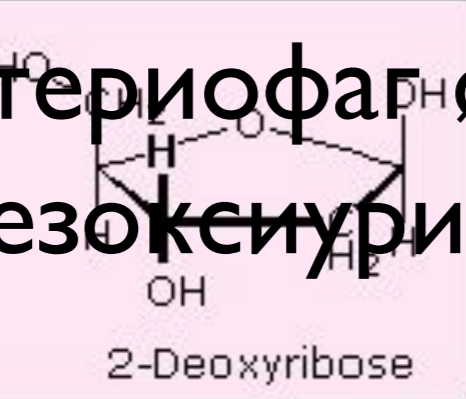
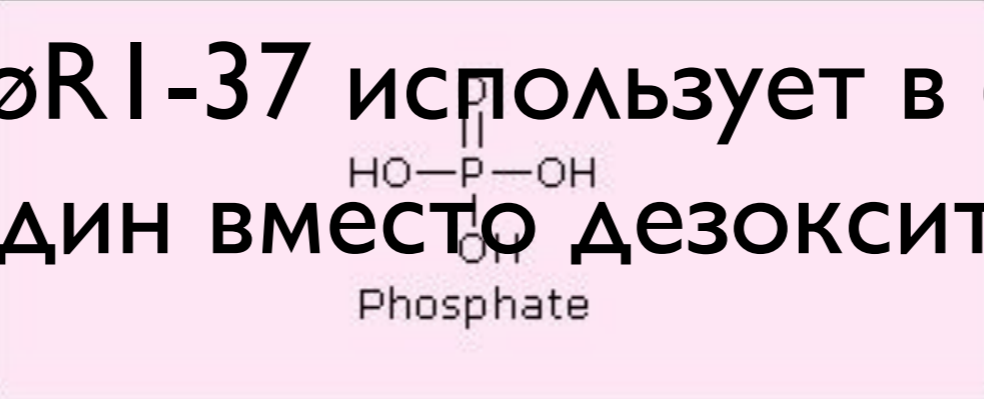
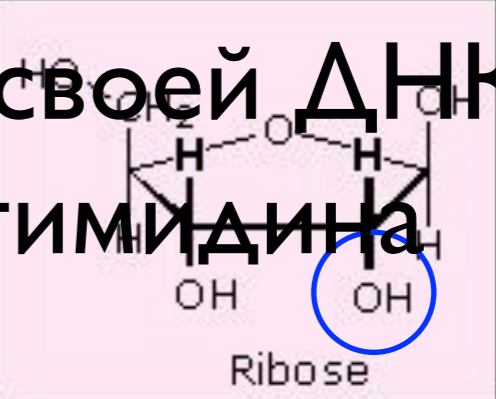
Рибосома

РНК в клетке



RNA vs DNA

Components of Nucleic Acids

	DNA only	DNA & RNA		RNA only	
Nitrogen Bases	 <p>Thymine</p>	 <p>Adenine</p>	 <p>Guanine</p>	 <p>Cytosine</p>	 <p>Uracil</p>
Sugars & Phosphate	 <p>2-Deoxyribose</p>	 <p>Phosphate</p>		 <p>Ribose</p>	

Бактериофаг φRI-37 использует в своей ДНК дезоксиуридин вместо дезокситимидина

Вторичная и третичная структура РНК

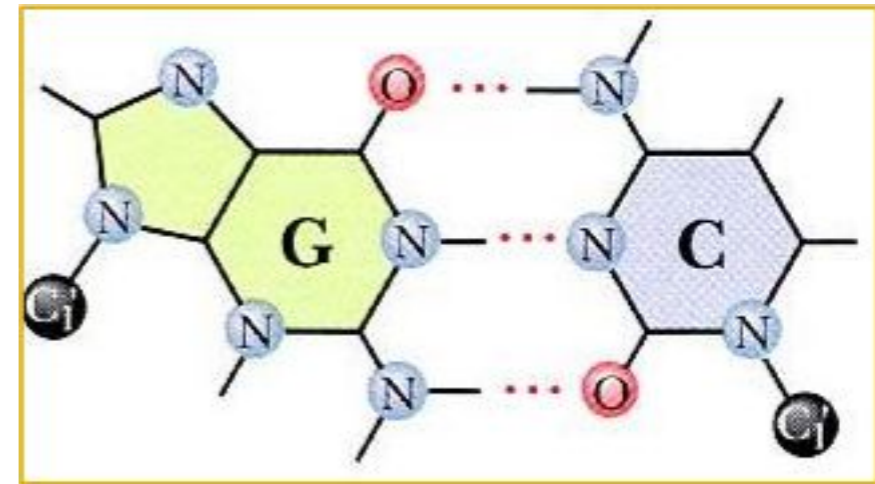
- Вторичная структура - совокупность комплементарных взаимодействий
- Третичная структура - 3D-атомарная структура

Вторичная структура РНК

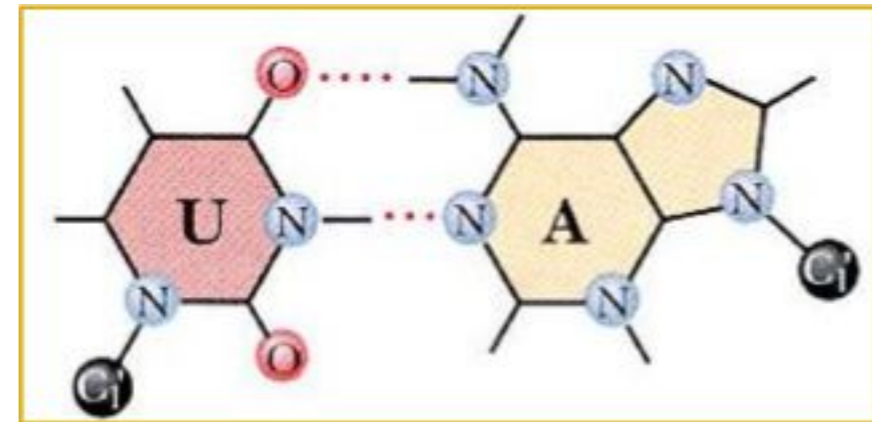
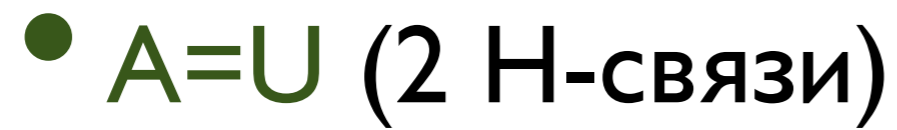
- $G \equiv C$ (3 Н-связи)

- $A = U$

- $G = U$

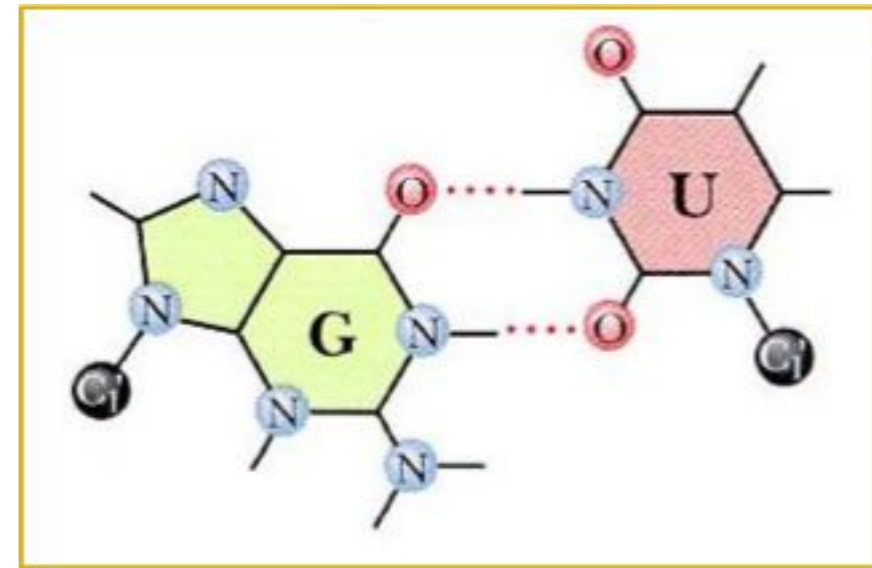


Вторичная структура РНК

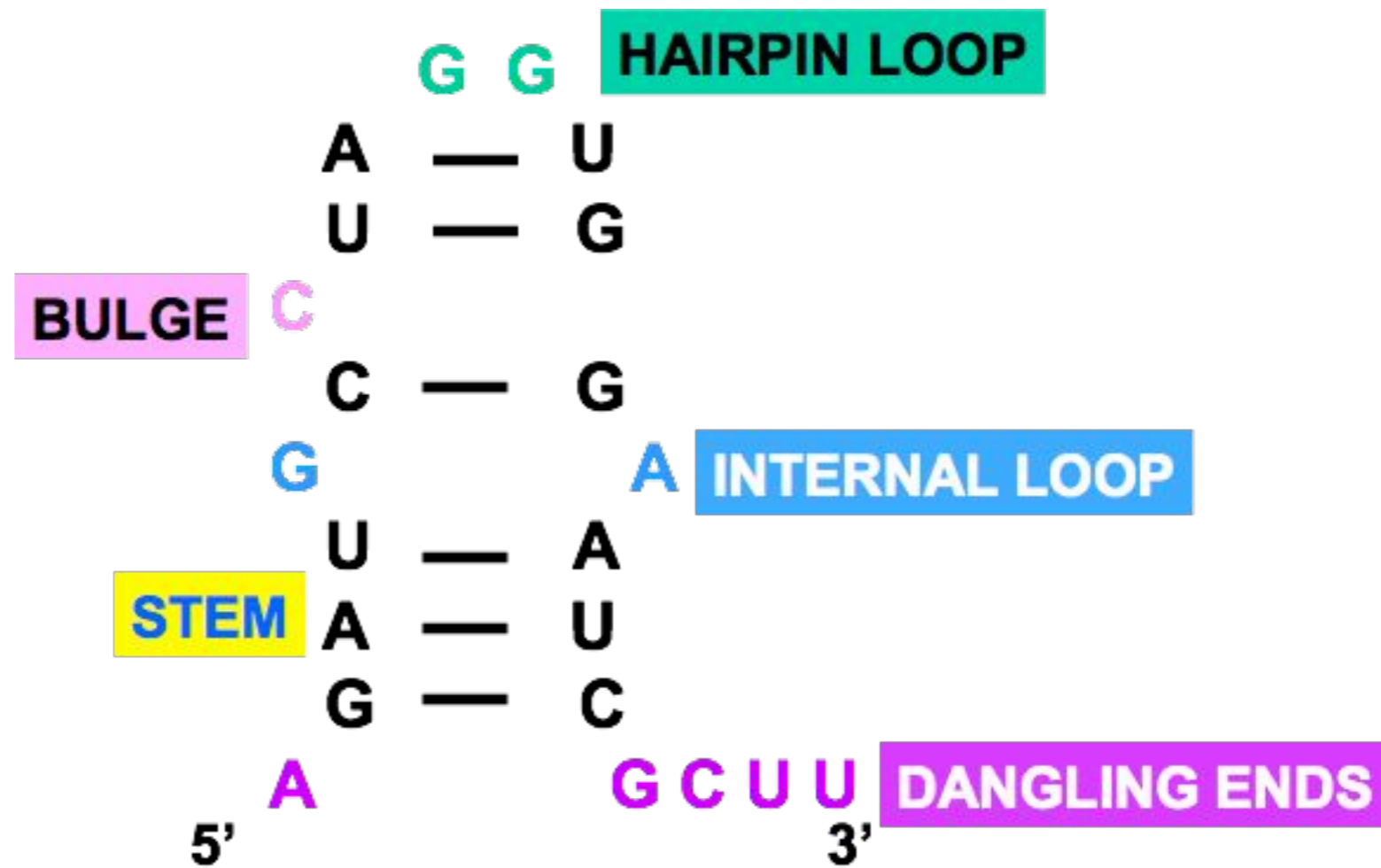
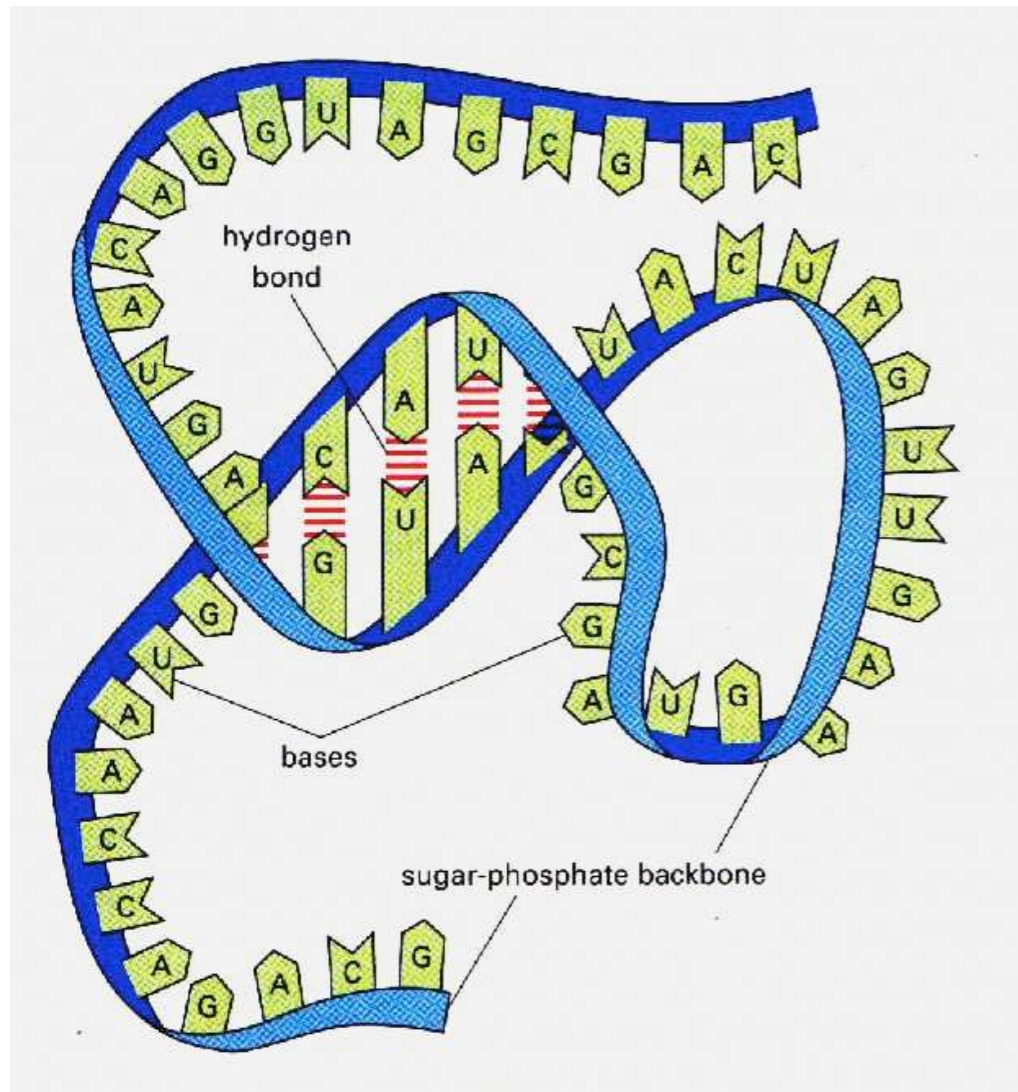


Вторичная структура РНК

- $G \equiv C$
- $A = U$
- $G = U$ (2 H-связи)



Вторичная структура РНК



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



Welcome to Eterna!

You play by designing RNAs,
tiny molecules at the heart of every cell.



Latest news

[Dev chat scheduled on 6pm EST, Apr. 3rd. \[Chat log added\]](#)

03 Apr 2013

[Cloud lab barcode bug fixed - now you can reuse round 1 barcodes in round 2.](#)

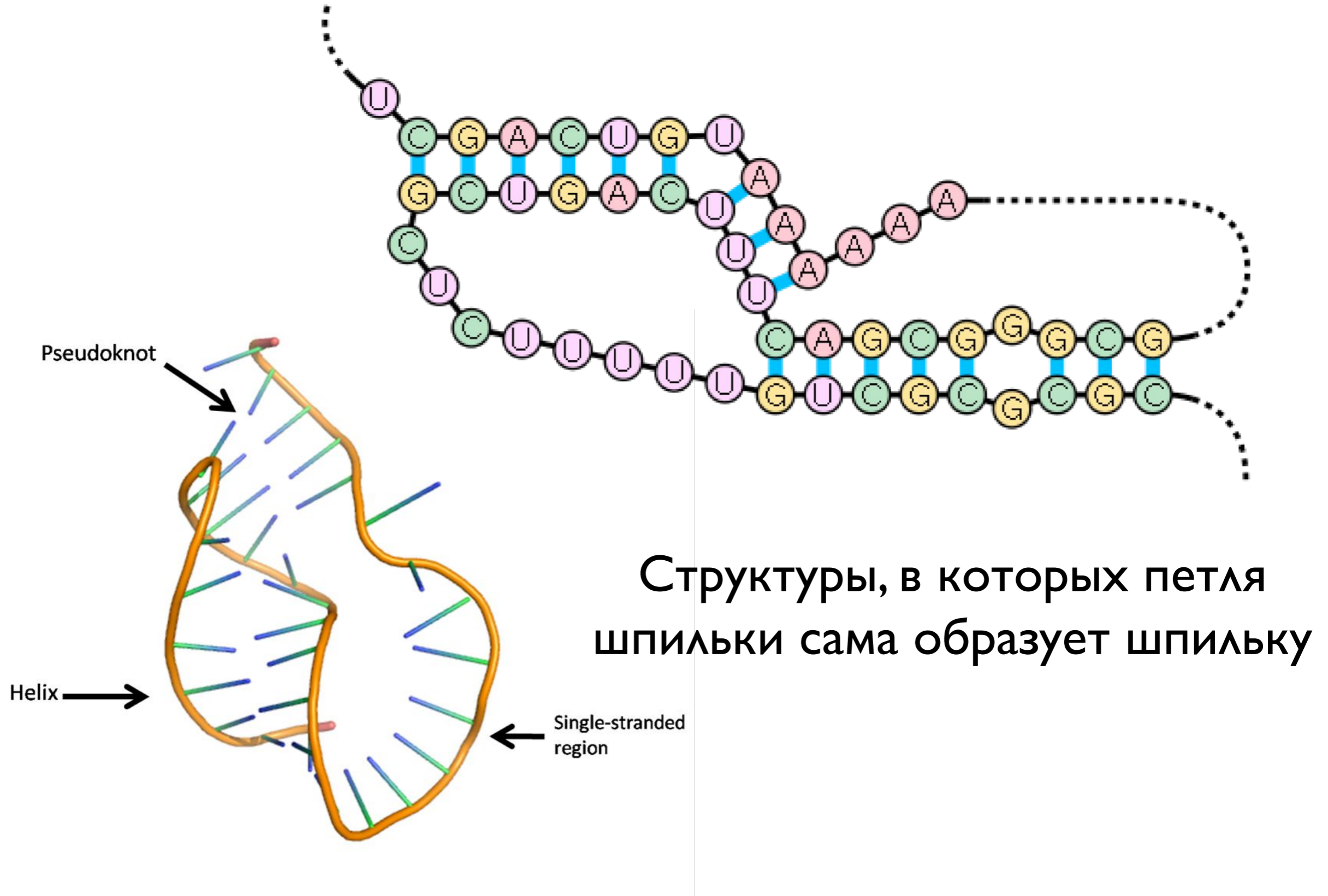
26 Mar 2013

[Full results of previous 20 cloud labs published and rewards distributed](#)

