

# МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ 2

# Биосинтез белков (трансляция)

## □ Наиболее сложный из генетических процессов

У эукариот участвует > 300 макромолекул:

- > 40 видов тРНК и рРНК;
- > 70 различных рибосомных белков;
- > 20 ферментов, активирующих аминокислоты;
- > 12 белковых факторов инициации, элонгации и терминации;
- > 100 ферментов процессинга белков;

У прокариот приблизительно столько же компонентов.

## □ Наиболее энергоемкий процесс

Потребляет 90% энергии всех биосинтетических реакций

## □ Протекает с высокой скоростью

При 37°C белок из ста аминокислотных остатков синтезируется в *E.coli* за 5 сек.

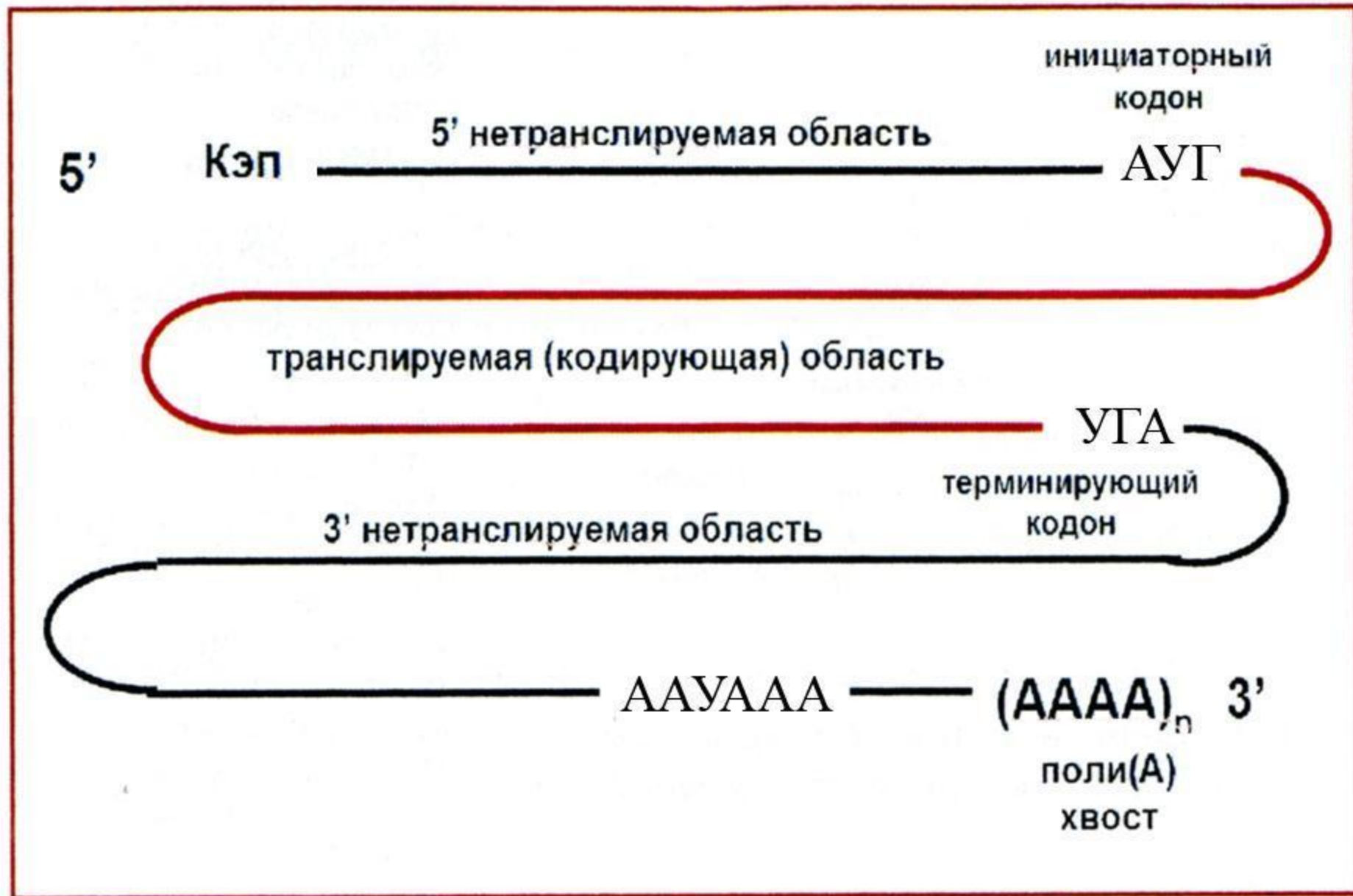
# Компоненты, необходимые для трансляции

