

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.

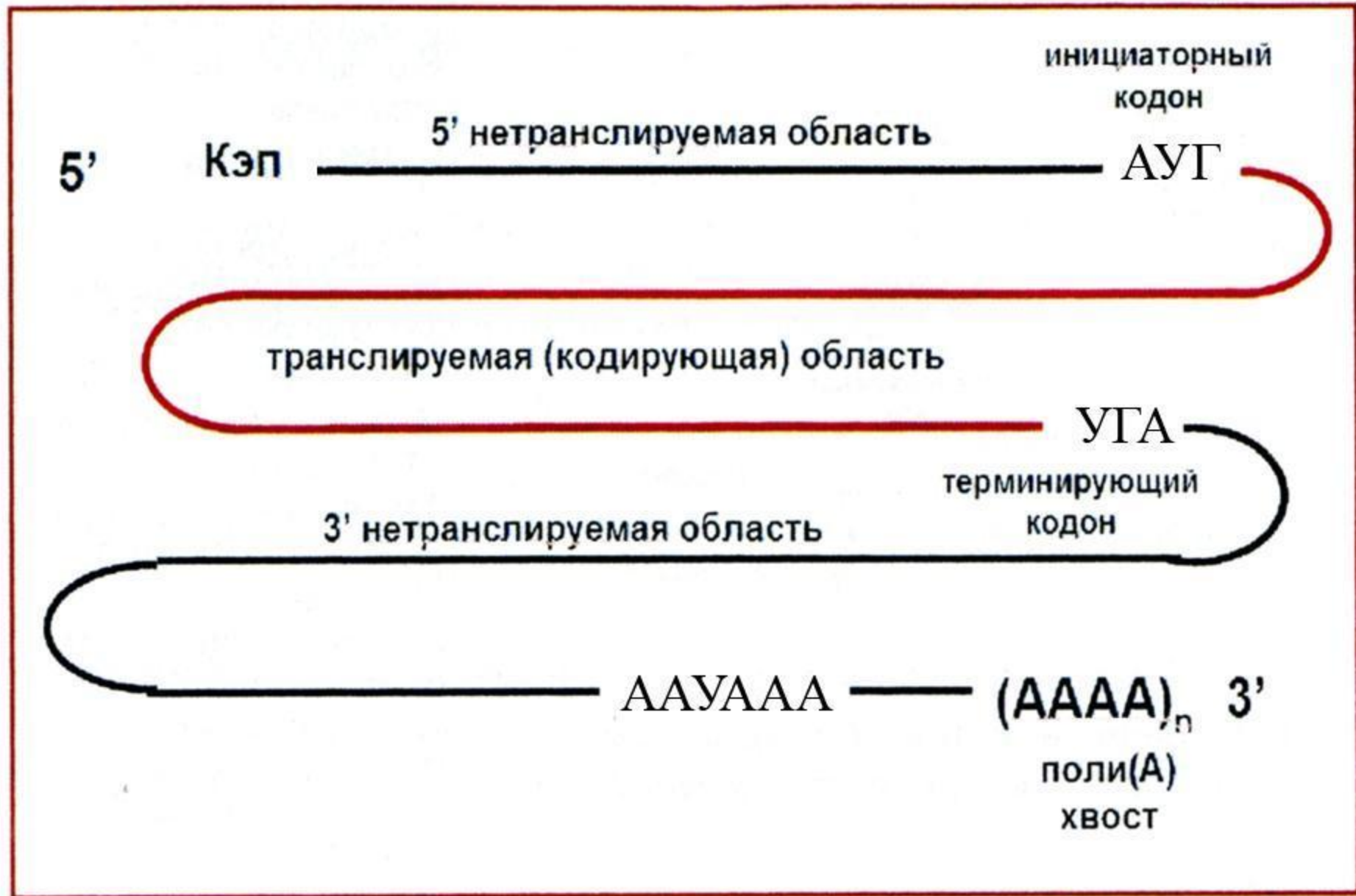
Компоненты, необходимые для трансляции

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

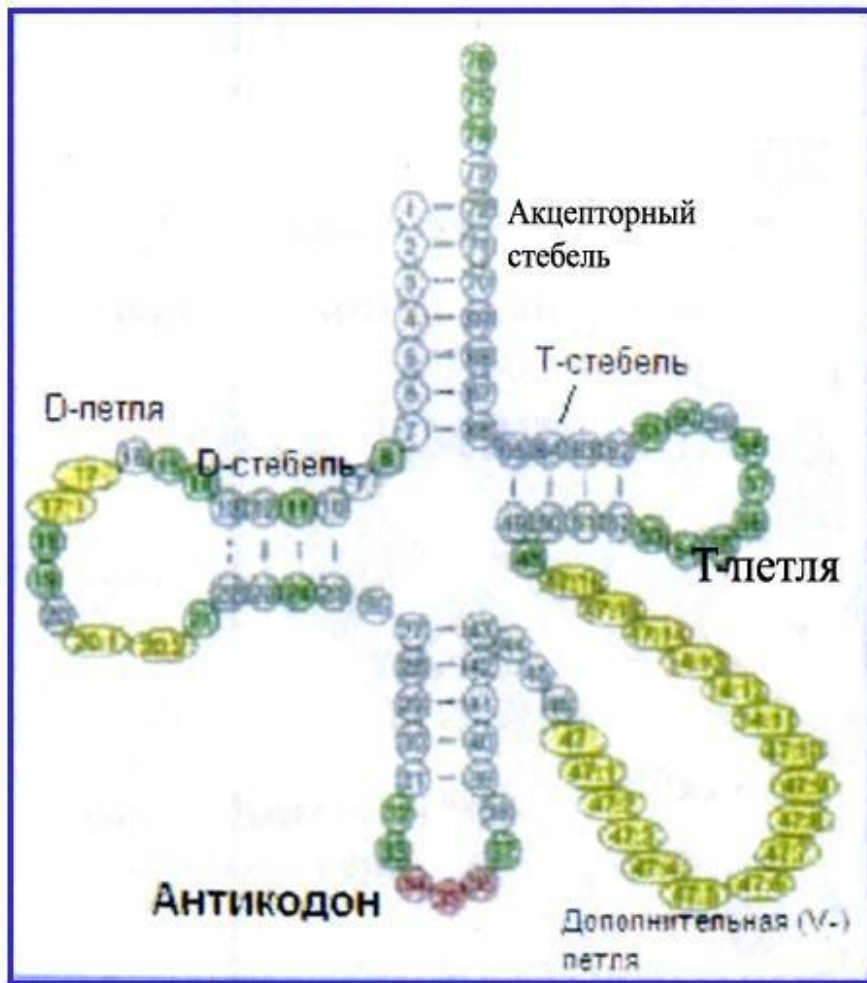
Рибосома

- 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

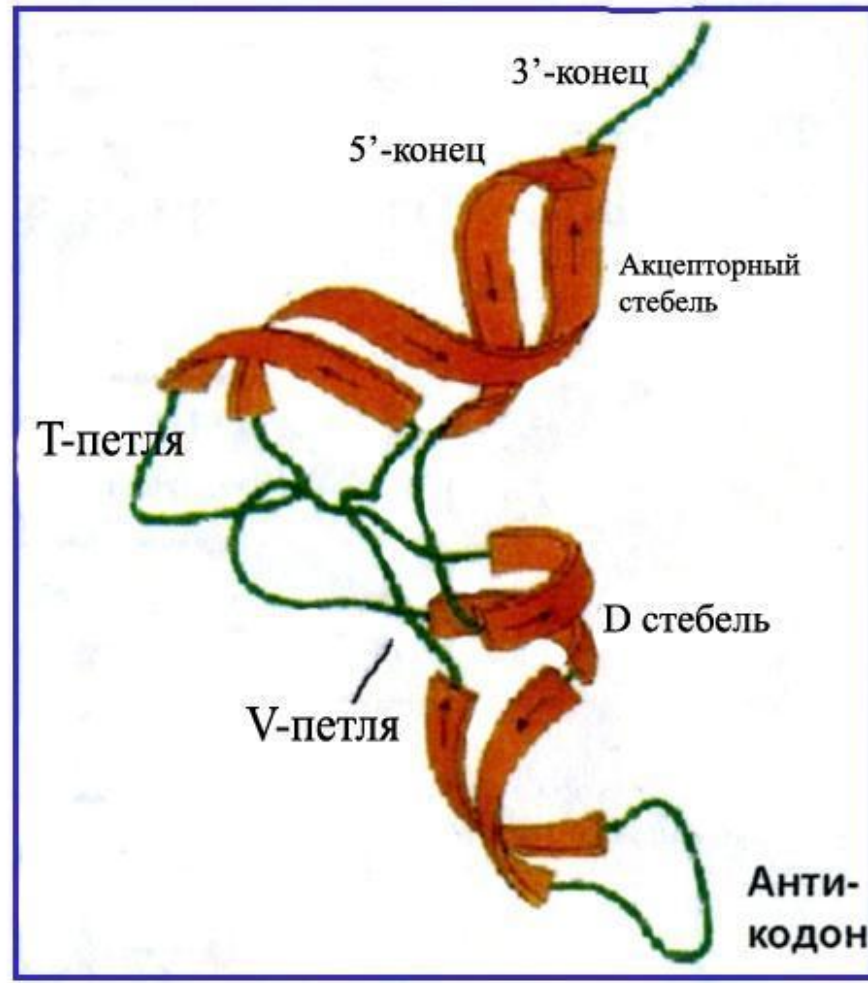
Строение матричной РНК (мРНК) эукариот



tРНК-адапторная молекула белкового синтеза



Вторичная структура тРНК



Третичная структура тРНК

Две основные функции тРНК

