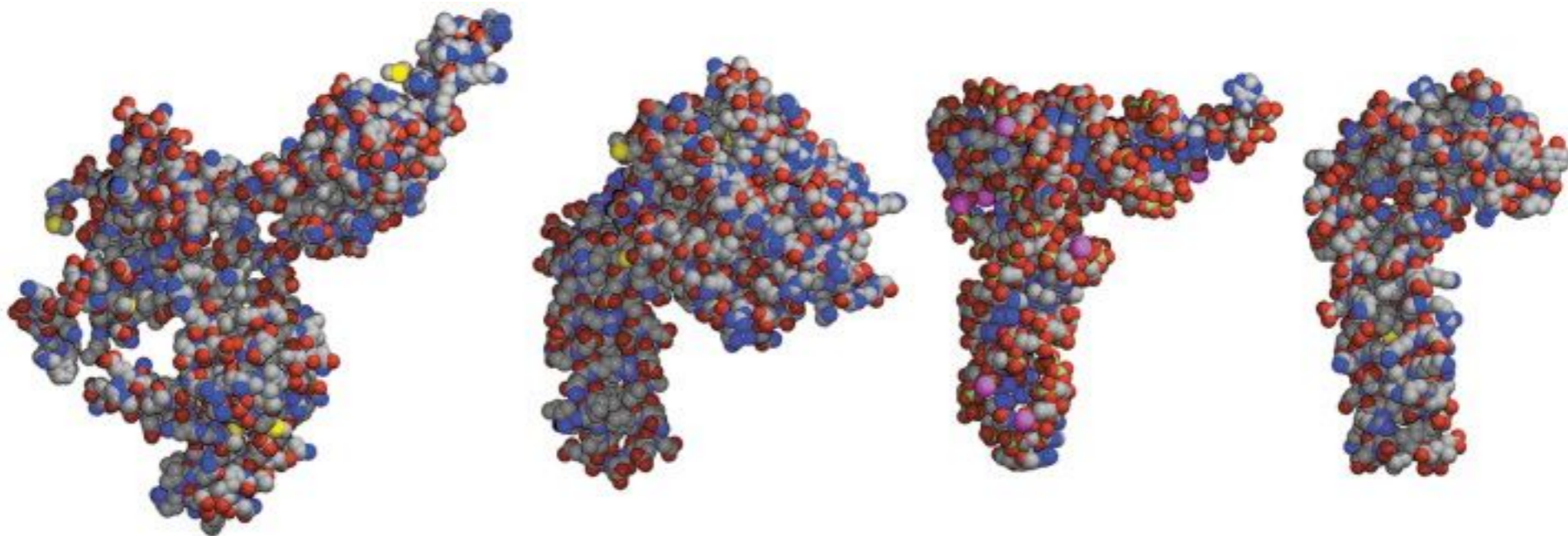


# Трансляция

Биосинтез белка



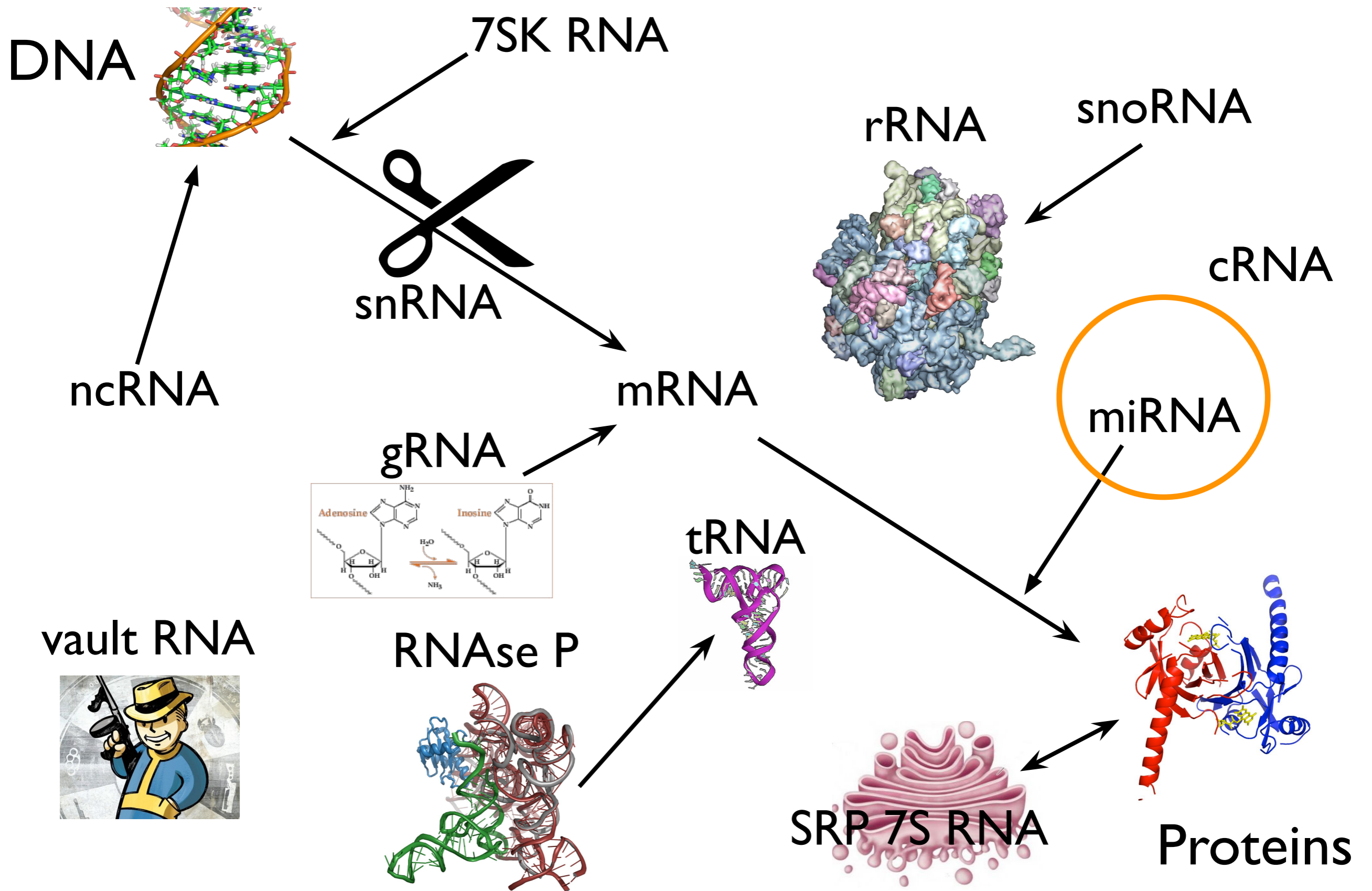
# Часть I

Структура РНК

тРНК

