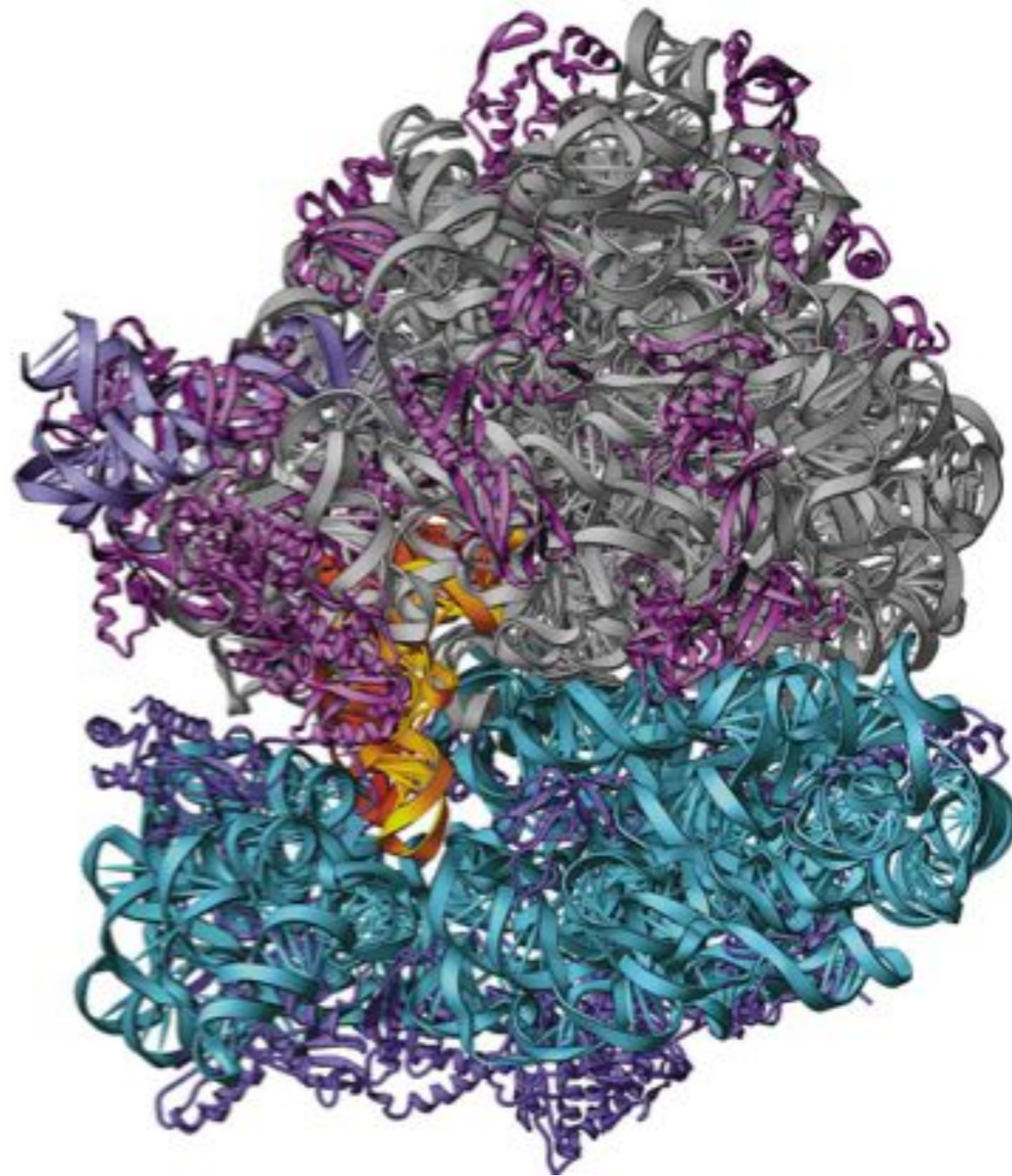
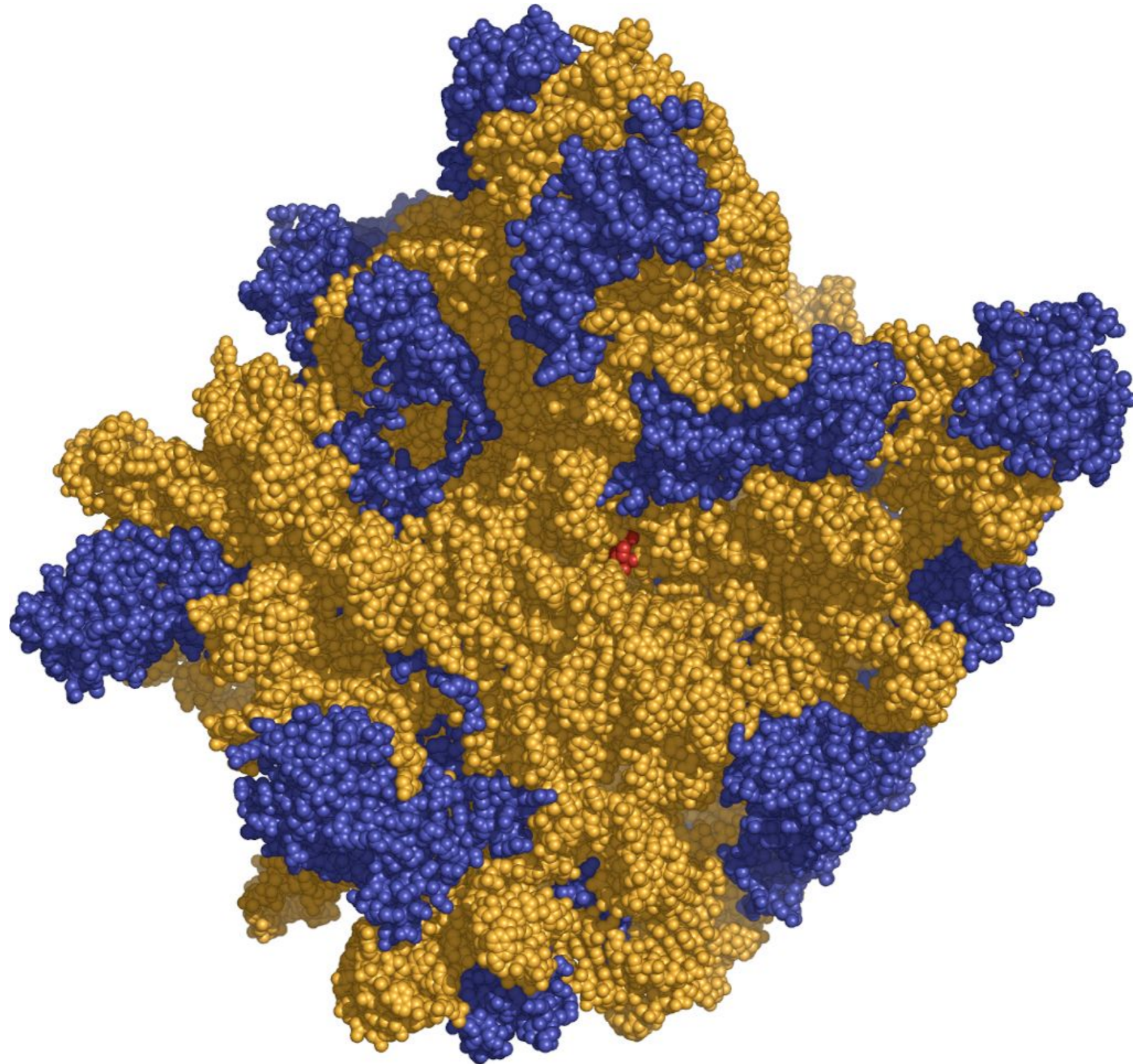


Thermus thermophilus 70S

(Yusupov et. al, 2001)



50S ribosome



Вопрос

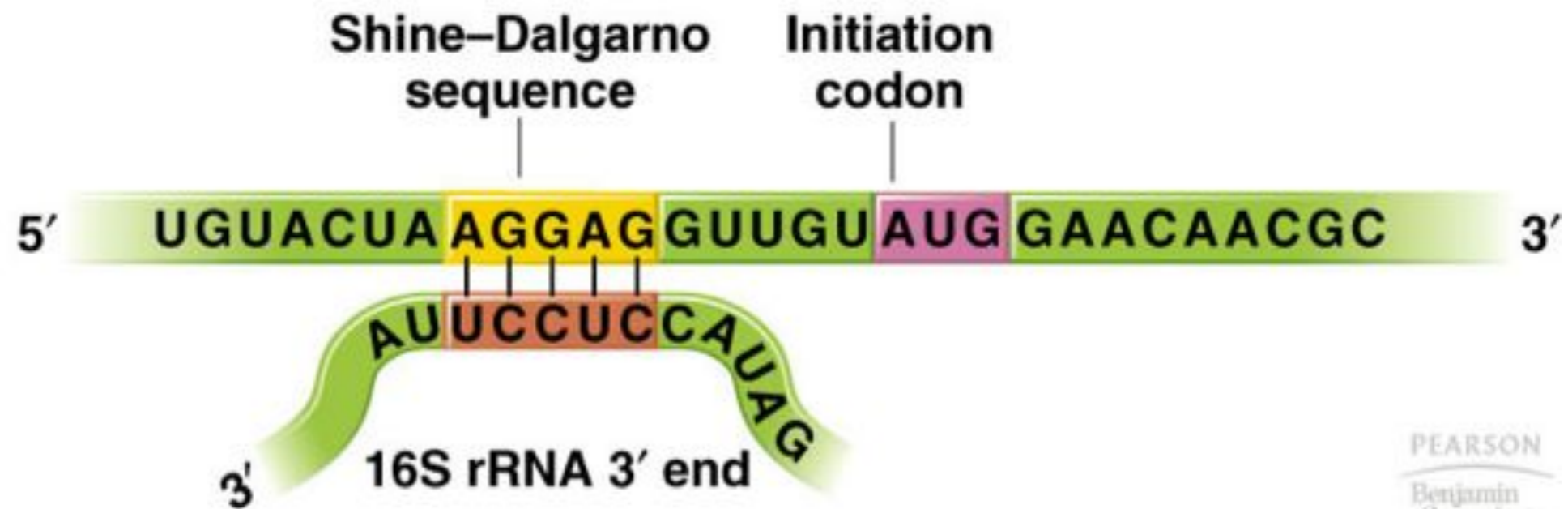
- В мРНК всегда есть много триплетов, кодирующих метионин, - как понять, с которого надо начинать синтез белка?

Как рибосома узнает инициаторный КОДОН?

a) Sequence at 3' end of 16S rRNA

3' AUUCCUCCAUG 5'

b) Example of mRNA leader and 16S rRNA pairing



Вопрос

- Что будет, если удалить последовательность анти-ШД из 16S rRNA?

Ответ:

- Грамм-отрицательные бактерии ничего не заметят и будут жить как ни в чем не бывало!

Рибосомный белок S1

- Связывается с AU-богатыми участками, расположенными upstream от AUG-кодона
- Способен привлекать рибосому без участия ШД

Факторы инициации

- IF1 - связывается с А-сайтом
- IF2 - ГТФаза, связывает инициаторную тРНК
- IF3 - мешает субчастицам рибосомы ассоциировать, помогает распознавать инициаторный кодон

