



Трансляция

ТРАНСЛЯЦИЯ

- Перевод генетической информации мРНК, записанной с помощью четырех нуклеотидов, в первичную структуру белка (полипептид), записанную с помощью 20 аминокислот (**экспрессия гена**).
- Трансляция идет в рибосомах.
- Для перевода нуклеотидного кода в аминокислотную последовательность служат молекулы-адаптеры **аминоацил-тРНК**: на 3'-конце – аминокислота, а в другой части молекулы - триплет нуклеотидов (**антикодон**), комплементарный кодону мРНК.



Рибосомы

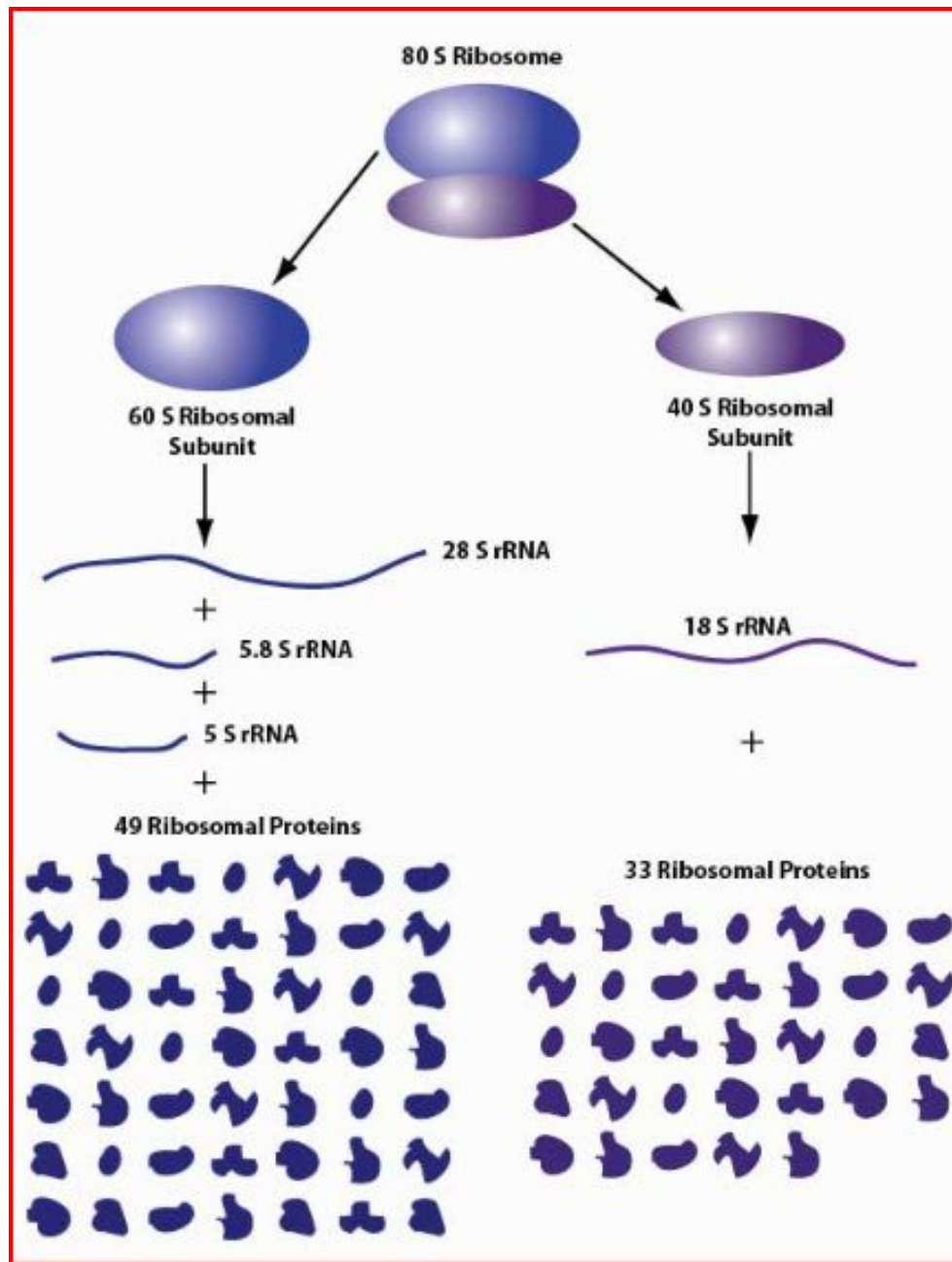
- Рибосомы - **внутриклеточный компартмент**, где происходит трансляция.
- **Полирибосомы** (полисомы) - несколько рибосом, транслирующих одну и ту же цепь мРНК.
- Шероховатый эндоплазматический ретикулум – рибосомы, связанные с мембранами, продуцируют мембранные и экспортные белки.
- Свободные полисомы синтезируют внутриклеточные белки.

Строение рибосом

- Химически рибосомы представляют собой **нуклеопротеины**, состоящие из РНК и белков в соотношении 1:1 у 80S рибосом эукариот и 2:1 у 70S рибосом прокариот.
- **Рибосомные РНК** синтезируются в **ядрышке**, белки образуются в цитоплазме и переносятся в ядрышко. Здесь спонтанно образуются рибосомные субчастицы путем объединения белков с соответствующими рРНК.

Строение рибосом

- Рибосома состоит из **2 субъединиц**: малая (30S – прокариоты или 40S – эукариоты) и большая (50S – прокариоты или 60S – эукариоты).
- У эукариот малая субъединица содержит 33 белка и 18S рРНК, а большая – 49 белков, 5S, 5,8S и 28S рРНК.
- В микробной клетке – 10000 рибосом, в клетках эукариот – до 100000 рибосом.



РИБОСОМНЫЙ ЦИКЛ ДЖ.УОТСОНА

- В начале синтеза полипептидной цепи субъединицы рибосомы объединяются на 5'-конце мРНК в функционирующую рибосому, а в конце синтеза диссоциируют на субъединицы.
- Для синтеза каждой новой полипептидной цепи необходимо собрать рибосому на 5'-конце мРНК.
- С одной мРНК **одновременно могут транслироваться несколько полипептидных цепей**, каждая своей рибосомой.

