Транскрипция и трансляция

Генетический код

Характеристики:

1. Записывается в линейной форме, в качестве букв выступают рибонуклеотиды РНК, последовательность которых комплементарна таковой нуклеотидов ДНК.
2. Последовательность из трех рибонуклеотидных «букв» называется кодоном, кодирующим 1 аминокислоту, т.о. генетический код считывается триплетами.
3. Генетический код вырожденный, т.е. 18 из 20 аминокислот соответствует несколько триплетных кодонов.
4. Существуют старт и стоп-кодоны.
5. Код непрерывен, не используется «знаков препинания».
6. Код неперекрывающийся.
7. Код универсален.

Генетический код

- В 1961 г. Франсуа Жакоб, Жак Моно предположили существование матричной РНК=РНК посредника.
- Триплетность кода: Эксперименты Френсиса Крика с мутациями сдвига рамки считывания у фага Т4. Вставка или делеция одного или двух нуклеотидов приводят к мутации, но не при вставке или делеции трех.
- Работы по расшифровке кода:

1. Неклеточный синтез белков. (использование полинуклеотидфосфорилазы для синтеза искусственной РНК)
2. Использование гомополимеров (например, содержащих один тип рибонуклеотидов: AAAAA…, GGGGG… и т.д.)
3. Использование смеси кополимеров (гетерополимеры РНК)
4. Метод связывания триплетов
5. Повторяющиеся кополимеры

Генетический код

3. Использование смеси кополимеров

Состав	Вероятная частота триплета	Возможные триплеты	Общая частота, %
3A	$(1/6)^3 = 0,4\%$	AAA	0,4
1C:2A	$(1/6)^2 (5/6)=2,3\%$	AAC ACA CAA	3*2,3=6,9
2C:1A	$(1/6)(5/6)^2 =11,6\%$	ACC CAC CCA	3*11,6=34,8
3C	$(5/6)^3 = 57,9\%$	CCC	57,9