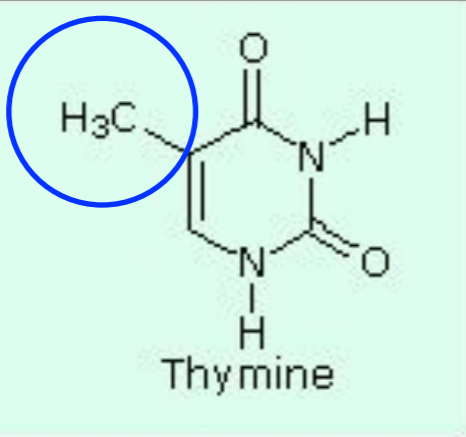
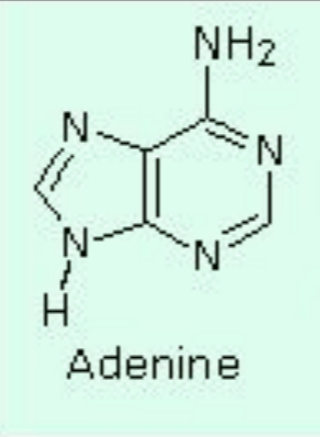
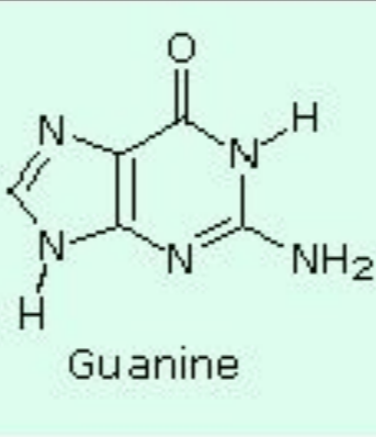
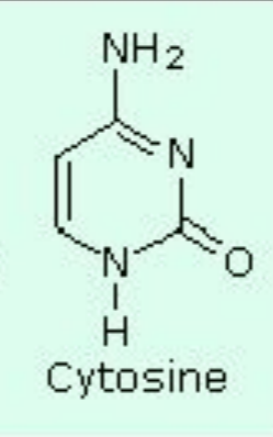