22 Mar 2013

Play Now! ▶

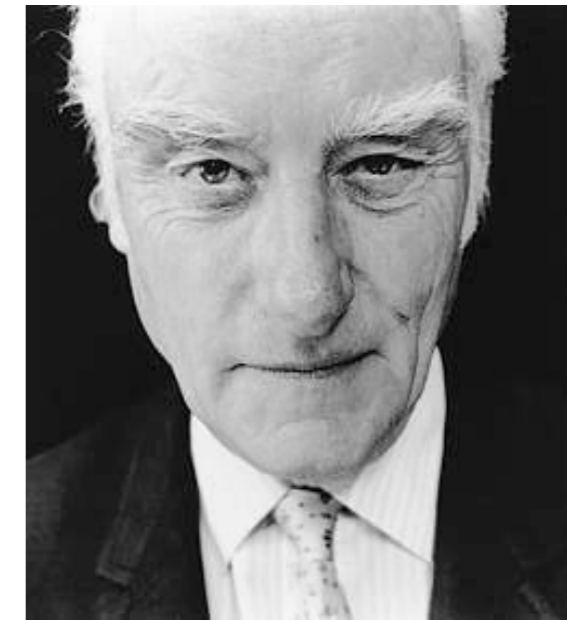
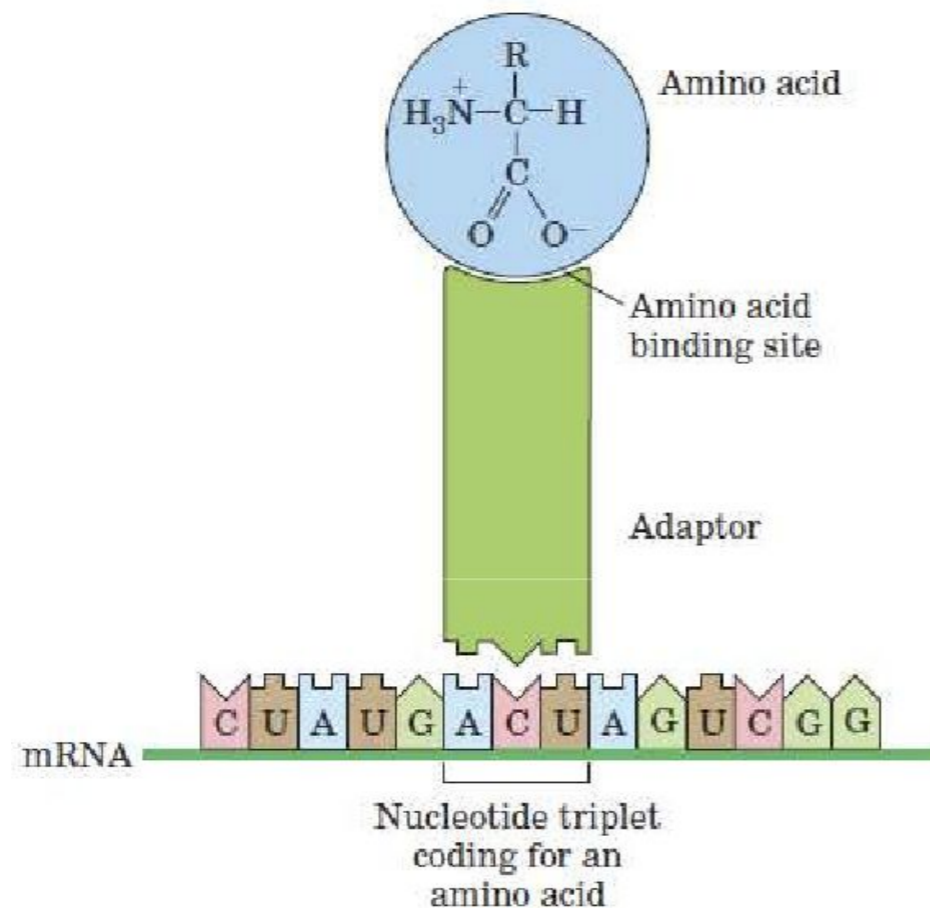
Pseudoknots - псевдоузлы



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
- 1-битный код: 4 варианта
- 2-битный код: 16 вариантов
- 3-битный код: 64 варианта больше чем 20!



Георгий Гамов
(1904-1968)

Универсальный генетический код

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

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

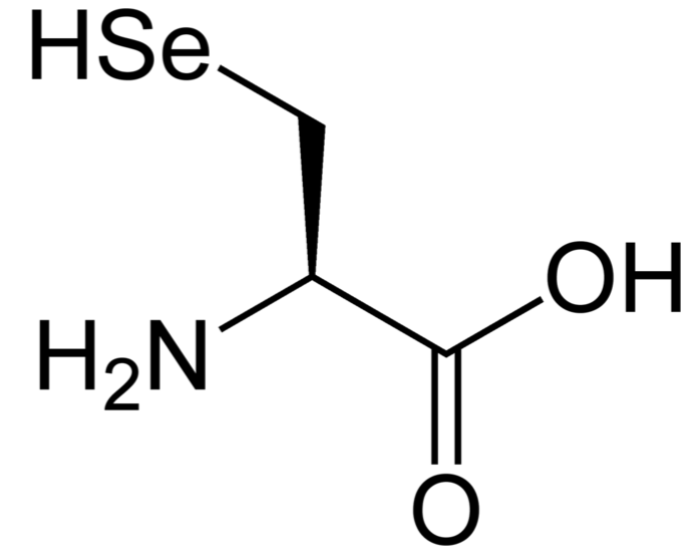
Source	Codon	Usual Meaning	New Meaning
Fruit fly mitochondria	UGA	Stop	Tryptophan
	AGA & AGG	Arginine	Serine
	AUA	Isoleucine	Methionine
Mammalian mitochondria	AGA & AGG	Arginine	Stop
	AUA	Isoleucine	Methionine
	UGA	Stop	Tryptophan
Yeast mitochondria	CUN*	Leucine	Threonine
	AUA	Isoleucine	Methionine
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

*N = Any base

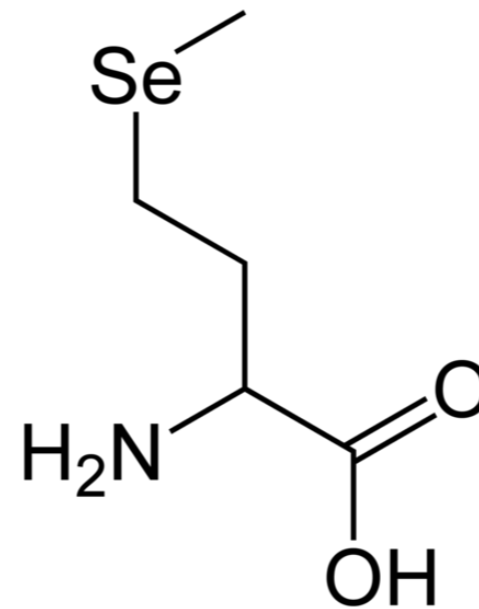
- Митохондрии, некоторые бактерии и простейшие

Неканонические аминокислоты

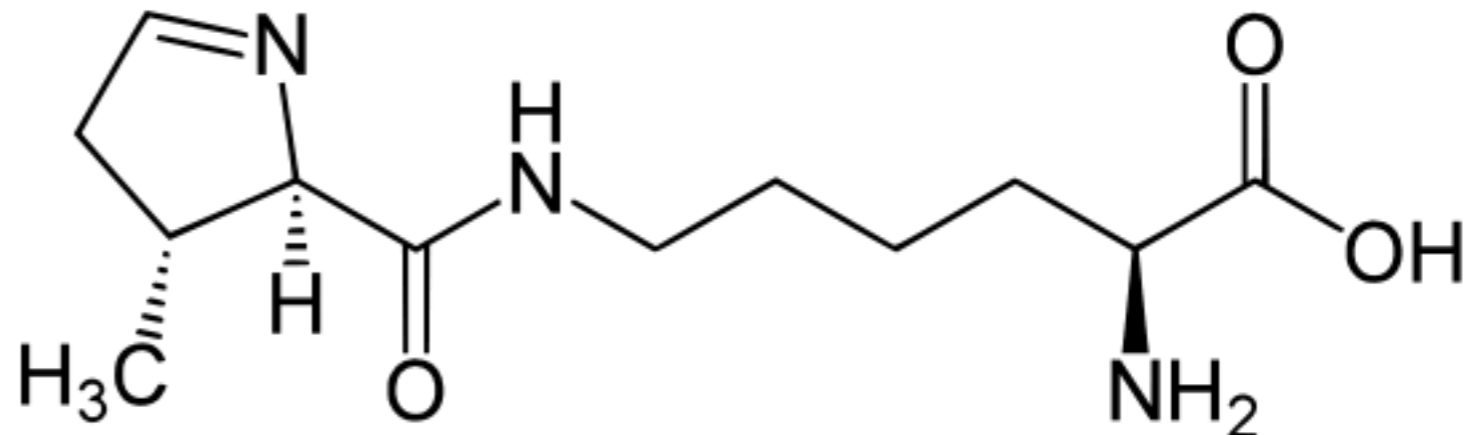
- Селеноцистеин
(UGA)



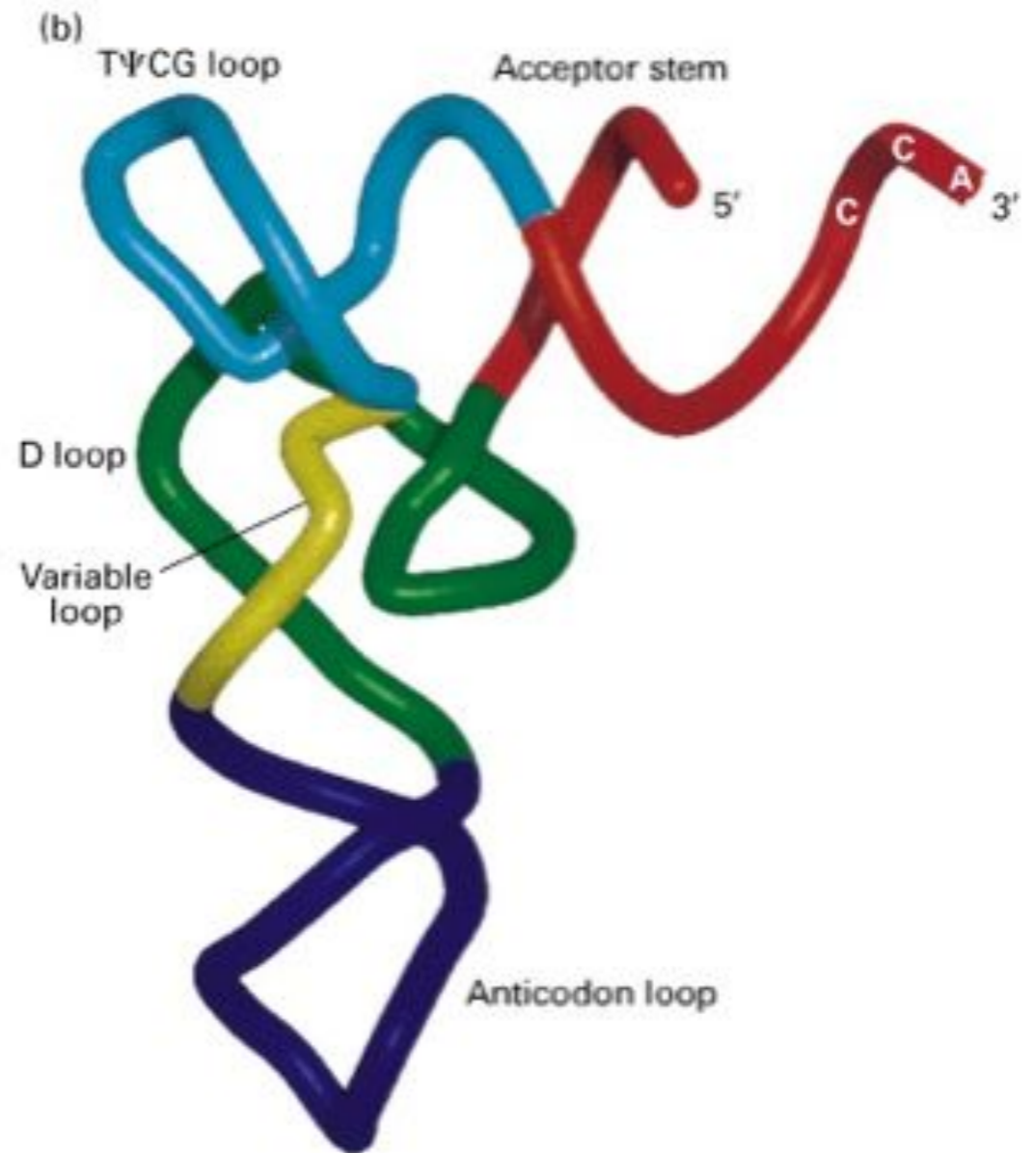
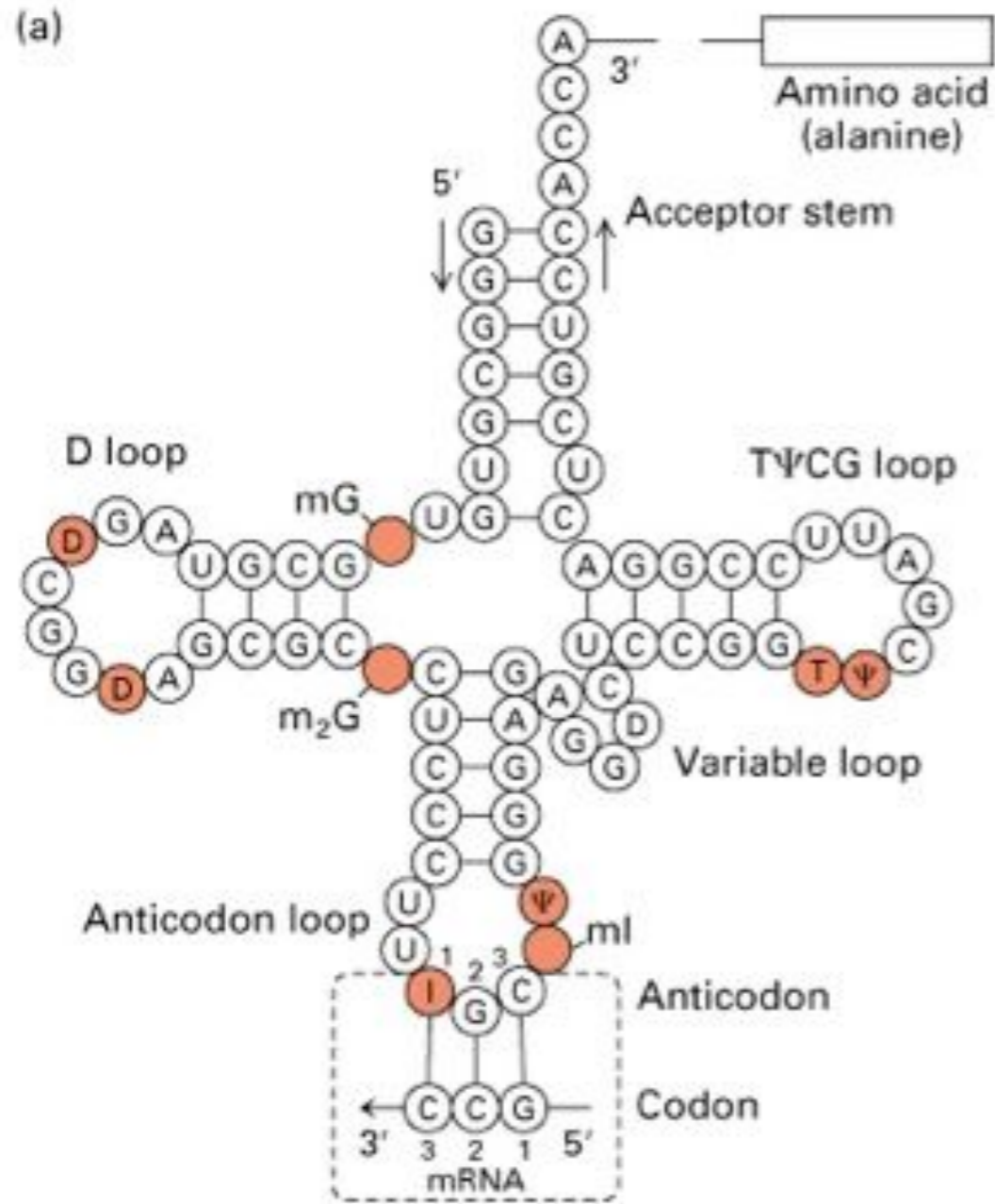
- Селенометионин
(AUG)



- Пирролизин
(UGA)