Генетический код

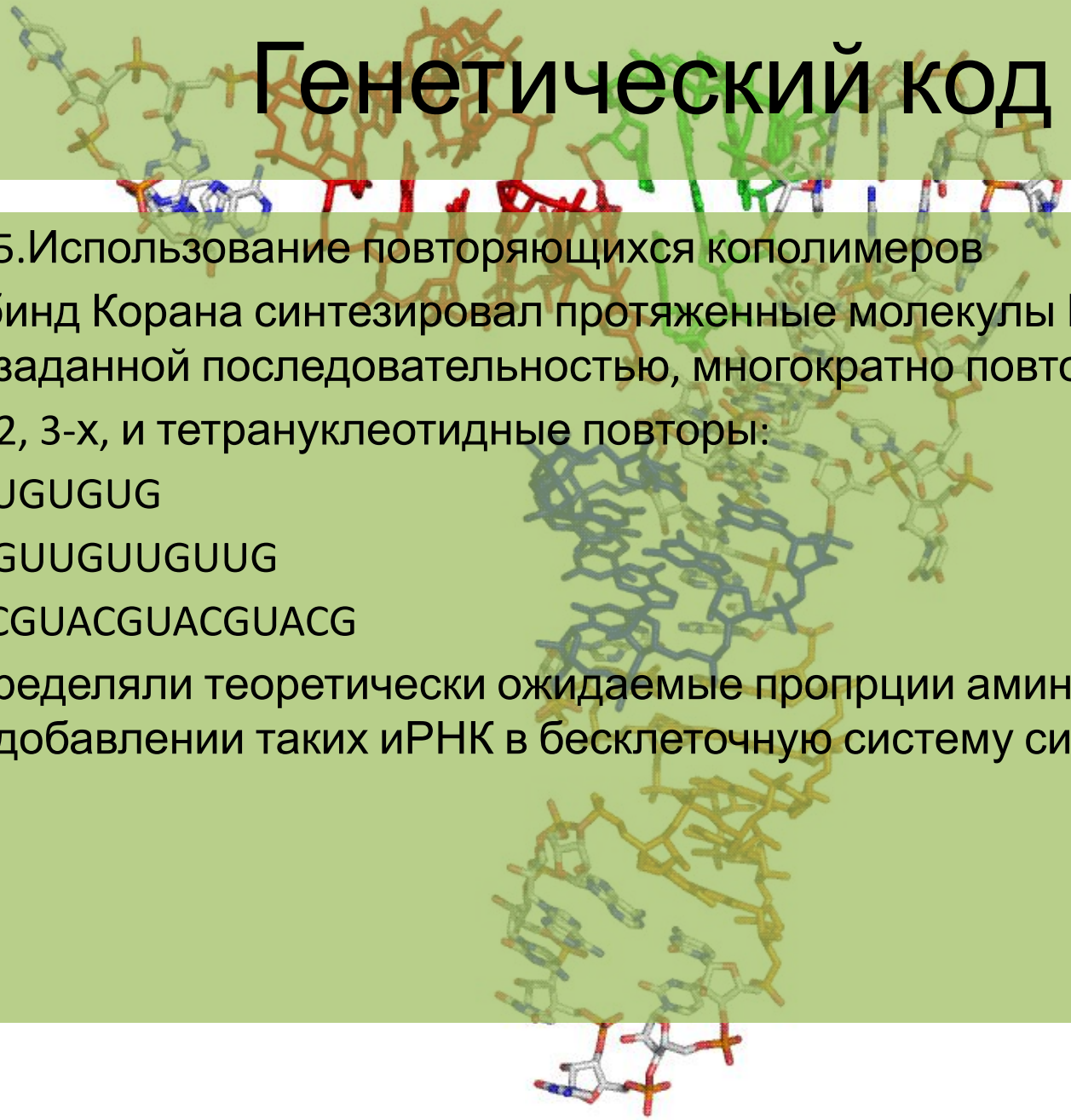
- Метод связывания триплетов

В 1964 г. Ниренберг и Ледер разработали данный метод для установления точной последовательности кодонов.

Триплеты-кодоны иРНК комплементарны последовательностям тРНК , которые называются антикодонами.

Аминокислота метилась изотопом и прослеживалось какой из триплетов иРНК связывается с кодоном. Комплекс меченной тРНК и иРНК оставался на фильтре.

Генетический код



- 5.Использование повторяющихся кополимеров

Гобинд Корана синтезировал протяженные молекулы РНК с заданной последовательностью, многократно повторяющейся.

Из 2, 3-х, и тетрануклеотидные повторы:

UGUGUGUG

UUGUUGUUGUUG

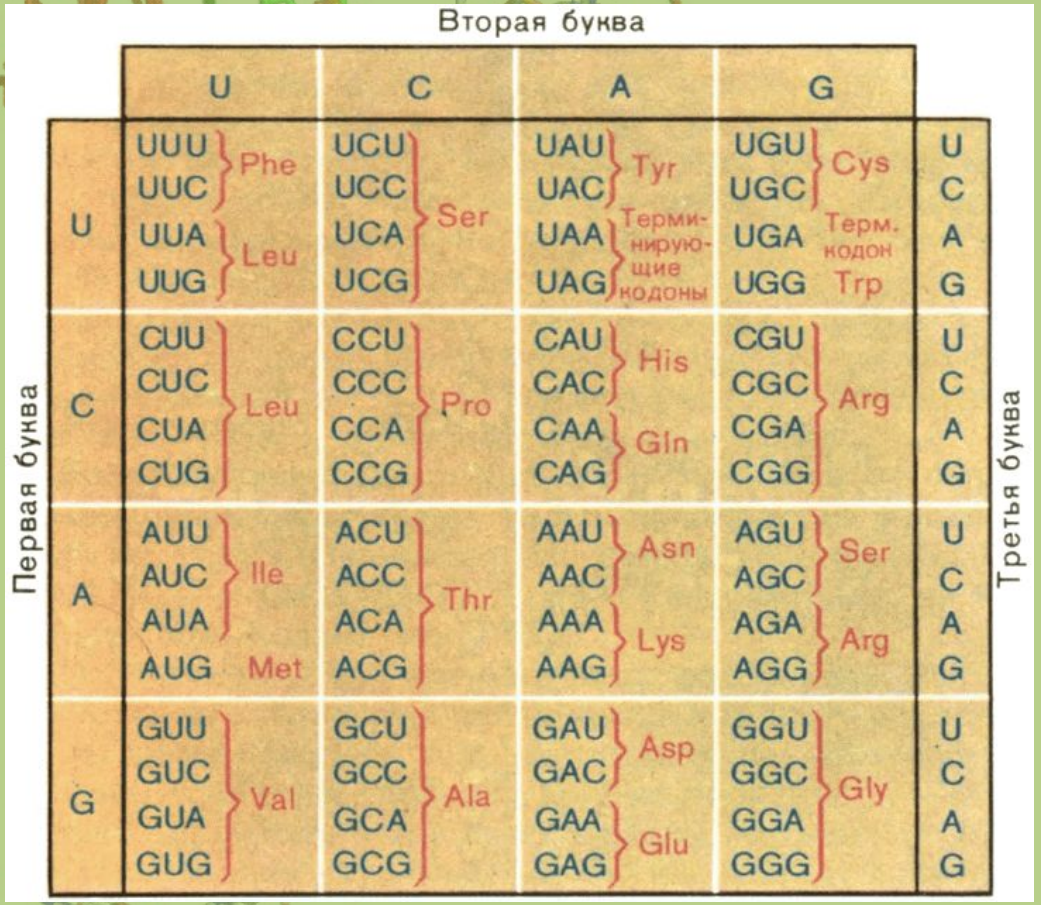
UACGUACGUACGUACG

Определяли теоретически ожидаемые пропрции аминокислот при добавлении таких иРНК в бесклеточную систему синтеза белков.

Генетический код

- Кодовый словарь
- AUG старт кодон
- UAA UAG UGA

  стоп кодоны



Первая буква	Вторая буква: U	Вторая буква: C	Вторая буква: A	Вторая буква: G	Третья буква
U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U
	UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	C
	UUA Leu	UCA Ser	UAA Терминирующие кодоны	UGA Терм. кодон	A
	UUG Leu	UCG Ser	UAG Терминирующие кодоны	UGG Trp	G
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U
	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C
	CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	A
	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	G
A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U
	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	C
	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	A
	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	G
G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U
	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	C
	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	A
	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	G

Генетический код

- В 1966 г. Ф.Крик сформулировал гипотезу качания (wobble hypothesis).
- Предположил, что для комплементации с тРНК важны только первых два рибонуклеотида, т.к. водородная связь в третьей позиции пары кодон-антикодон более свободная, чем между первыми двумя.
- Это позволяет антикодону одного типа тРНК спариваться с несколькими триплетами иРНК.
- Т.о. для кодирования аминокислот 61-м триплетом требуется около 30 различных тРНК.
- Экономичность, без ущерба точности трансляции.

Транскрипция

- Синтез РНК на ДНК-матрице называется транскрипцией.
- Транскрипция – начало информационного потока в клетке
- РНК посредник между ДНК и белком, т.к.:

1. ДНК в ядре, но синтез белка в цитоплазме на рибосомах
2. РНК синтезируется в ядре, а затем мигрирует в цитоплазму
3. Общее количество РНК пропорционально количеству белка в клетке.

РНК-полимераза - фермент, участвующий в синтезе РНК на ДНК-матрице.

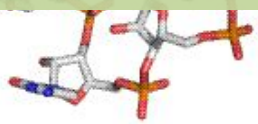
Использует в качестве субстрата рибонуклеозидтрифосфаты (NTP), не нуждается в праймерах.