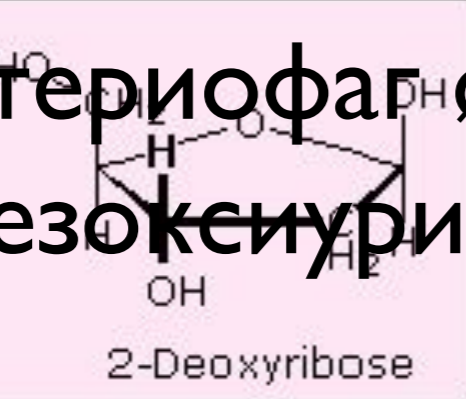
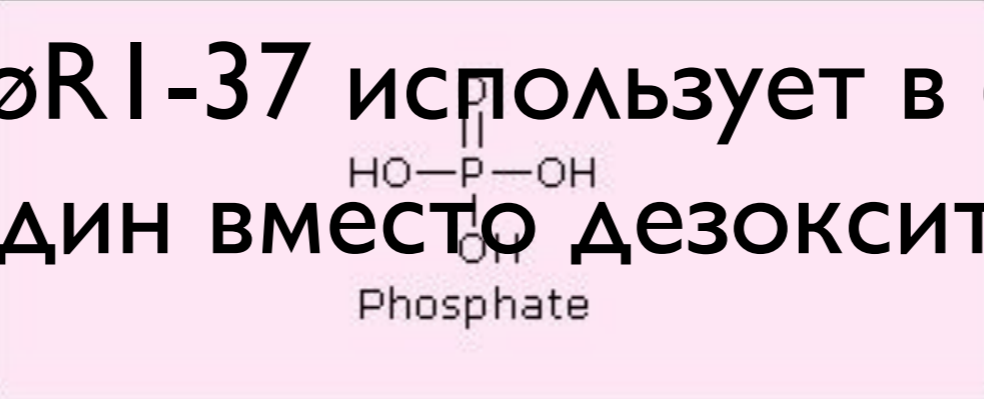
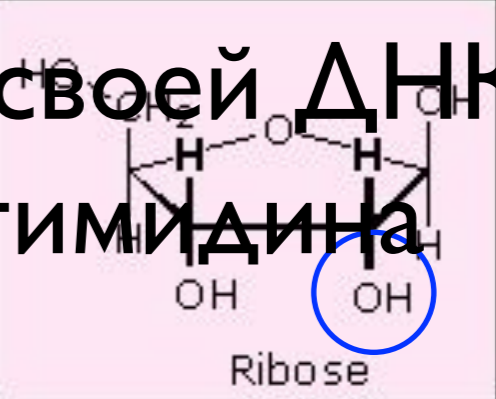
Рибосома