1. Аминокислоты
2. Рибосомы (белоксинтезирующие машины)
3. Матричные РНК (мРНК)
4. Транспортные РНК (тРНК)
5. Ферменты, активирующие аминокислоты (аминоацил-тРНК-синтетазы)
6. Энергия

# Рибосома

- Рибосома представляет собой крупный мультиферментный комплекс, построенный из молекул белков и РНК
- Каждая рибосома состоит из двух частиц – большой и малой
- У эукариот приблизительно половину массы рибосом составляет РНК
- Малая субчастица состоит из одной молекулы 18S рРНК и примерно 30 молекул белков
- Большая субчастица состоит из 3-х молекул рРНК (5S рРНК, 5,8S рРНК, 28S рРНК) и приблизительно 40 молекул белков

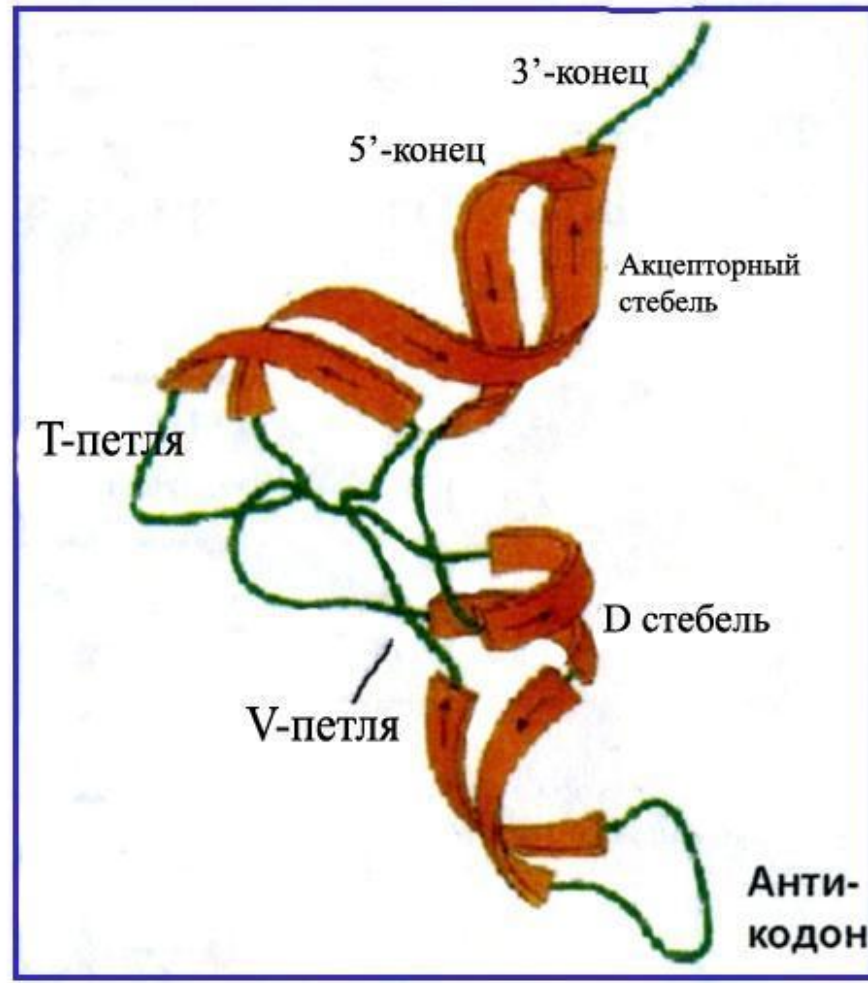
# Строение матричной РНК (мРНК) эукариот