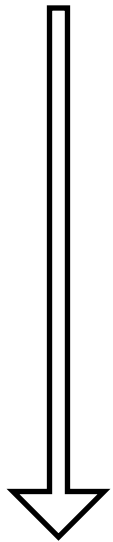
- **Акцепторная** – способность ковалентно связываться с остатком аминокислоты, превращаясь в аминоацил-тРНК
- **Адапторная** – способность взаимодействовать своим антикодоном с кодоном мРНК, соответствующим транспортируемой аминокислоте и обеспечивать включение этой аминокислоты в законное место в растущей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

Стадии трансляции

Начинается синтез белка с

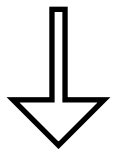
формирования инициаторного комплекса, состоящего из малой субчастицы рибосомы, мРНК и инициаторной тРНК, узнающей старт-кодон АУГ и несущей аминокислоту метионин. Этот процесс катализируется факторами инициации. После этого присоединяется большая субчастица рибосомы и образуется готовая функциональная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

ИНИЦИАЦИЯ



ЭЛОНГАЦИЯ

Наращивание (удлинение) полипептидной цепи



ТЕРМИНАЦИЯ

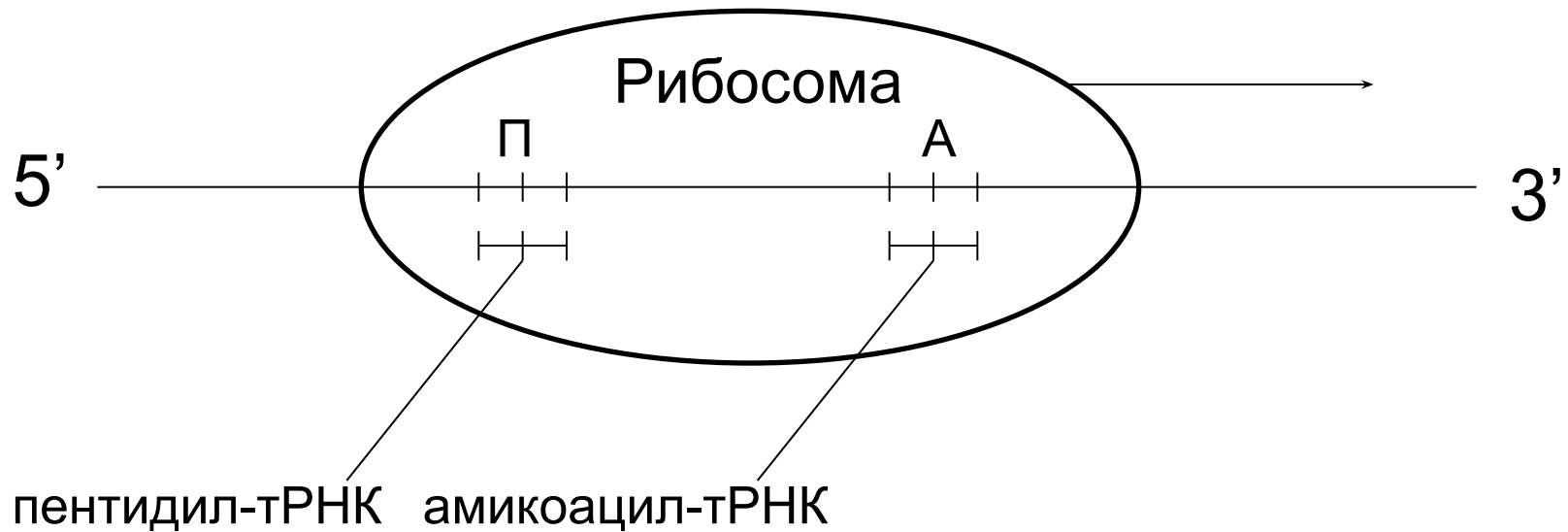
Окончание синтеза

Стоп-кодона: 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.