# РНК в клетке



# RNA vs DNA

## Components of Nucleic Acids

	DNA only	DNA & RNA		RNA only	
Nitrogen Bases	 <p>Thymine</p>	 <p>Adenine</p>	 <p>Guanine</p>	 <p>Cytosine</p>	 <p>Uracil</p>
Sugars & Phosphate	 <p>2-Deoxyribose</p>	 <p>Phosphate</p>	 <p>Ribose</p>		

Бактериофаг φRI-37 использует в своей ДНК дезоксиуридин вместо дезокситимидина

# Вторичная и третичная структура РНК

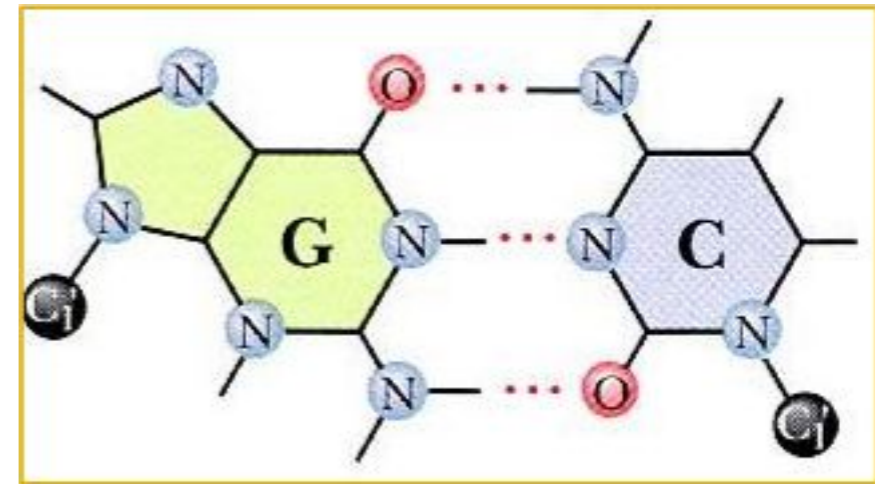
- Вторичная структура - совокупность комплементарных взаимодействий
- Третичная структура - 3D-атомарная структура

# Вторичная структура РНК

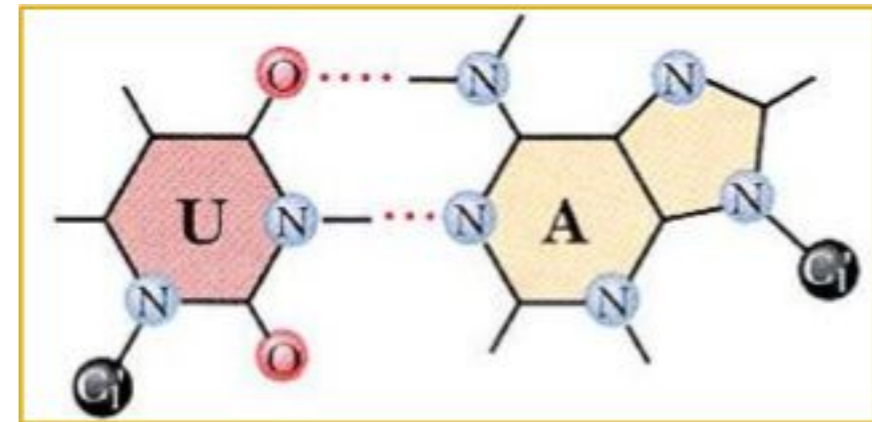
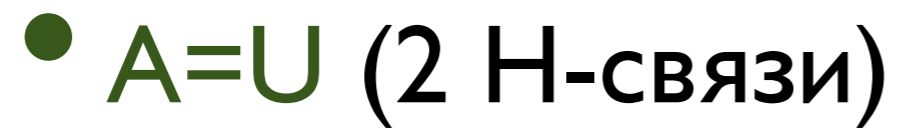
- $G \equiv C$  (3 Н-связи)