# тРНК-адапторная молекула белкового синтеза



Вторичная структура тРНК



Третичная структура тРНК

# Две основные функции тРНК

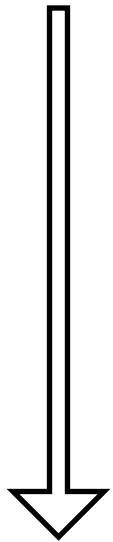
- **Акцепторная** – способность ковалентно связываться с остатком аминокислоты, превращаясь в аминоацил-тРНК
- **Адапторная** – способность взаимодействовать своим антикодоном с кодоном мРНК, соответствующим транспортируемой аминокислоте и обеспечивать включение этой аминокислоты в законное место в растущей цепи белка

# Стадии трансляции

Начинается синтез белка с

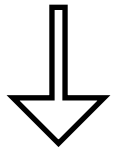
формирования инициаторного комплекса, состоящего из малой субчастицы рибосомы, мРНК и инициаторной тРНК, узнающей старт-кодон АУГ и несущей аминокислоту метионин. Этот процесс катализируется факторами инициации. После этого присоединяется большая субчастица рибосомы и образуется готовая функциональная единица для синтеза белка.

## ИНИЦИАЦИЯ



## ЭЛОНГАЦИЯ

Наращивание (удлинение) полипептидной цепи



## ТЕРМИНАЦИЯ

Окончание синтеза

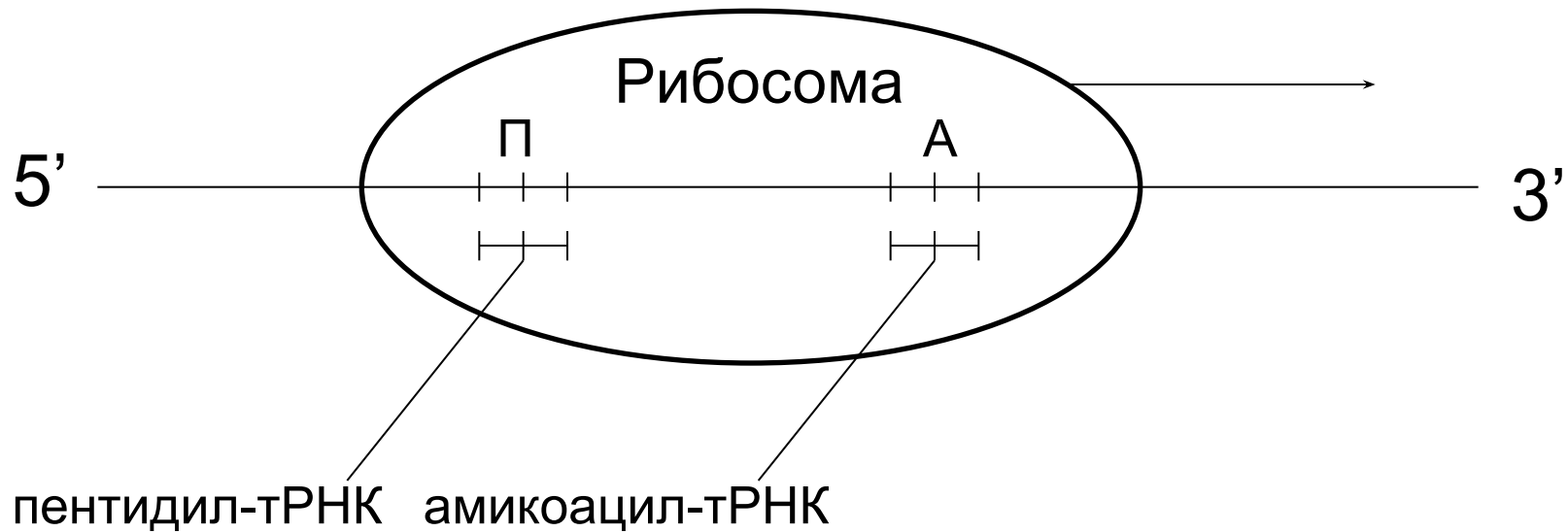
Стоп-кодонами: УАА, УАГ, УГА



# Инициация трансляции

- Инициация трансляции – это серия молекулярных событий, которые приводят к взаимодействию рибосомы с началом кодирующей последовательности мРНК и последующему считыванию (трансляции) этой последовательности
- Инициация начинается после диссоциации рибосомы на малую и большую субчастицы и образования инициаторного комплекса, состоящего из малой субчастицы рибосомы, мРНК, инициаторной тРНК (первой) и факторов инициации.
- Малая субчастица связывает:
  - специальные белки – факторы инициации;
  - 5'-конец мРНК, узнавая кэп;
  - обеспечивает взаимодействие инициаторного кодона мРНК с антикодоном специальной инициаторной метионил-тРНК и задаёт рамку считывания информации;
- После формирования инициаторного комплекса большая рибосома связывается с малой, что завершает инициацию.