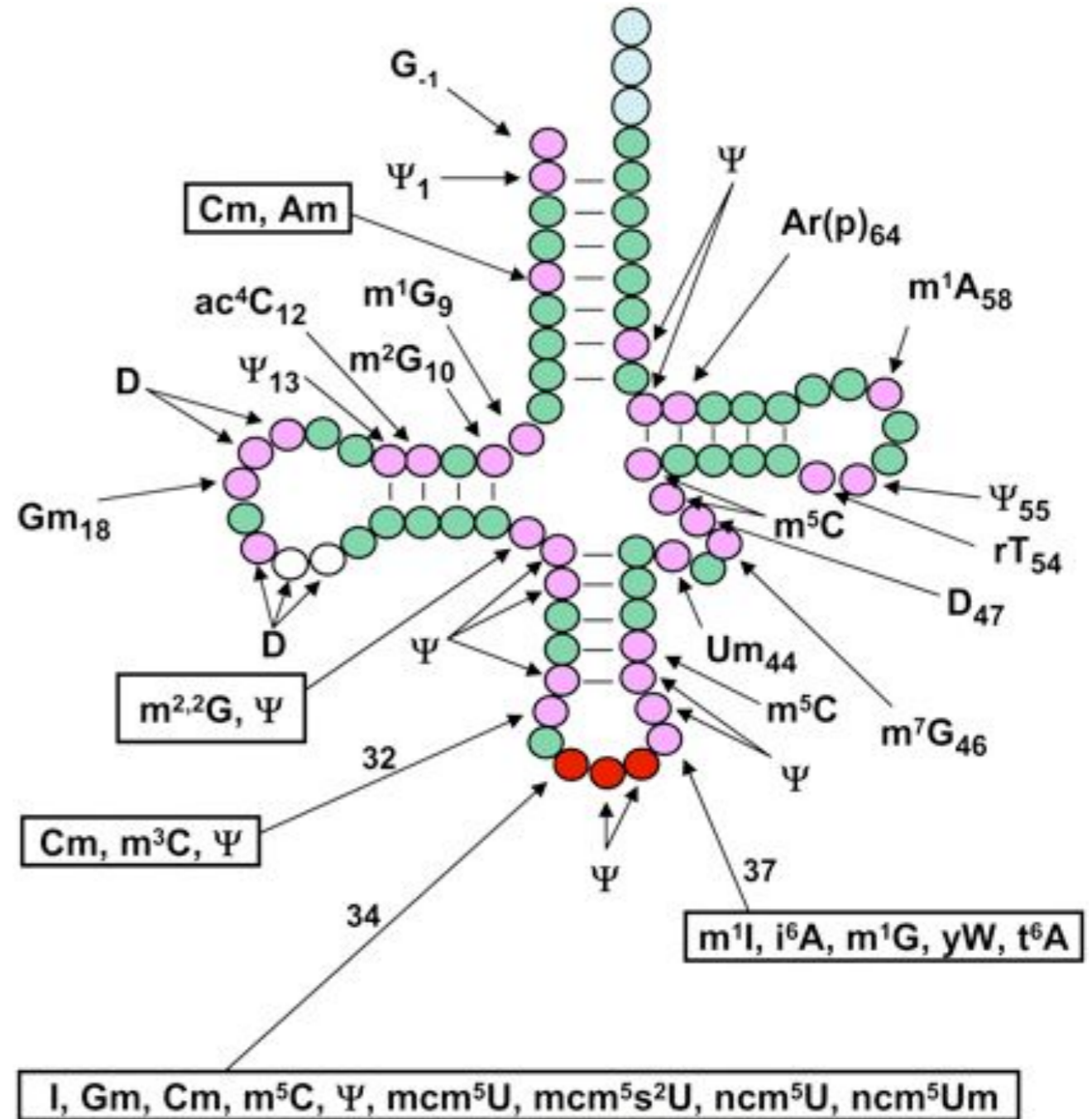


Пространственная структура тРНК



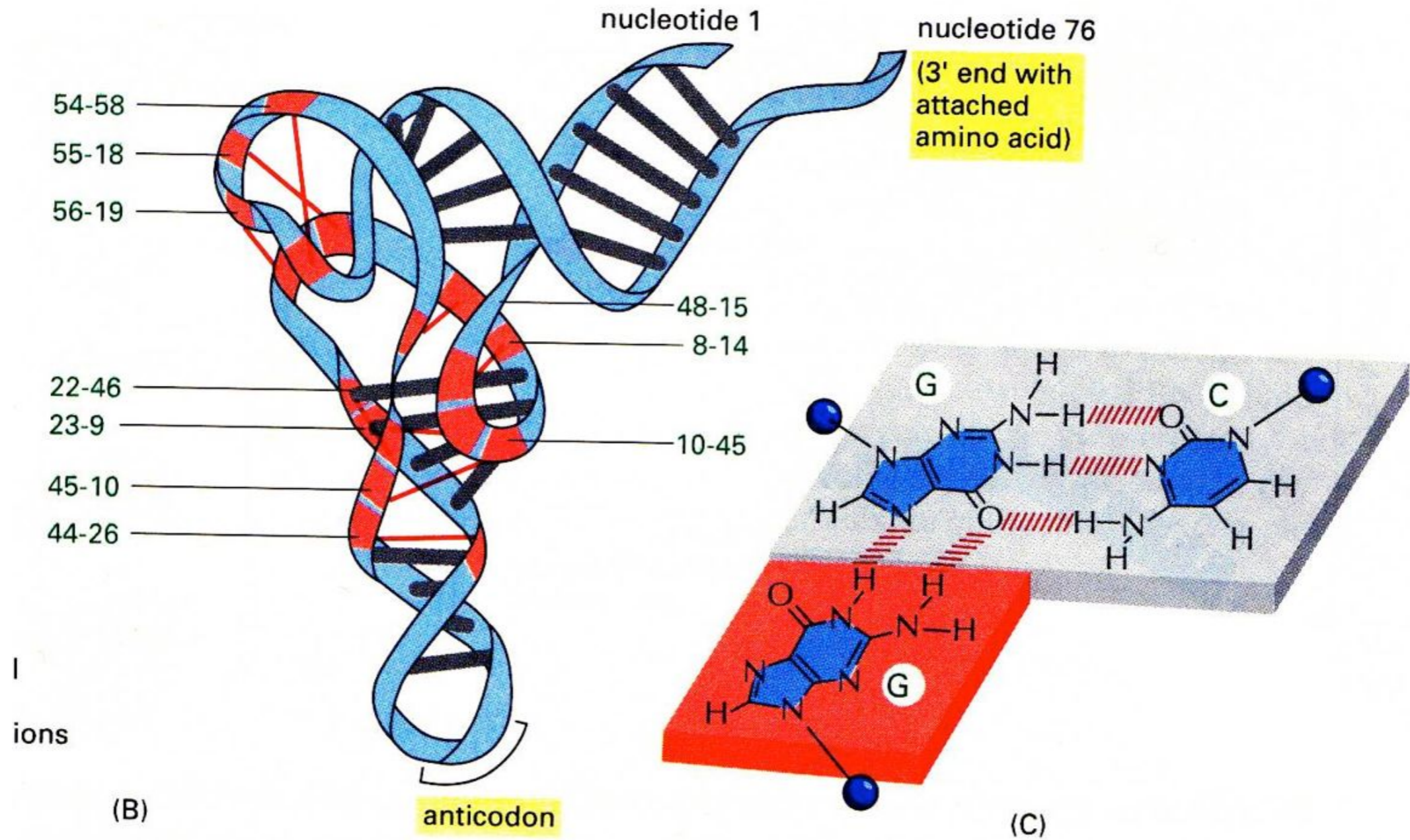
Модифицированные нуклеотиды в тРНК

- 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
- ...

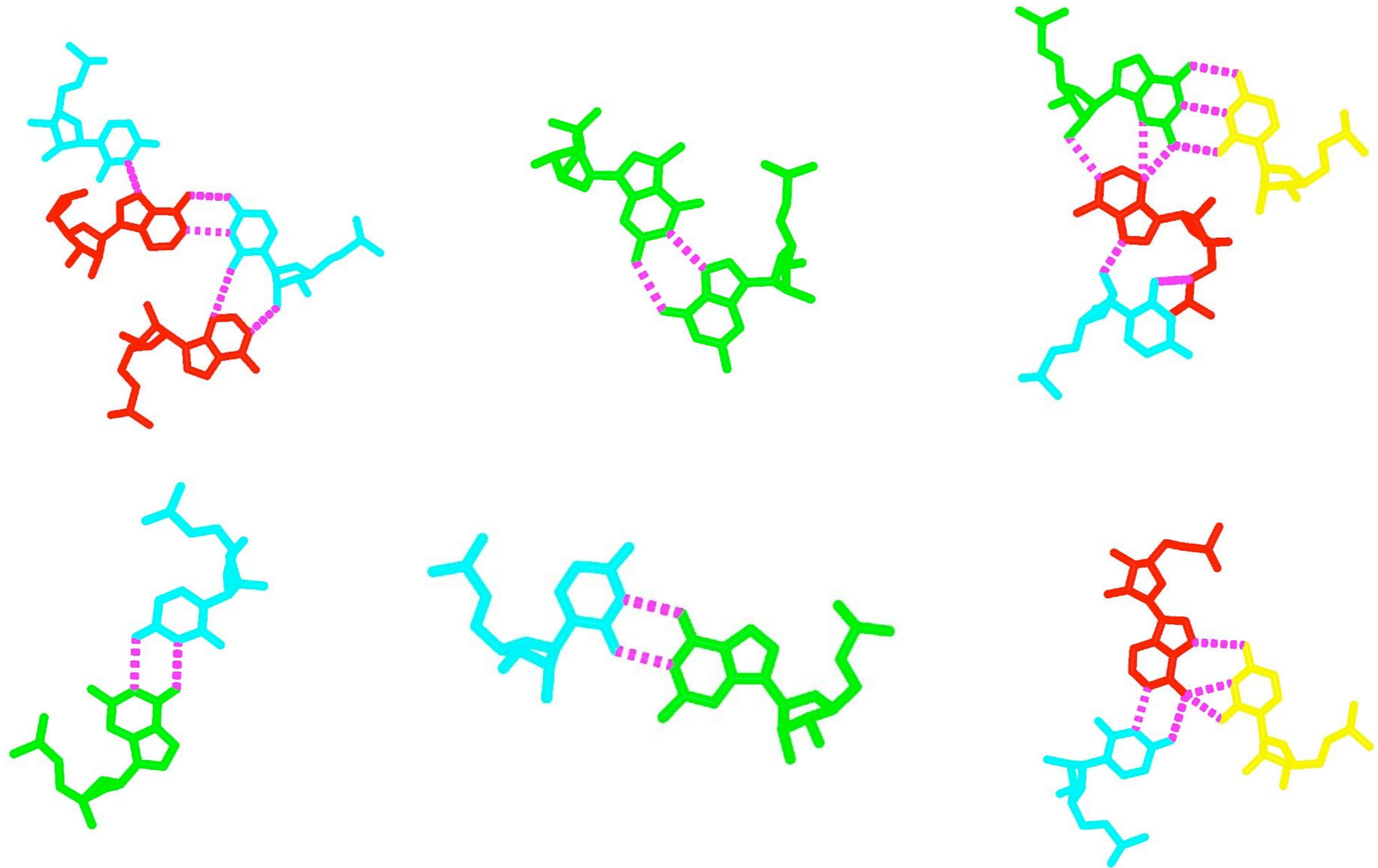


<http://modomics.genesilico.pl/>

Неканонические структуры в РНК

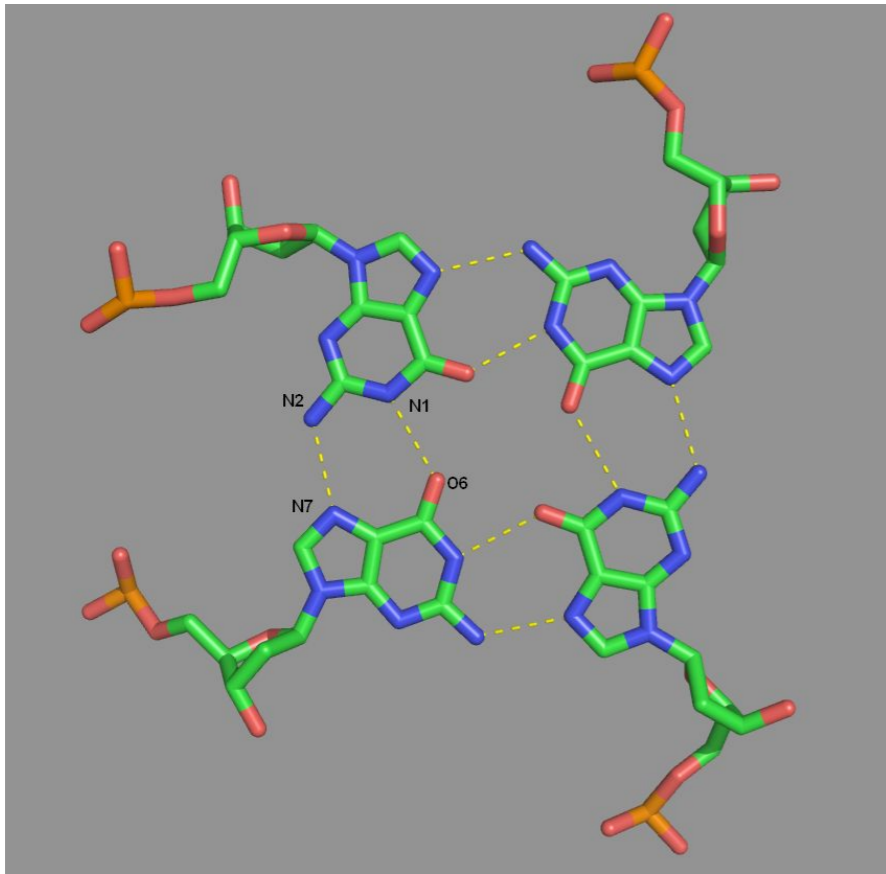


Неканонические пары в тРНК

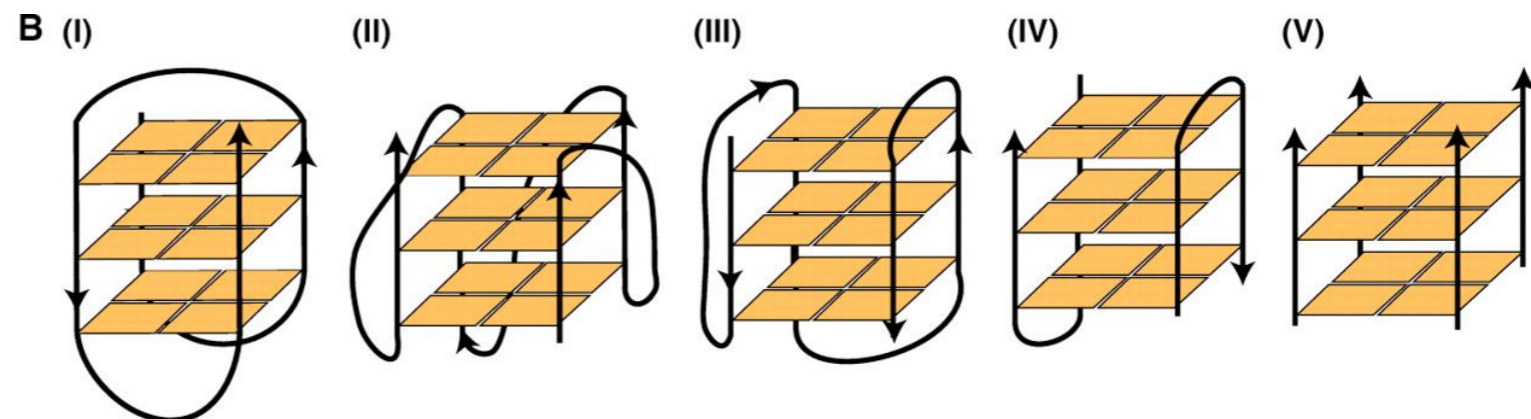
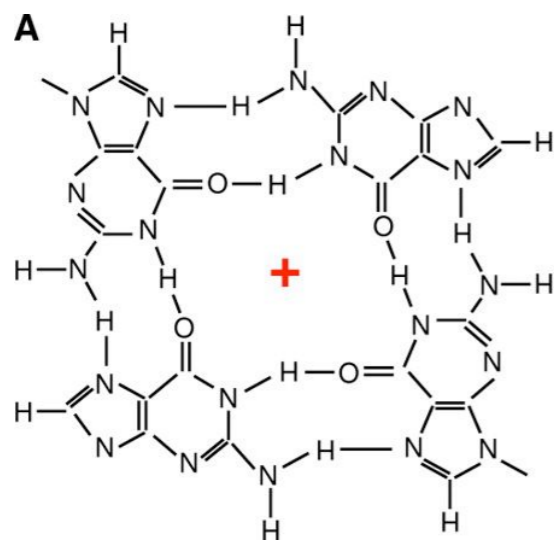