ПЕРЕДАЧА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ ПРИ СИНТЕЗЕ БЕЛКА

- **ДНК:** информация о последовательности аминокислот в полипептидной цепи записана в структурных генах в виде последовательности триплетов дезоксирибонуклеотидов.
- **мРНК:** в процессе транскрипции на мРНК создается аналогичная последовательность триплетов рибонуклеотидов (кодонов).
- **тРНК:** каждая из 20 протеиногенных аминокислот включается в 1-4 аминоксил-тРНК, имеющих одинаковый **антикодон** – триплет рибонуклеотидов, комплементарный соответствующему кодону мРНК.

Генетический код

		Second Letter								
		T	C	A	G					
First Letter	T	TTT } Phe TTC } TTA } Leu TTG }	TCT } TCC } Ser TCA } TCG }	TAT } Tyr TAC } TAA Stop TAG Stop	TGT } Cys TGC } TGA Stop TGG Trp	Third Letter	T	C	A	G
	C	CTT } CTC } Leu CTA } CTG }	CCT } CCC } Pro CCA } CCG }	CAT } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGT } CGC } Arg CGA } CGG }		T	C	A	G
	A	ATT } ATC } Ile ATA } ATG Met	ACT } ACC } Thr ACA } ACG }	AAT } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGT } Ser AGC } AGA } Arg AGG }		T	C	A	G
	G	GTT } GTC } Val GTA } GTG }	GCT } GCC } Ala GCA } GCG }	GAT } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGT } GGC } Gly GGA } GGG }		T	C	A	G

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД (мРНК)

- **Иницирующие кодоны** – АУГ и ГУГ (кодируют включение формилметионина у прокариот или метионина у эукариот), определяют стадию начала (инициации) синтеза белковой молекулы.
- **Смысловые кодоны** – кодируют включение аминокислот в синтезируемую полипептидную цепь.
- **Терминирующие кодоны** (нонсенс-кодоны УАА, УАГ и УГА) не кодируют включение аминокислот, а определяют завершение (терминацию) синтеза.

ЭТАПЫ СИНТЕЗА БЕЛКА

Активация аминокислот с образованием амино-ацил-тРНК (aa-тРНК);

- **Инициация** полипептидной цепи;
- **Элонгация** полипептидной цепи;
- **Терминация** полипептидной цепи;

Сворачивание полипептидной цепи (фолдинг) и процессинг (созревание).

Белоксинтезирующая система клетки

- **mРНК** – матрица, на которой записана последовательность аминокислот белка в виде последовательности триплетов.
- **Рибосомы** (полирибосомы) – место ферментативного соединения аминокислот.
- Набор всех типов **aa-тРНК** (64 типа, по числу кодонов генетического кода).
- **АТФ, ГТФ, ионы магния, регуляторные и вспомогательные факторы** белковой природы.

АКТИВАЦИЯ АМИНОКИСЛОТ

- В цитозоле **20 аминокислот** соединяются с **соответствующими тРНК** с образованием **aa-тРНК**.
- Ферменты – **aa-тРНК-синтетазы** имеют 4 участка в активном центре: для аминокислоты, для тРНК, для АТФ и для воды (гидролиз в случае присоединения «неправильной» аминокислоты).
- **Аминоацил-тРНК-синтетазы** способны **распознавать ошибку и устранять ее** (1 ошибка на 1300 аминокислот).

Реакция активации аминокислот

Аминокислота + АТФ + тРНК

□

aa-тРНК + АМФ + ФФ.

2 этапа:

■ Аминокислота + АТФ

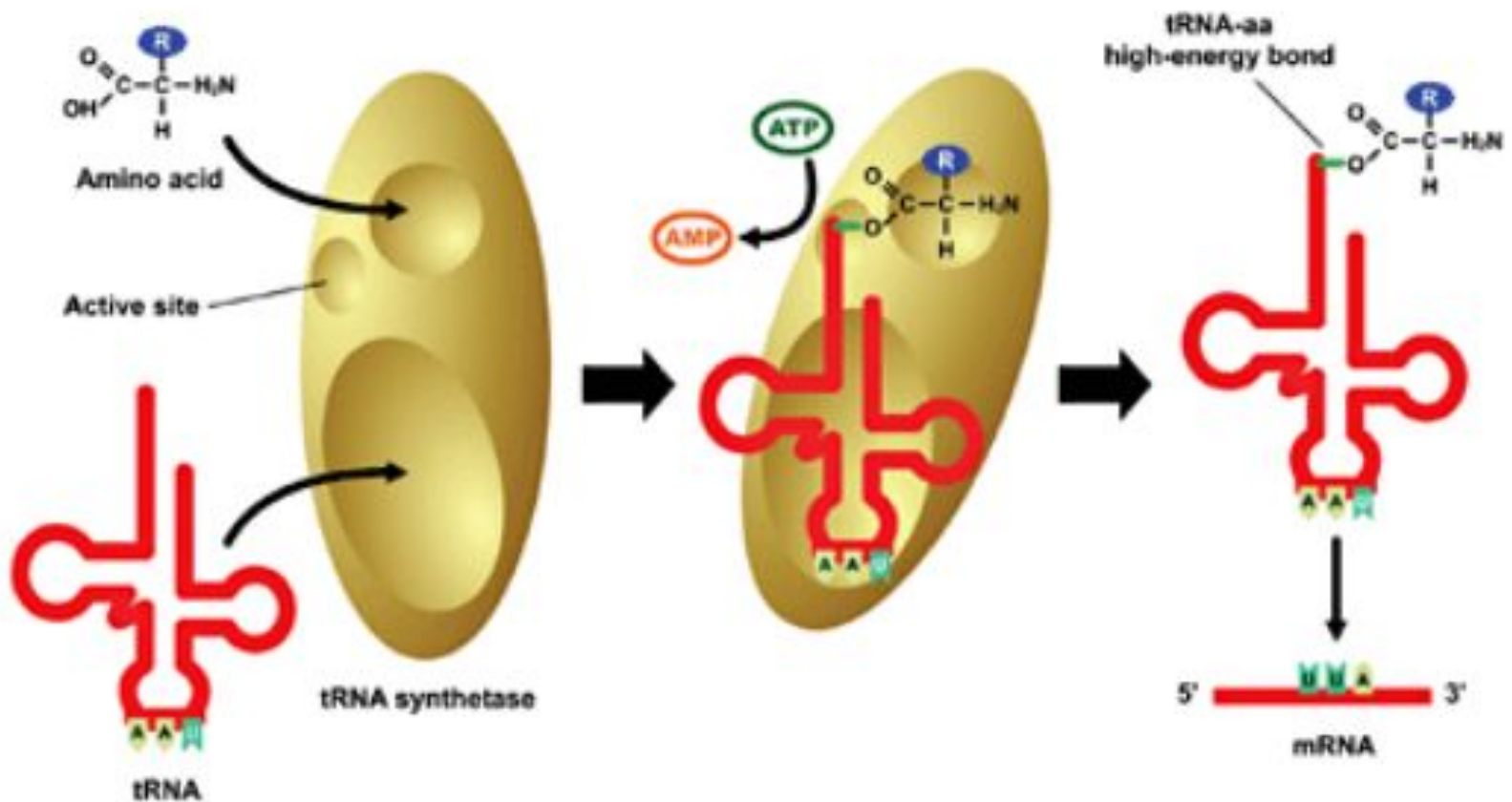
□

аминоациладенилат + ФФ.

■ Аминоациладенилат + тРНК-3'ОН □

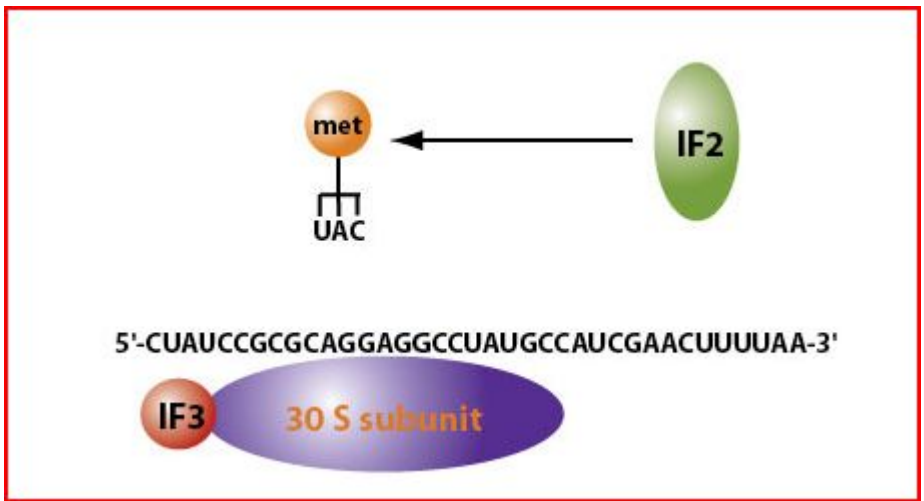
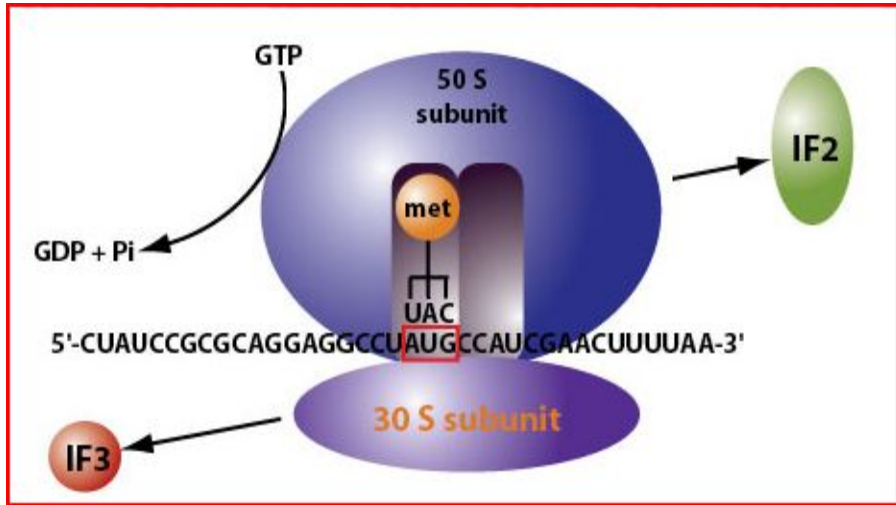
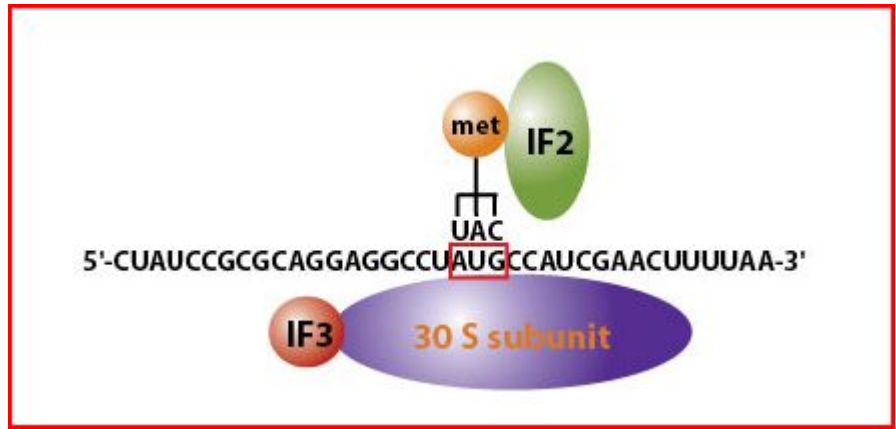
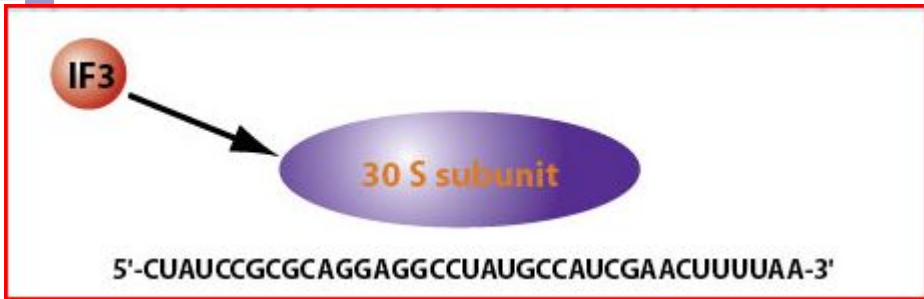
АМФ + aa-тРНК.