# Наращивание полипептидной цепи при трансляции

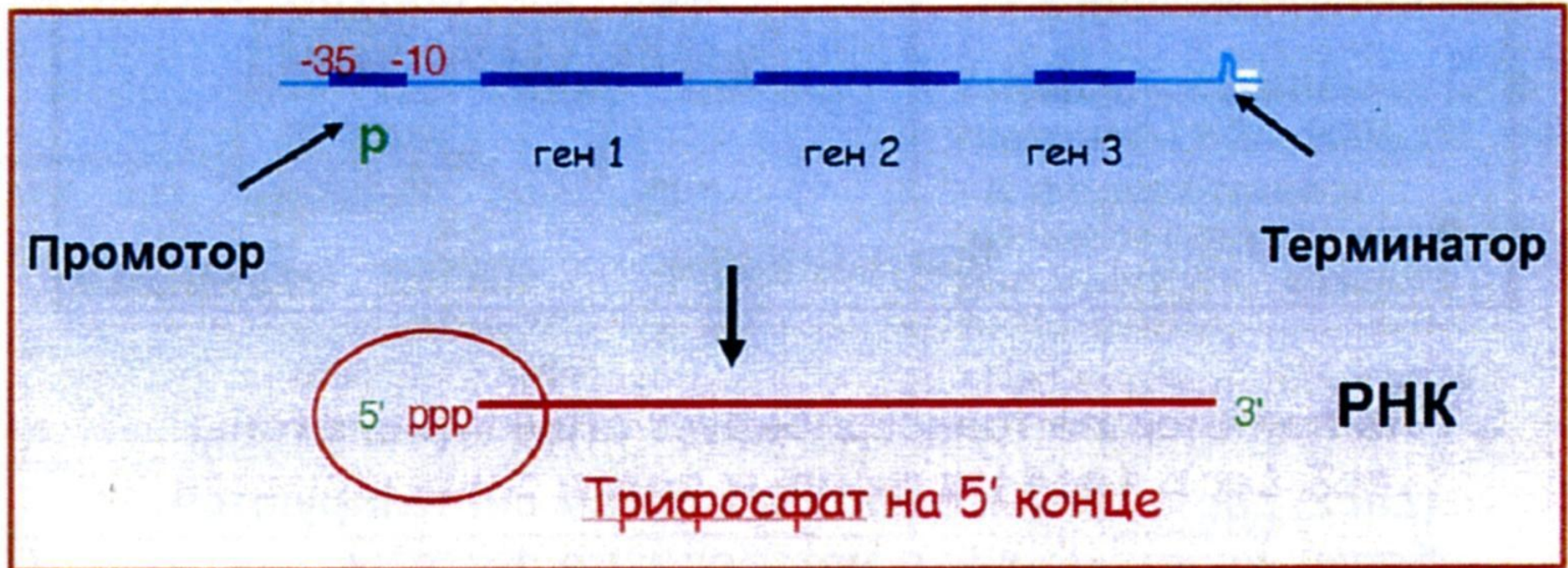


Процесс наращивания (элонгации) полипептидной цепи на рибосоме