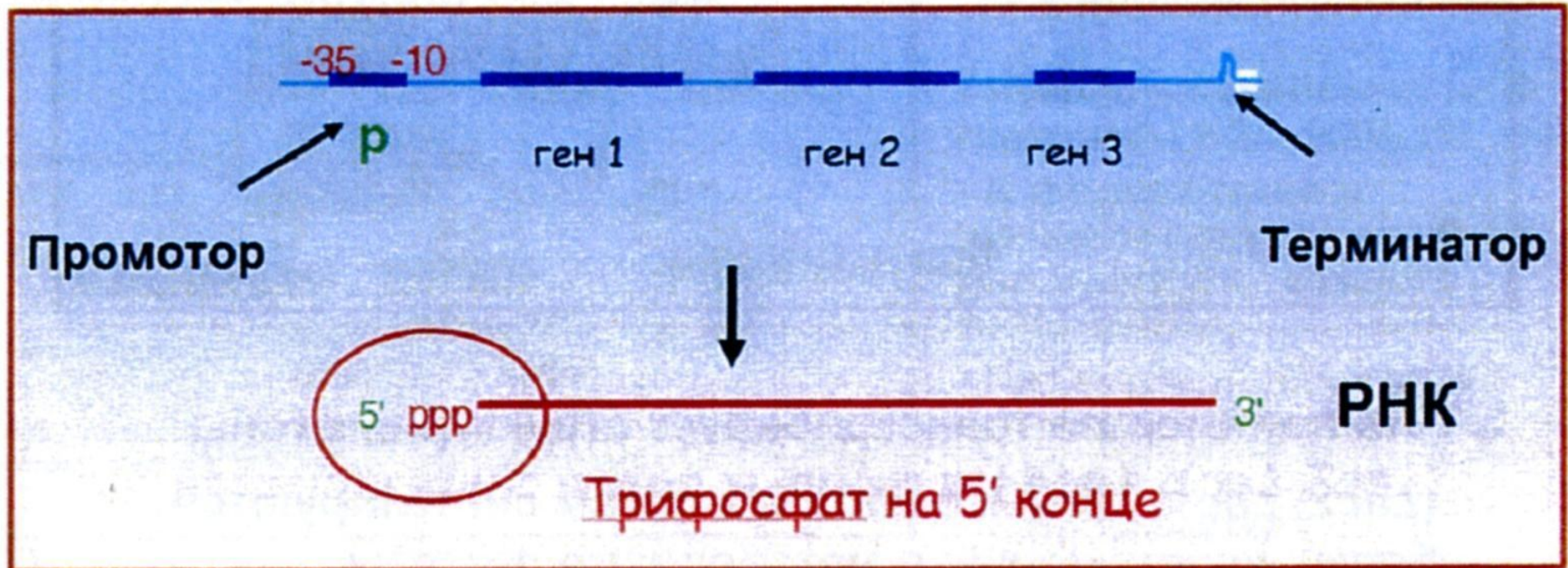
