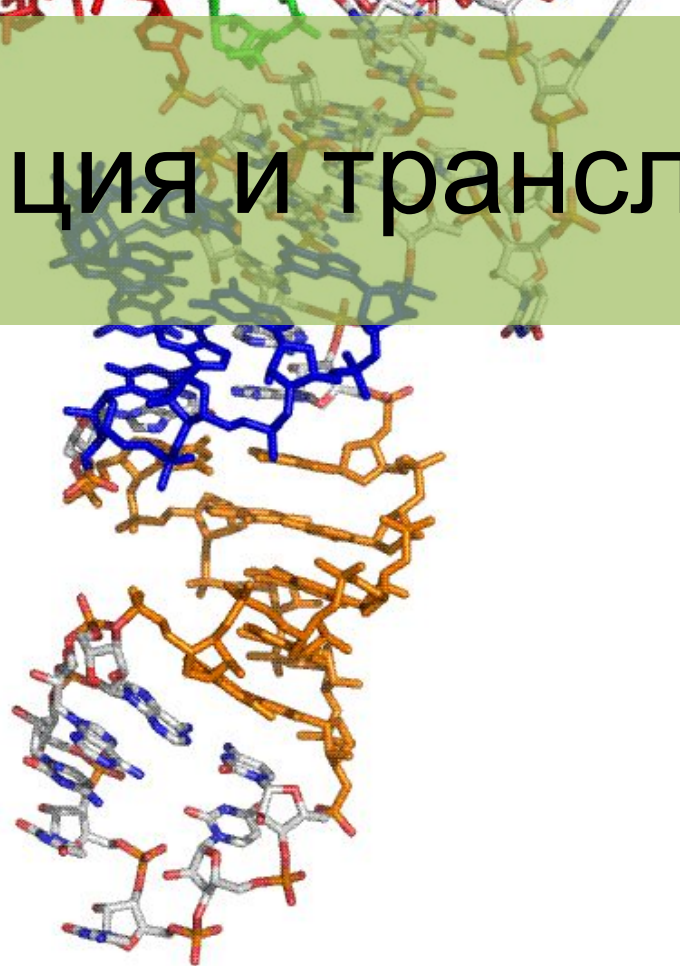


Транскрипция и трансляция



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-кодона.
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: ААААА..., 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, %
3А	$(1/6)^3 = 0,4\%$	AAA	0,4
1С:2А	$(1/6)^2 (5/6) = 2,3\%$	AAC ACA CAA	$3 * 2,3 = 6,9$
2С:1А	$(1/6)(5/6)^2 = 11,6\%$	ACC CAC CCA	$3 * 11,6 = 34,8$
3С	$(5/6)^3 = 57,9\%$	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 меченой 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 тетра-нуклеотидные повторы:
UGUGUGUG
UUGUUGUUGUUG
UACGUACGUACGUACG
Определяли теоретически ожидаемые пропорции аминокислот при добавлении таких иРНК в бесклеточную систему синтеза белков.

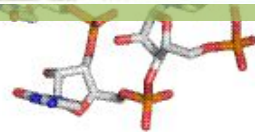
Генетический код

- Кодовый словарь
- AUG старт кодон
- UAA UAG UGA
СТОП КОДОНЫ

Вторая буква

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

Третья буква



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

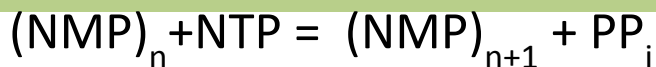


- Синтез РНК на ДНК-матрице называется транскрипцией.
 - Транскрипция – начало информационного потока в клетке
 - РНК посредник между ДНК и белком, т.к.:
1. ДНК в ядре, но синтез белка в цитоплазме на рибосомах
 2. РНК синтезируется в ядре, а затем мигрирует в цитоплазму
 3. Общее количество РНК пропорционально 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 $(NMP)_n$.



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: ТАТААТ и ТТGAGA
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 промоторов находятся энхансеры, контролирующие процесс транскрипции.
3. Первичный 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 механизма 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.