Катализирует полимеризацию нуклеотидмонофосфатов (NMP) в полинуклеотидную цепь $(NMP)_n$.

$(NMP)_n + NTP = (NMP)_{n+1} + PP_i$

Транскрипция

1. Связывание РНК-полимеразы с матрицей происходит в сайтах – промоторах.
2. Локализованы в 5` области, левее точки начала транскрипции.
3. Консенсусные последовательности: у бактерий: TATAAT и TTGAGA
4. После связываия с промотером РНК-поимераза катализирует инициацию транскрипции (встраивание первого 5`-рибонуклеозидтрифосфата, комплементарного старт-точке в ДНК)
5. Встраивание рибонуклеотидов и формирование полинуклеотидной цепи РНК-элонгация цепи.
6. Формирование временного гетеродуплекса ДНК/РНК
7. Терминация транскрипции



Транскрипция у эукариот

Различия:

1. Участвуют три разные формы РНК-полимеразы, процесс происходит в ядре.
2. Кроме промотеров находятся энхансеры, контролирующие процесс транскрипции.
3. Первычный РНК-транскрипт созревает (процессинг): 5` конец добавляется кэп (шапочка)=7-метилгуанозин, а 3`конец добавляется хвост (поли-А-фрагмент).
4. Сплайсинг-вырезается часть последовательности РНК, остальные части сшиваются.

Транскрипция у эукариот: инициация

3 формы РНК-полимеразы состоят из: 2 больших субъединицы и 10-15 малых.

РНК-полимераза II

Эффективность начала транскрипции определяется тремя цис-активирующими элементами эукариотического гена:

1. ТАТА-бокс= блок Голдберга-Хогнесса
2. С ААТ-бокс (GGCCAATCT)
3. Энхансеры-регулируют транскрипцию, локализуются на 5`, 3` концах и внутри гена.

Транскрипция эукариот: процессинг

- Шаг 1: первичная посттранскрипционная модификация: присоединение к 5`- концу молекулы 7-метилгуанозина (кэп)
- Шаг 2: формирование на 3`-конец РНК поли-А-последовательности (хвост)
- Шаг 3: удаление интронов-инвертных последовательностей

Экзоны-последовательности, которые транскрибируются в зрелые РНК и с которых транслируются полипептиды.

Транскрипция у эукариот: сплайсинг

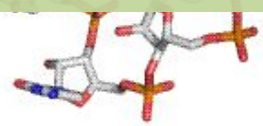
- В зависимости от специфичности механихма сплайсинга, интроны подразделяются на группы:

1. Интроны, которые сами обладают ферментативной активностью для вырезания
2. Интроны, которые сами не способны вырезаться.
3. Вырезаются с помощью сплайсосом.

Сплайсосома-комплекс из специфичных белков, акцептируемых концевыми последовательностями длинных интронов.

Основной компонент сплайсосом-мяРНП

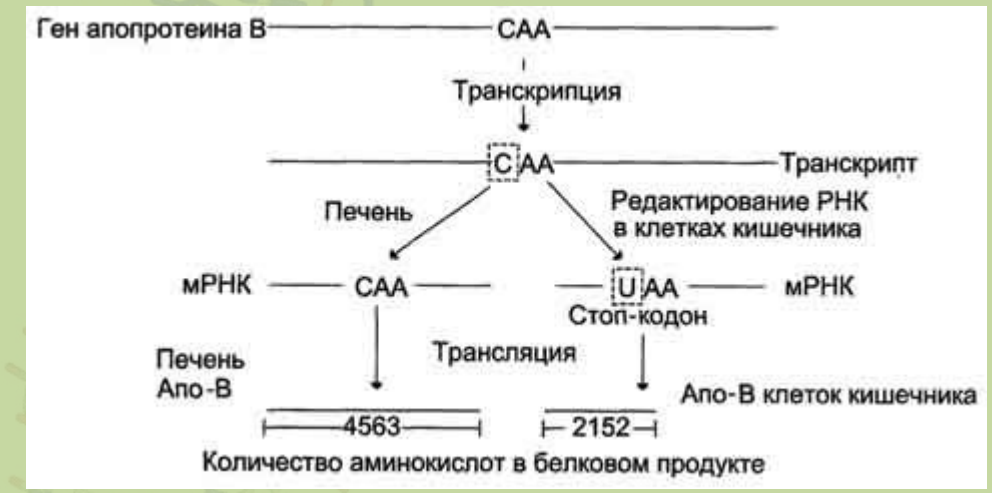
Существует также альтернативный сплайсинг.