<http://bps.rutgers.edu/bps>

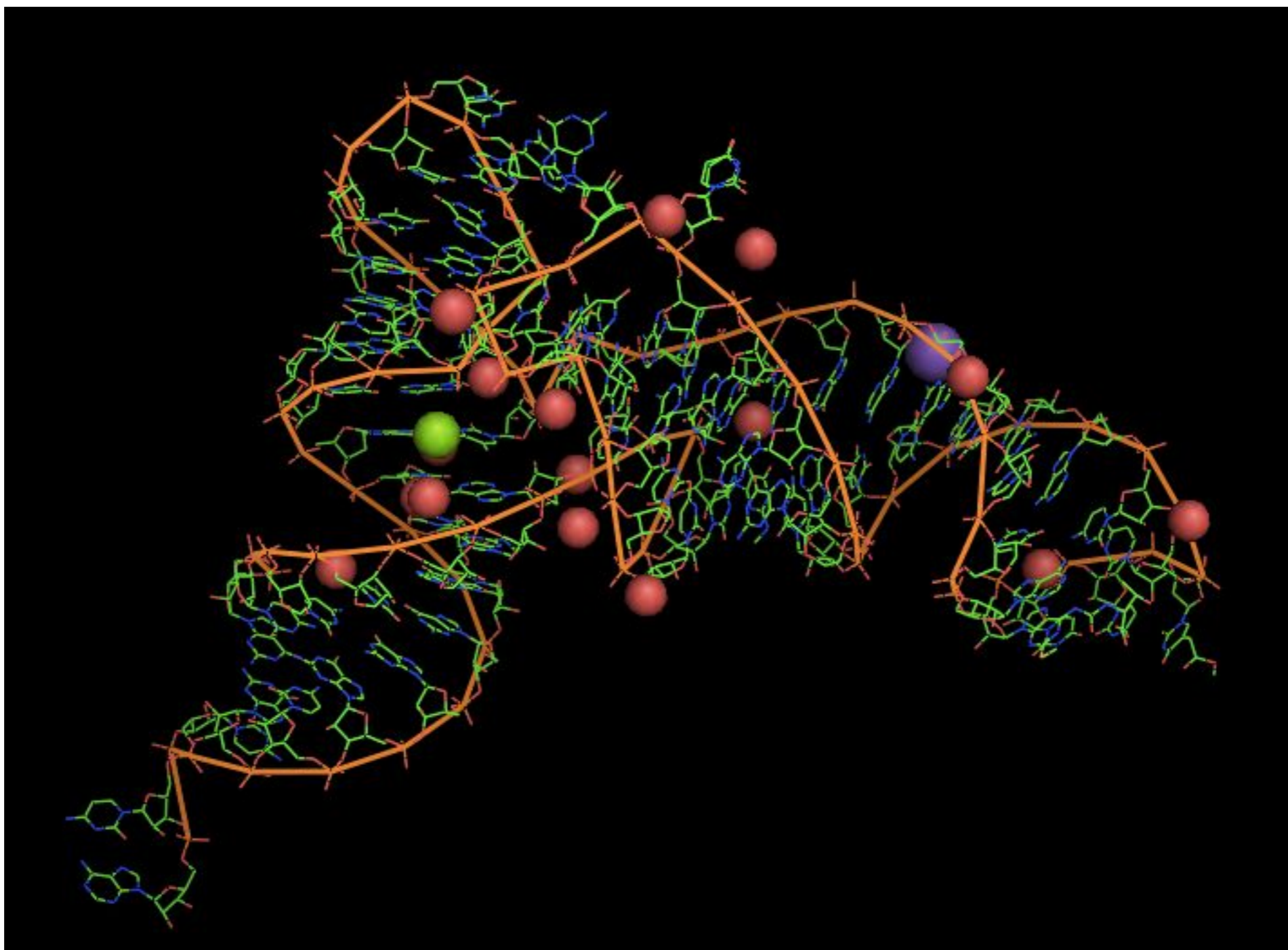
G-Quadruplex



- Внутримолекулярные и межмолекулярные
- Теломеры
- Промоторы
- мРНК

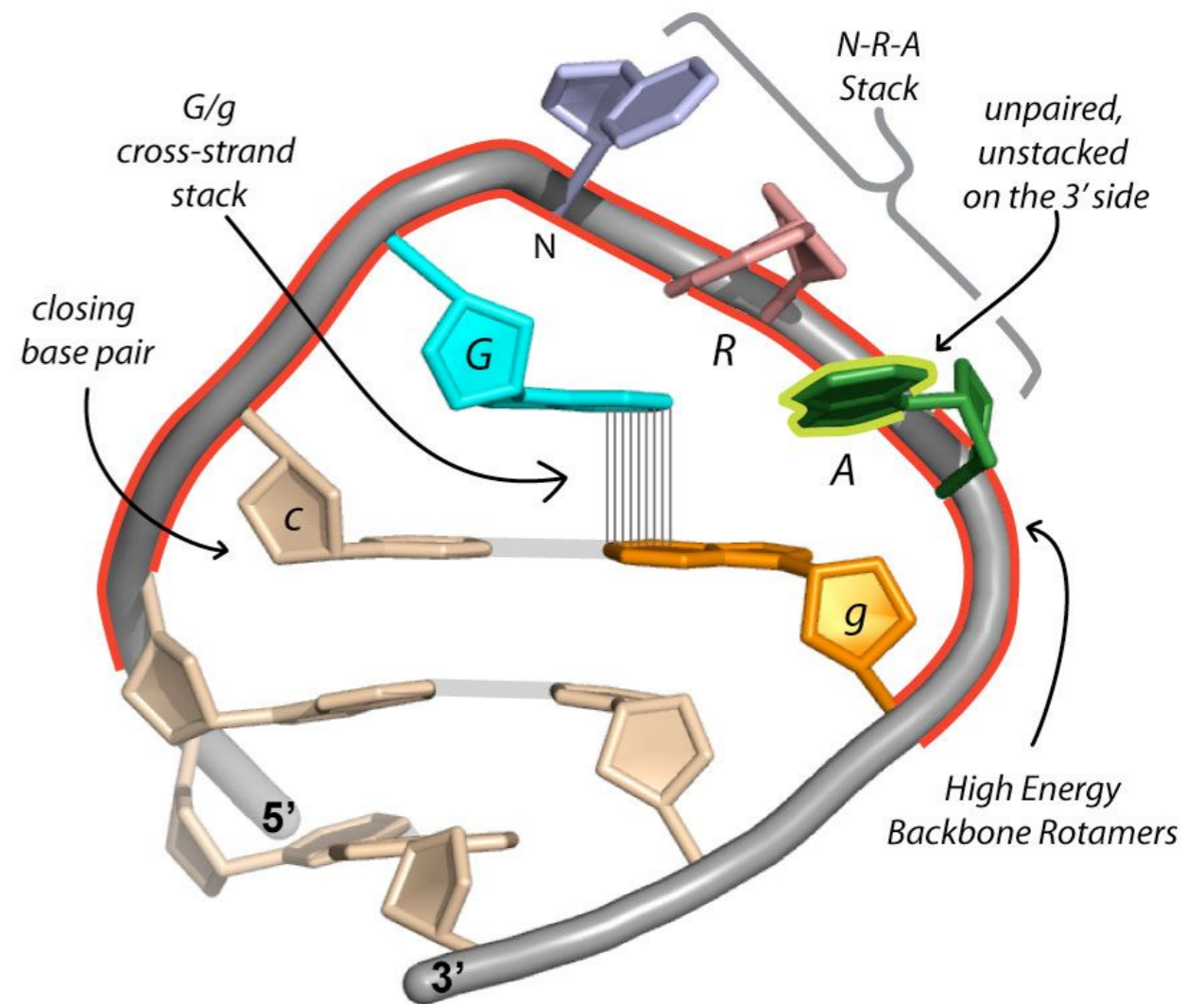


Неорганические ионы в структуре тРНК

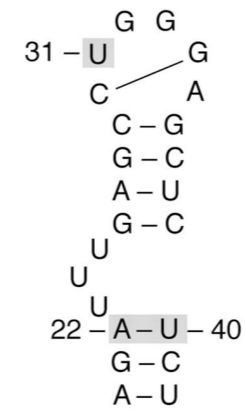
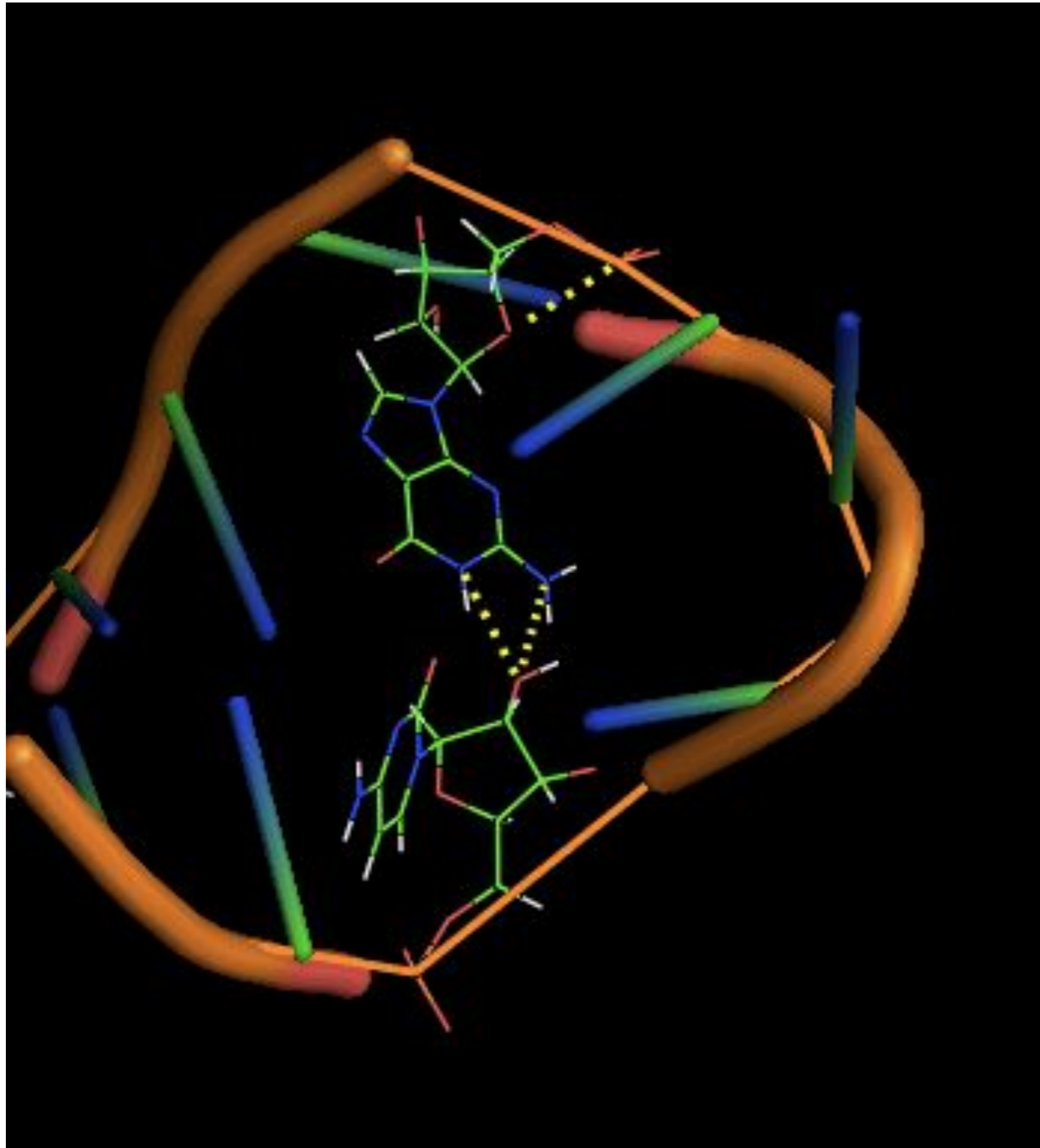


Стабильные тетралупы

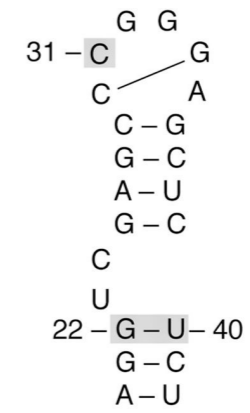
- GNRA-tetraloop
- Стабилизируется стекинг-взаимодействиями



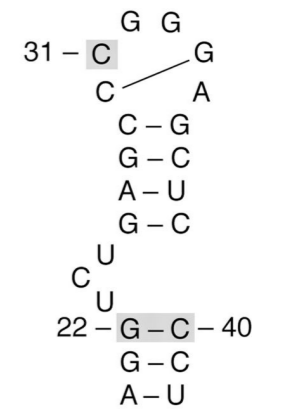
TAR HIV-1



HIV-1: LAI (B)

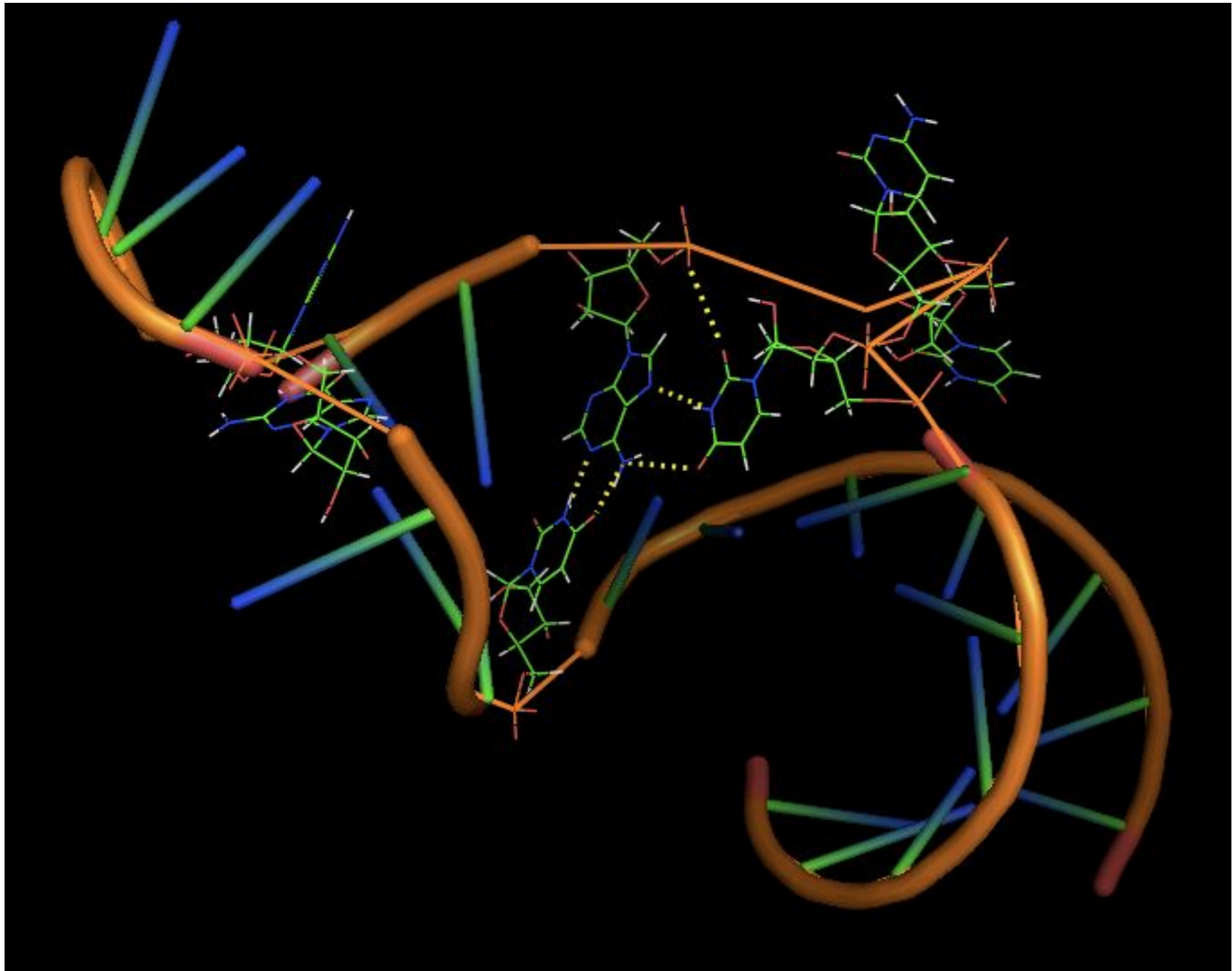


HIV-1: subtype A and E



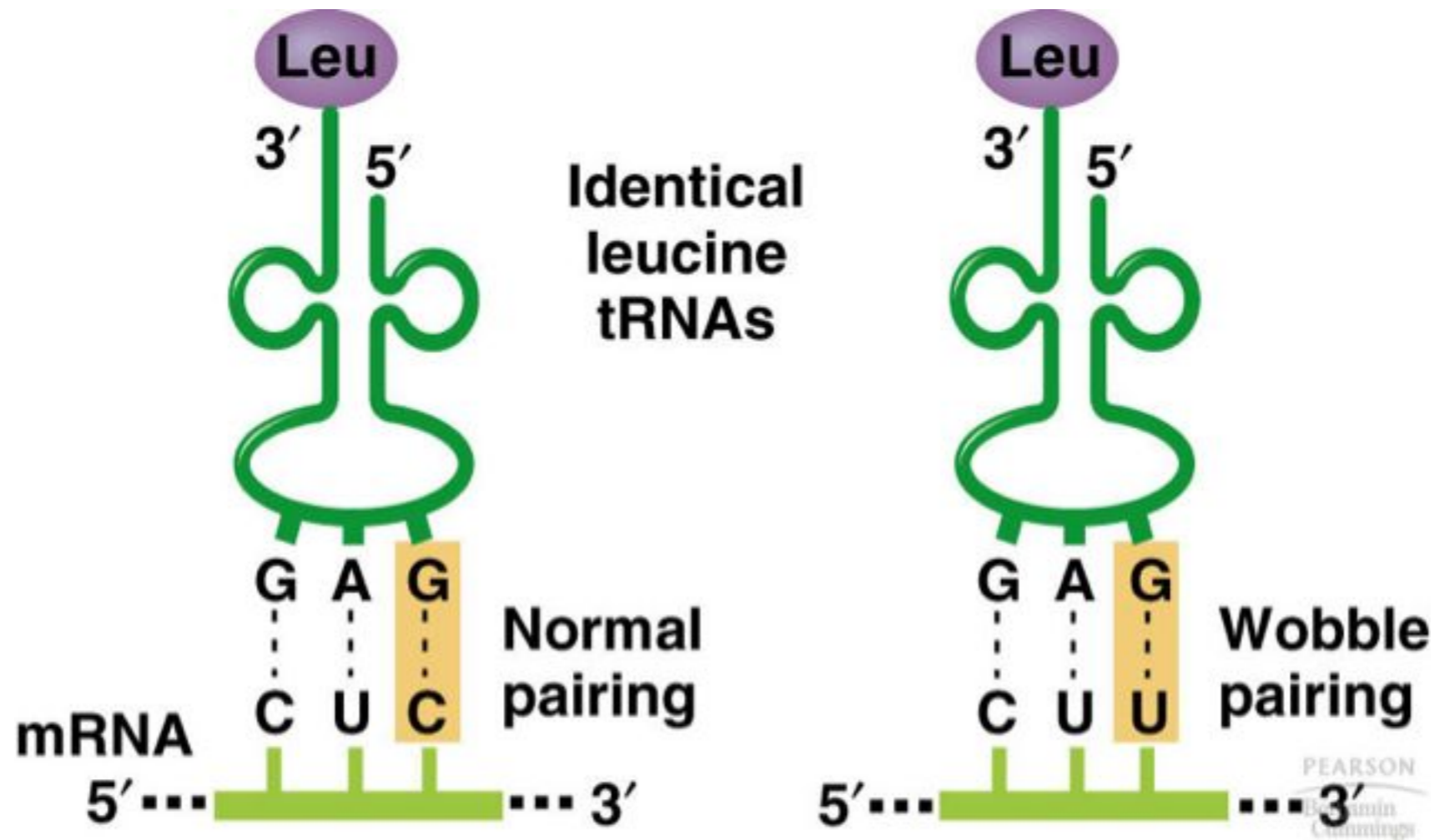
HIV-1: O group

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

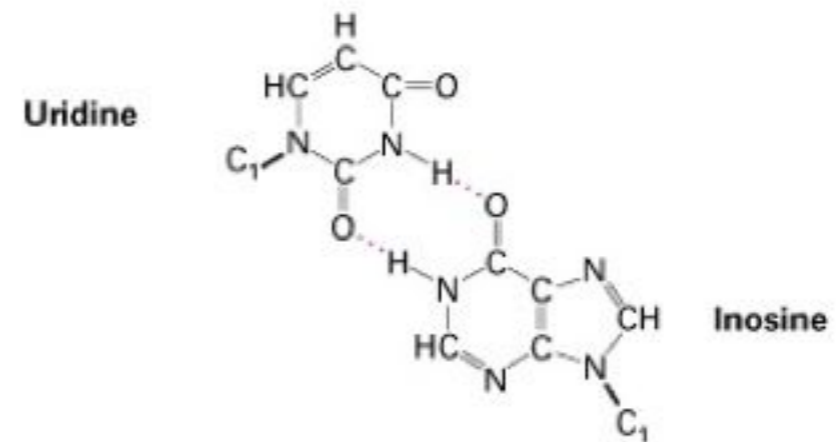
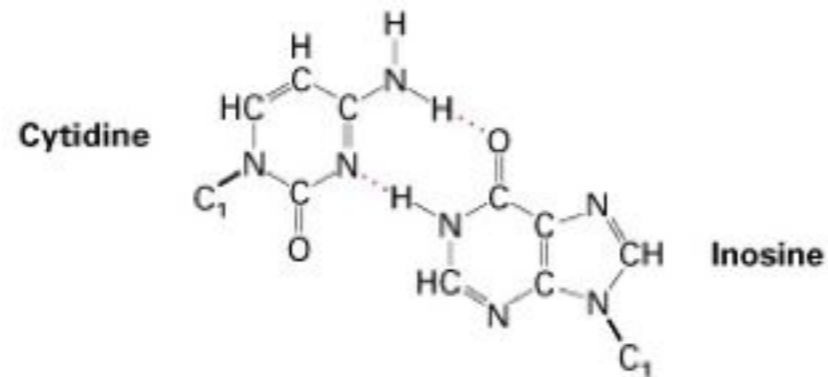
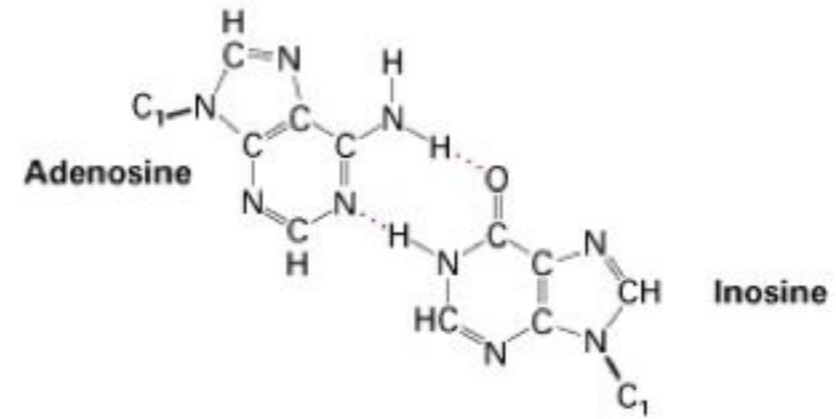
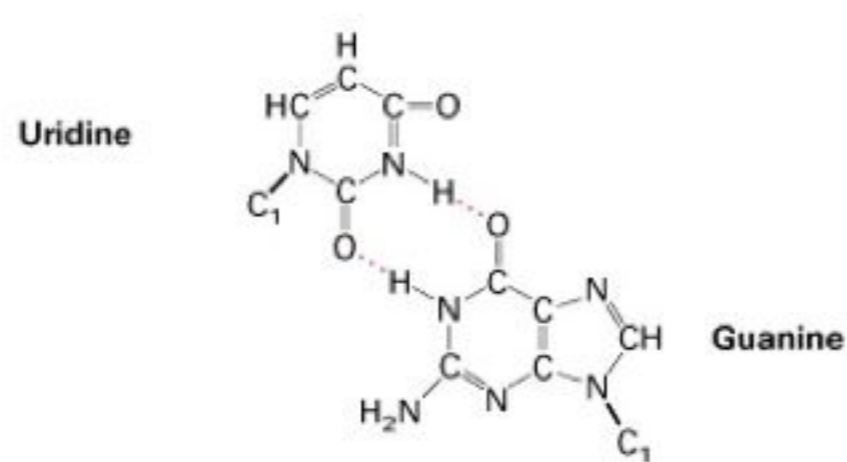
Table 6.1 Wobble in the Genetic Code

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 G

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	A, (G)
xm^5U^5	
Um	
xm^5U	
xo^5U	U, A, G
k^2C	A

(b)