- $A = U$

- $G = U$

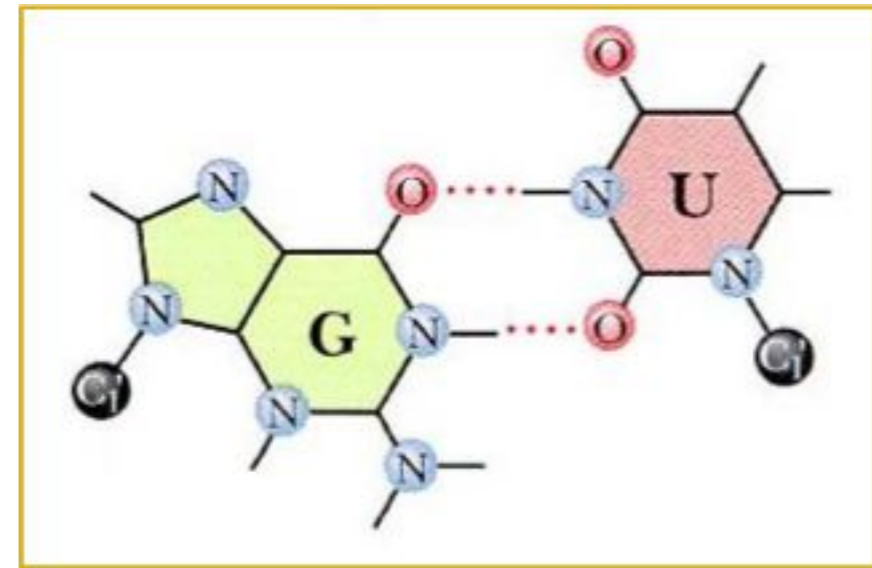


# Вторичная структура РНК