Образование аминокацил-тРНК



Стадия инициации

- **Необходимо:** субъединицы рибосом, иницирующие факторы IF-1, IF-2, IF-3, (формил)метионин-тРНК, мРНК, ГТФ.
- Антикодон (формил)метионин-тРНК **УАЦ** комплементарен иницирующему кодону мРНК на 5'-конце мРНК.
- Перед **АУГ** на мРНК – последовательность Shine-Dalgarno, которая помогает правильному расположению рибосомы на иницирующем кодоне мРНК (через IF-2 или 16S-РНК).

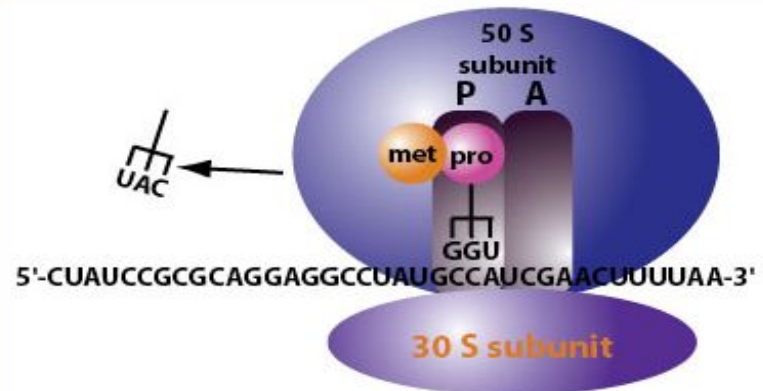
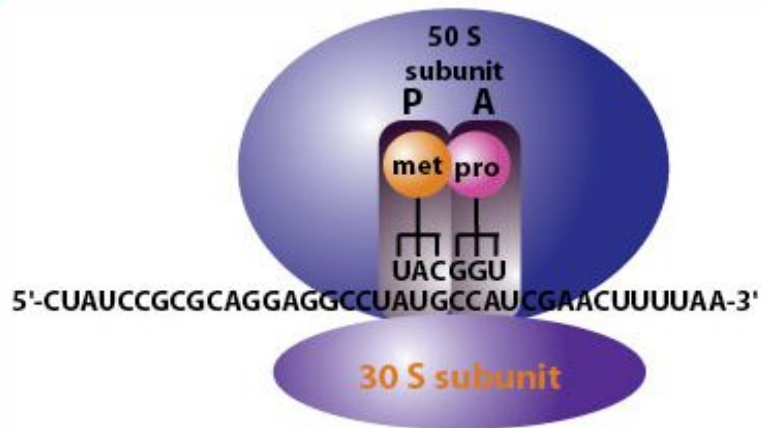
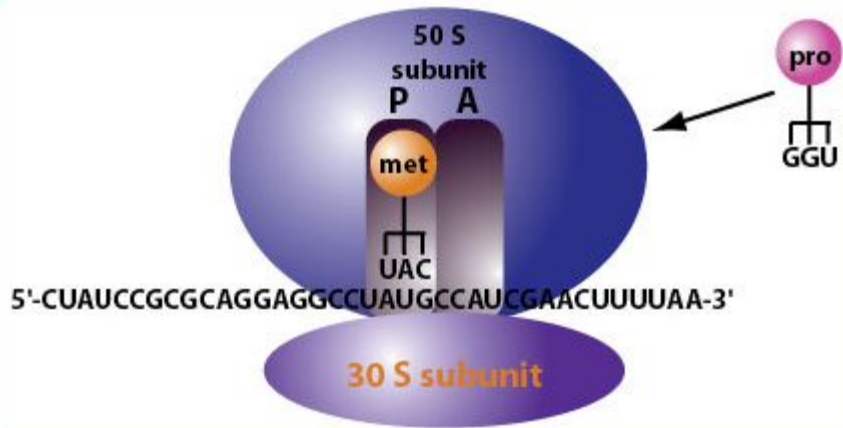