Транскрипция у эукариот: эдитинг

- Эдитинг-редактирование РНК
- В процессе эдитинга последовательность зрелой РНК отличается от последовательности, кодируемой экзонами ДНК.
- 2 типа эдитинга:

1. Замещающий
2. Инсерционно-делеционный

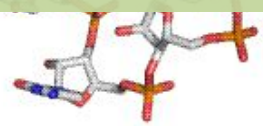


Трансляция

- Трансляция мРНК- биополимеризация аминокислот в полипептидную цепь.

Структура тРНК: Роберт Холли в 1965 г. Расшифровал последовательность $тРНК^{ala}$

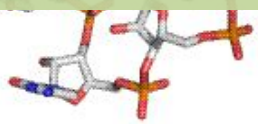
- Двумерная модель тРНК в виде клеверного листа, трехмерная структура: на одном конце антикодоновая петля и антикодоновый стебель, а на другом-3`-акцепторный участоксвязывания аминокислоты.
- Необходим фермент: аминоацил-тРНК-синтетаза.
- 1 этап: превращение аминокислоты в аминоациладениловую кислоту.
- 2 этап: молекула аминокислоты переносится на тРНК и связывается с адениновым остатком на 3~-конце тРНК.



Трансляция

Стадии:

1. Инициация трансляции: образование комплекса+ инициирующий кодон: AUG+ последовательность Шайна-Дельгарно
2. Образованный комплекс инициации ассоциирует с большой субъединицей, а факторы инициации высвобождаются из комплекса
3. Элонгация: Р-сайт(пептидильный), А-сайт(аминоацильный).
4. Пептидилтрансфераза катализирует образование связи между аминокислотами
5. Е-сайт (выход)
6. Комплекс: мРНК-тРНК-аминокислота 2- аминокислота 1 проходит на 1 шаг в направлении Р-сайта (шаг равен 3 нуклеотидам).
7. После 1 сдвига в Р-сайте находится тРНК с растущей полипептидной цепью, а в А-сайте –тРНК с аминокислотой.
8. Терминация