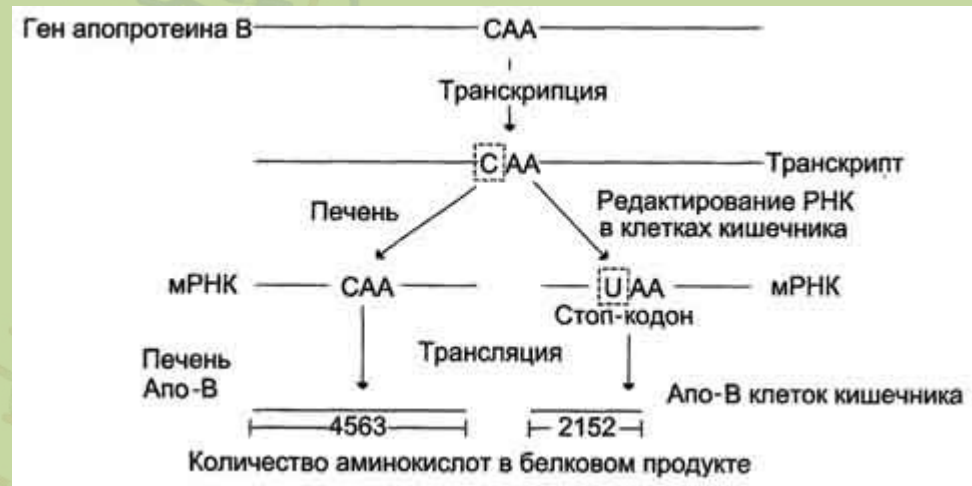
Сплайсосома-комплекс из специфичных белков, акцептируемых концевыми последовательностями длинных интронов.

Основной компонент сплайсосом-мРНК

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

Трансляция

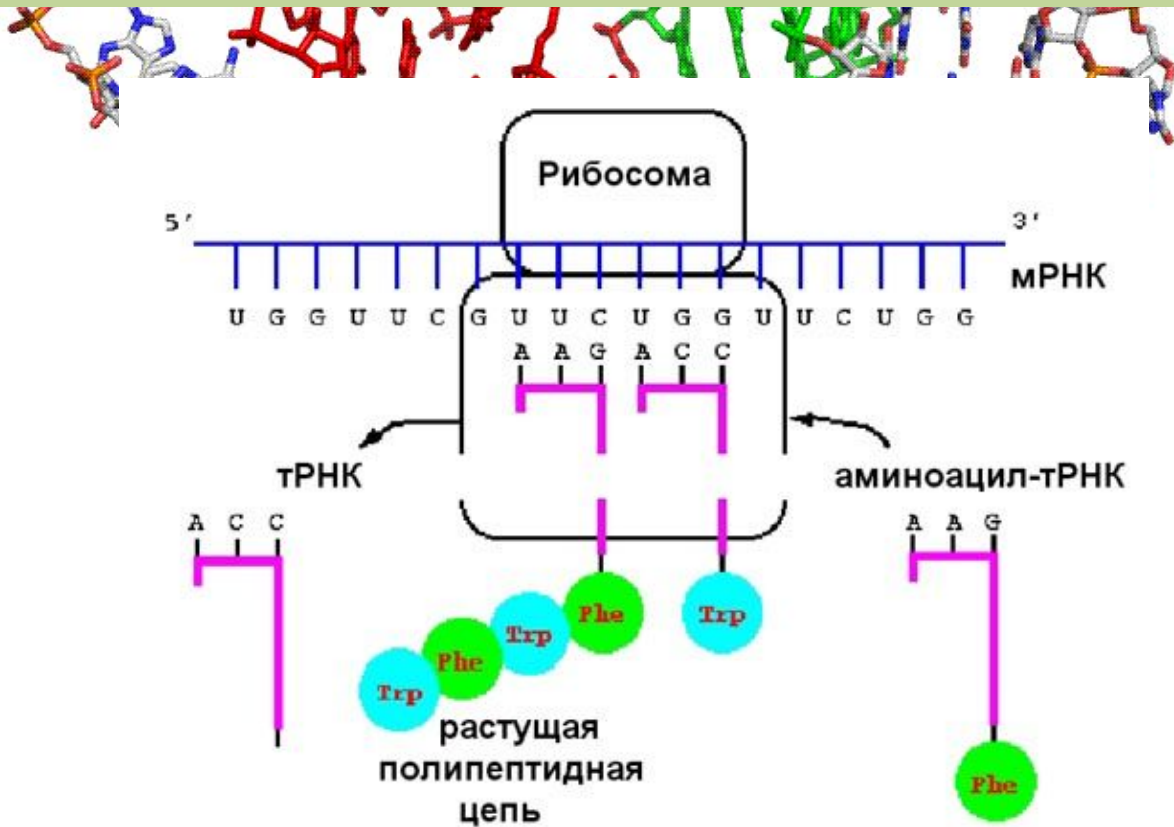
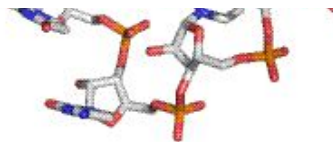


СХЕМА БИОСИНТЕЗА БЕЛКА



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`-АССАУGG
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 углеводов-образование гликопротеинов
4. Укорочение полипептидных цепей
5. Удаление сигнальных молекул
6. Связывание полипептидных цепей с металлами