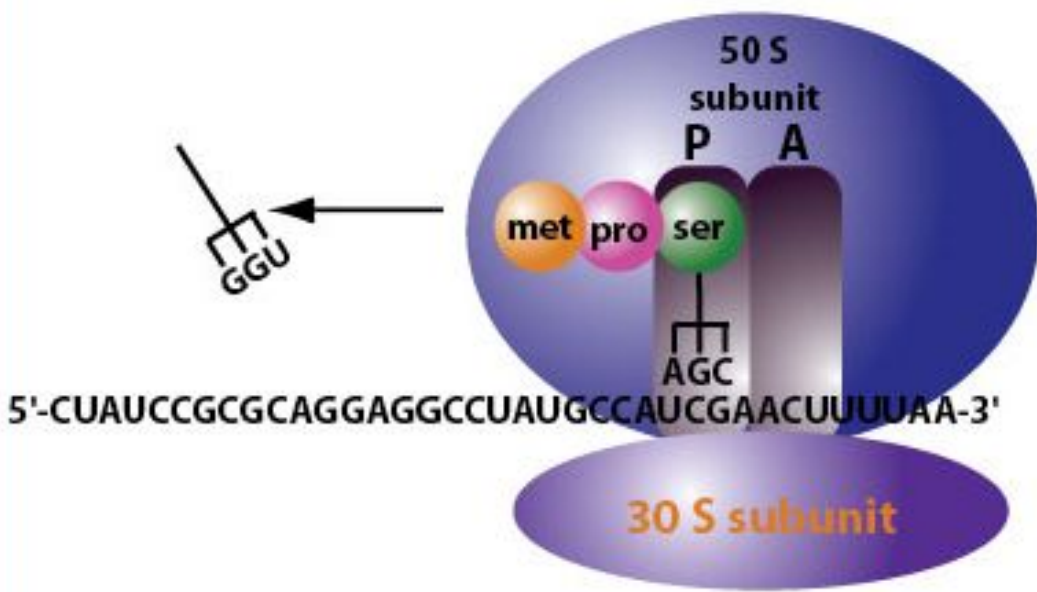
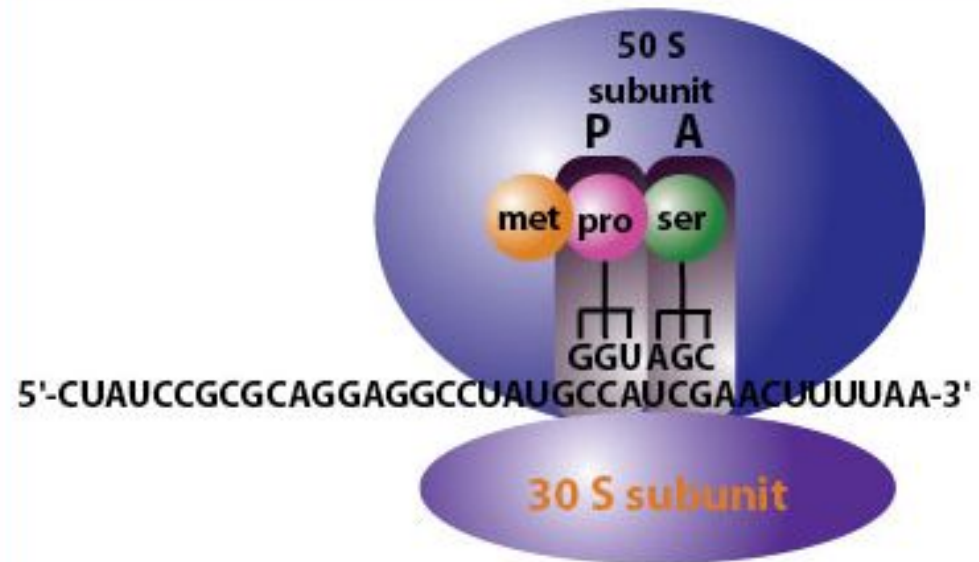
Стадия инициации (продолжение)

- В рибосоме – два участка связывания aa-тРНК: **А (аминоацильный)** имеет основное сродство к амино-ацил-тРНК; **Р (пептидильный)** имеет сродство к пептидил-тРНК.
- В конце стадии инициации иницирующая (формил)метионин-тРНК находится в Р-участке рибосомы; в А-участке находится следующий кодон мРНК.
- В работающей рибосоме находятся 2 кодона мРНК.

Стадия элонгации

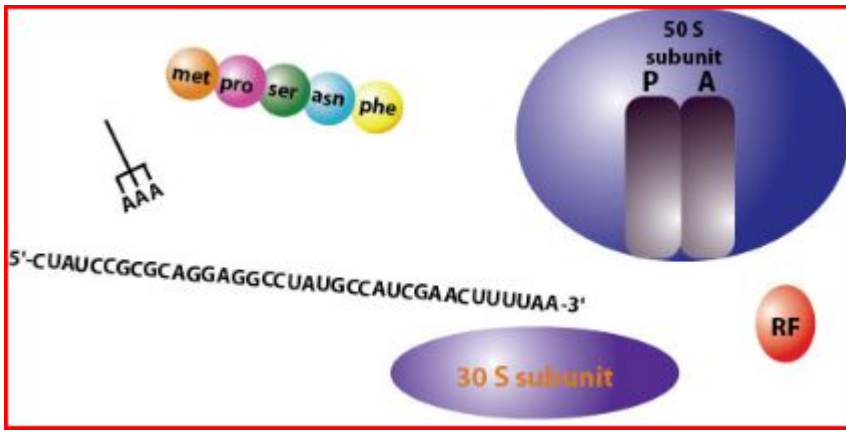
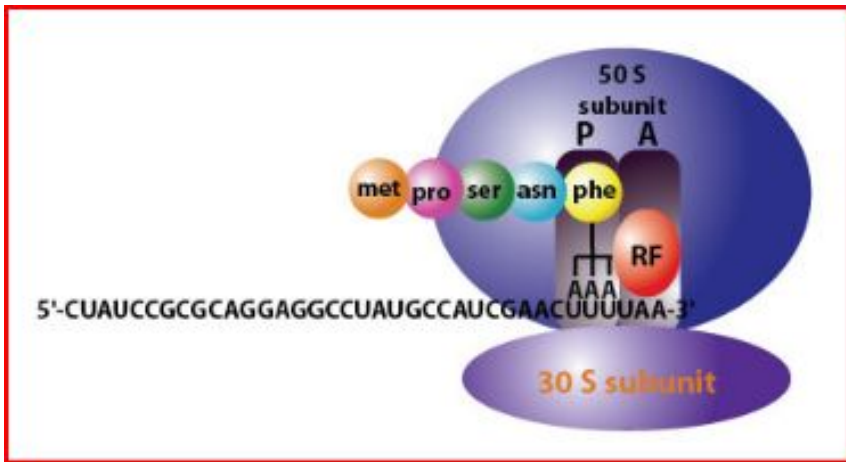
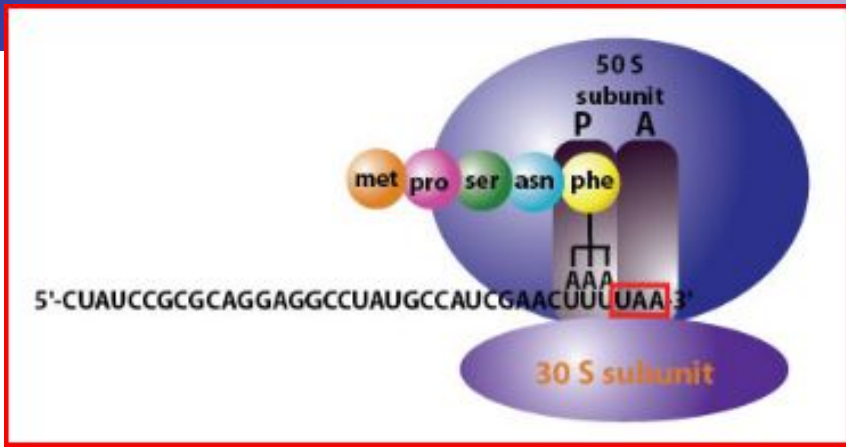
- Необходимы: **набор aa-тРНК**, факторы элонгации **EF-T** и **EF-g**, **ГТФ**.
- Этапы: **1)** присоединение aa-тРНК к кодону мРНК в А-участке; **2)** замыкание пептидной связи (пептидилтрансфераза) и образование дипептида в А-участке; **3)** транслокация – перемещение дипептида в Р-участок; **4)** в А-участок приходит третий кодон мРНК; **5)** с ним связывается соответствующая aa-тРНК и т.д.