представляет собой цикл, состоящий из 3-х этапов:

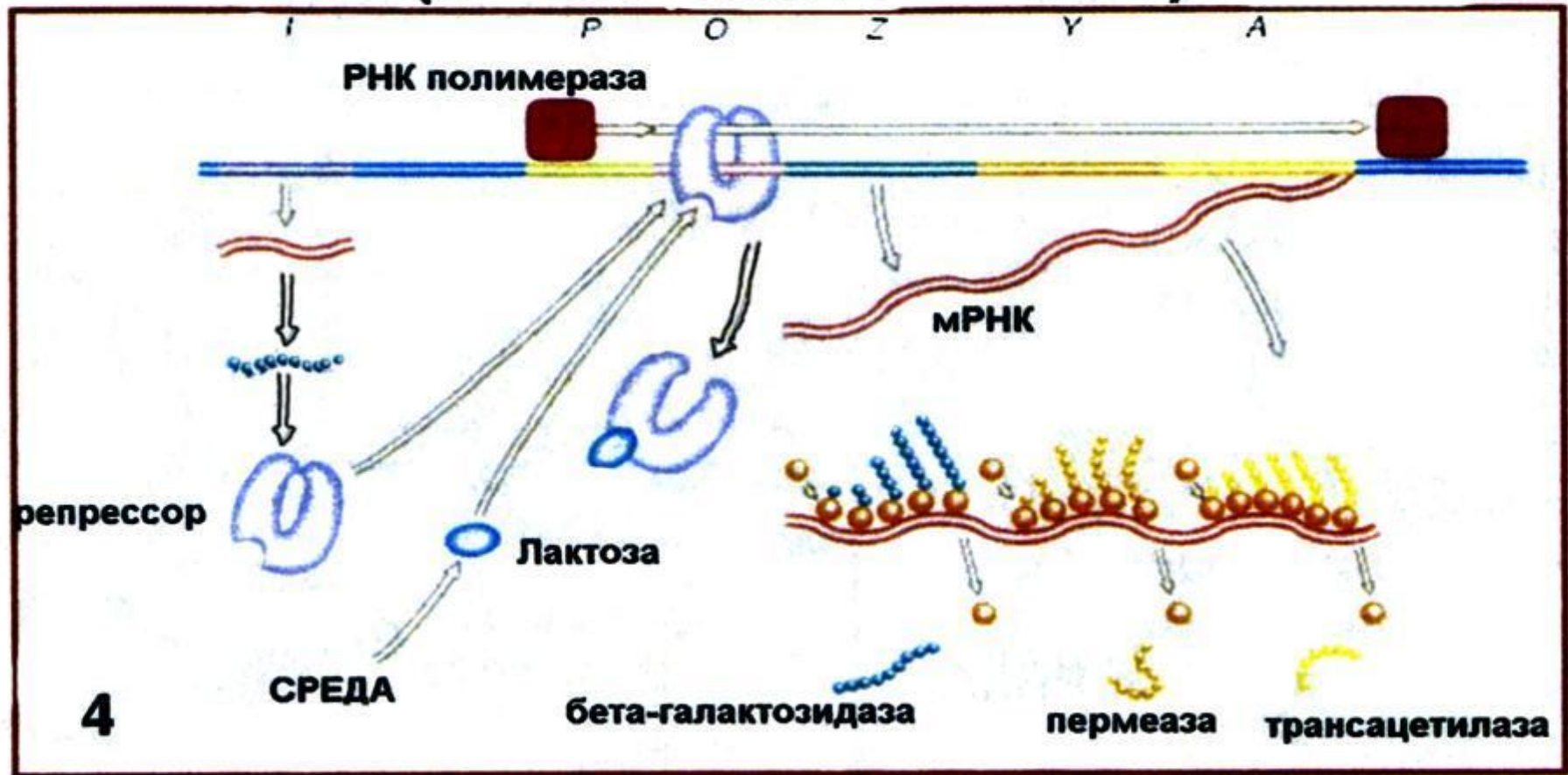
1. узнавание кодона;
2. образование пептидной связи;
3. траснлокация.