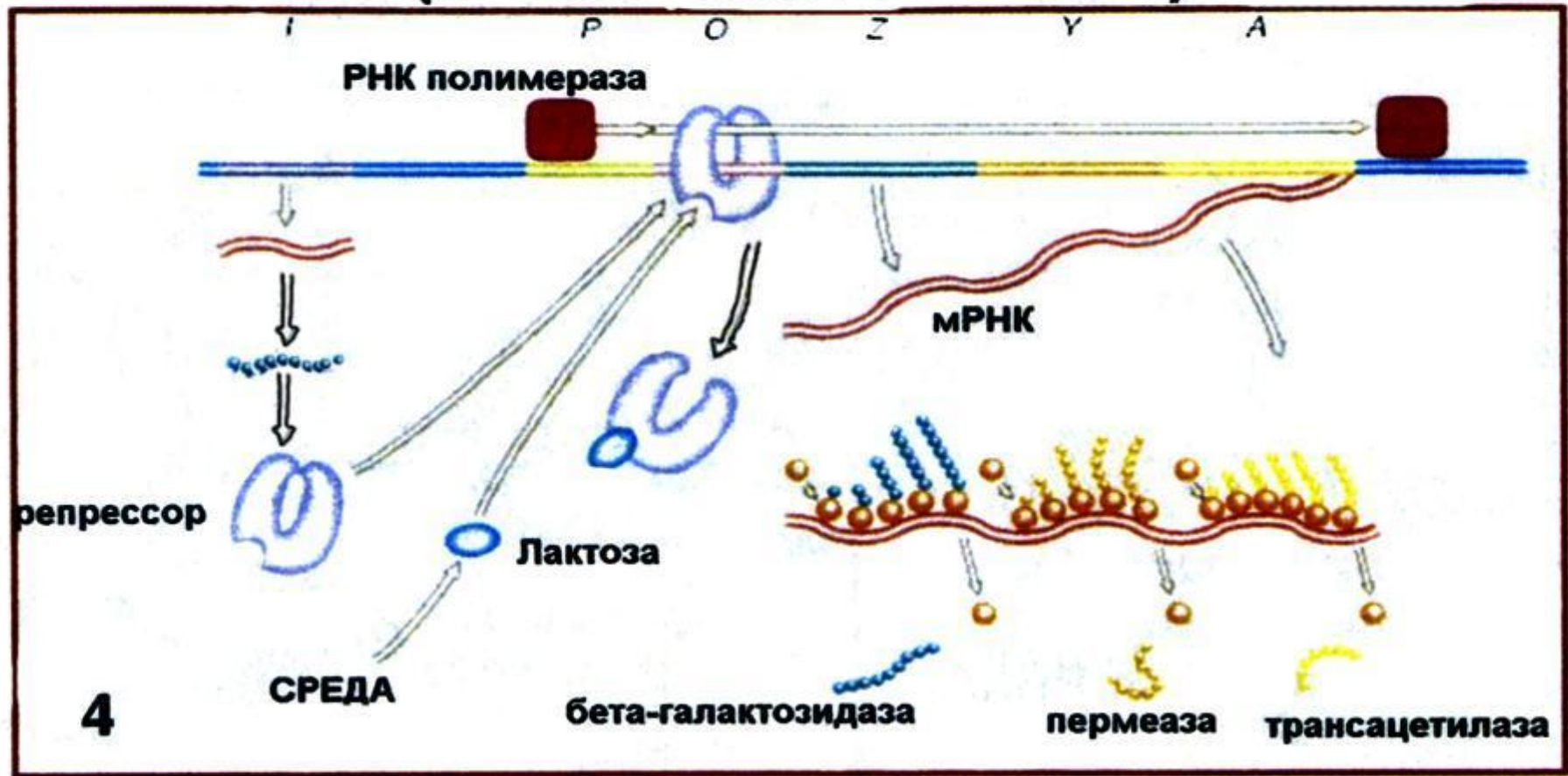