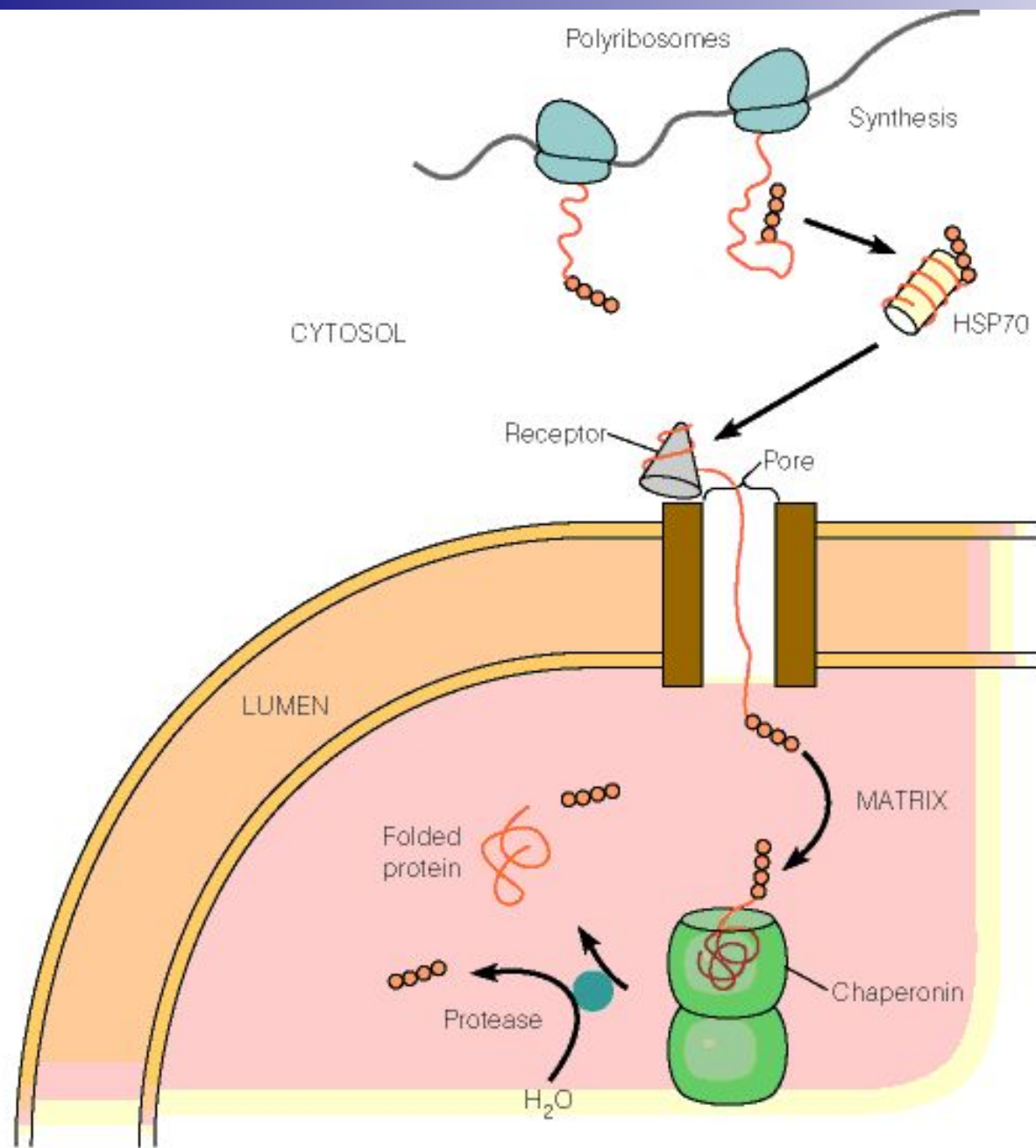
Стадия терминации

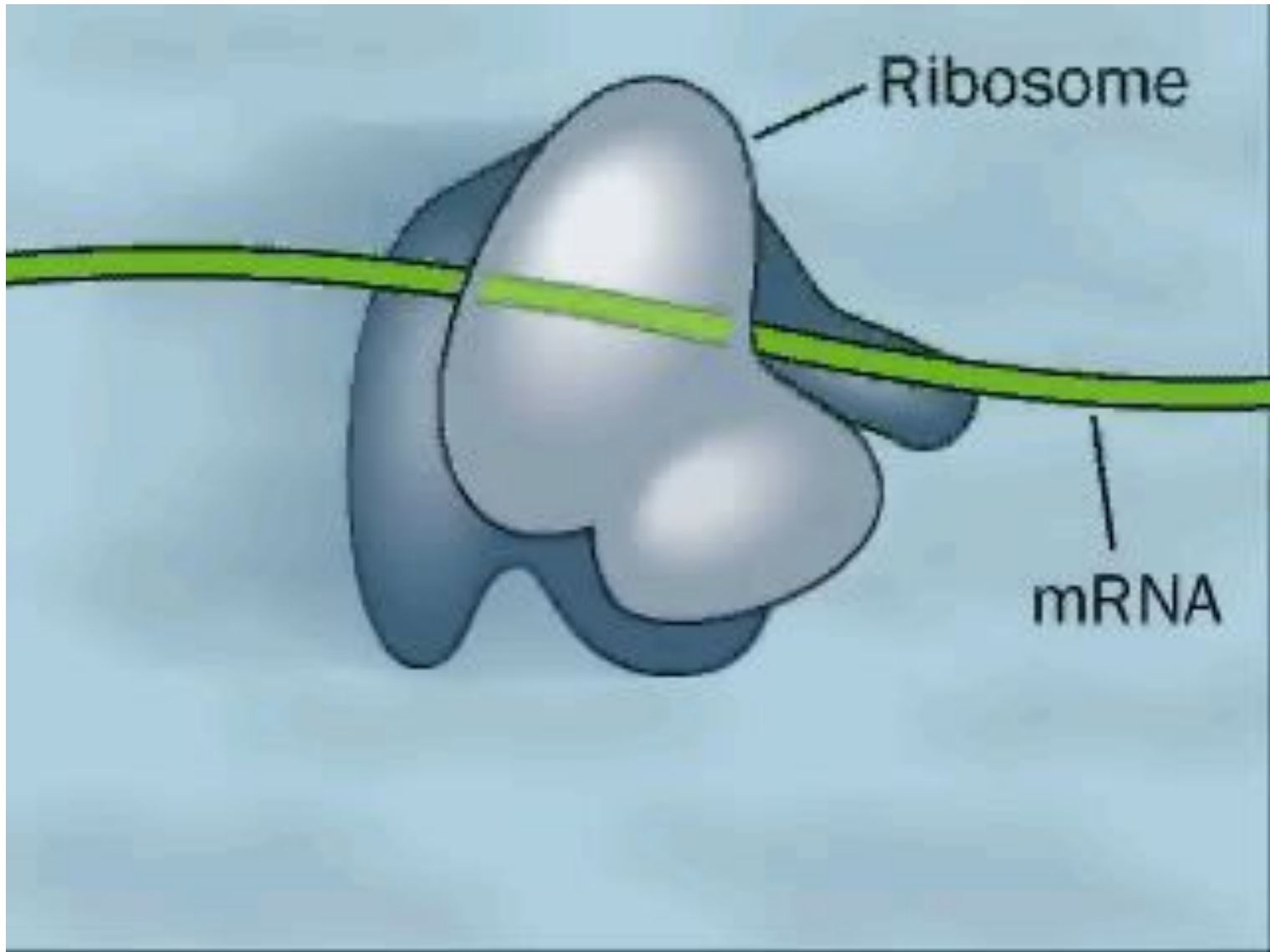
- Факторы терминации FR-1 (УАА и УАГ) и FR-2 (УАА и УГА). Терминирующие кодоны (в скобках) не имеют aa-тРНК.
- При поступлении УАА, УАГ или УГА в А-участок через факторы FR-1 и FR-2 активируется пептидилэстеразная активность и система синтеза белка распадается на элементы: субъединицы рибосомы, мРНК и синтезированный пептид.



Фолдинг и процессинг

- От синтезированного пептида в цитозоле отщепляется иницирующая аминокислота (формил)метионин.
- Сигнальная последовательность на N-конце позволяет проникнуть через мембрану ЭПР.
- Складывание трехмерной структуры с помощью шаперонинов и отбраковка – с помощью белков теплового шока (семейство HSP).
- Модификация (гликозилирование, фосфорилирование и пр.).





Регуляция синтеза белка

- Возможна на всех стадиях.
- **Индукция синтеза белка** – вещество понижает сродство репрессора к гену-оператору, что освобождает дорогу РНК-полимеразе.
- **Репрессия синтеза белка** – вещество повышает сродство репрессора к гену-оператору, что прекращает работу РНК-полимеразы.
- В первом случае – экспрессия генов, т.е. синтез белков по генетической программе структурных генов. Во втором случае – подавление экспрессии генов.

Препараты-регуляторы синтеза белка