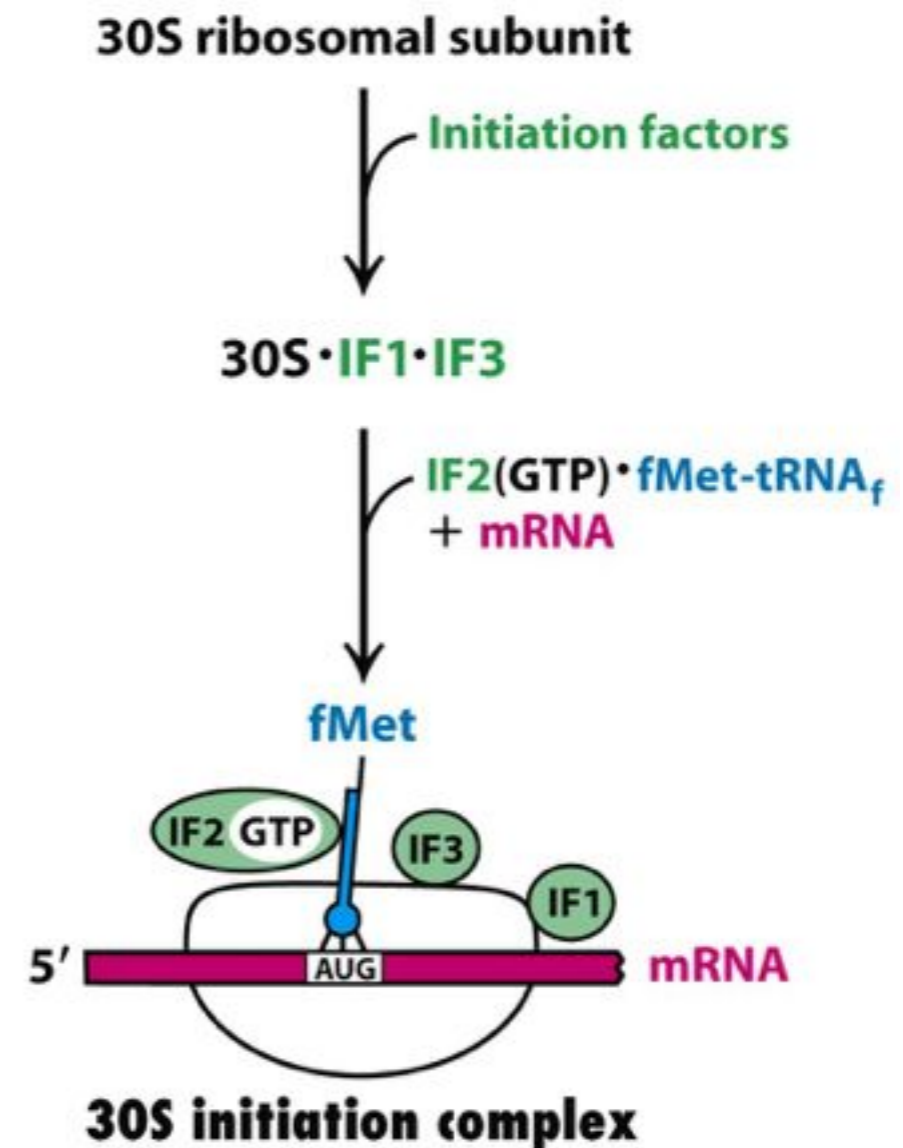
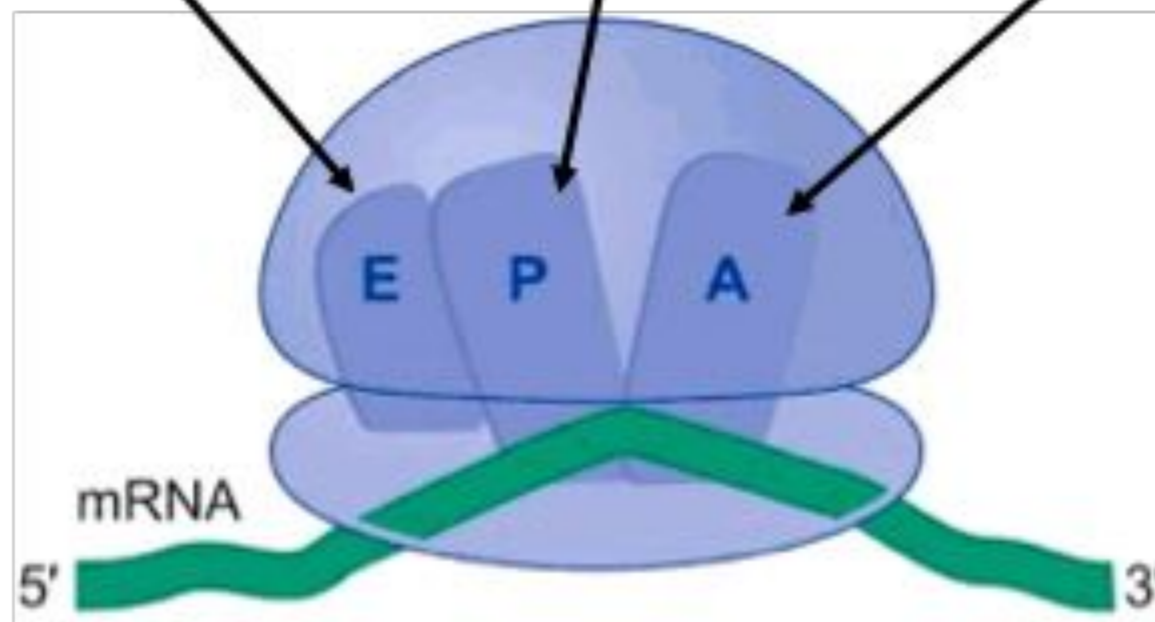


Figure 30-22 part 1
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

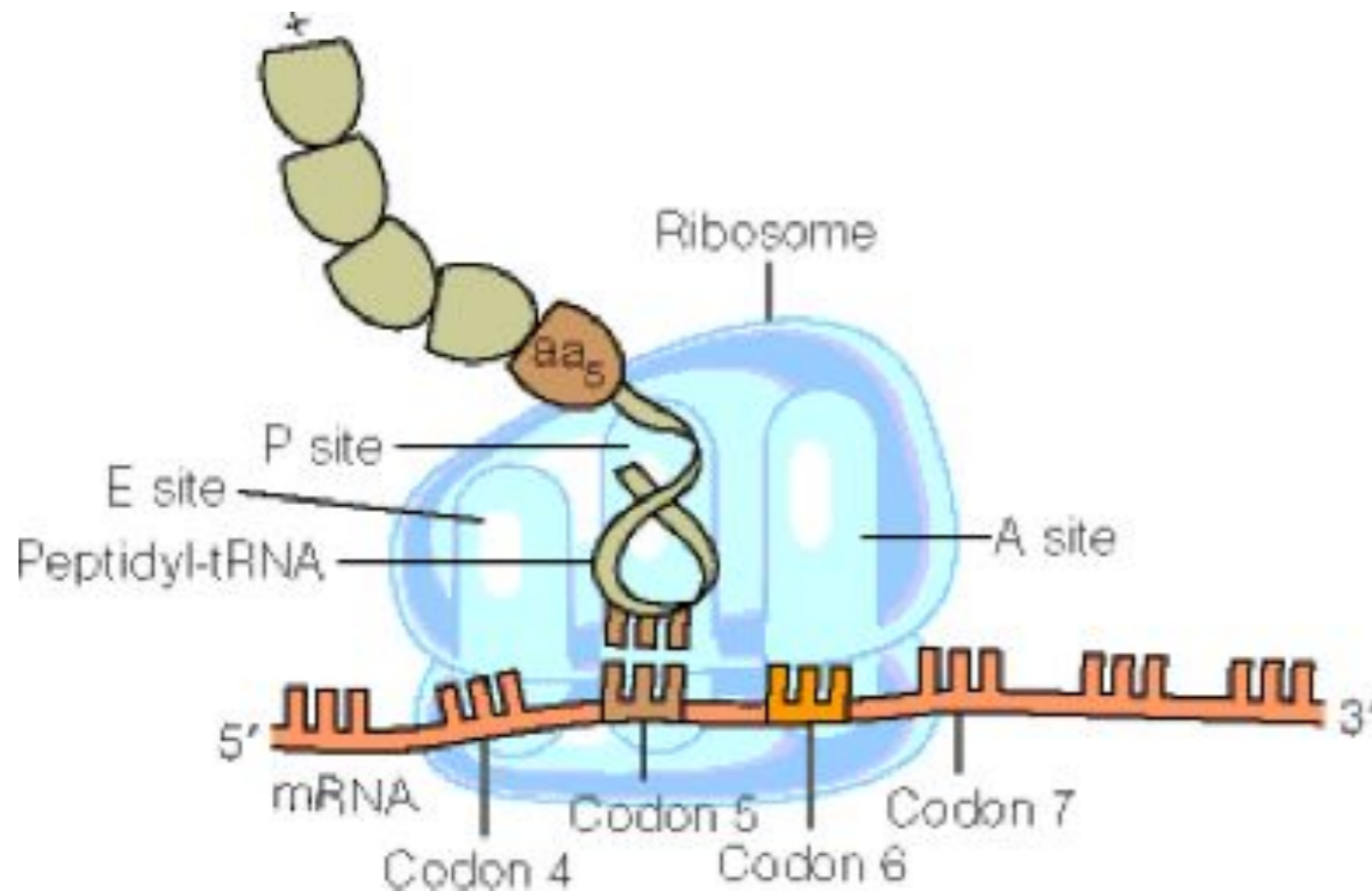
3 участка связывания тРНК на рибосоме

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



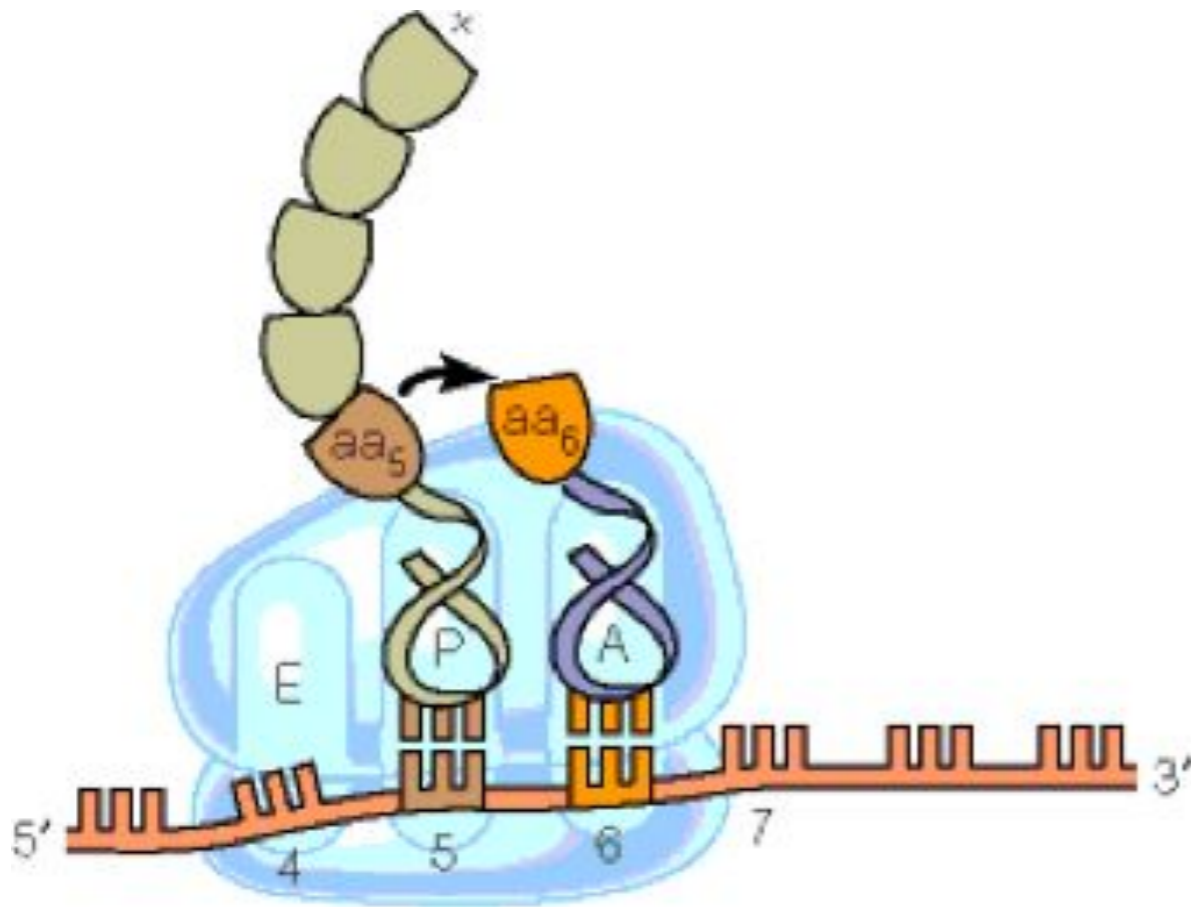
- **Инициация: тРНК связывается с Р-сайтом**
- **Элонгация: тРНК связывается с А-сайтом**

Элонгация трансляции. Шаг I.



- Инициаторная Мет-тРНК или тРНК с пептидом в Р-сайте
- А-сайт свободен

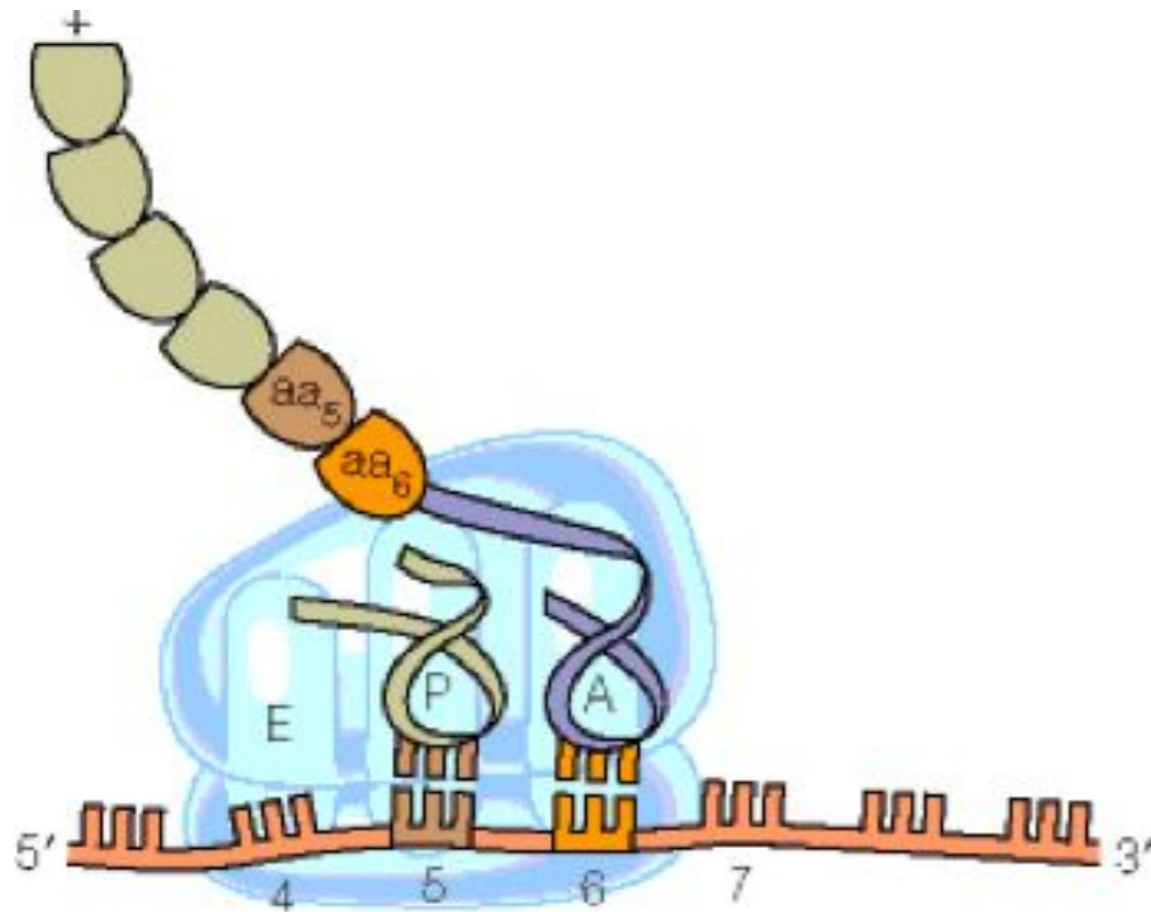
Элонгация трансляции. Шаг II.