# Оперон

- Оперон – группа тесно сцепленных генов, находящихся под контролем общего промотора и общего оператора и транскрибируемых как единая мРНК.
- Синтезируемая на оперонах бактерий мРНК является полицистронной и может быть использована для синтеза нескольких белков.



# Схема регуляции *Lac*-оперона (схема Жакоба-Моно)



**Модель оперона была предложена Франсуа Жакобом и Жаком Моно в 1961 г. для объяснения регуляции генов у *E.coli* (Нобелевская премия по физиологии и медицине, 1965 г.)**

***I* — ген белка-репрессора; *P* — промотор; *O* — оператор;  
*Z*, *Y*, *A* — структурные гены.**

# Уровни регуляции экспрессии генов у эукариот

**Первый** – на уровне инициации транскрипции

**Второй** – на уровне процессинга первичного транскрипта в зрелую мРНК

**Третий** – РНК – интерференция

**Четвёртый** – на уровне трансляции

**Пятый** – посттрансляционные механизмы регуляции (на уровне процессинга белка)

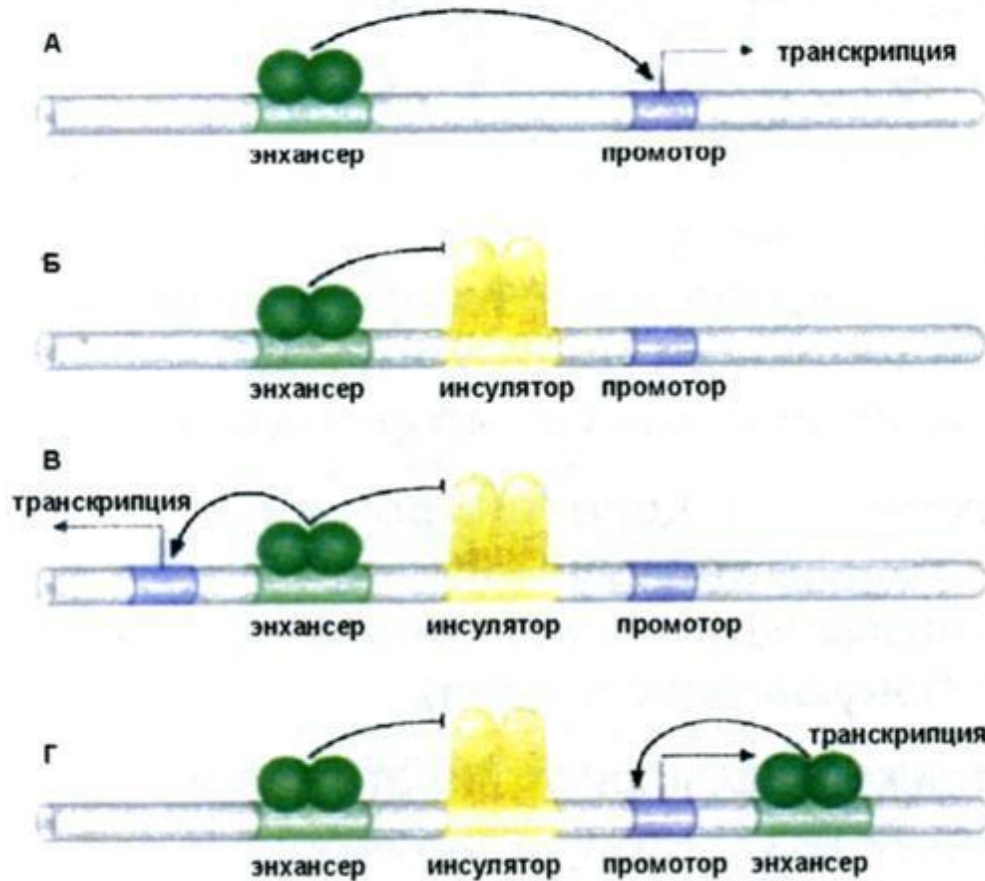
# Регуляция экспрессии генов на уровне инициации транскрипции