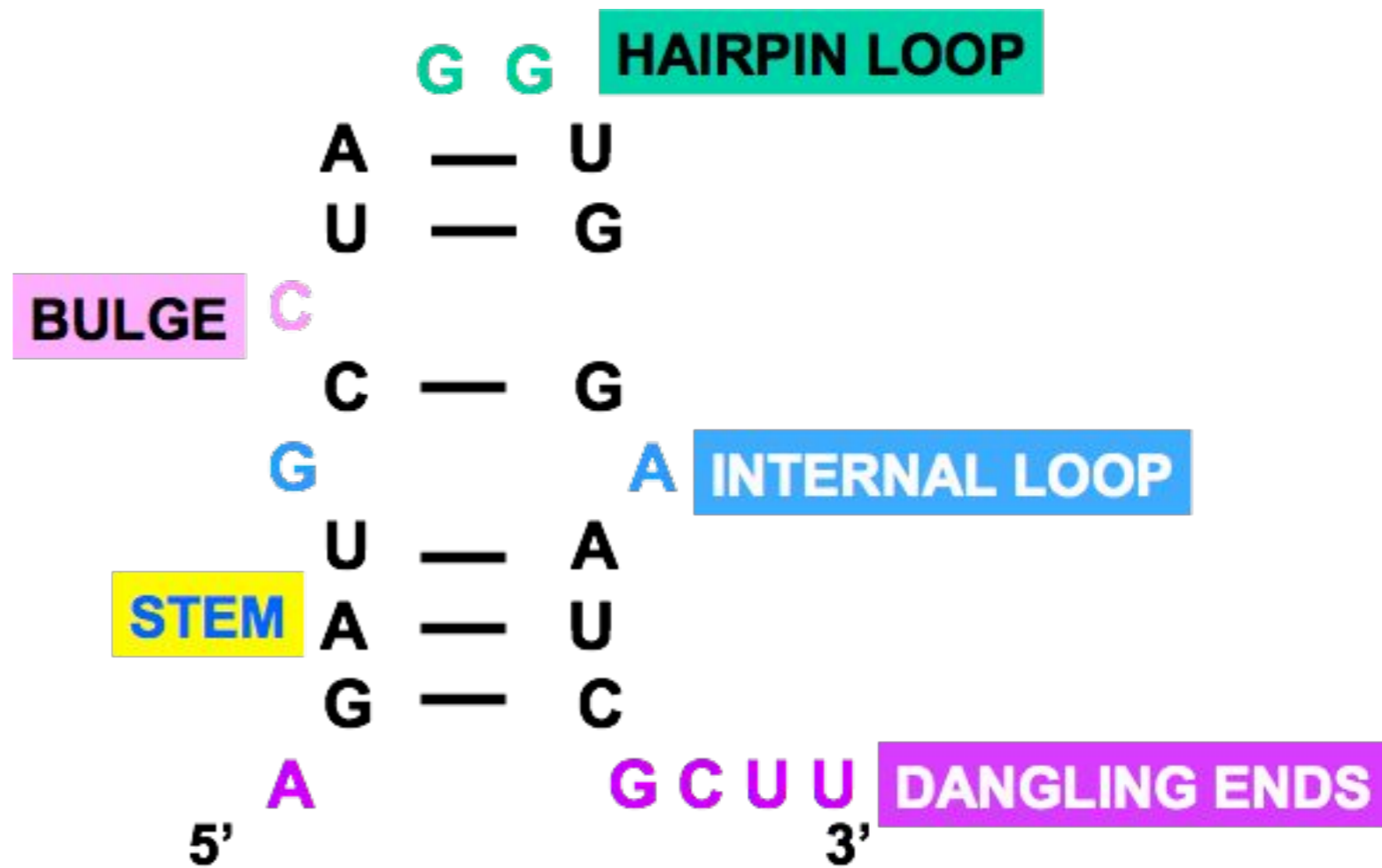
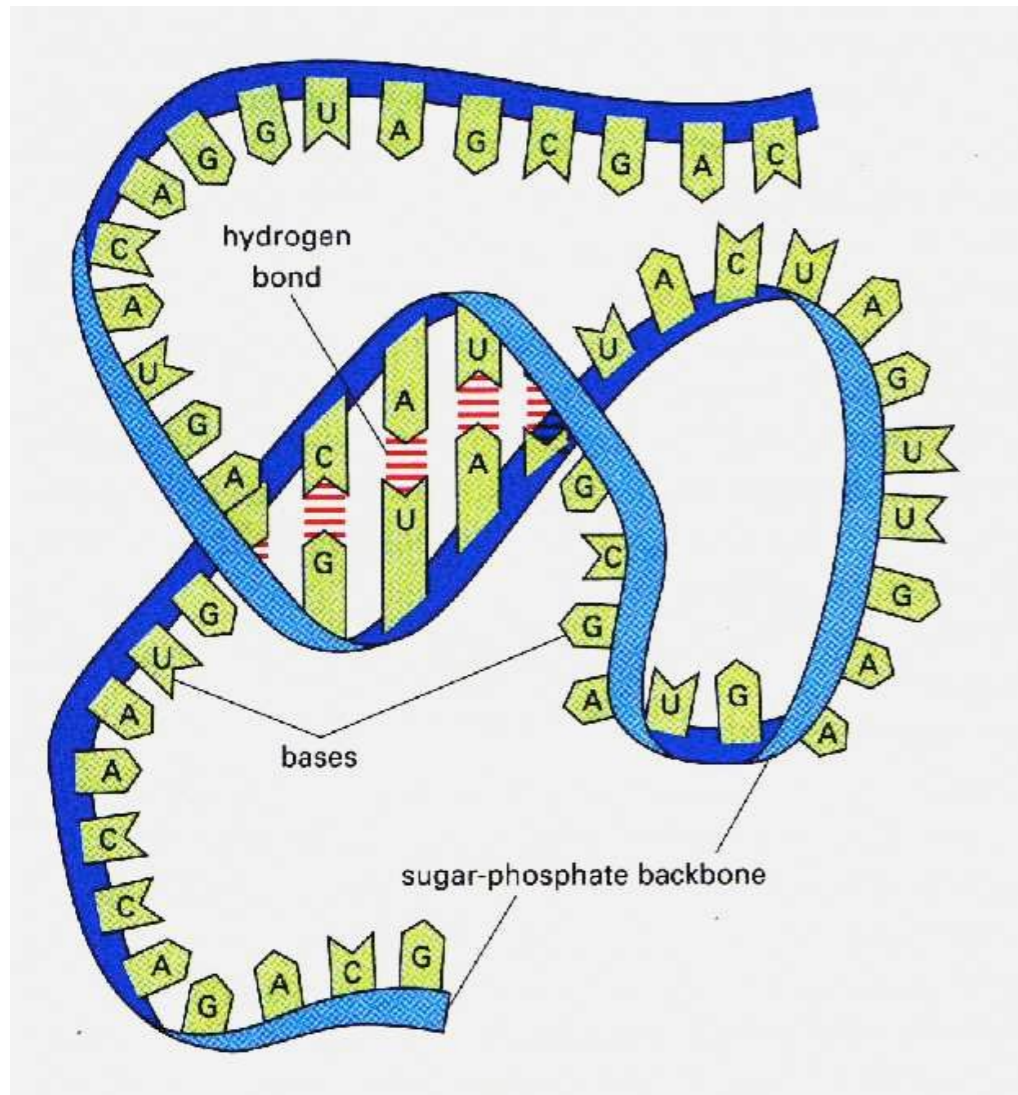
# Вторичная структура РНК