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

Элонгация трансляции. Шаг III.

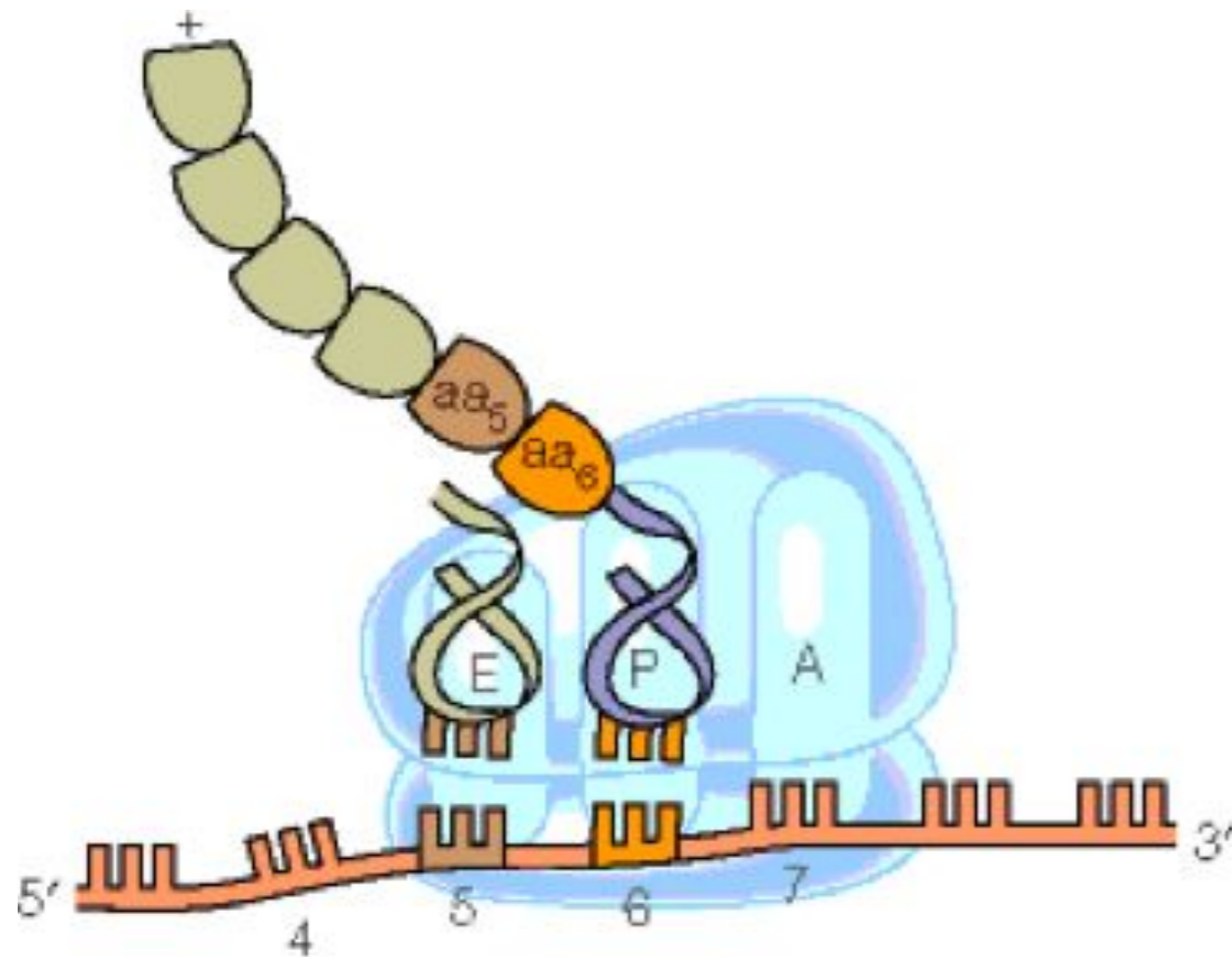
Транспептидация.



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

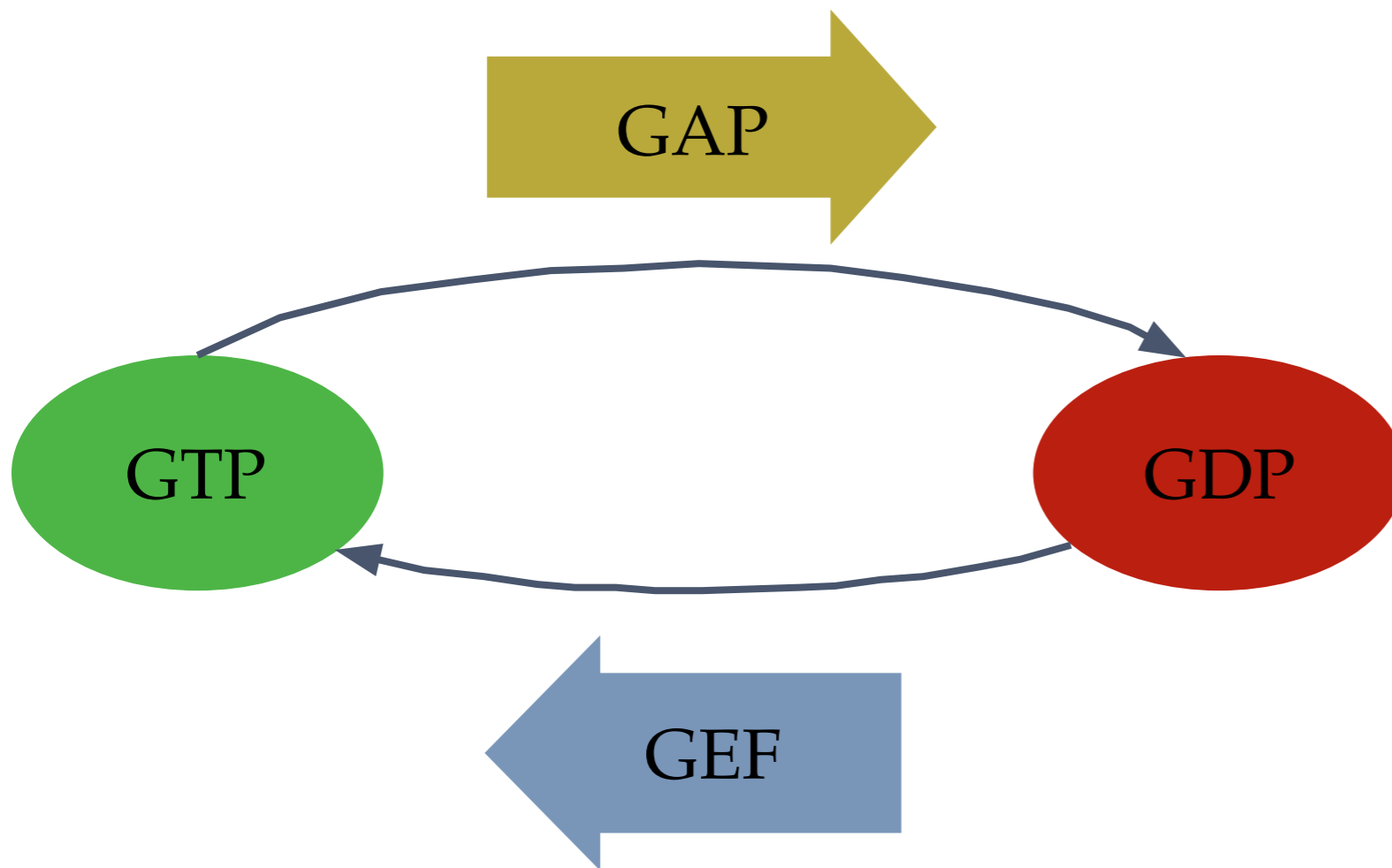
Элонгация трансляции. Шаг IV.

Транслокация.



- Рибосома перемещается по мРНК
- В E-сайте - деацилированная тРНК
- В P-сайте - пептидил-тРНК
- A-сайт пустой

GTPase/GAP/GEF

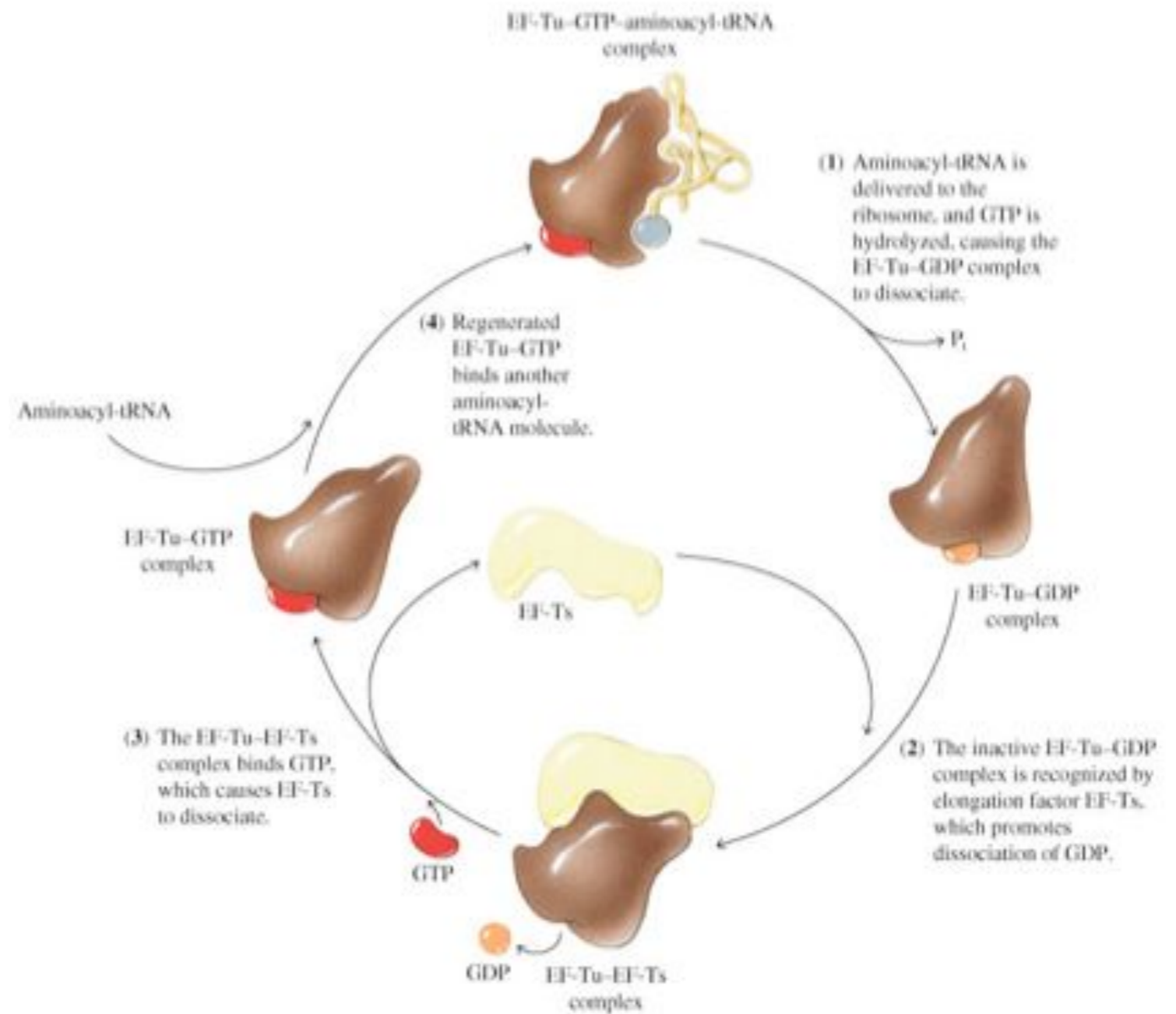


- **GTPase** - белок, гидролизующий GTP, активность которого надо регулировать
- **GAP** - **GTPase** **Activating Protein** - белок, активирующий ГТФазную активность
- **GEF** - **GTP** **Exchange Factor** - белок, обменивающий GDP на GTP

Кто «работает» GAP'
OM для IF2?