I класс. ИНДУКТОРЫ (анаболики)

1) Гормональные

а) специфические – стероидные гормоны.

Глюкокортикоиды (индукция ферментов глюконеогенеза)

б) неспецифические – инсулин, феноболин, ретаболин.

2) **Негормональные** – оротат калия, инозин (используются для синтеза пуриновых нуклеотидов + индуцируют синтез белков).

II класс. ИНГИБИТОРЫ

1) транскрипции;

2) процессинга и транспорта мРНК;

3) трансляции;

Ингибиторы транскрипции

- **Рифампицин** связывается с β -субъединицей РНК-полимеразы, ингибируя образование первой фосфодиэфирной связи в транскрипте. На уже начавшийся синтез не влияет.

Ингибиторы трансляции

- **Стрептомицин** – препятствует связыванию с рибосомой формилметионин-тРНК, нарушая инициацию трансляции. Связывается с белком малой субъединицы рибосом и нарушает правильное считывание информации с мРНК.
- **Пурамицин** связывается в А-участке рибосомы, конкурируя с аминоацил-тРНК и освобождает полипептид до завершения синтеза (как и **тетрациклины**)
- **Левомецетин** соединяется с большой субъединицей и ингибирует пептидилтрансферазную реакцию.
- **Пенициллины и цефалоспорины** нарушают процесс созревания белков клеточной стенки бактерий.
- **Эритромицин** взаимодействует с большой субъединицей рибосом и препятствует элонгации синтеза белка.