Трансляция

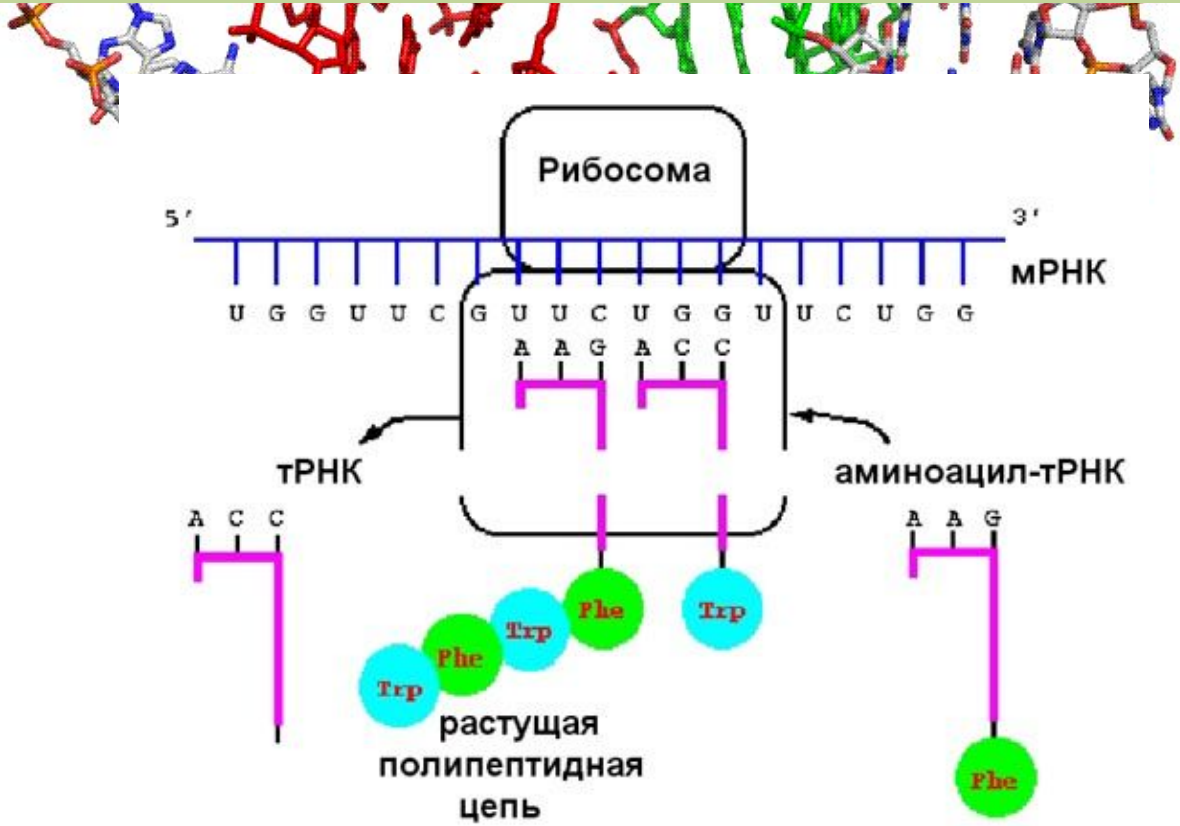
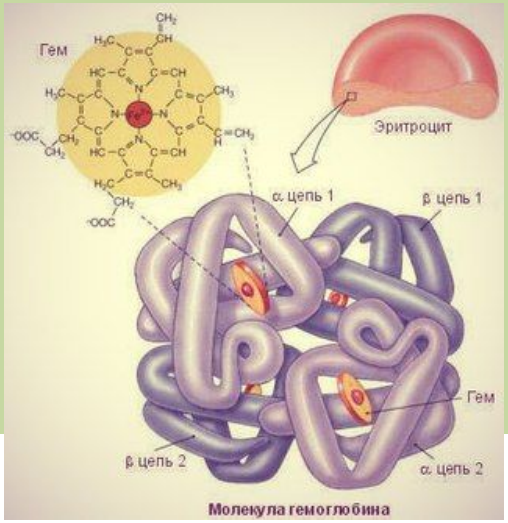
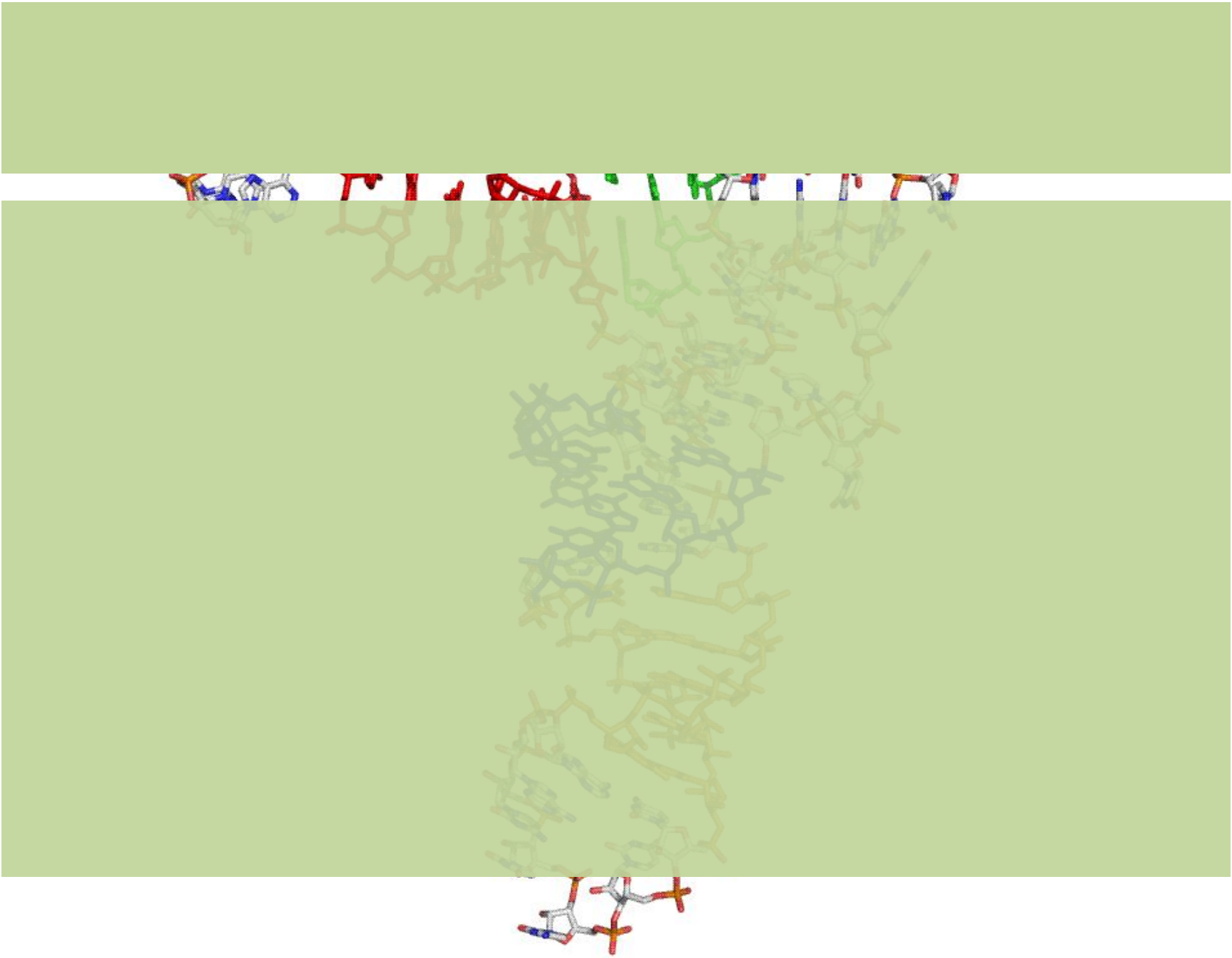


СХЕМА БИОСИНТЕЗА БЕЛКА

Трансляция у эукариот

Особенности инициации:

1. Наличие кэпа на 5`-конце увеличивает эффективность трансляции
2. Кодон AUG в эукариотической мРНК граничит с последовательностью Козак- 5`-ACCAUGG
3. Не требуется формилметионин
4. Рибосомы ассоциированы с мембраной, наличие ЭР увеличивает скорость транспортировки белков после синтеза

Посттрансляционная модификация белков

1. Модификация N и C концов аминокислот
2. Модификация отдельных аминокислотных остатков
3. Присоединение боковых цепей углеводородов-образование гликопротеинов
4. Укорочение полипептидных цепей
5. Удаление сигнальных молекул
6. Связывание полипептидных цепей с металлами