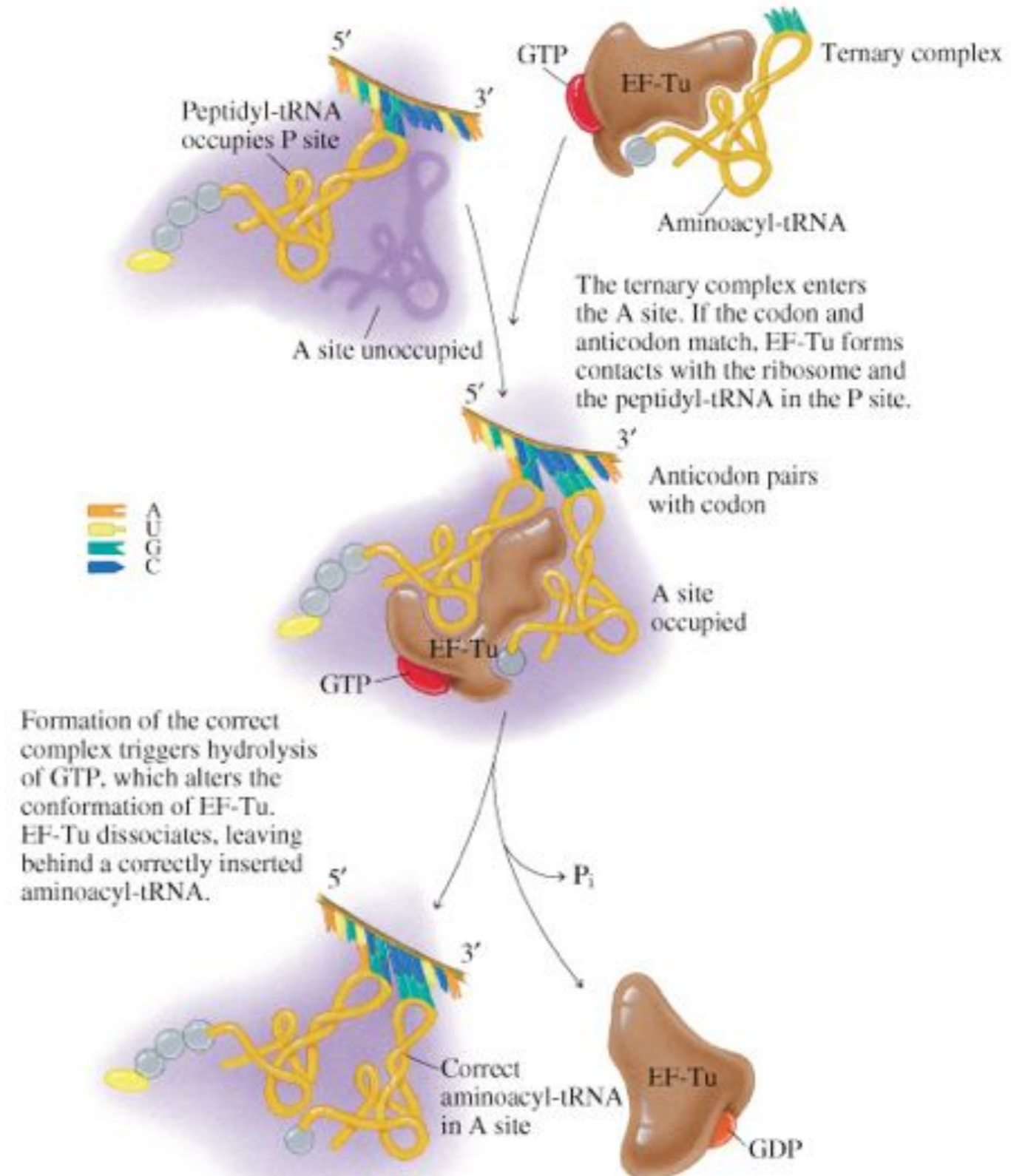
EF-Tu, EF-Ts

- EF-Tu в комплексе с GTP связывает tRNA
- После доставки tRNA в A-сайт рибосомы GTP гидролизуется и EF-Tu уходит с рибосомы
- Чтобы обменять GDP на GTP нужен GEF, EF-Ts

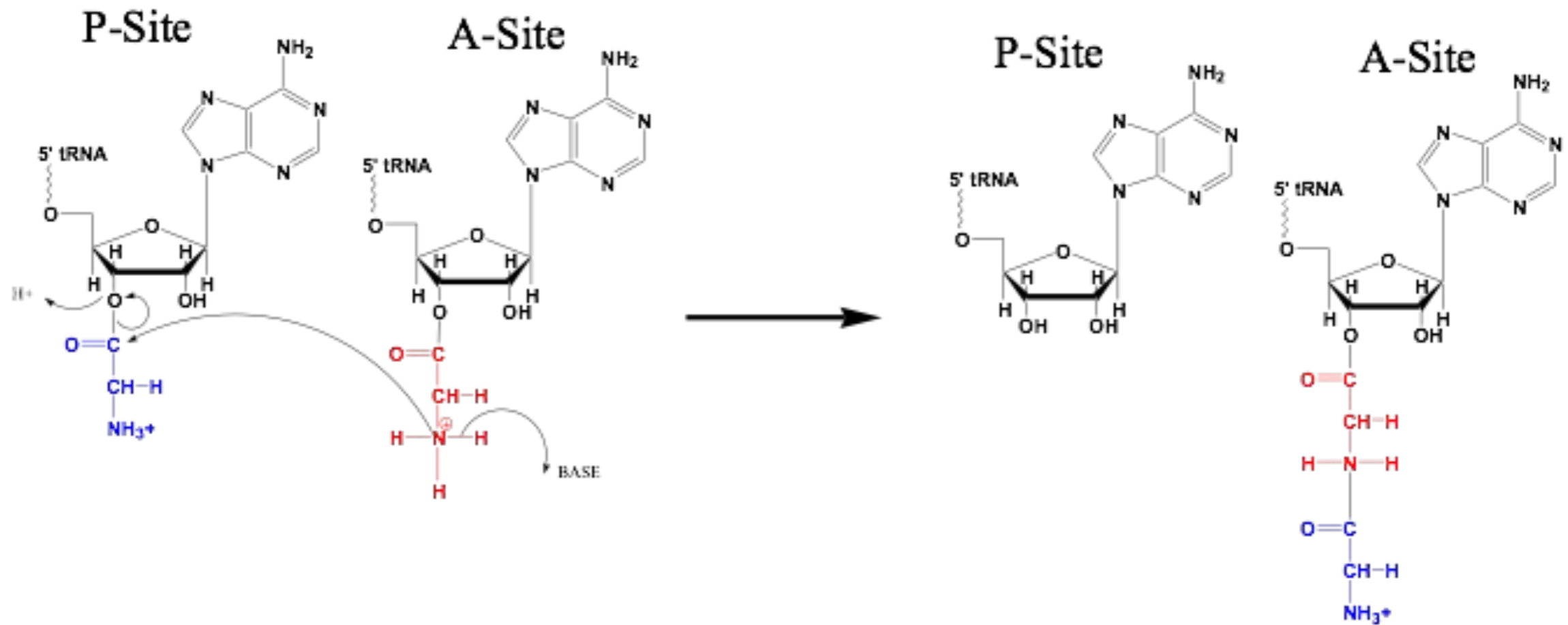


EF-Tu и гидролиз GTP

- Только в том случае, когда образуется правильное кодон-антикодонное взаимодействие, EF-Tu меняет свою конформацию и приобретает свойство гидролизовать GTP

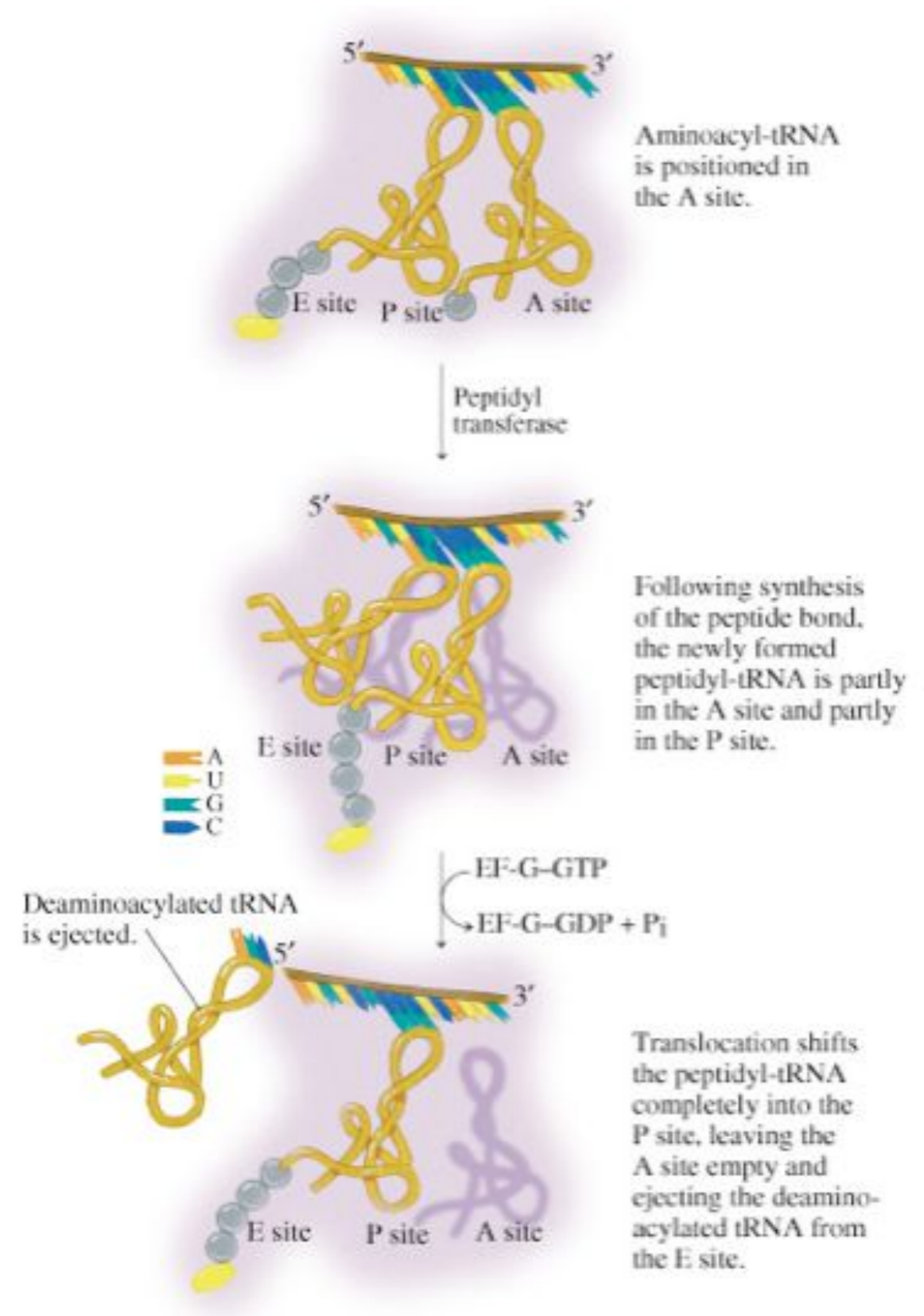


Образование пептидной связи



EF-G

- После образования пептидной связи необходимо «сдвинуть» рибосому на следующий триплет
- Для этого необходим еще один белок, EF-G, тоже ГТФаза