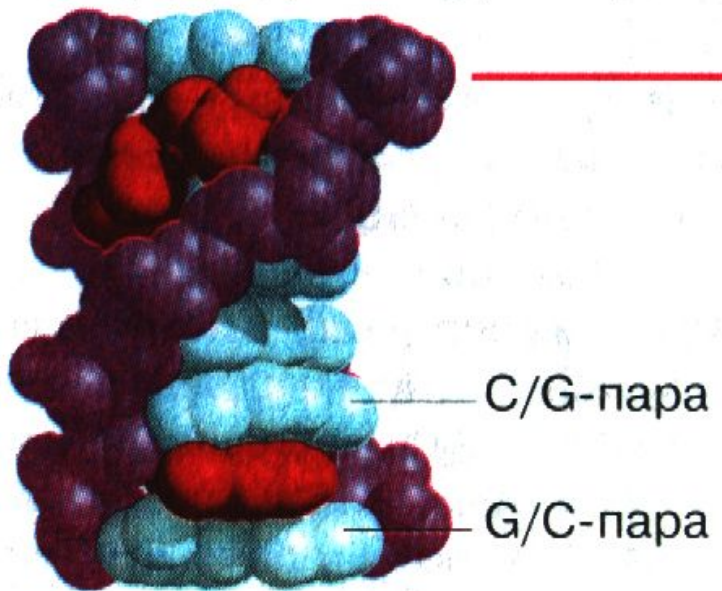
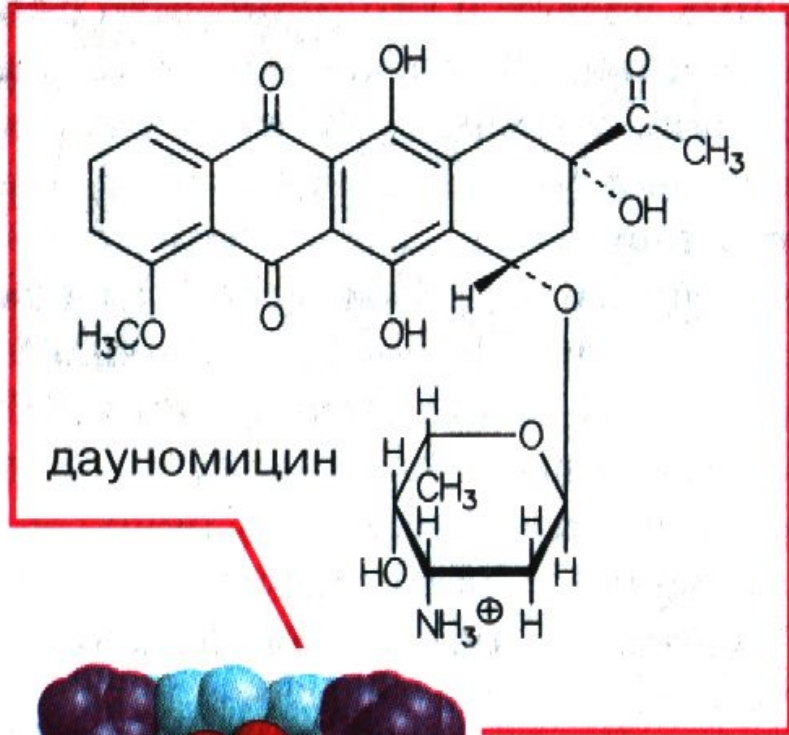
Действие токсинов

- **Аманитин** (токсин бледной поганки), **циклический пептид**, связывается с эукариотической РНК-полимеразой II, блокируя синтез мРНК.
- **Рицин** (токсин клещевины) является **гликозилазой**, удаляющей аденин из большой субъединицы рибосом.
- **Дифтерийный токсин**, является **АДФ-рибозилтрансферазой**, модифицирует фактор элонгации синтеза белка.

Ингибиторы репликации ДНК

Антибиотики способны:

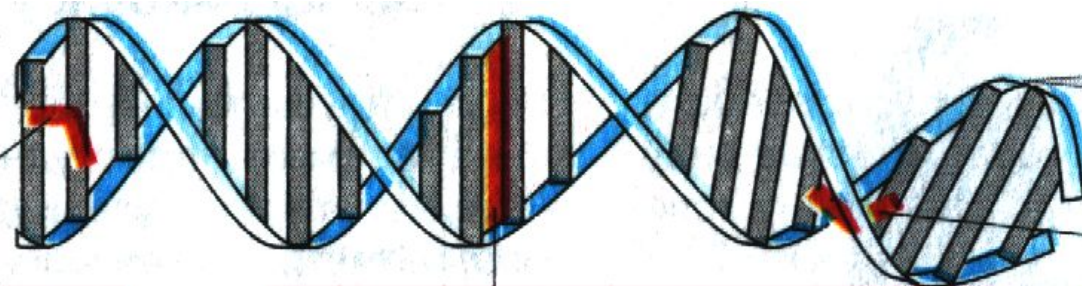
- 1) встраиваться (**интеркаляция**) между основаниями ДНК, ингибируя ее матричную активность (**дауномицин, доксорубицин, рифампицин, актиномицин Д**) .
- 2) **алкилировать ДНК**, препятствуя репликации (**мелфалан**).
- 3) **ингибировать ДНК-гиразы** у прокариот и **топоизомеразы** у эукариот (**новобиоцин, налидиксовая кислота, номермицин**).



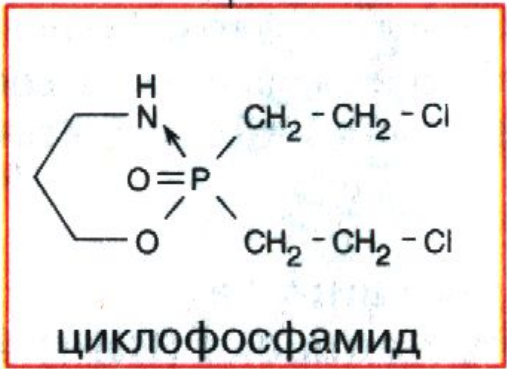
комплекс дауномицин-DNA

Б. Интеркаляторы

образование поперечных мостиков



изгиб двойной спирали DNA



А. Алкилирующие агенты и интеркаляторы

Генная инженерия

- Направление в молекулярной биологии и генетике по разработке методов конструирования нужных генов и их внедрения в клетку-хозяина с целью изменения её генетических свойств.
- Требуемые гены синтезируют химическими или ферментативными методами.
- Выделяется мРНК, её используют для синтеза комплементарной ДНК, применяя феномен обратной транскрипции (фермент обратная транскриптаза).
Получают 1-нитевую ДНК, с помощью ДНК-полимеразы получают 2-нитевую ДНК → ГЕН. Затем получают гибридную ДНК (пришивают ДНК к вектору – вирусу, фагу, плазмиде). Гибридная ДНК внедряется в клетку-реципиента (например, *E.coli*). Выбирают клетки, в которых экспрессируется нужный ген, и культивируют их.