Неканонические пары в кодон-антикодоновом взаимодействии



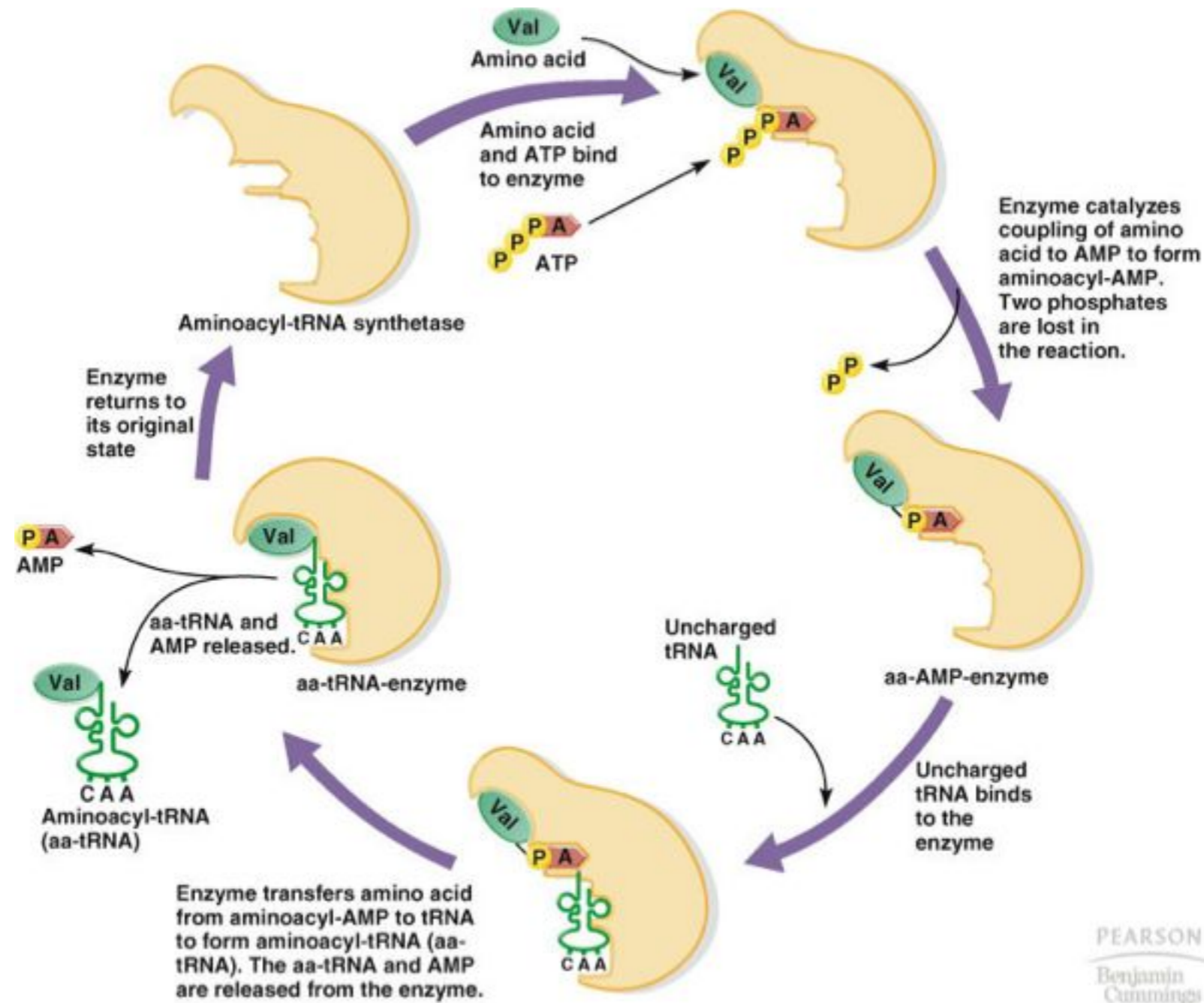
3 tRNA^{Ser} - 6 триплетов

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

**Кто заметил ошибку
на предыдущем
слайде? :)**

Аминоацил-тРНК синтетазы

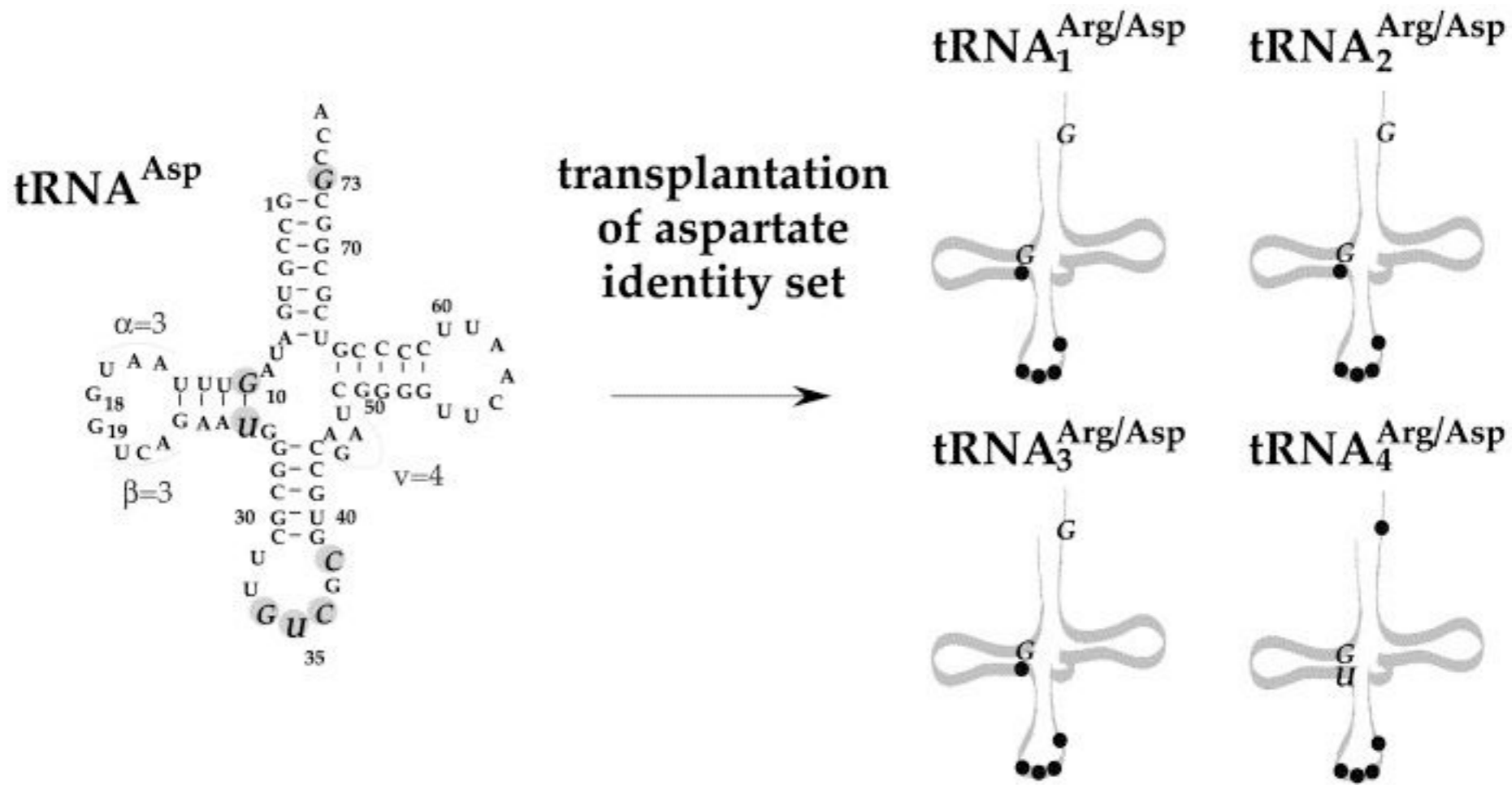


- Некоторые ARSase могут деацилировать неправильно ацилированные тРНК

У вас должны были возникнуть вопросы:

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

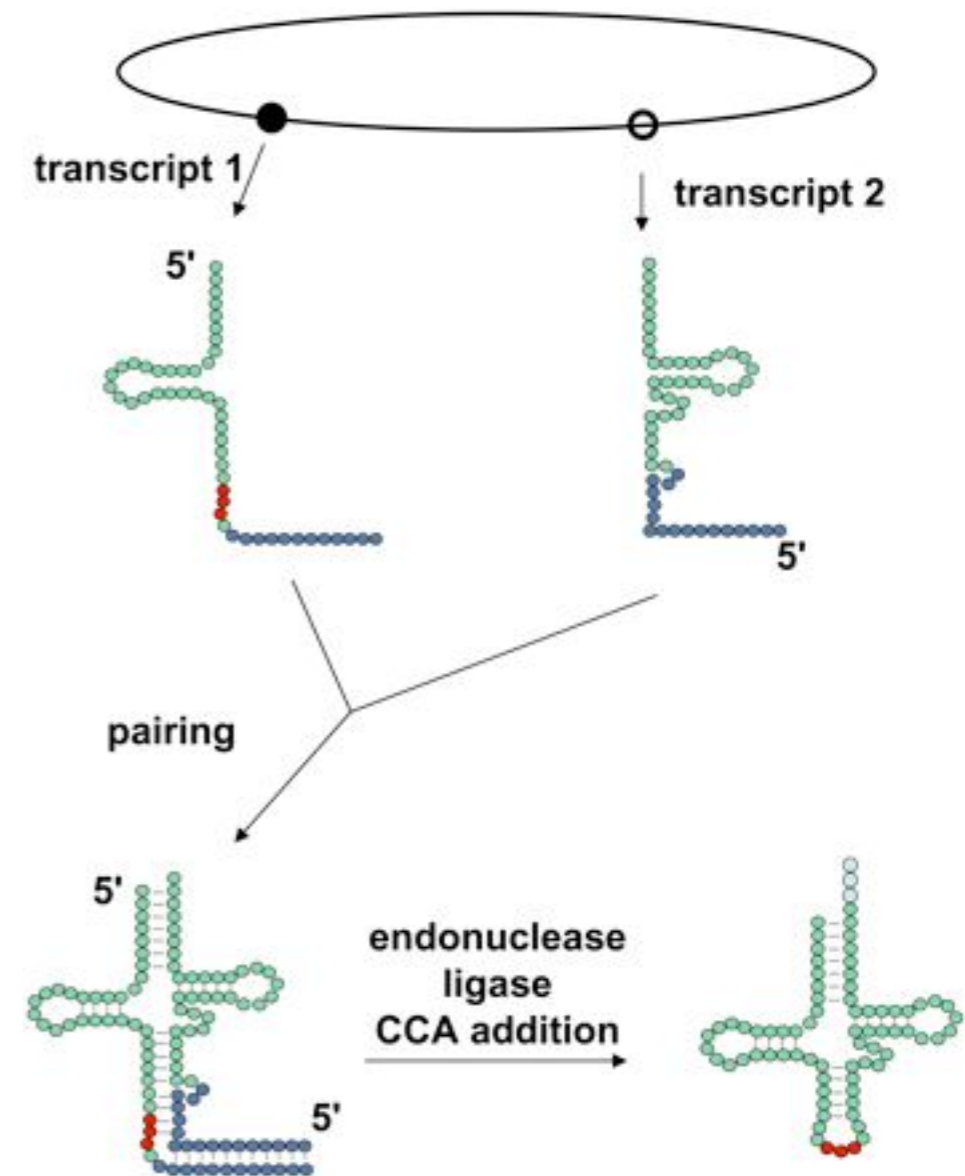
Identity Elements



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

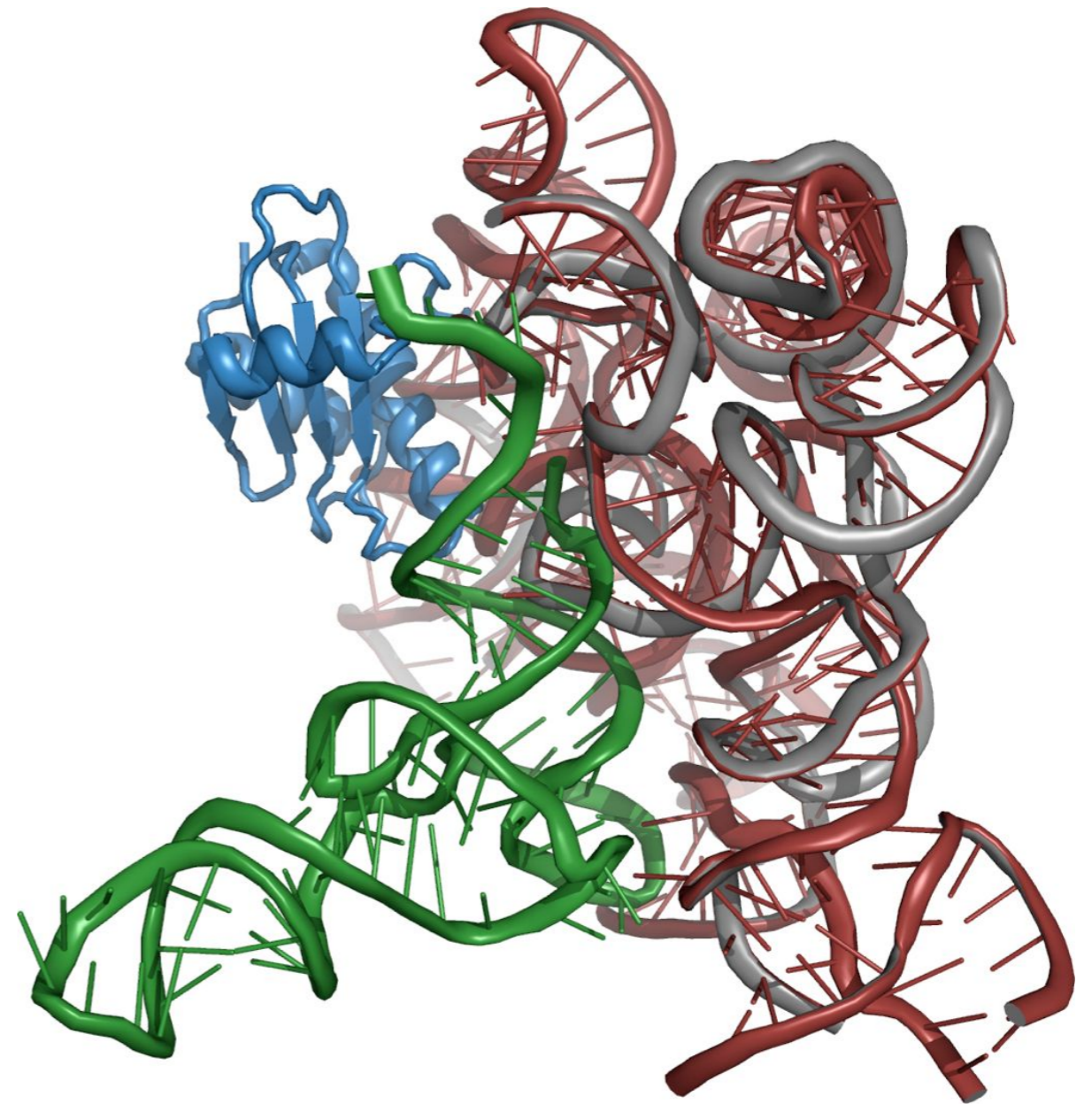
Созревание тРНК *N. equitans*

- Две половинки тРНК закодированы в разных генах на разных хромосомах

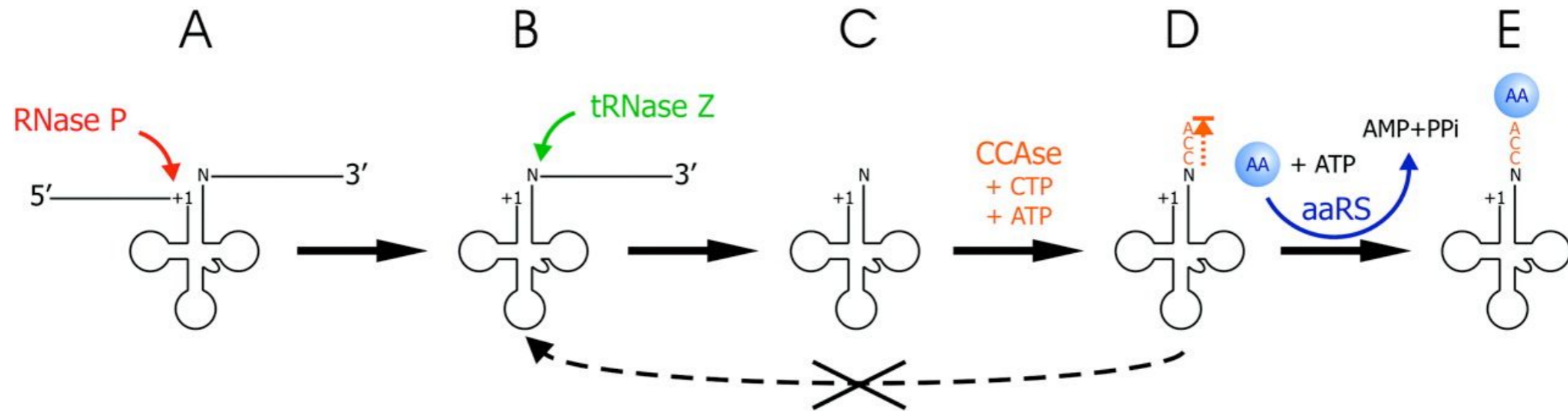


RNAse P

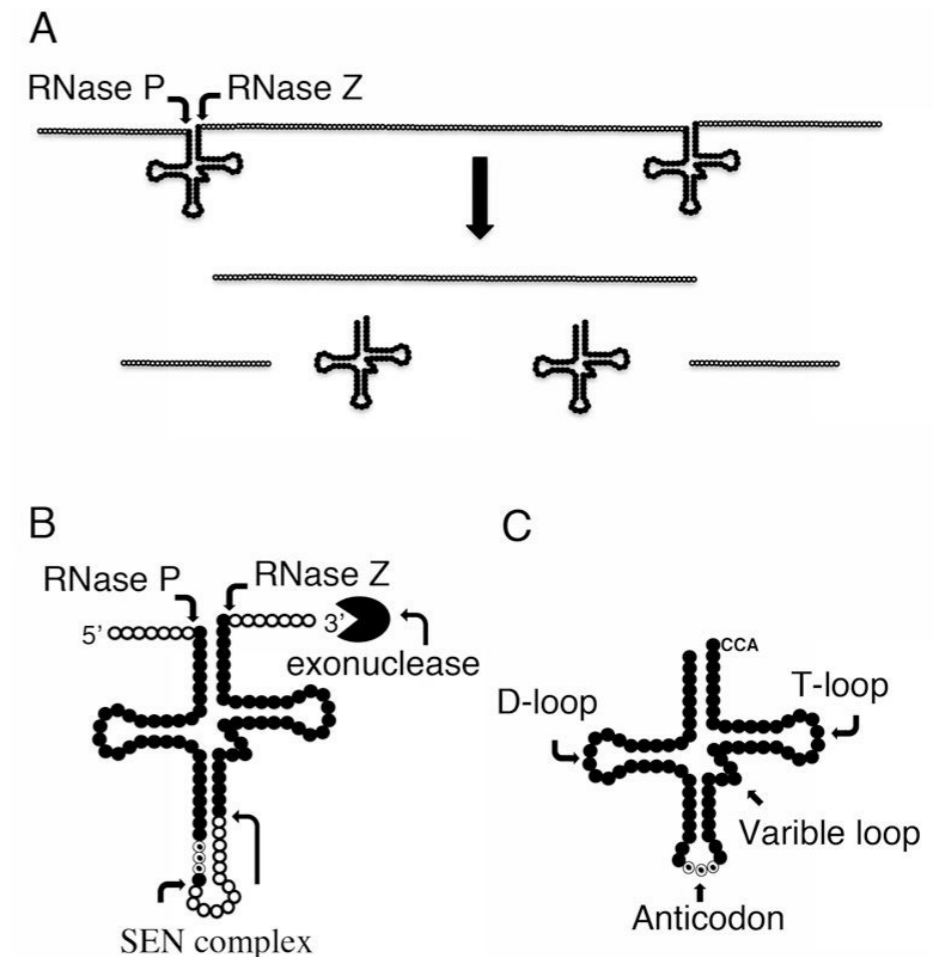
- RNP -
рибонуклеопротеин
- RNAse P - рибозим
- Но! RNAse P из
МИТОХОНДРИЙ
человека не
содержит RNA



Процессинг тРНК

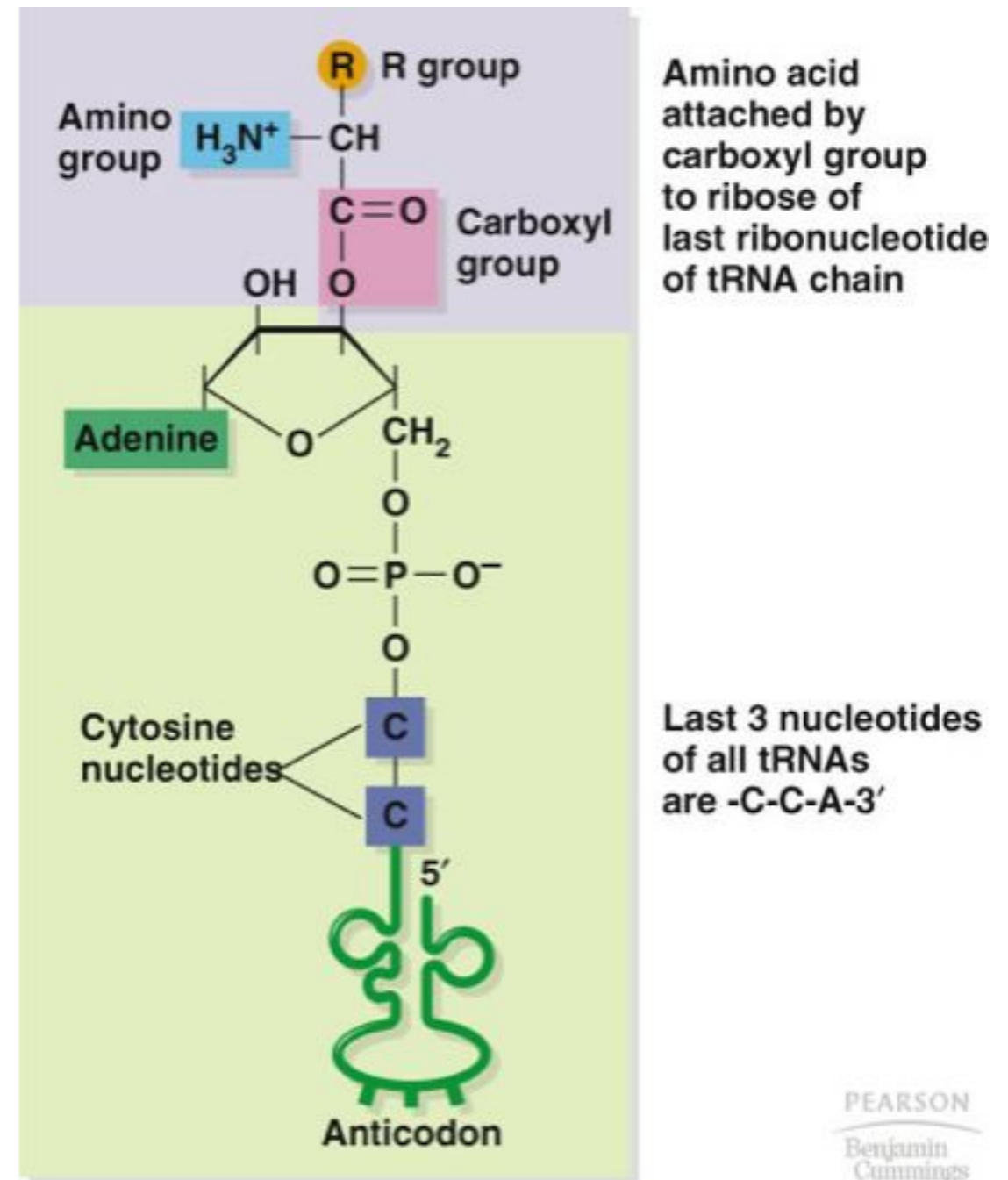


- tRNA вырезается из транскрипта (Pol III)
- У архей и эукаритот в tRNA еще есть интрон