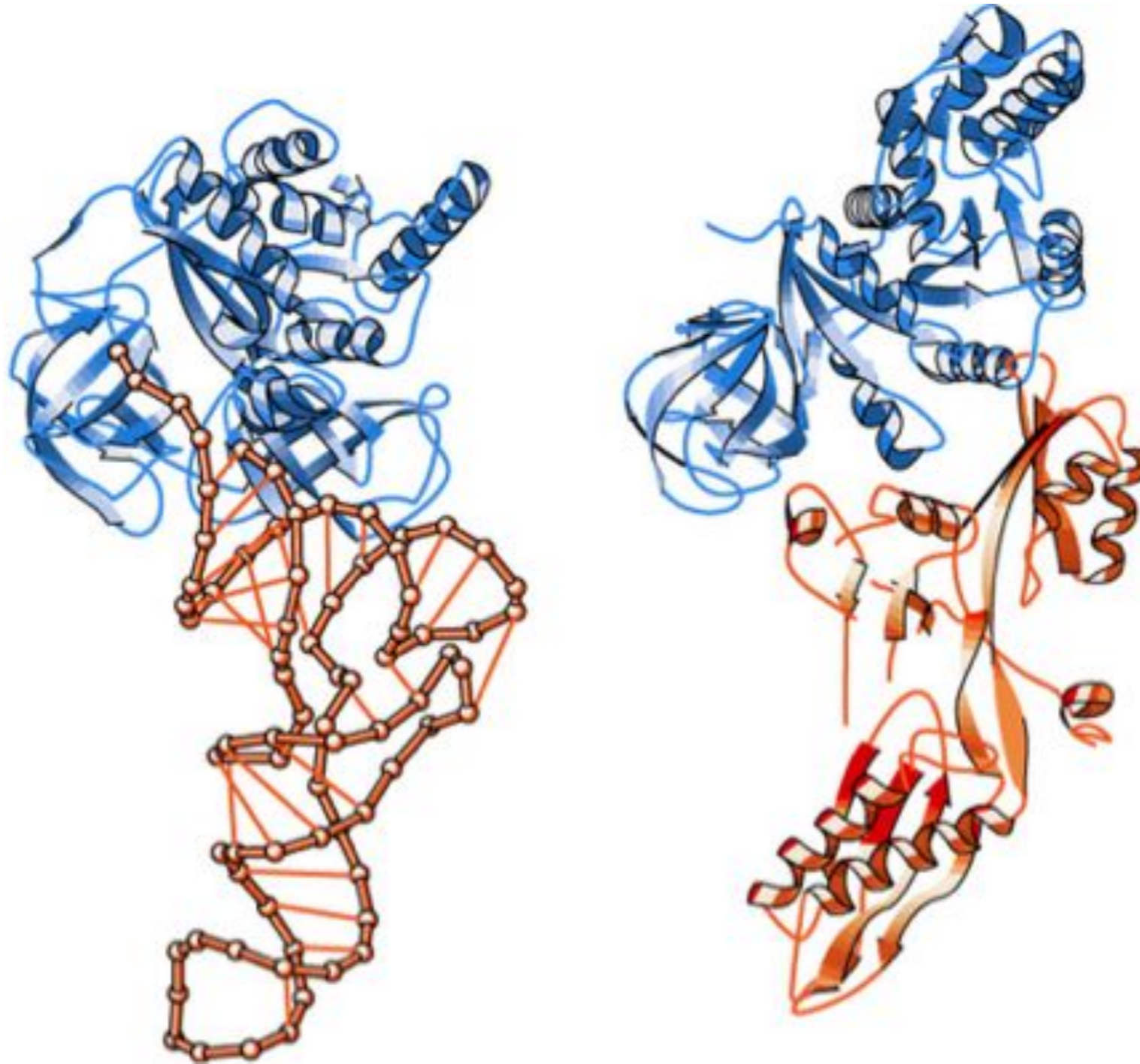
Элонгация трансляции у эукариот

- eEF-1A - сажает тРНК в А-сайт (EF-Tu)
- eEF-1B - обменивает GDP на GTP (EF-Ts)
- eEF2 - транслоцирует рибосому (EF-G)

Терминация трансляции

- У бактерий 3 фактора терминации
 - **RF1** - узнает UAA и UAG
 - **RF2** - узнает UAA и UGA
 - RF3 - помогает работать RF1/2, GTPase
 - RRF - разрушает пост-терминационную рибосому
- У эукариот eRF1 узнает все три кодона
- eRF3 - аналог RF3, встречается только у грибов

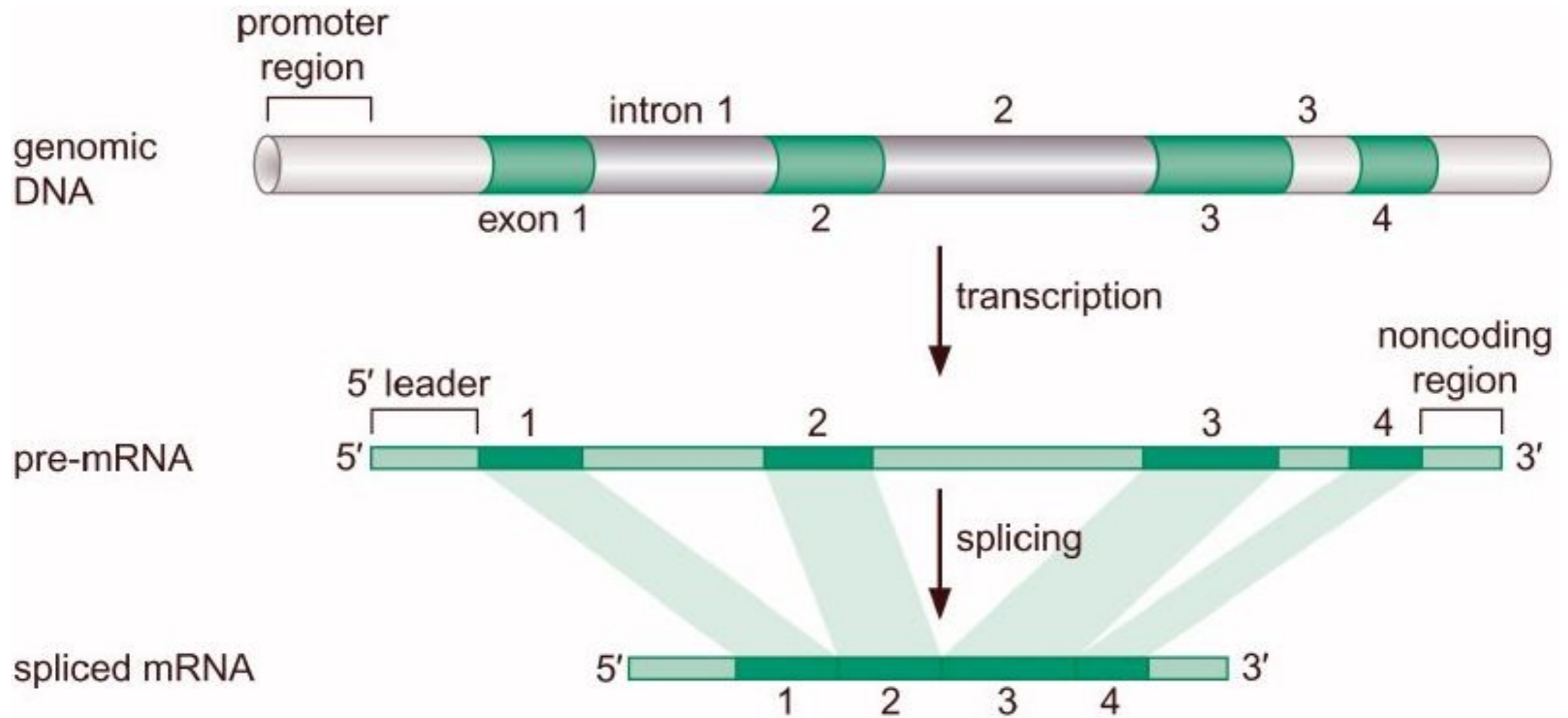
Molecular mimicry



Рибосома и антибиотики

- Тетрациклин - мешает посадки тРНК в А-сайт
- Хлорамфеникол - ингибирует пептидил-трансферазную активность рибосомы
- Эритромицин - «забивает» рибосомный туннель
- Тобрамицин - связывается с А-сайтом, но что делает конкретно не до конца ясно

Сплайсинг



Процесс «вырезания» из пре-мРНК некодирующих частей, интронов

Интроны

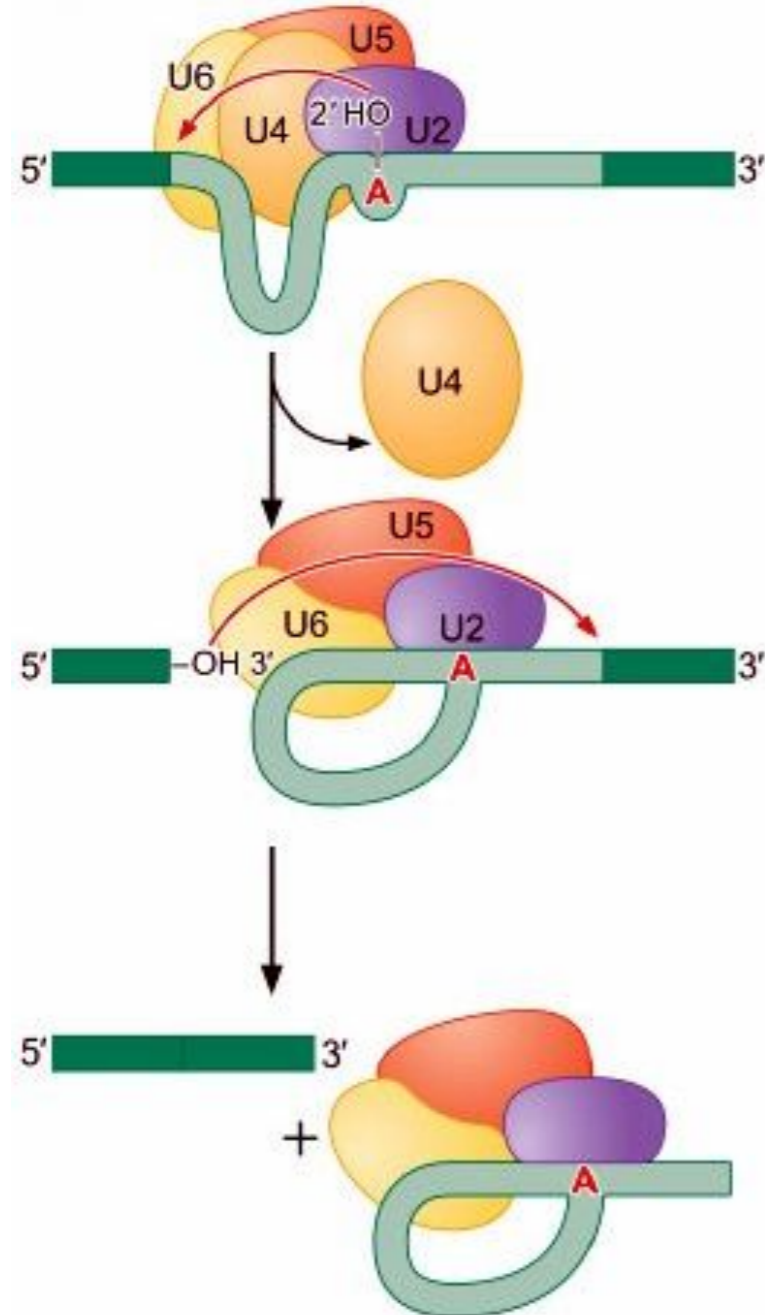
Table 12.3 Introns in human genes

Gene	Length (kb)	Number of introns	Amount of the gene taken up by the introns (%)
Insulin	1.4	2	69
β -globin	1.6	2	61
Serum albumin	18	13	79
Type VII collagen	31	117	72
Factor VIII	186	25	95
Dystrophin	2400	78	98

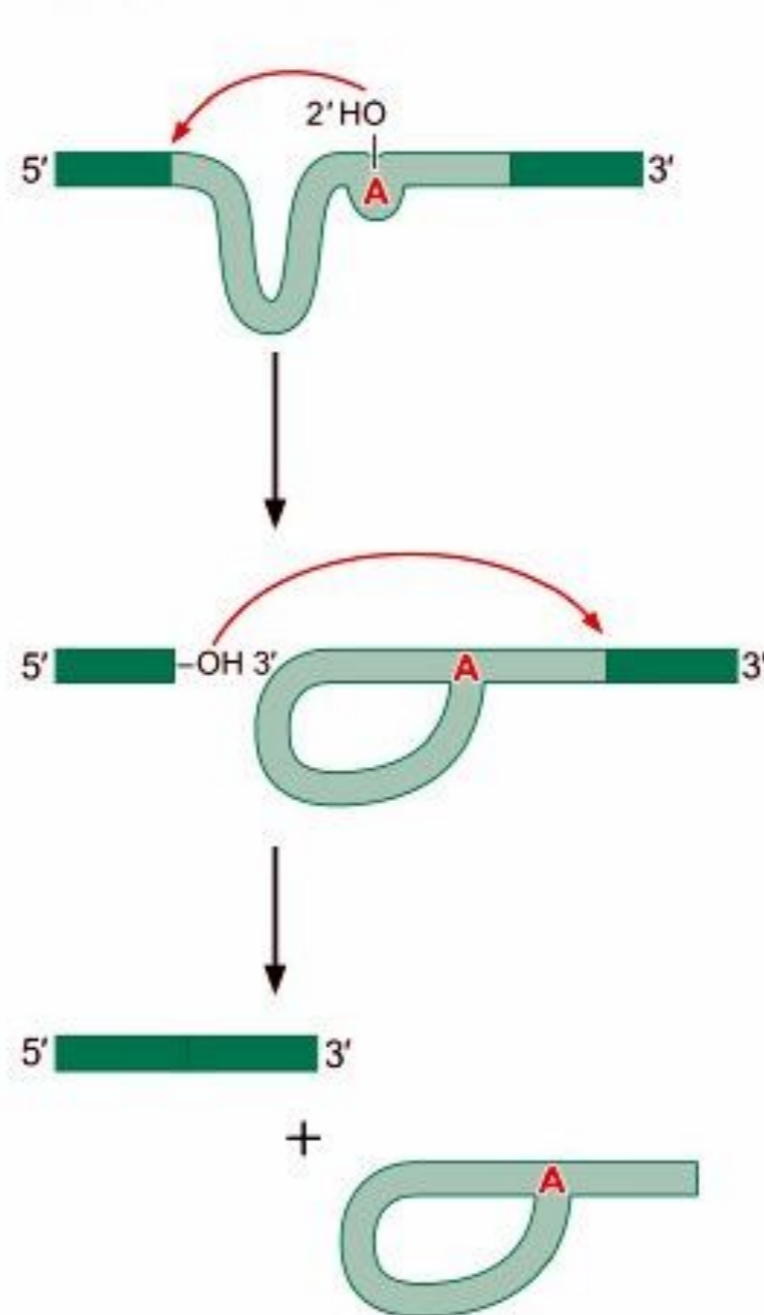
Интроны всегда занимают бóльшую часть гена, иногда почти весь ген
Редкие мРНК не имеют интронов, например, мРНК белков теплового шока