- В регуляции на уровне инициации транскрипции принимает участие ряд регуляторных нуклеотидных последовательностей ДНК и транскрипционные факторы (специальные белки).
- Прежде всего, это расположенные близко от кодирующих последовательностей гена – **промоторы**. Промоторы связывают РНК-полимеразу, факторы инициации транскрипции и запускают синтез РНК.
- Кроме промоторов, в РНК имеются дополнительные регуляторные элементы (последовательности): энхансеры (усилители) и сайленсеры (глушители).
- Энхансеры и сайленсеры располагаются на произвольном расстоянии от гена (до нескольких тысяч п.н.).
- Их функционирование основано на связывании со специфическими белками-регуляторами. Белок-регулятор может усиливать (в энхансере) или ослаблять (в сайленсере) инициацию транскрипции путём изменения активности промотора.

# РЕГУЛЯТОРНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ на транскрипционном уровне

- **Промоторы** - инициация транскрипции  
Дополнительные регуляторные элементы:
- **Энхансеры/Сайленсеры** -  
тканеспецифическое усиление/ослабление  
транскрипции
- **Инсуляторы** - блокировка  
энхансеров/сайленсеров
- **Сайты связывания регуляторных  
белков**

# Инсуляторы блокируют активность энхансеров



А – показан промотор, регулируемый активаторами, связанными с энхансером.

Б – между промотором и энхансером расположен инсулятор, который блокирует действие активаторов.

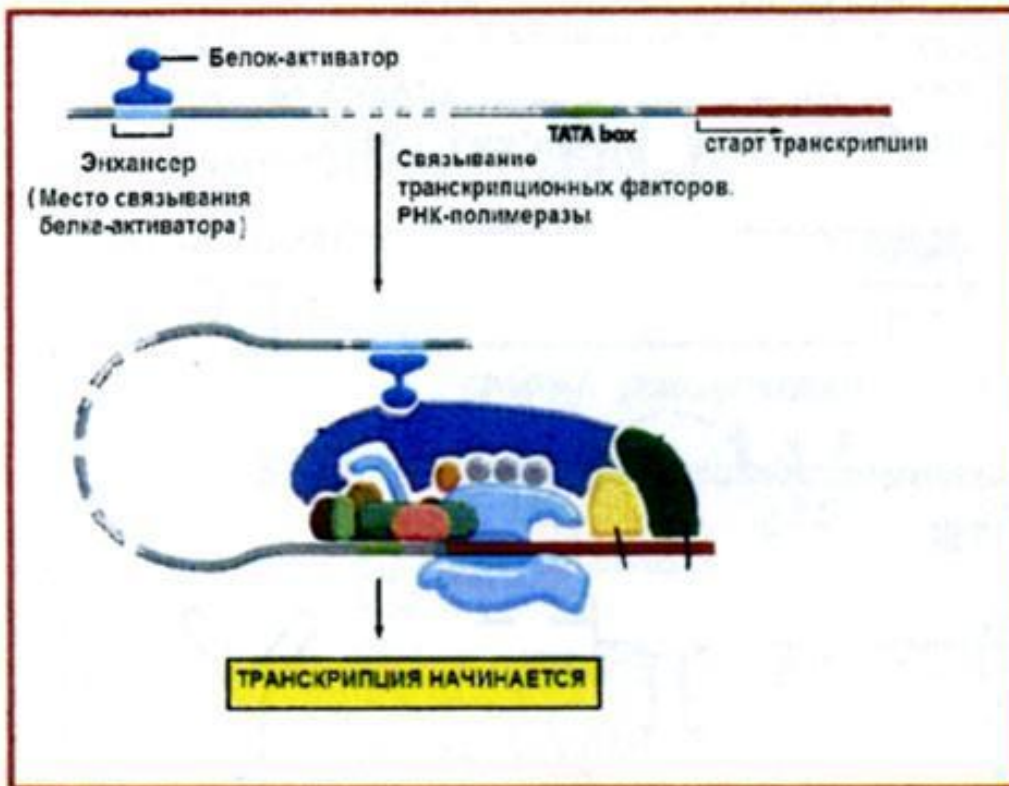
В – энхансер может активировать другой промотор в близлежащей области.