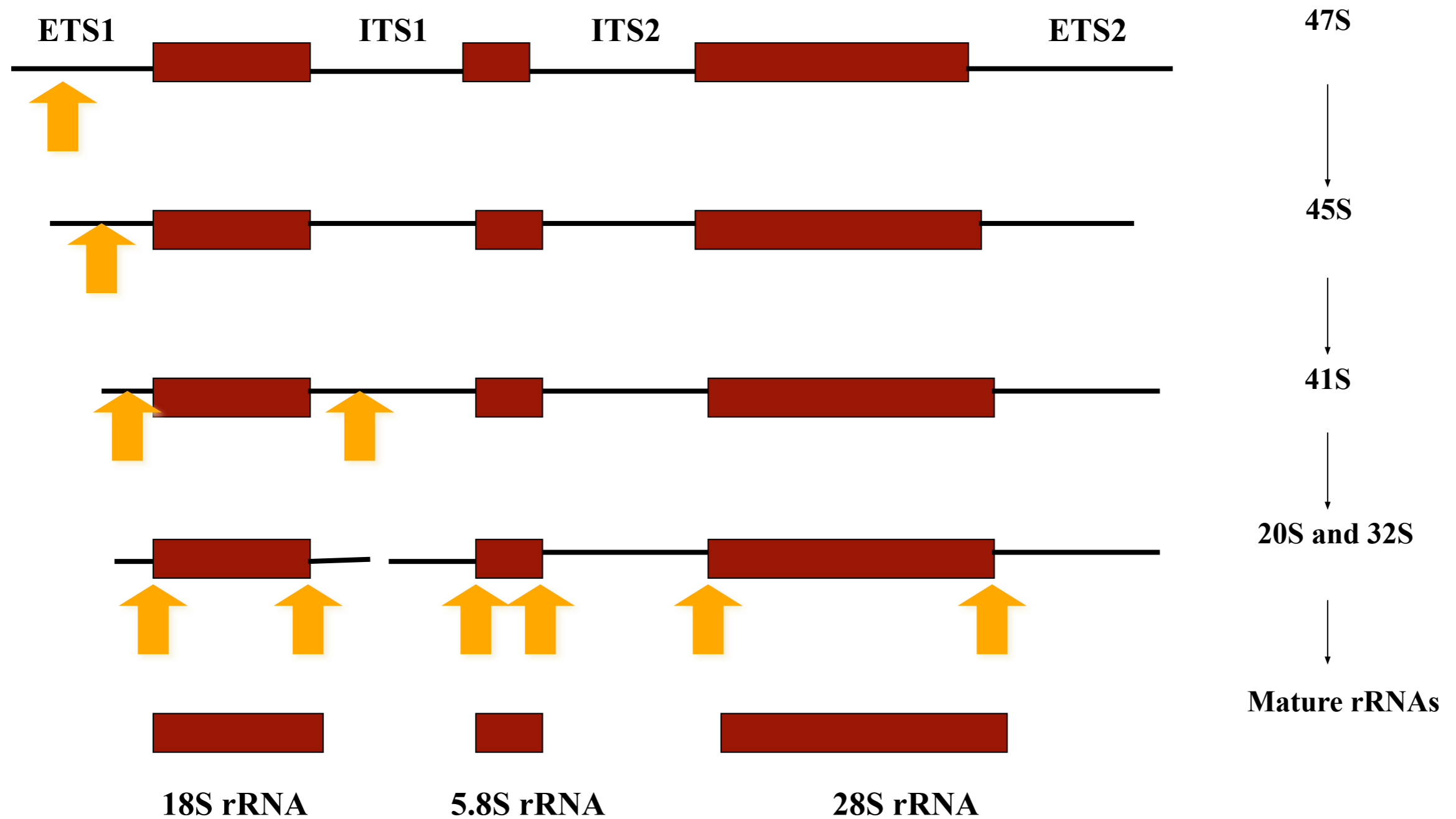


Аминоацил-тРНК

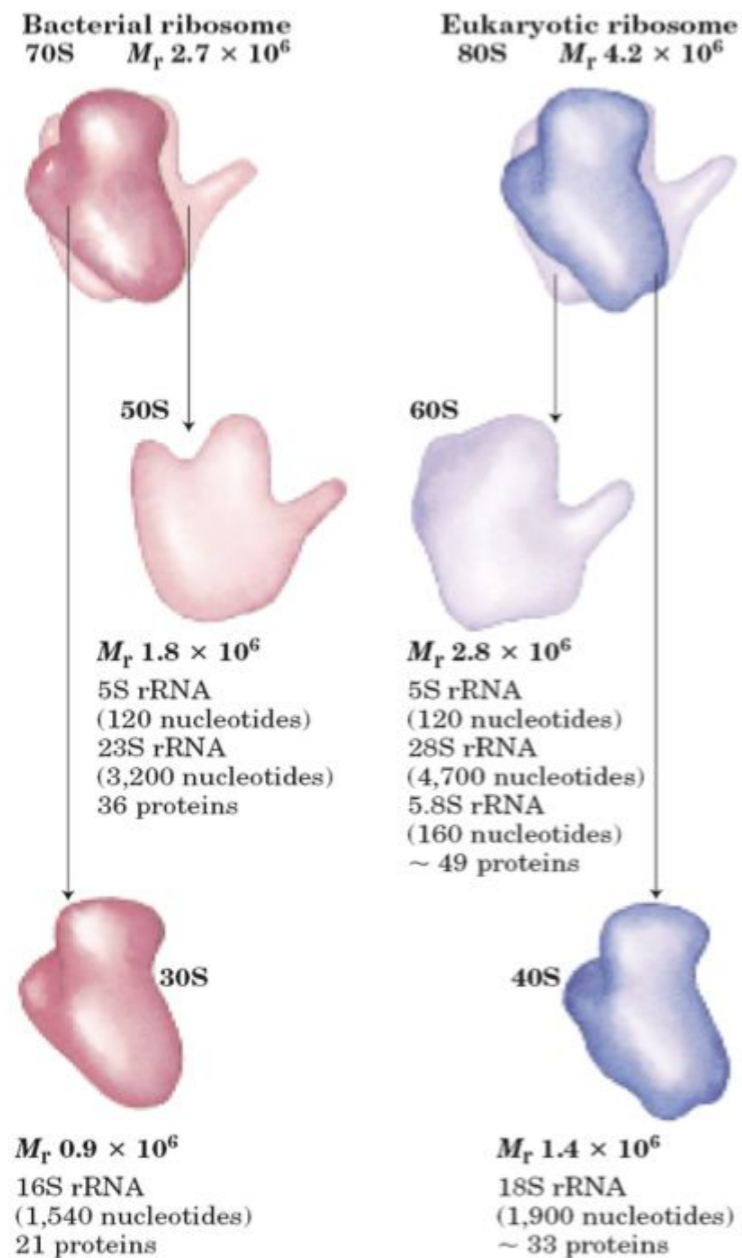
- На 3'-конце всех тРНК находится ССА-триплет
- Он не закодирован в ДНК, а доводится пост-транскрипционно



Процессинг рибосомных РНК



Сравнение прокариотических и эукариотических рибосом

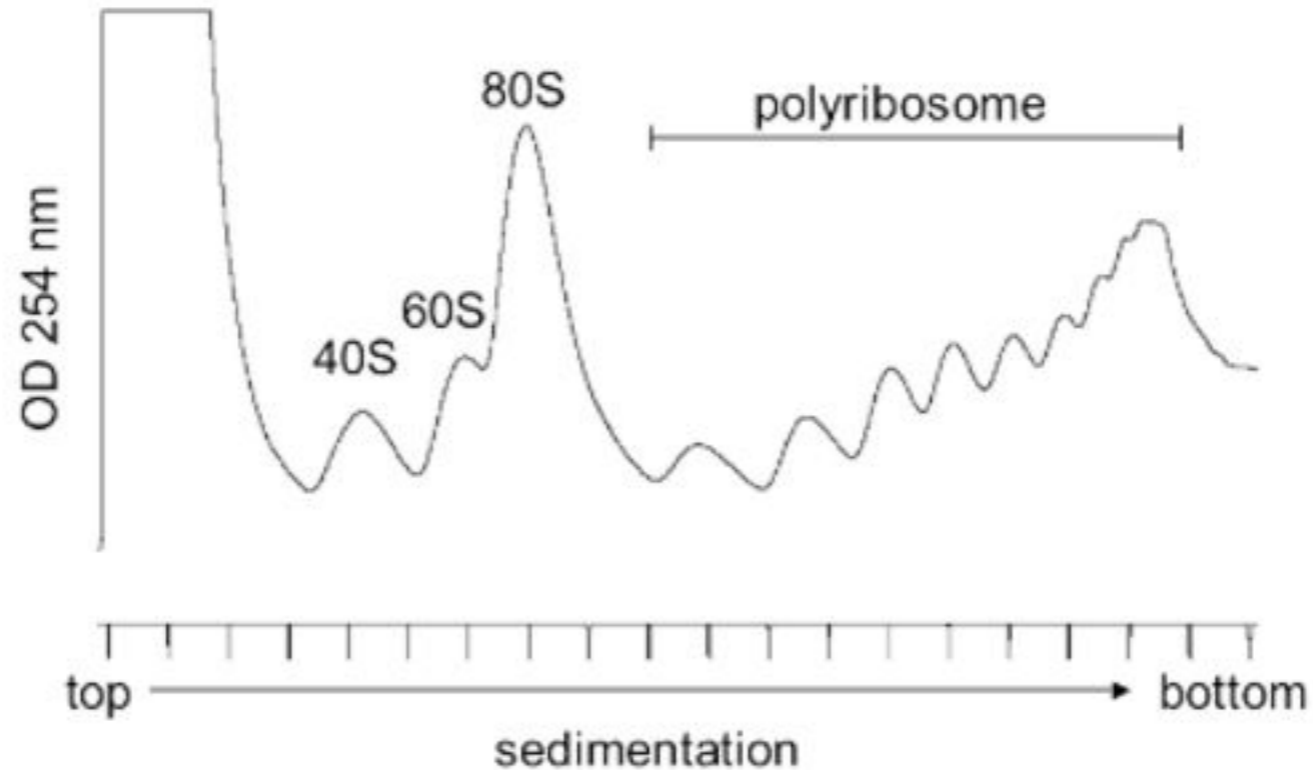


Prokaryotic ^a		Eukaryotic ^b	
Component	Mass, kDa	Component	Mass, kDa
Small (30S) subunit	850	Small (40S) subunit	1440
16S RNA	500	18S RNA	700
Proteins (21)	350 (total)	Proteins (~30)	740
Large (50S) subunit	1450	Large (60S) subunit	2800
23S RNA	950	28S RNA	1700
5S RNA	40	5.8S RNA	51
Proteins (32–34)	460	5S RNA	39
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.