Схема регуляции *Lac*-оперона (схема Жакоба-Моно)



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)

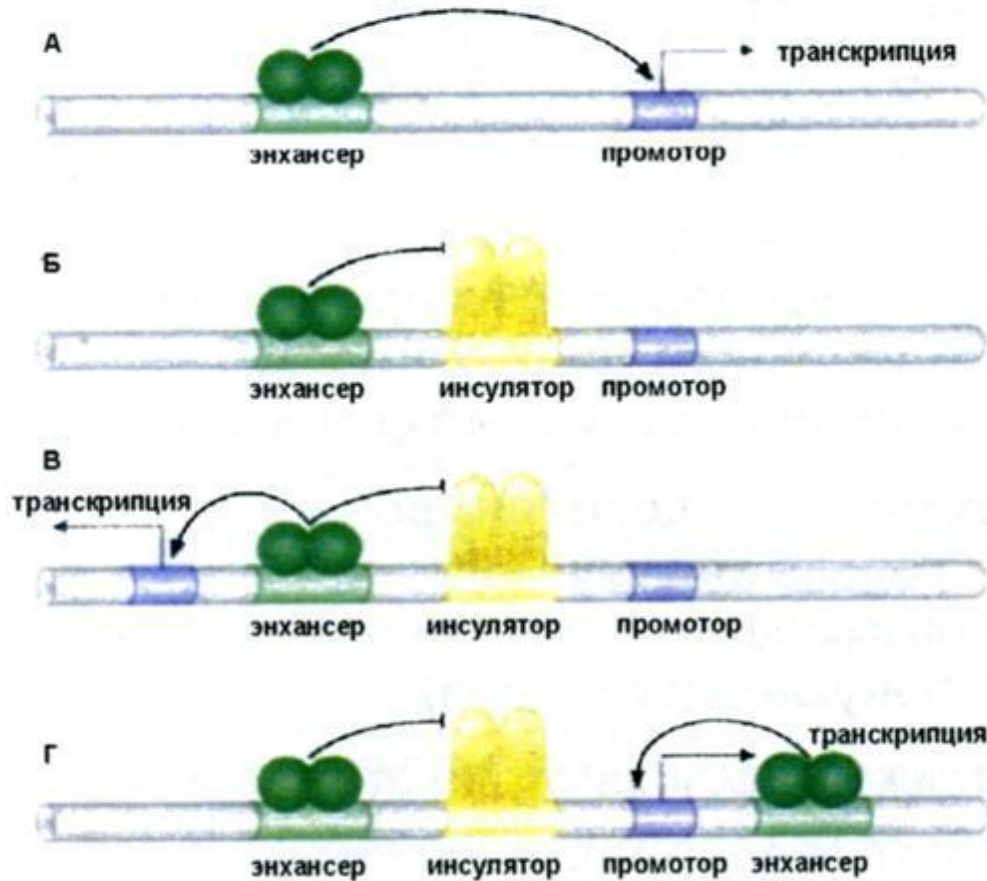
Регуляция экспрессии генов на уровне инициации транскрипции

- 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.

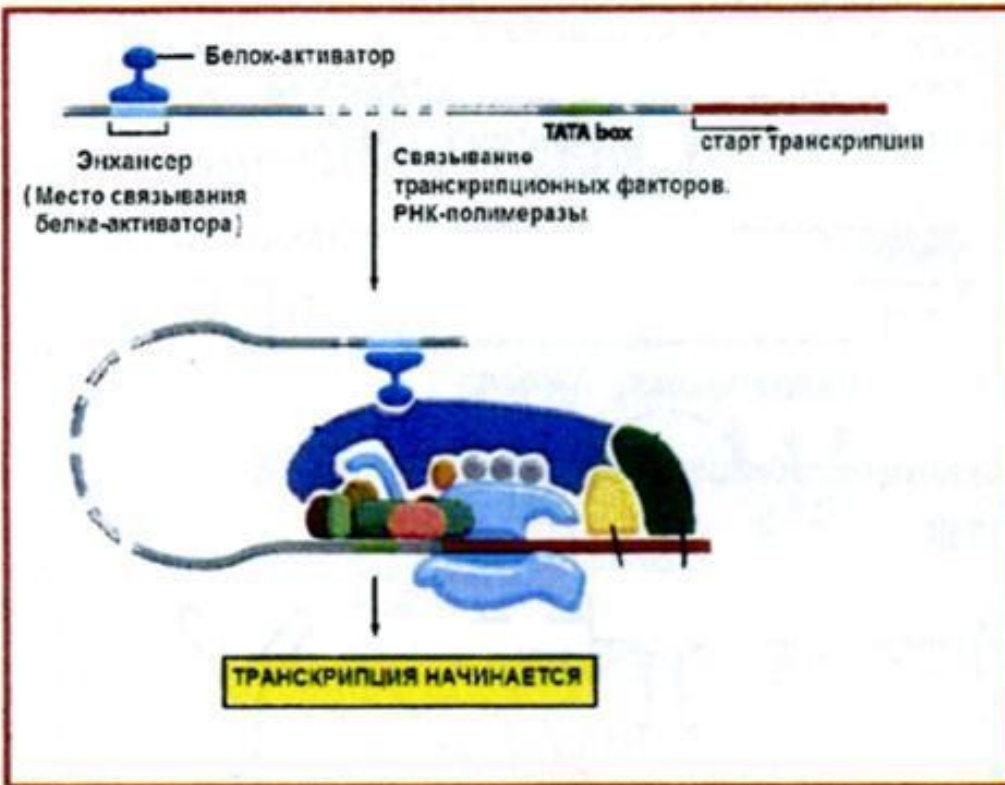
Б – между промотором и энхансером расположен инсулятор, который блокирует действие активаторов.

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