Самосплайсирующие интроны I и II группы

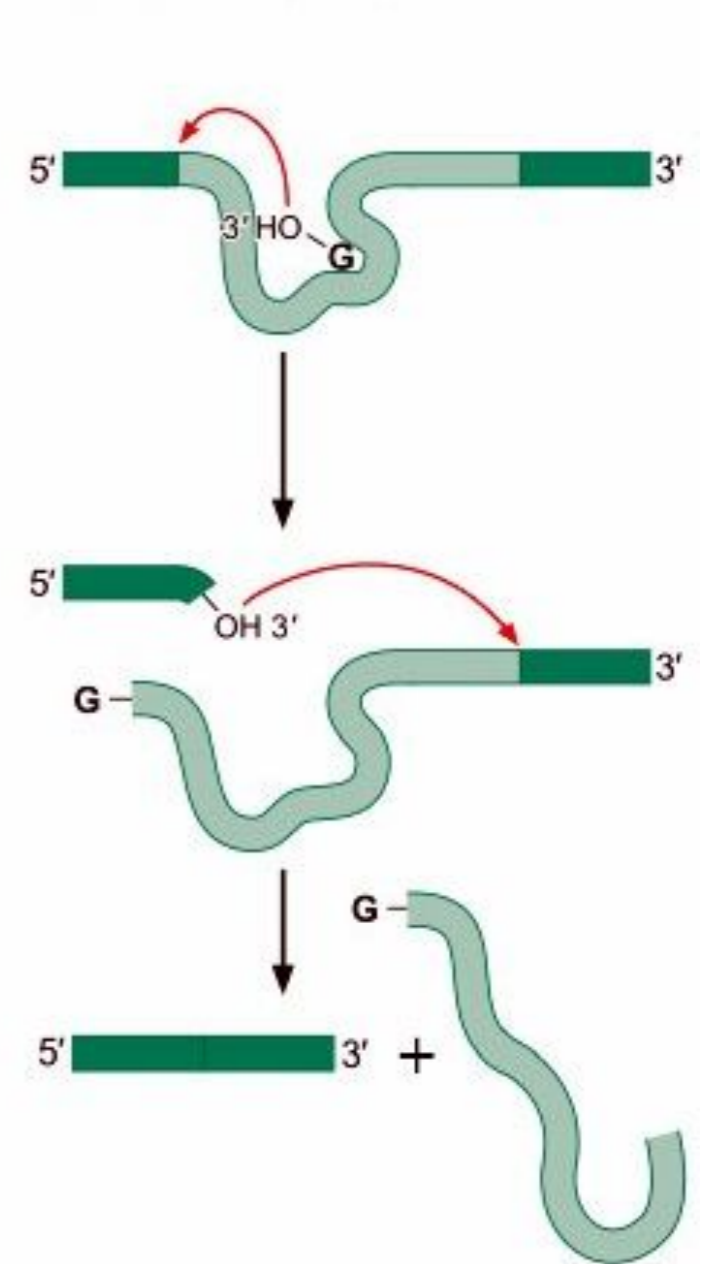
a pre-mRNA spliceosome



b group II self-splicing



c group I self-splicing



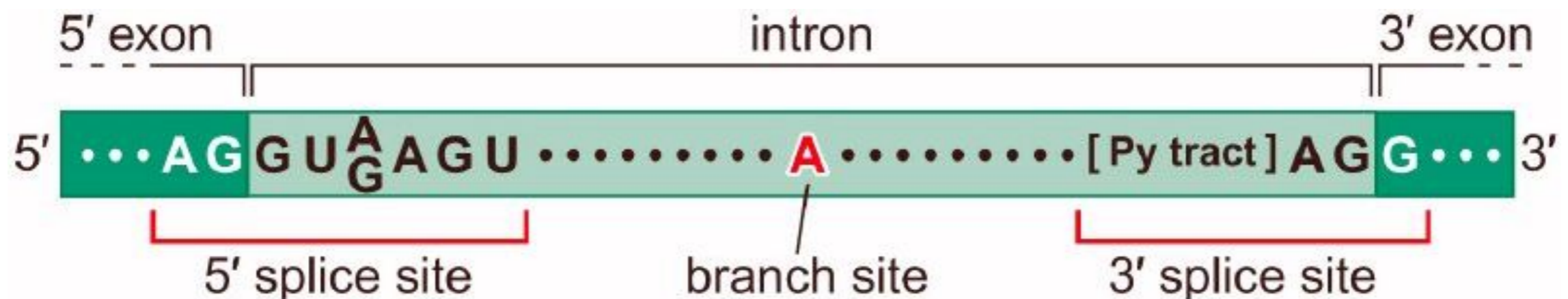
Сплайсосома

Огромный комплекс, состоящий из ~150 белков и 5 РНК

Эти РНК имеют название snRNA U1, U2, U4, U5 и U6

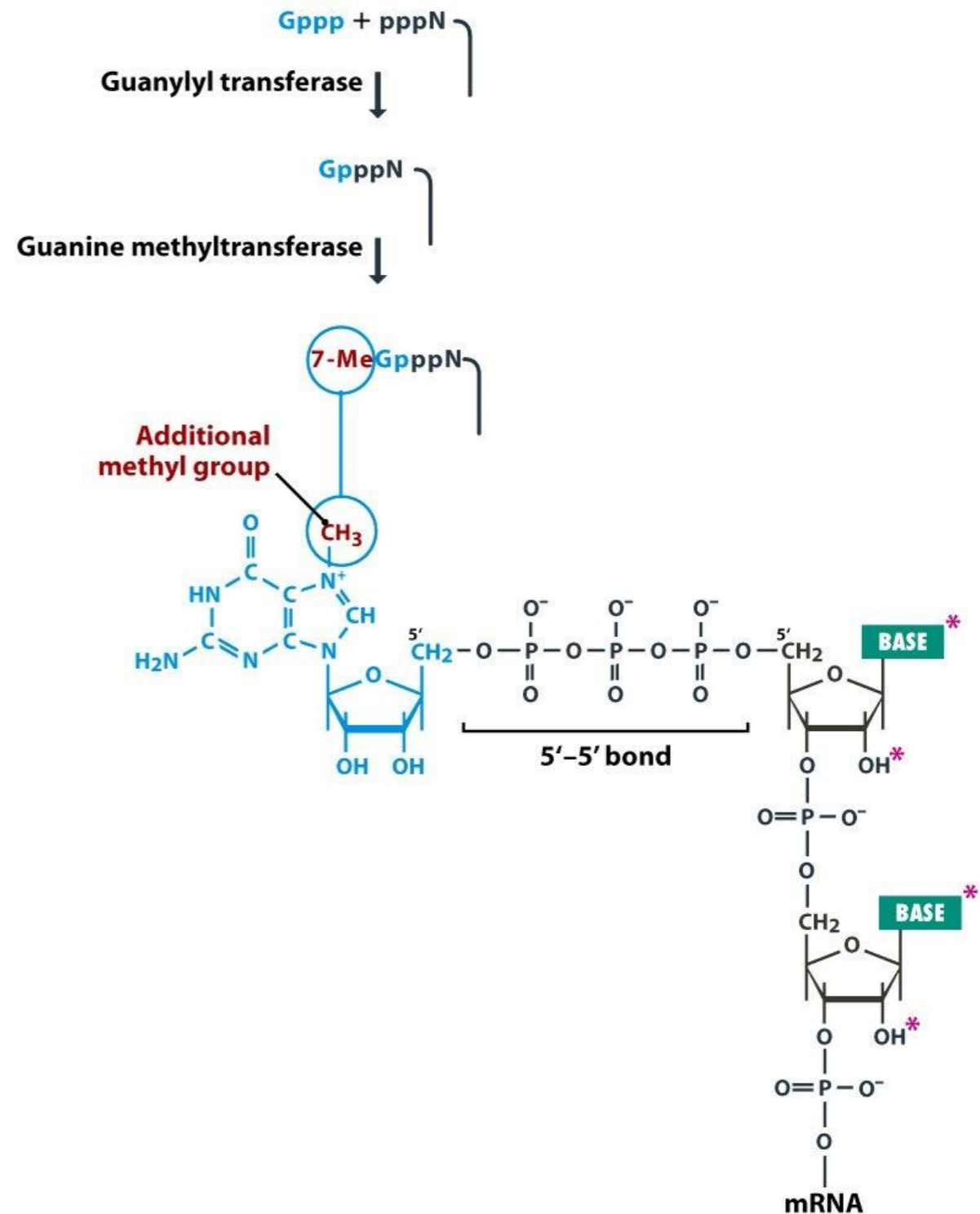
(потому что в них много остатков U)

Существует также *минорная сплайсосома* в состав которой входят также U11, U12 и несколько других...



Процессинг 5'-конца мРНК

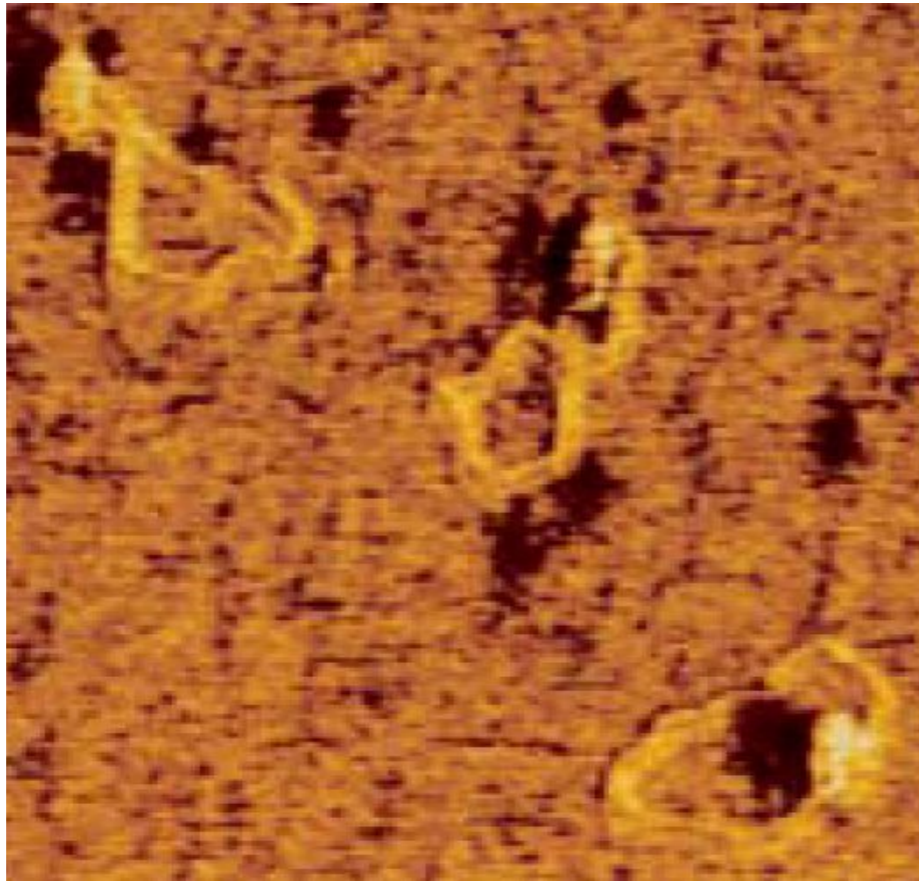
- Абсолютно все цитоплазматические мРНК эукариот имеют на 5'-конце так называемый «кэп» (*от англ. cap*)
- Метилированный по 7-му положению гуанозин присоединен к мРНК через необычную 5'-5' СВЯЗЬ



Альтернативный сплайсинг

- По различным оценкам, от 40% до 75% генов человека могут иметь альтернативно сплайсированные транскрипты
- Также известны случаи альтернативного полиаденилирования

мРНК эукариот «зациклены»



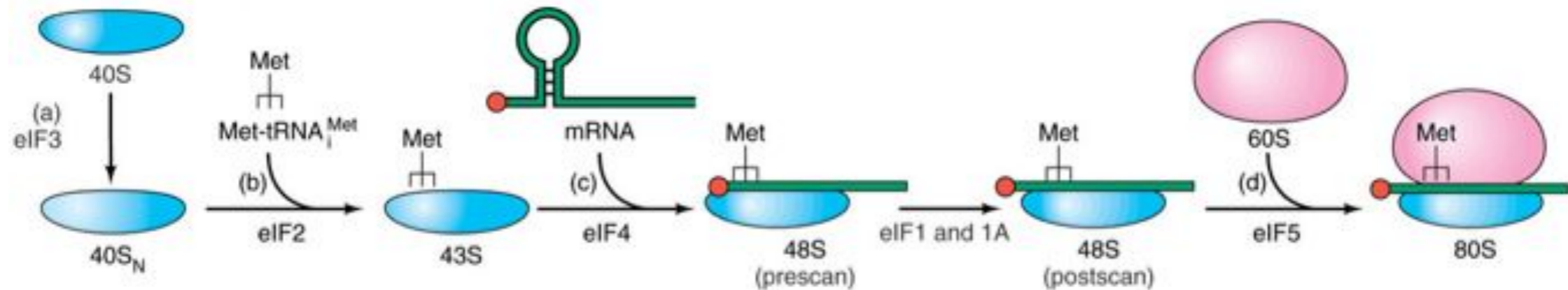
Wells SE *et al*

Circularization of mRNA by eukaryotic translation initiation factors.