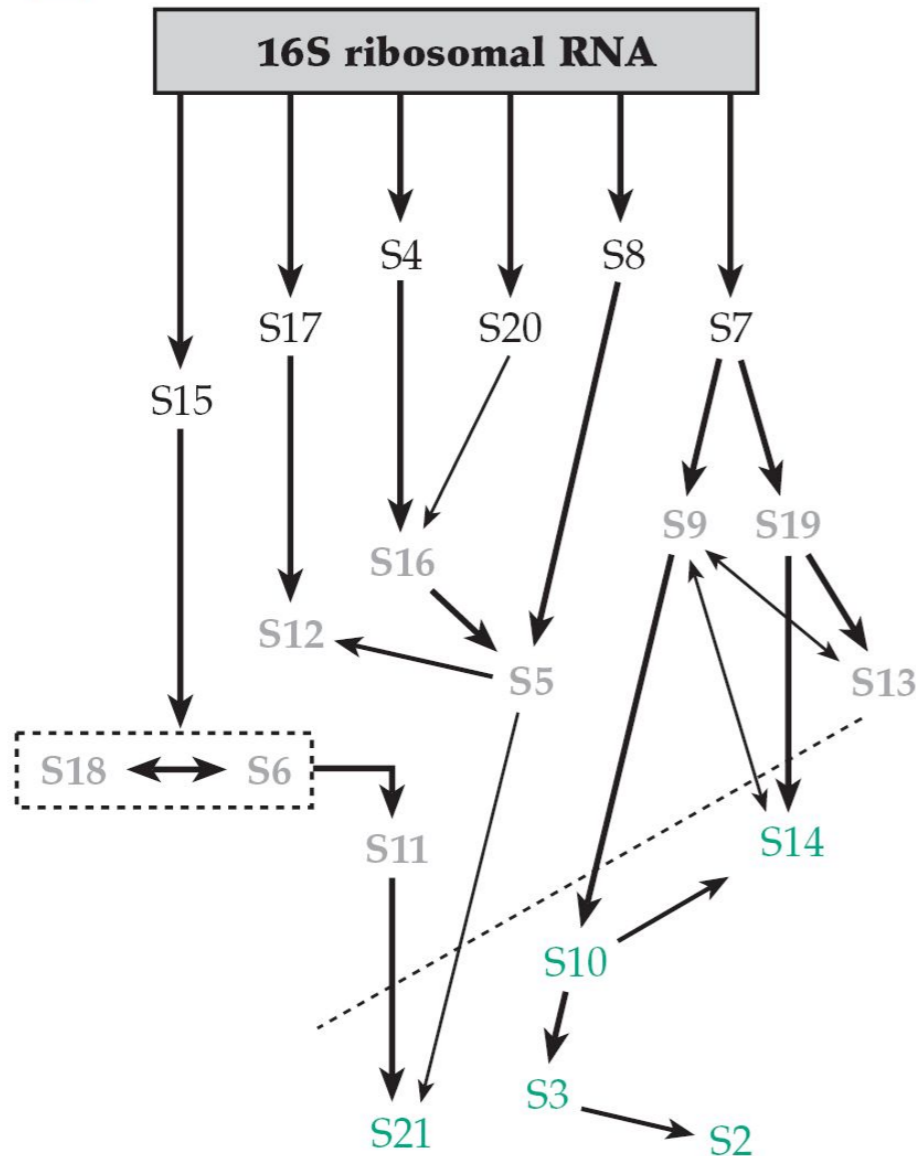
Центрифугирование в градиенте сахарозы



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

Сборка рибосомы

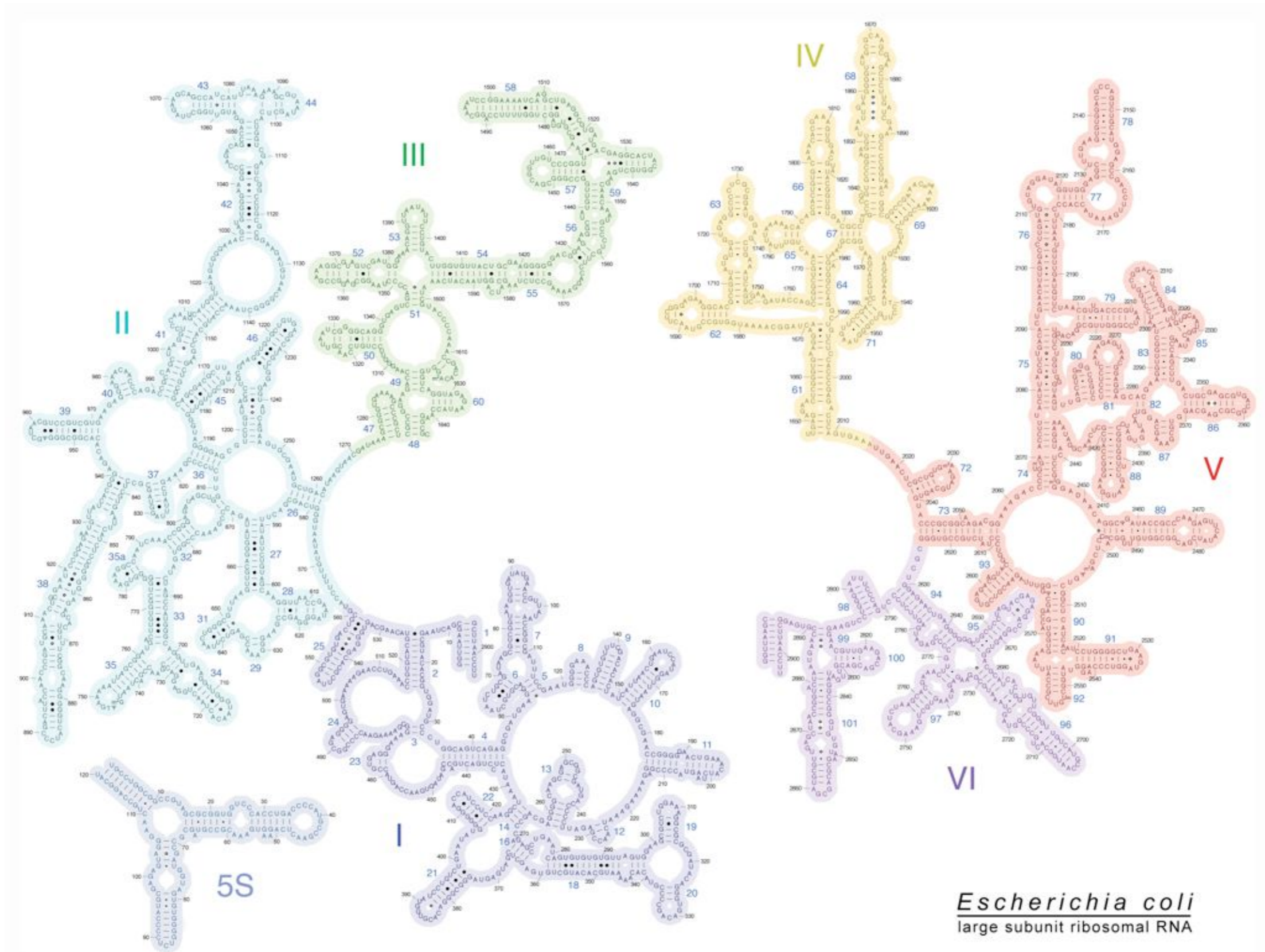
D



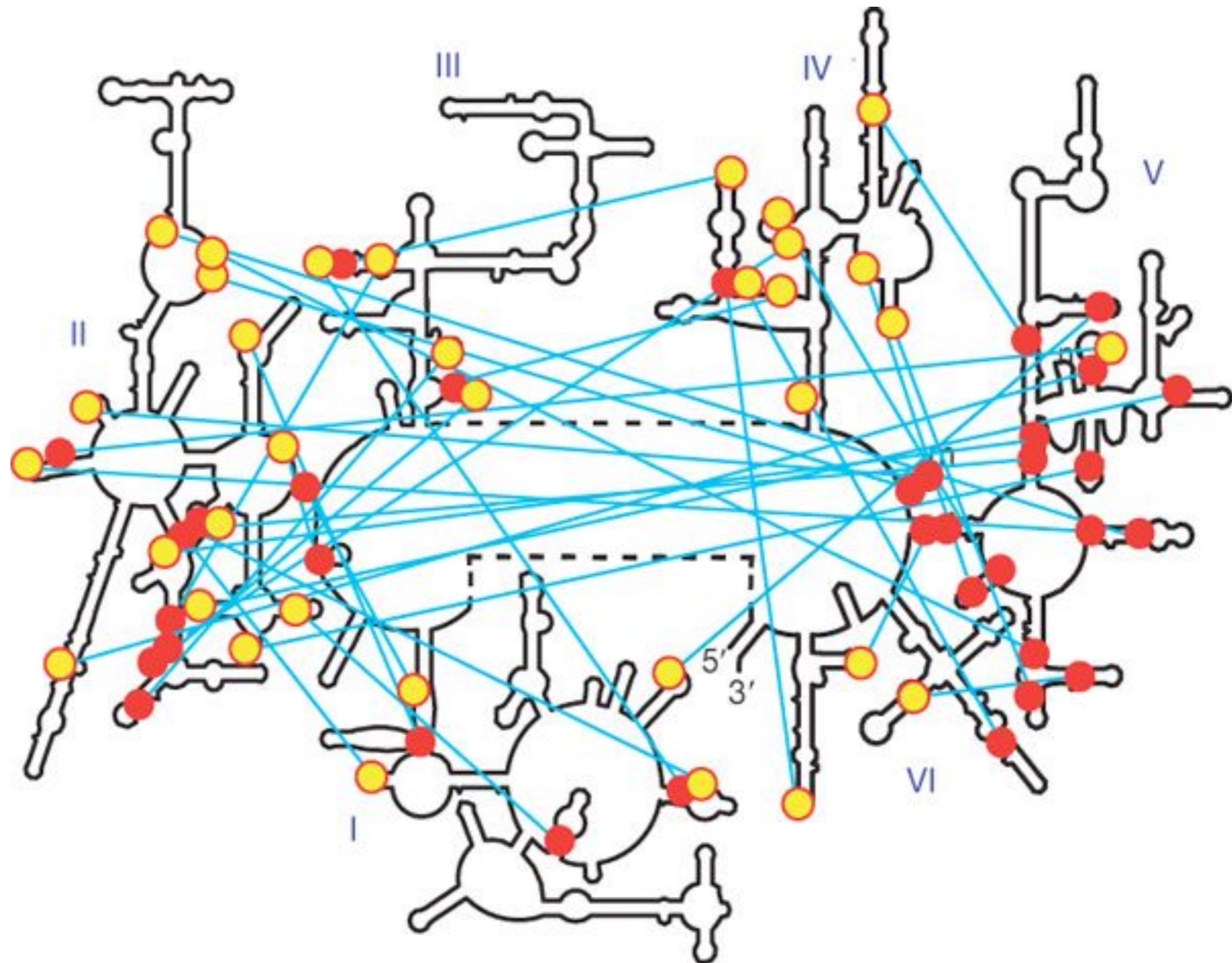
Masayasu Nomura

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

23S rRNA



23S rRNA



● 2000 - 70S из *Thermus thermophilus*, 3,3Å

Структурный анализ рибосом

● 2000 - 50S из *Halobaculum marismortui*, 2,4Å

● 2001 - 30S из *Thermus thermophilus* 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

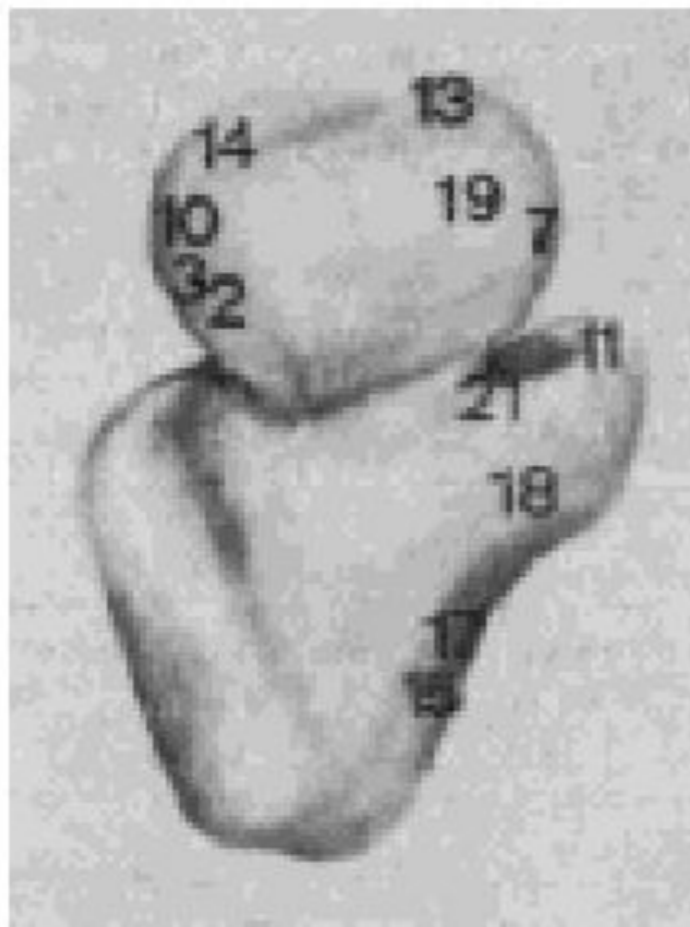
● 2013 - 60S из *Tetrahymena thermophila* со связанным с ней eIF6, 3,5Å

● 2013 - 80S из *Trypanosoma brucei*, 5Å, cryo-EM

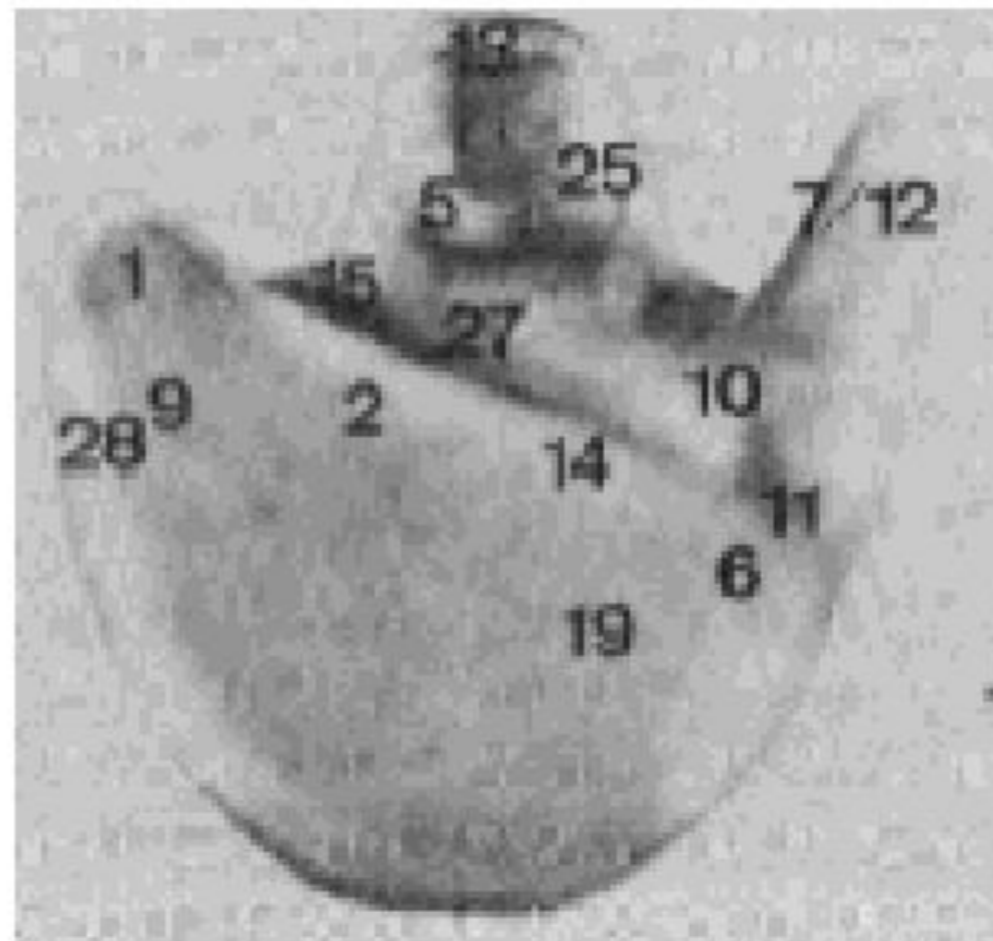
● *Saccharomyces cerevisiae*

Рибосома *E. coli* (конец 80-х)

30S

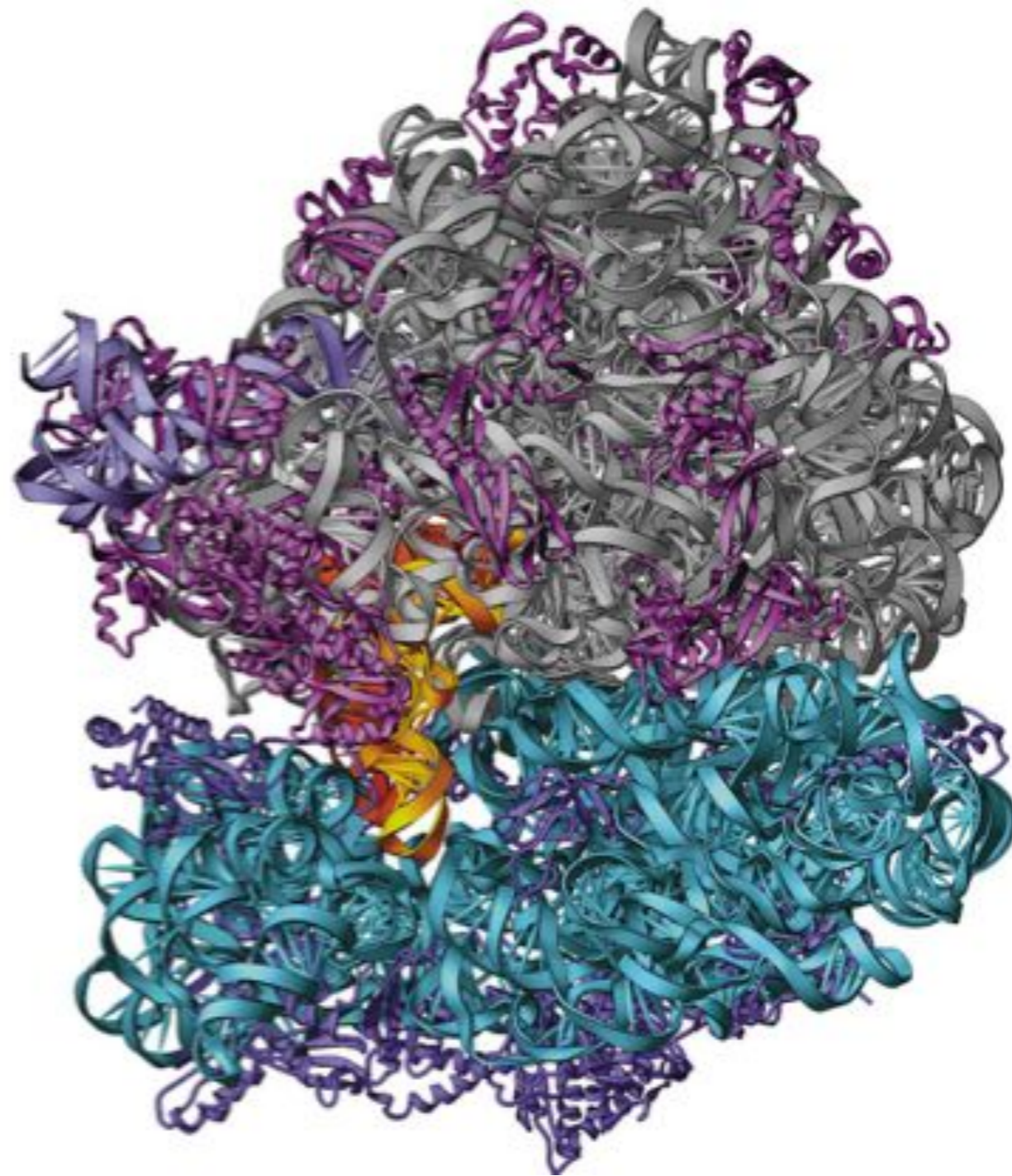


50S

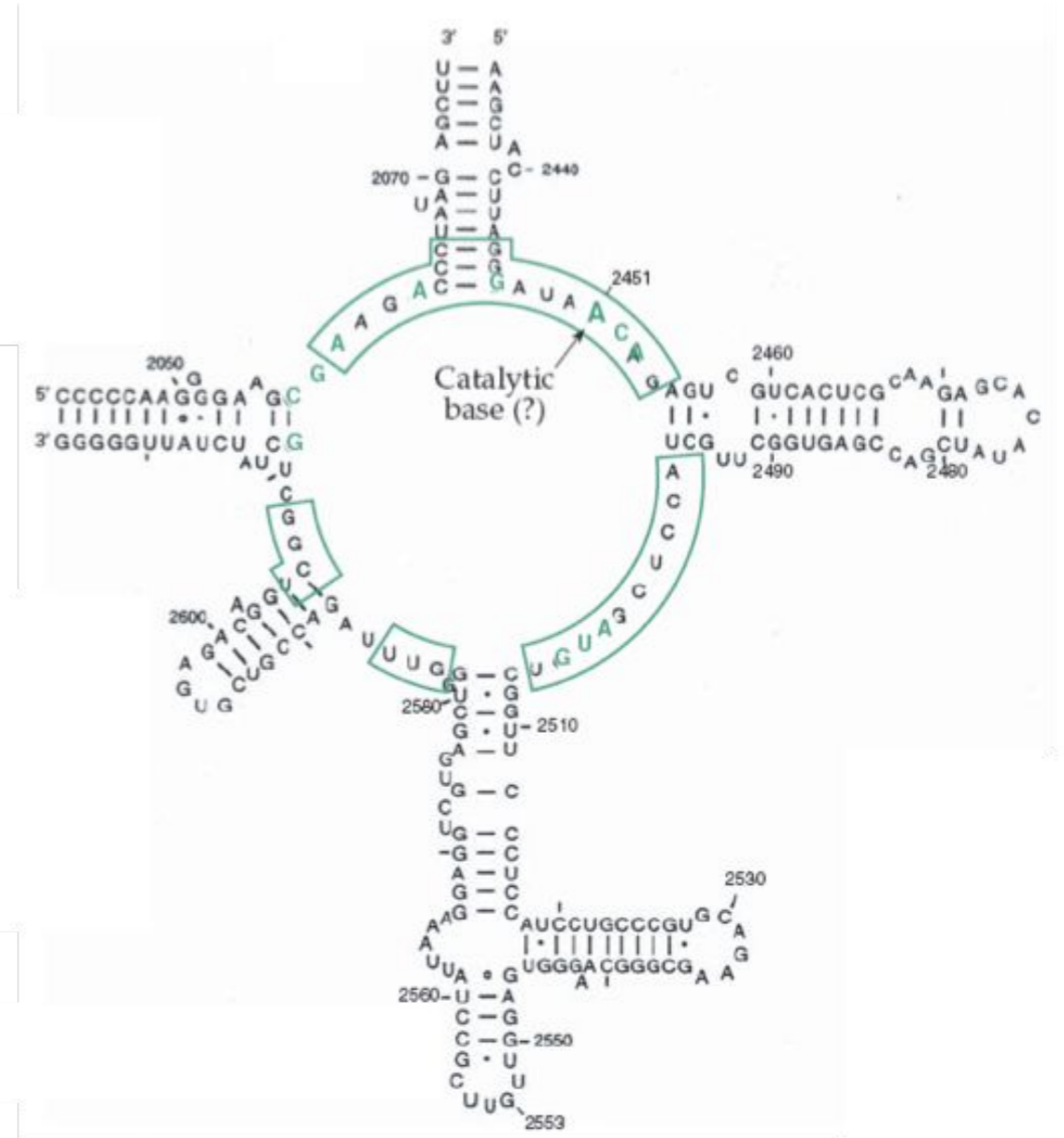
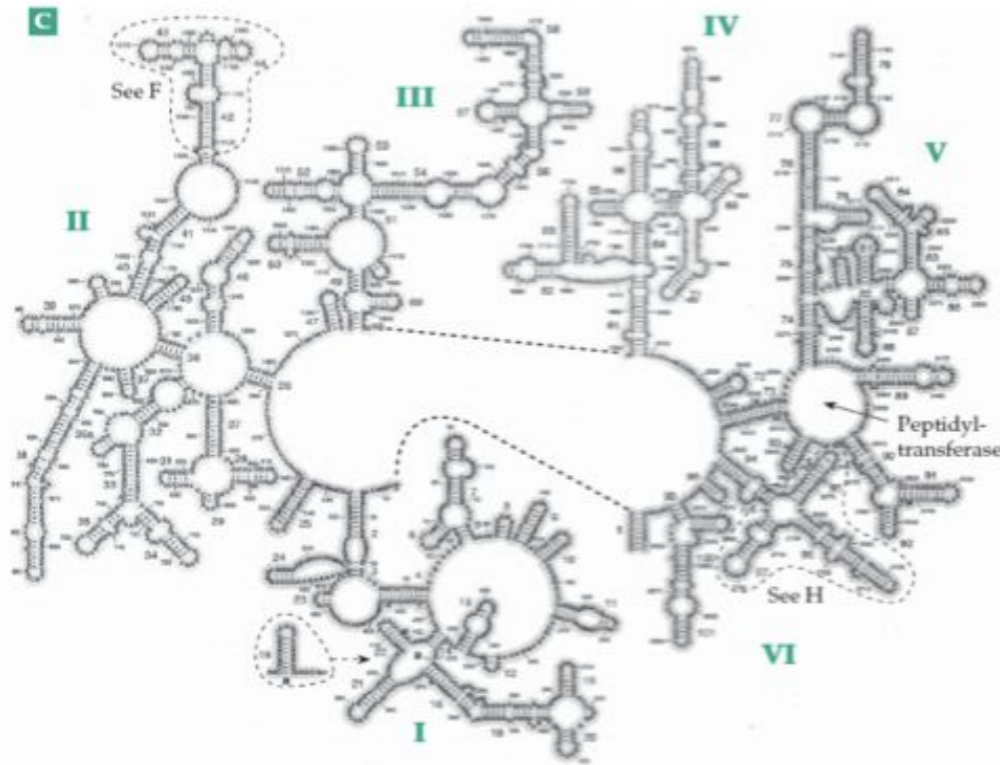


Thermus thermophilus 70S

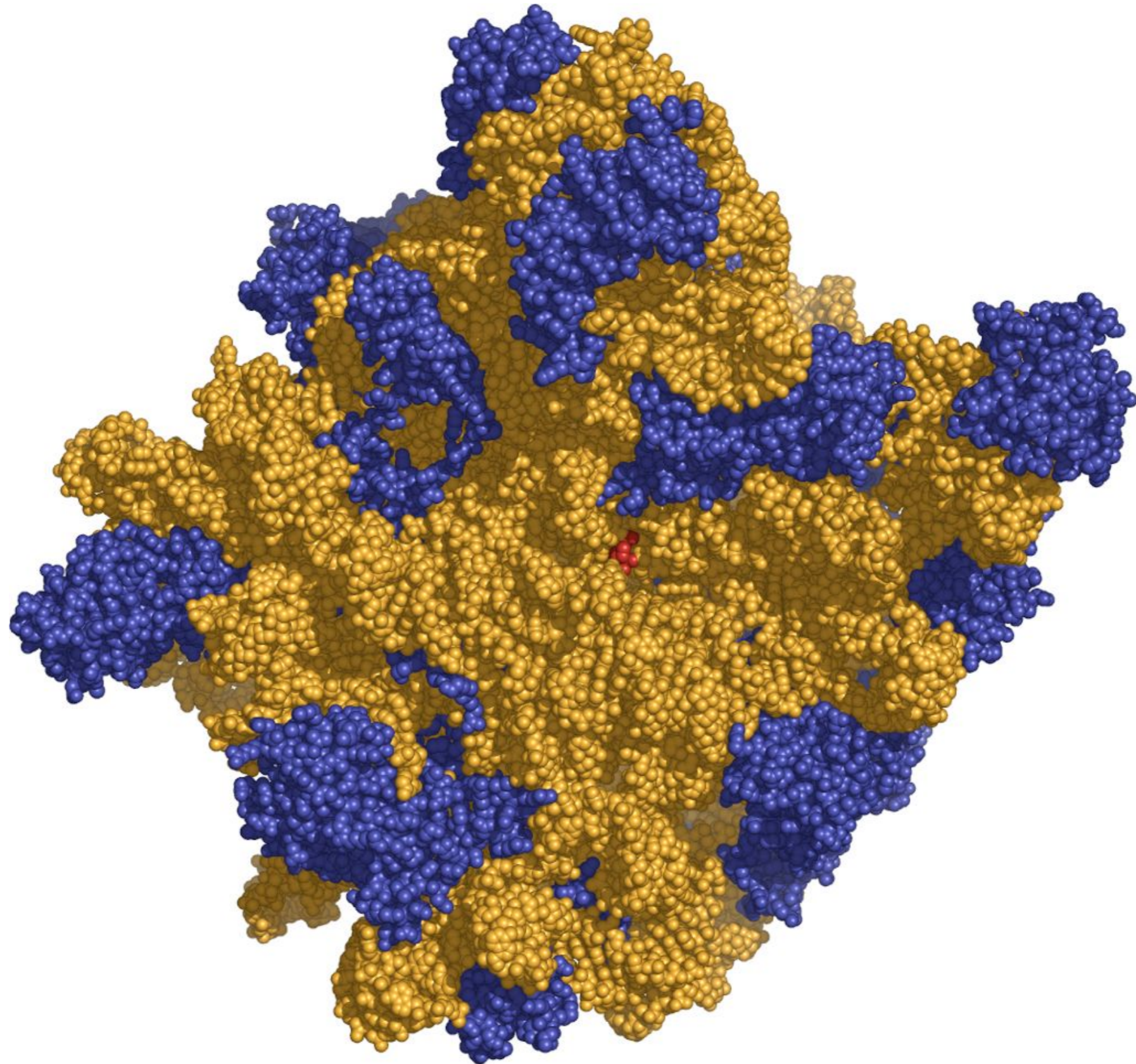
(Yusupov et. al, 2001)



Каталитический центр рибосомы «сделан» из РНК?