Г – промотор может активироваться за счет действия энхансера, расположенного в нижележащей последовательности.

- Инсуляторы — особые регуляторные элементы, которые обладают способностью блокировать сигналы, исходящие от окружения. Инсуляторы представляют собой сайты связывания специфических инсуляторных белков. В основном они блокируют взаимодействие между энхансером и промотором, если находятся между ними.



# Дополнительные регуляторные элементы



- Для экспрессии гена необходимы дополнительные регуляторные элементы -
  - энхансеры (enhancers, усилители),
  - сайленсеры (silencers, глушители).
- Их функционирование основано на связывании со специфическими белками-регуляторами.
- Белок-регулятор может усиливать (в энхансере) или ослаблять (в сайленсере) инициацию транскрипции.

**Дополнительные элементы** могут располагаться на произвольном расстоянии (до нескольких тысяч т.п.н. ) и в любой ориентации по отношению к участку старта транскрипции

# Регуляция экспрессии генов на уровне процессинга

Это - регуляция функциональных генов в результате альтернативного сплайсинга. При альтернативном сплайсинге образуются различные формы мРНК из одного и того же гена и, как результат, образование разных белков (изоформ белка).

# РНК-интерференция

- **РНК-интерференция** - это подавление экспрессии генов у эукариот (замалчивание генов) на посттранскрипционном уровне, индуцированное короткими интерферирующими РНК (миРНК).
- **Регуляторные малые интерферирующие РНК** – это двухцепочечные РНК длиной 19-25 п.н., которые вызывают деградацию мРНК. Они дают сигнал ферментам (эндонуклеазам), которые разрушают молекулу мРНК и таким образом блокируют трансляцию, а значит, блокируют работу генов.
- РНК-интерференция обнаружена у большинства

# Регуляция экспрессии на уровне трансляции

**1. Позитивная регуляция** на основе сродства мРНК с факторами инициации. Факторы инициации (специфические белки) катализируют образование инициаторного комплекса.

**2. Негативная регуляция** с помощью белков-репрессоров, которые, связываясь с мРНК, блокируют инициацию трансляции.

**3. Подавление трансляции** с помощью регуляторных микроРНК, которые связываются с мРНК-мишенью, блокируют трансляцию и запускают деградацию мРНК. мкРНК – одноцепочечные РНК длиной 18-24 нуклеотида, кодируемые специальными генами.

Сайт связывания мкРНК находится в 3'-нетранслируемом участке мРНК.

# Посттрансляционные механизмы регуляции

Синтезируемые при трансляции полипептиды подвергаются многочисленным превращениям и модификациям:

- сборка белка (фолдинг) – процесс, при котором белок принимает характерную для его функционирования пространственную структуру
- отщепление фрагментов
- химические модификации (ацетилирование, фосфорилирование, гликозилирование и др.)
- достижение места своего функционирования