Mol Cell. 1998 2:135-40.

- **eIF4F**
связывается на
5'-конце мРНК
- **РАВР**
связывается на
3'-конце мРНК
- **eIF4F**
связывается с
РАВР

Сканирование

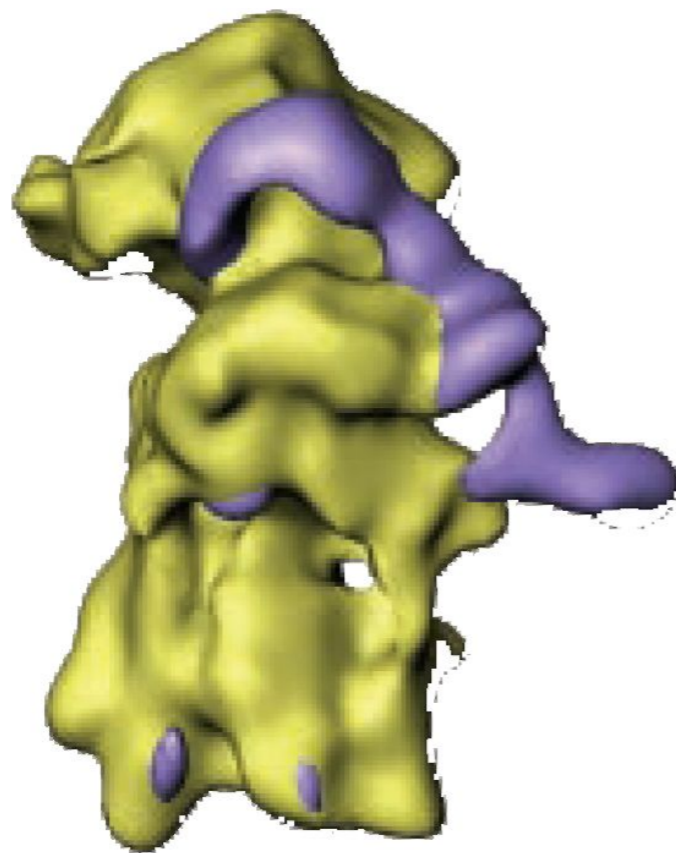


- Рибосома садится на 5'-конец мРНК и ползет в 3'-сторону («сканирует» мРНК) до тех пор, пока не найдет AUG-кодон

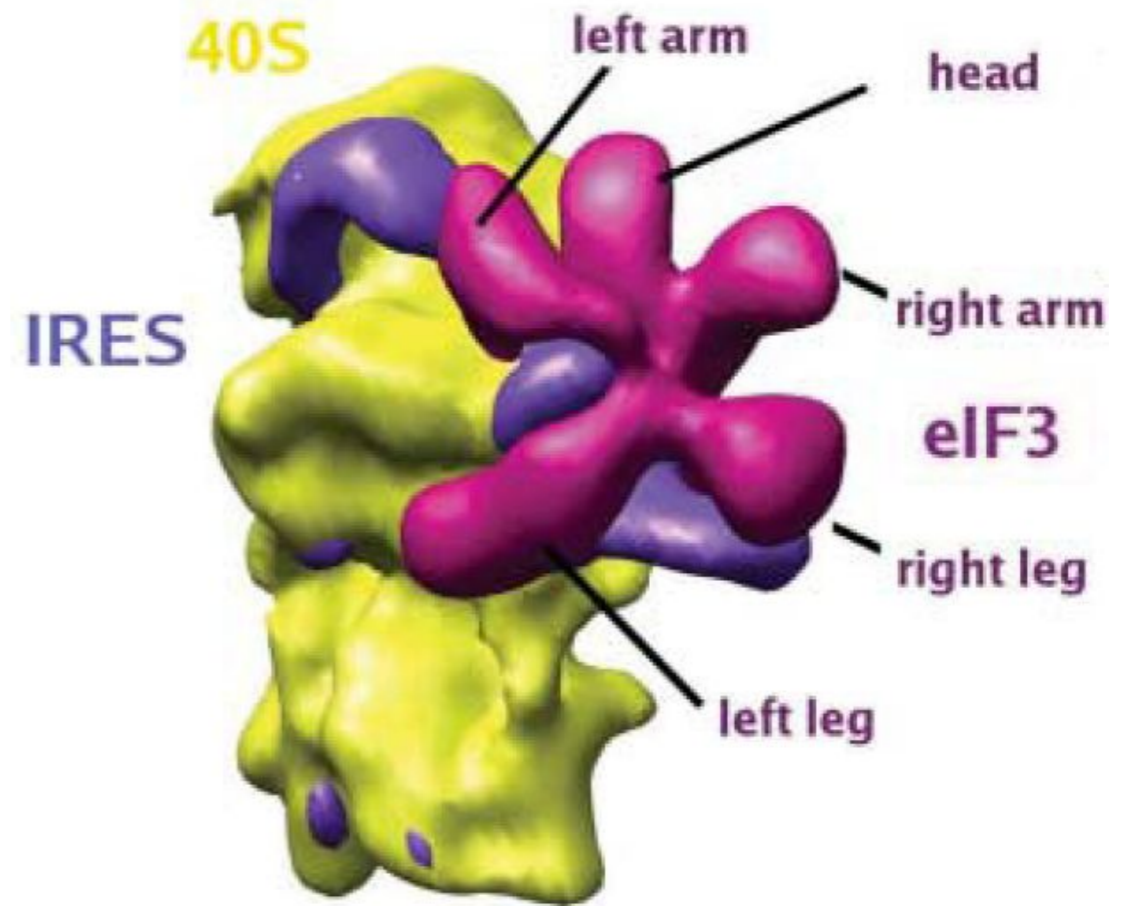
Kozak context/Kozak sequence

- Не каждый первый AUG-кодон узнается рибосомой
- Самый хороший AUG-кодон окружен хорошим контекстом: **A/GCC AUG A/G**
- Еще лучше, если в 10-15 нуклеотидах после AUG есть шпилька

IRES HCV

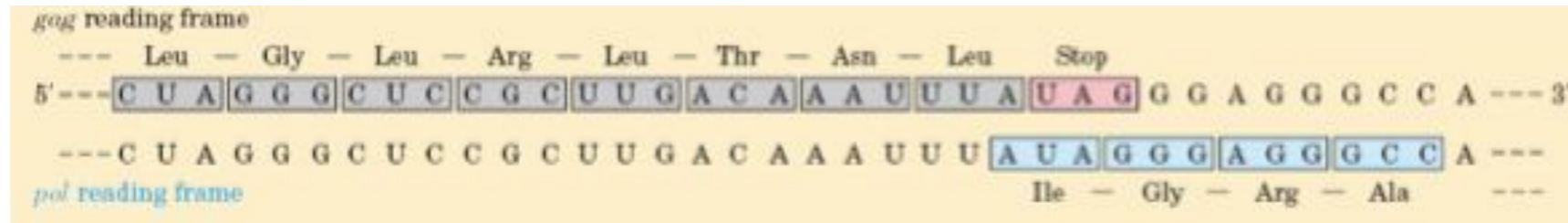


Christian M. T. Spahn *et al*
**Hepatitis C Virus IRES RNA-Induced Changes in the
Conformation of the 40S Ribosomal Subunit**
Science. 2003 291 1959-1962



Siridechadilok B. *et al*
**Structural Roles for Human Translation Factor eIF3 in
Initiation of Protein Synthesis**
Science. 2005 310: 1513-1515

Frameshift - сдвиг рамки считывания

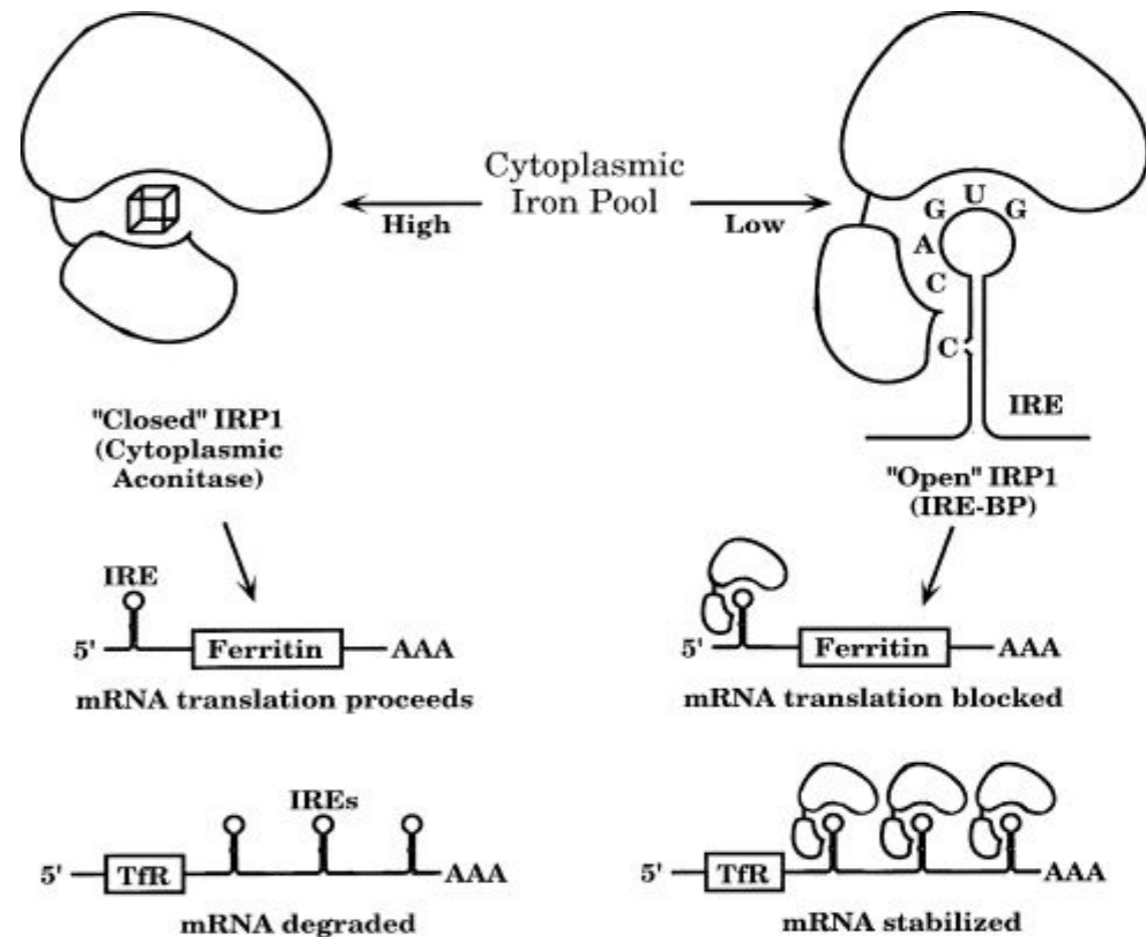


- На повторяющихся последовательностях типа АААААААААААА
- Структуры в мРНК могут регулировать сдвиг

**Как трансляция может
регулировать другие
процессы в клетке**

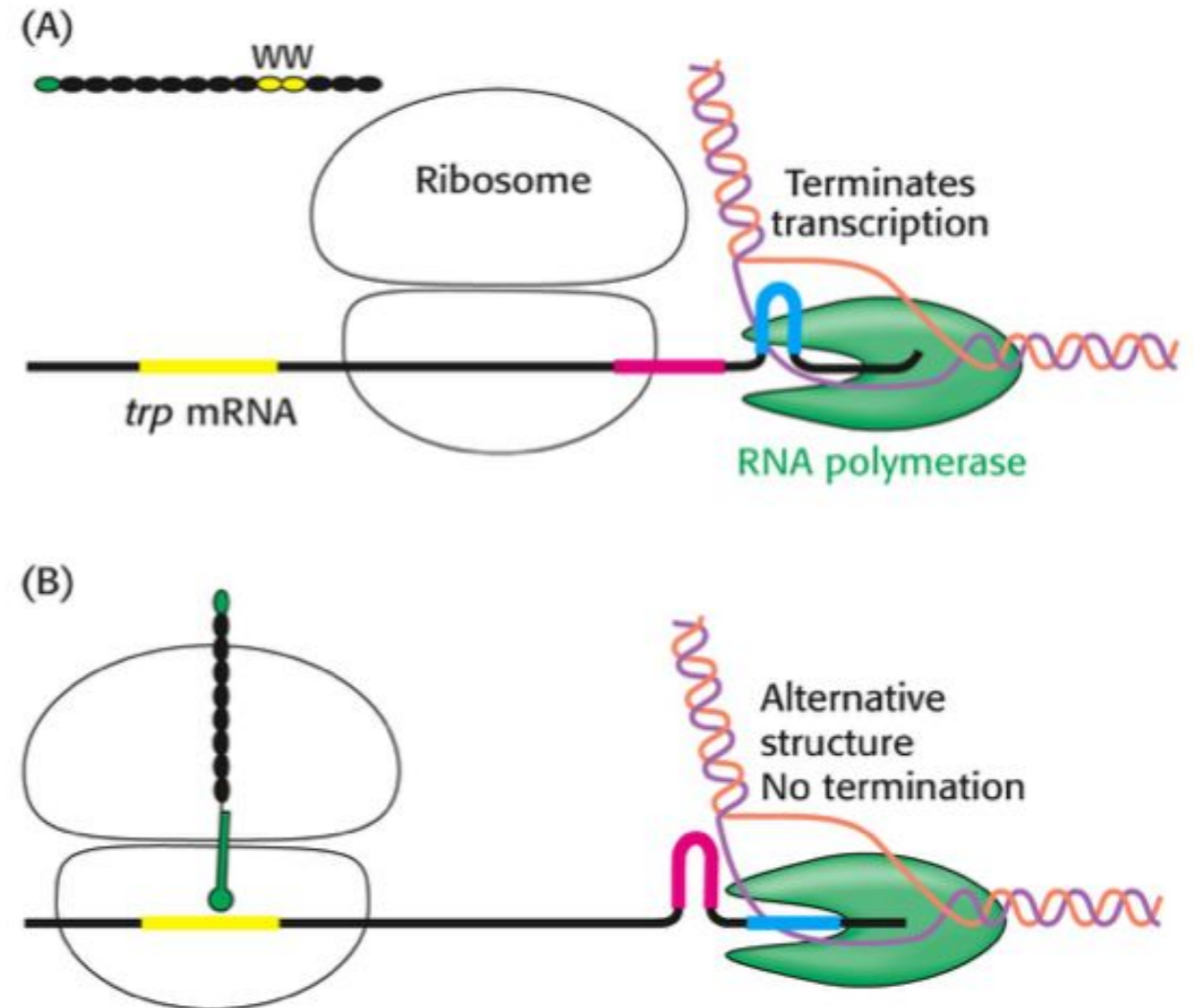
Iron Responsive Element (IRE)