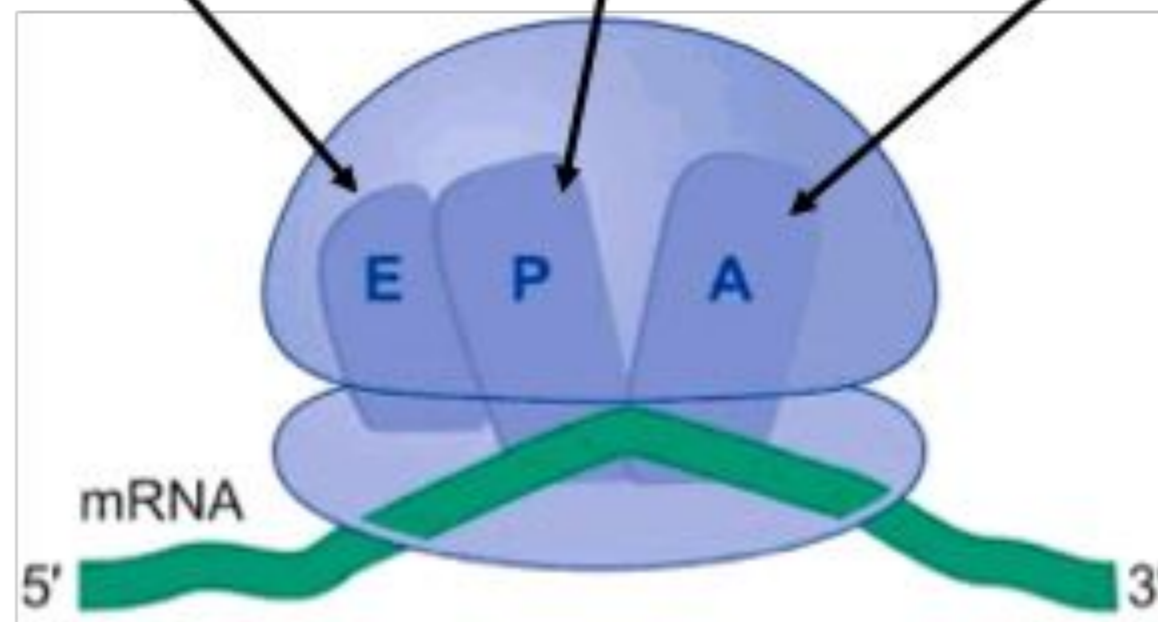


50S ribosome



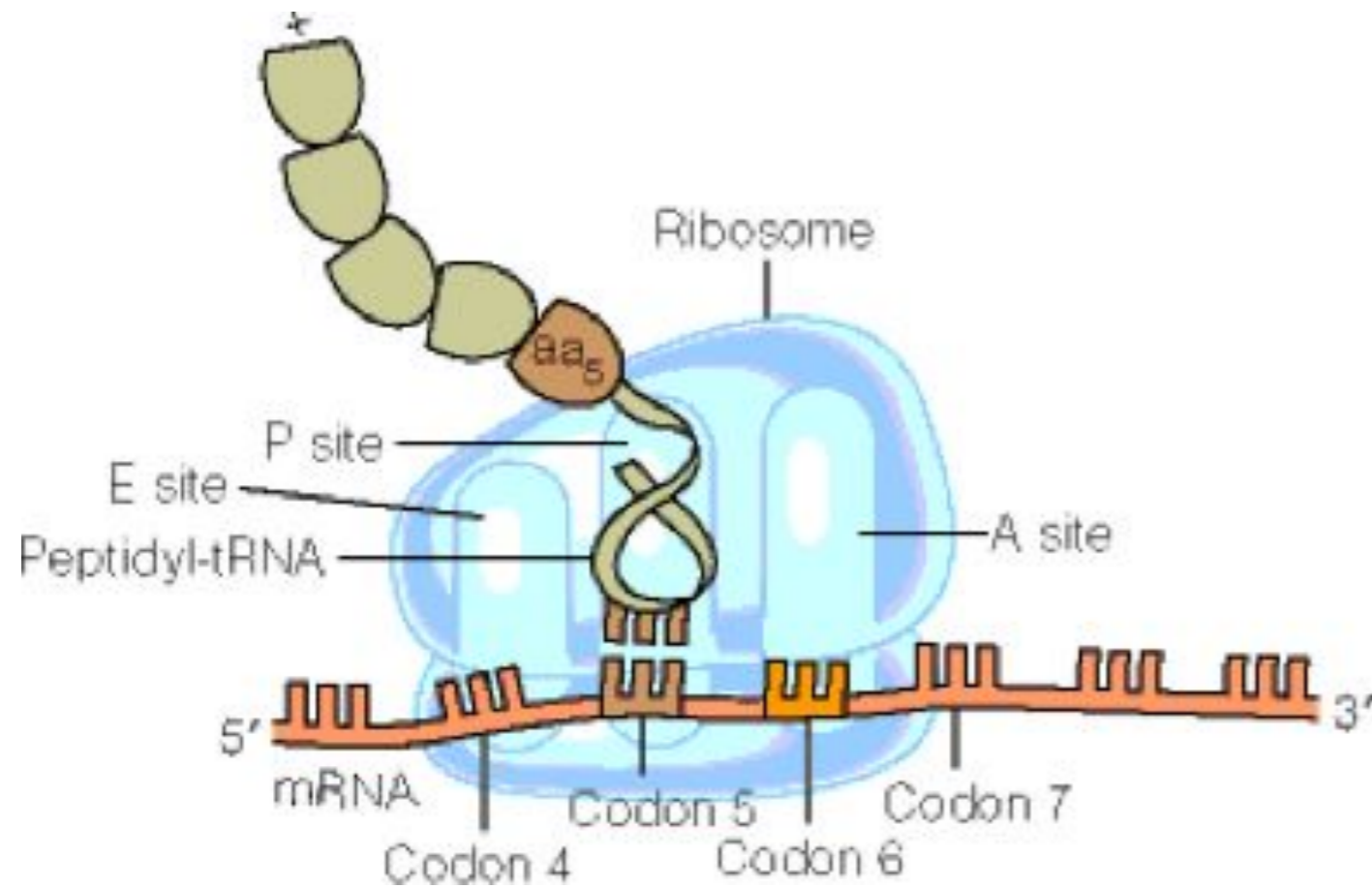
3 участка связывания тРНК на рибосоме

E: Exit site for free tRNA P: peptidyl-tRNA A: aminoacyl-tRNA



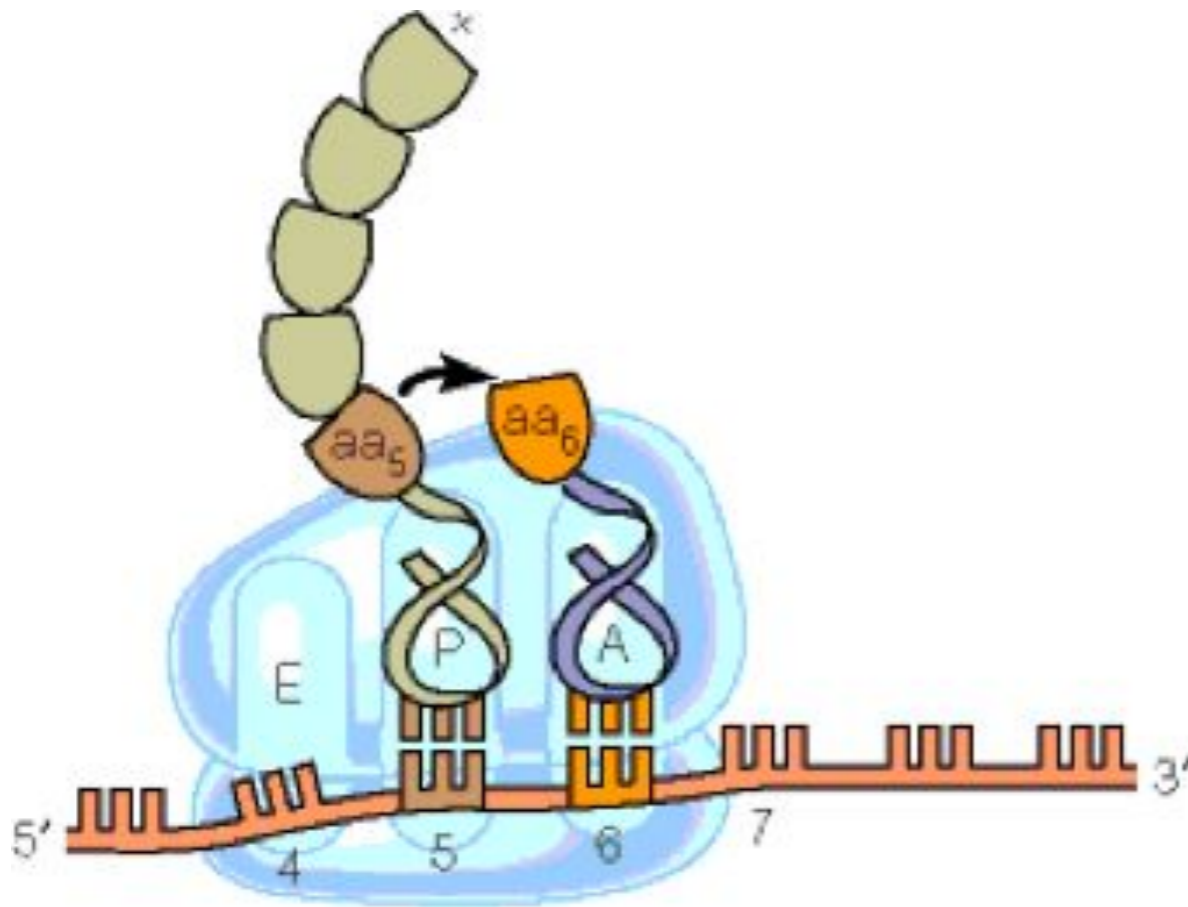
- **Инициация: тРНК связывается с Р-сайтом**
- **Элонгация: тРНК связывается с А-сайтом**

Элонгация трансляции. Шаг I.



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

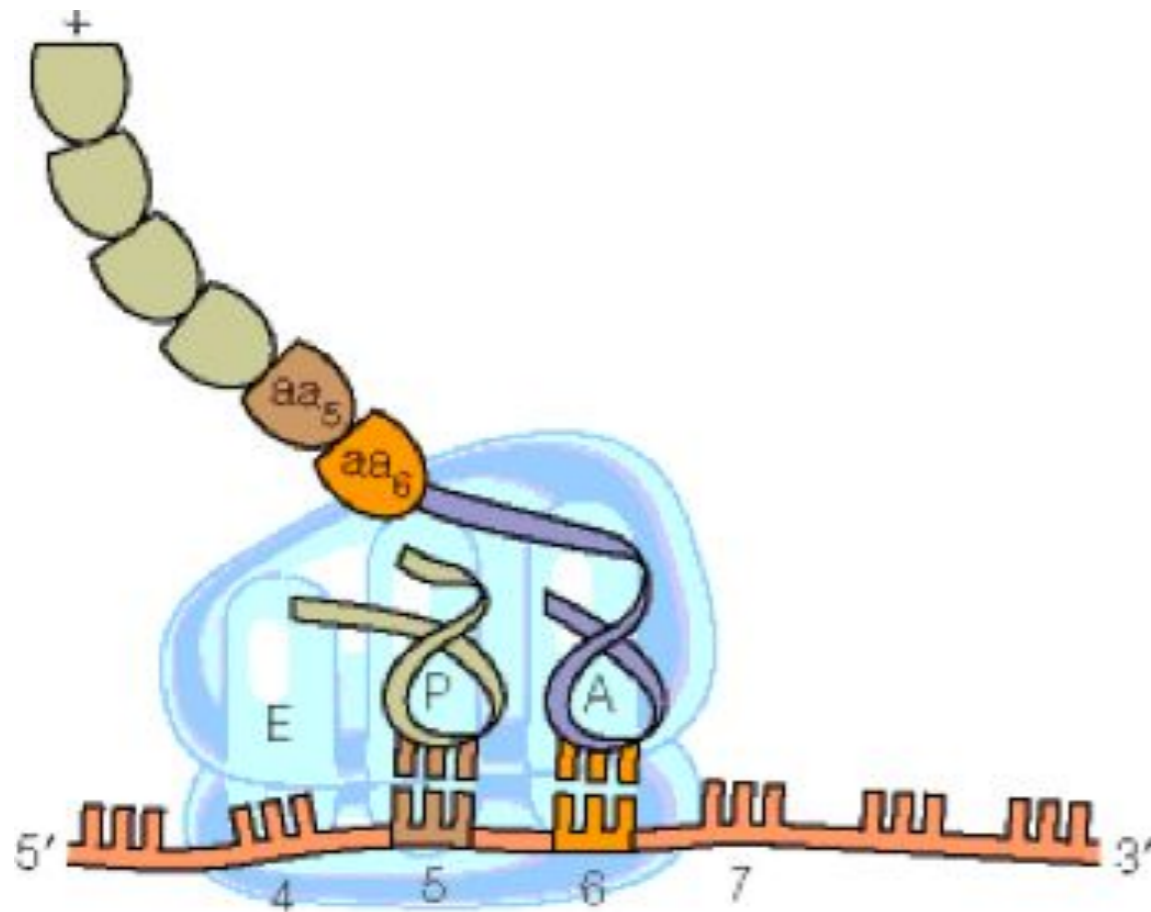
Элонгация трансляции. Шаг II.



- Р-сайт занят
пептидил-тРНК
- В А-сайт
связывается новая
аминоацил-тРНК

Элонгация трансляции. Шаг III.

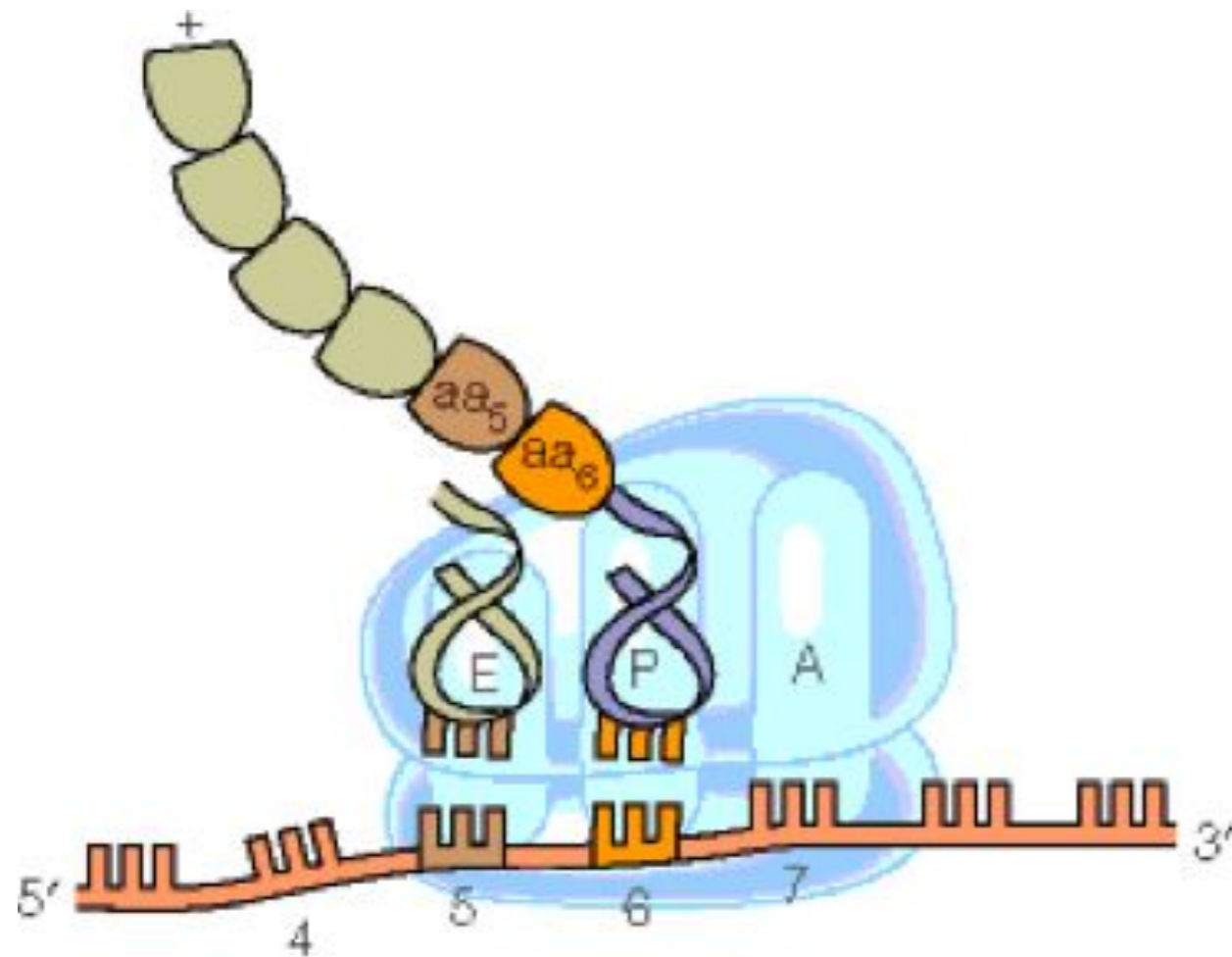
Транспептидация.



- 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 E-сайте - деацилированная тРНК
- В P-сайте - пептидил-тРНК
- A-сайт пустой

Рибосомный туннель



Конец