- Ферритин - белок, «хранящий» железо в клетке
- Трансферрин - рецептор, «закачивающий» железо в клетку

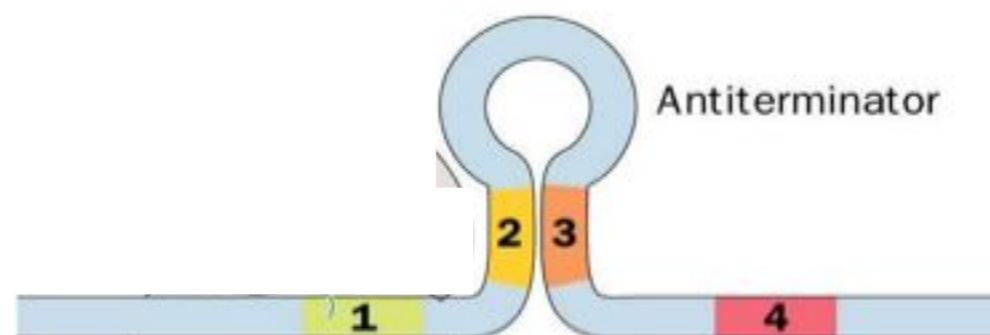
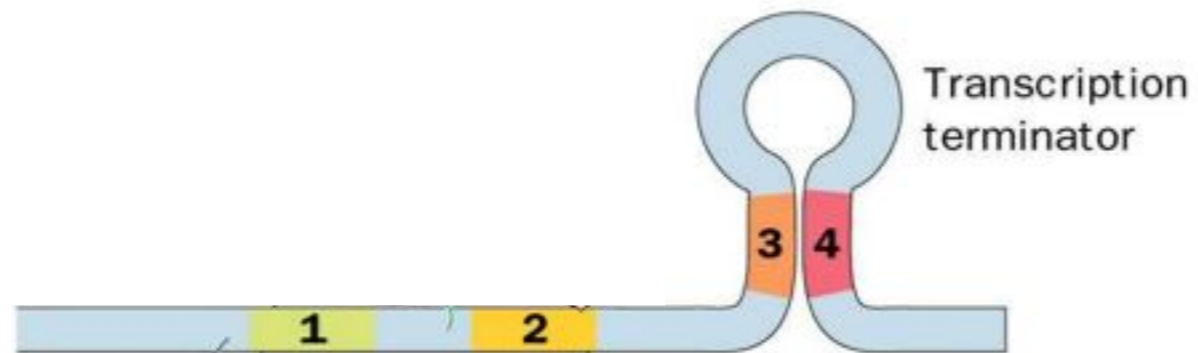


Регуляция транскрипции при помощи трансляции

- Триптофановый оперон
- Скорость перемещения рибосомы регулирует образование терминаторной структуры

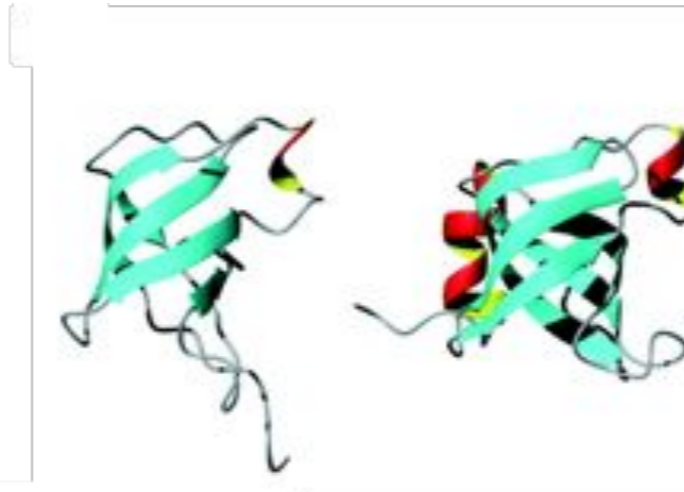


Триптофановый оперон *E.coli*

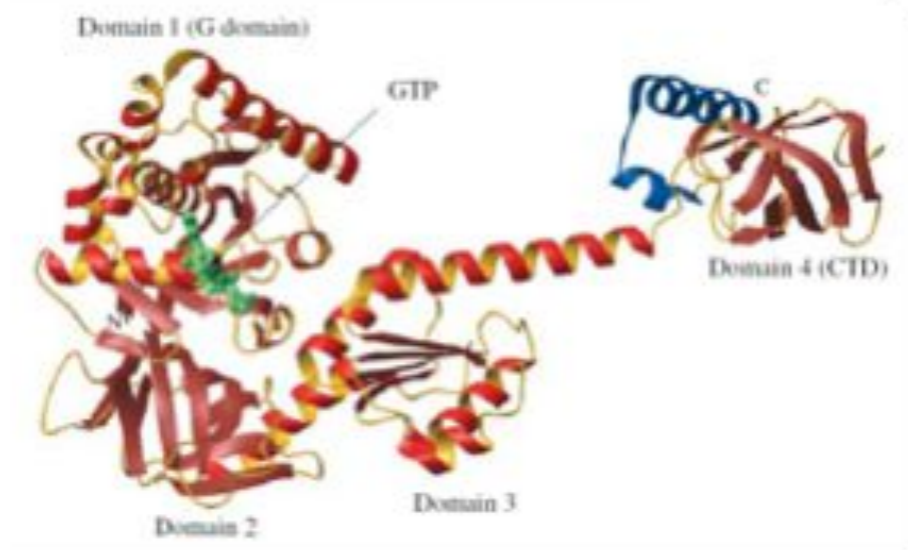


Что досталось нам от бактерий?

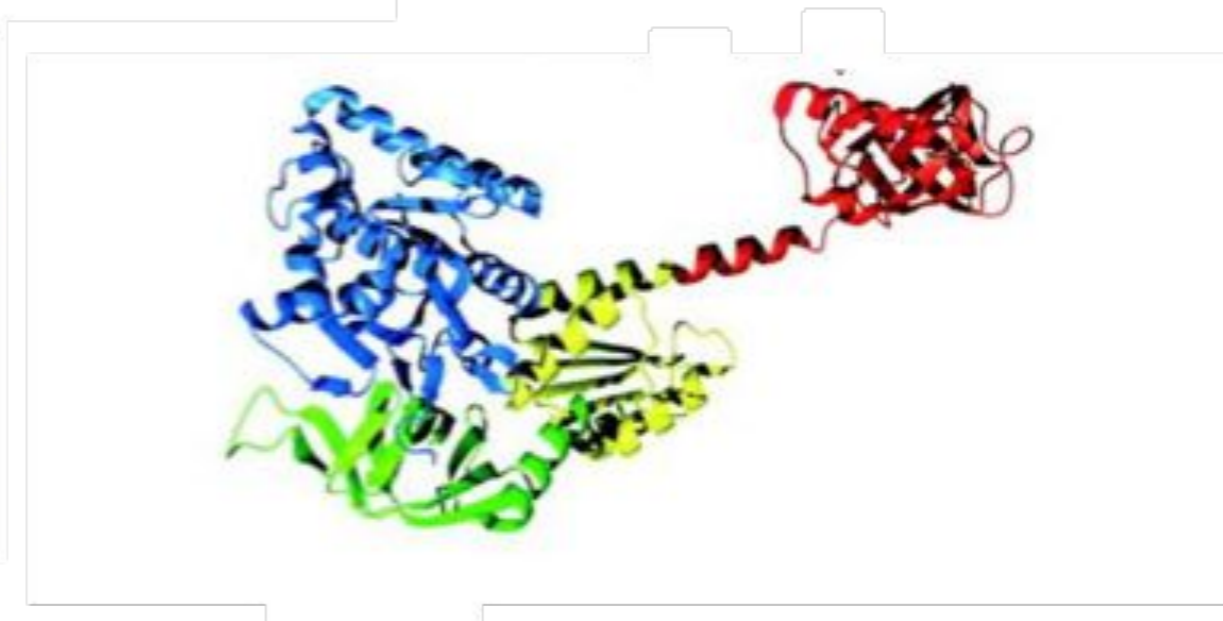
IF1



eIF1A

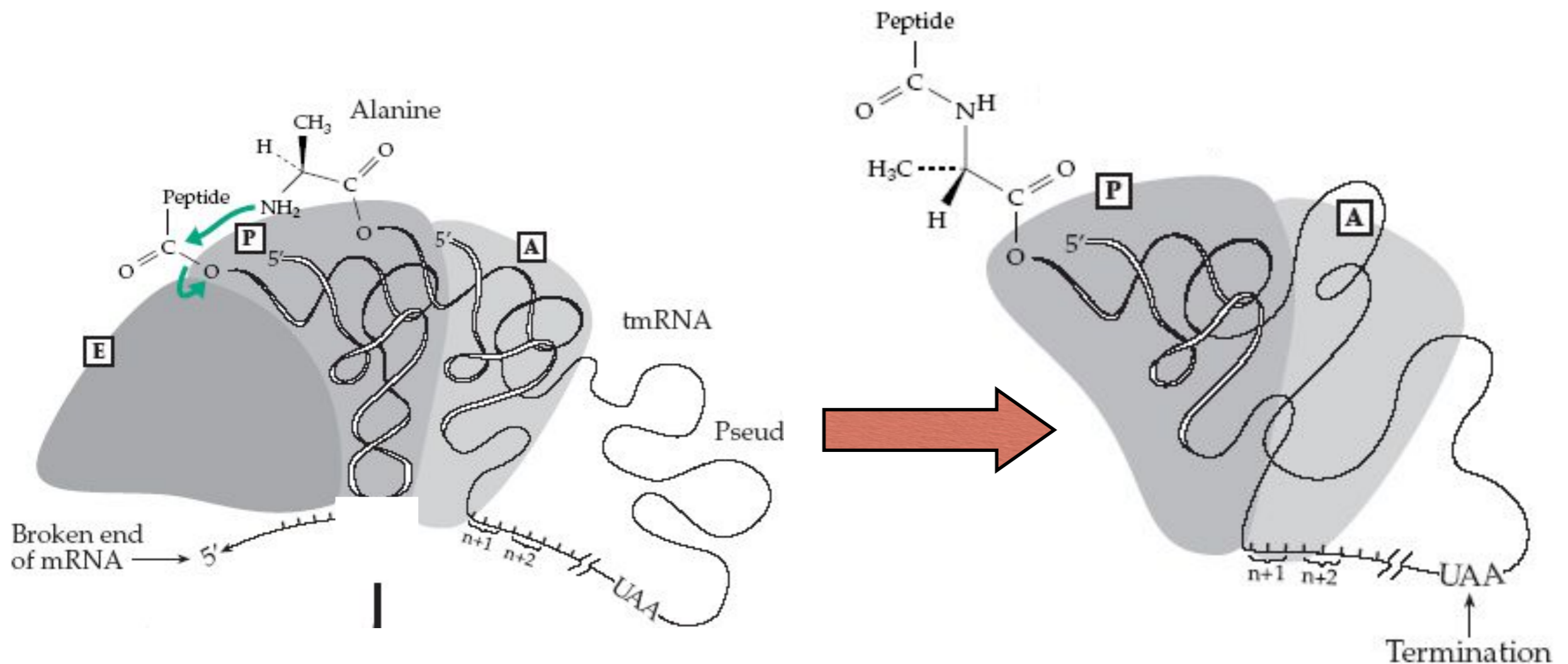


IF2



eIF5B

Транспортно-матричная РНК (тмРНК)



- *тмРНК связывается с пустым А-участком рибосомы, выполняя функции как тРНК, там и мРНК.*
- *Содержит стоп-кодон и кодирует сигнальный пептид, делающий белок мишенью для протеазы.*