- $G \equiv C$
- $A = U$
- $G = U$  (2 H-связи)





# Вторичная структура РНК



<http://www.eternagame.org/web/>



## Welcome to Eterna!

You play by designing RNAs,  
tiny molecules at the heart of every cell.



### Latest news

[Dev chat scheduled on 6pm EST, Apr. 3rd. \[Chat log added\]](#)

03 Apr 2013

[Cloud lab barcode bug fixed - now you can reuse round 1 barcodes in round 2.](#)

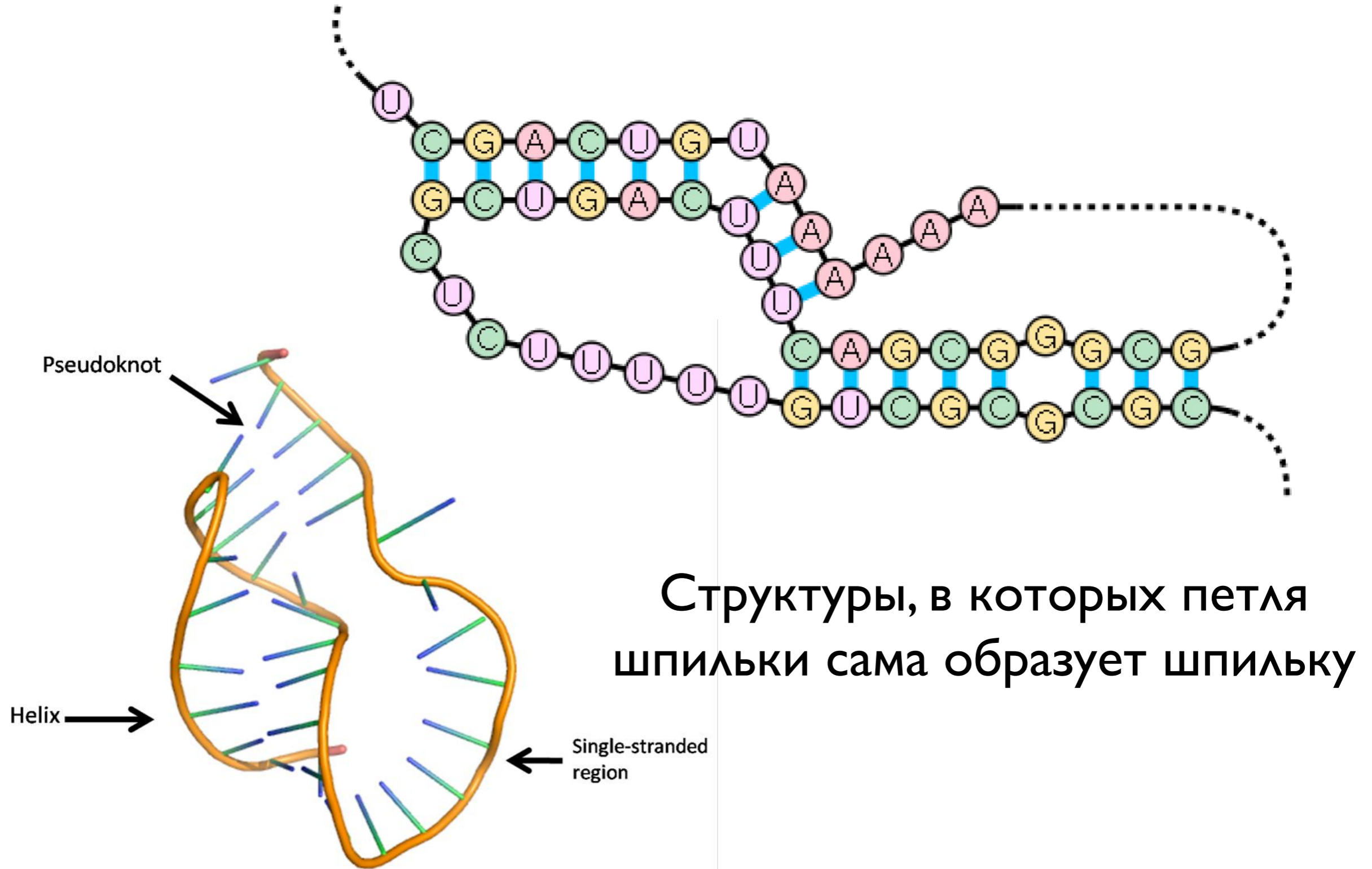
26 Mar 2013

[Full results of previous 20 cloud labs published and rewards distributed](#)

22 Mar 2013

Play Now! ▶

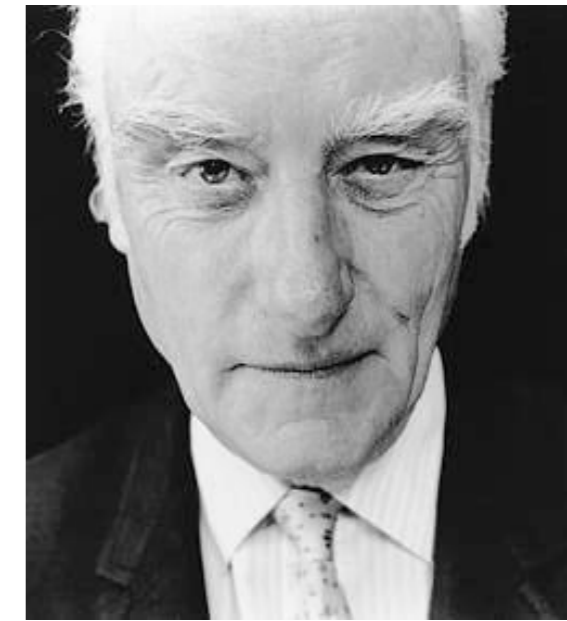
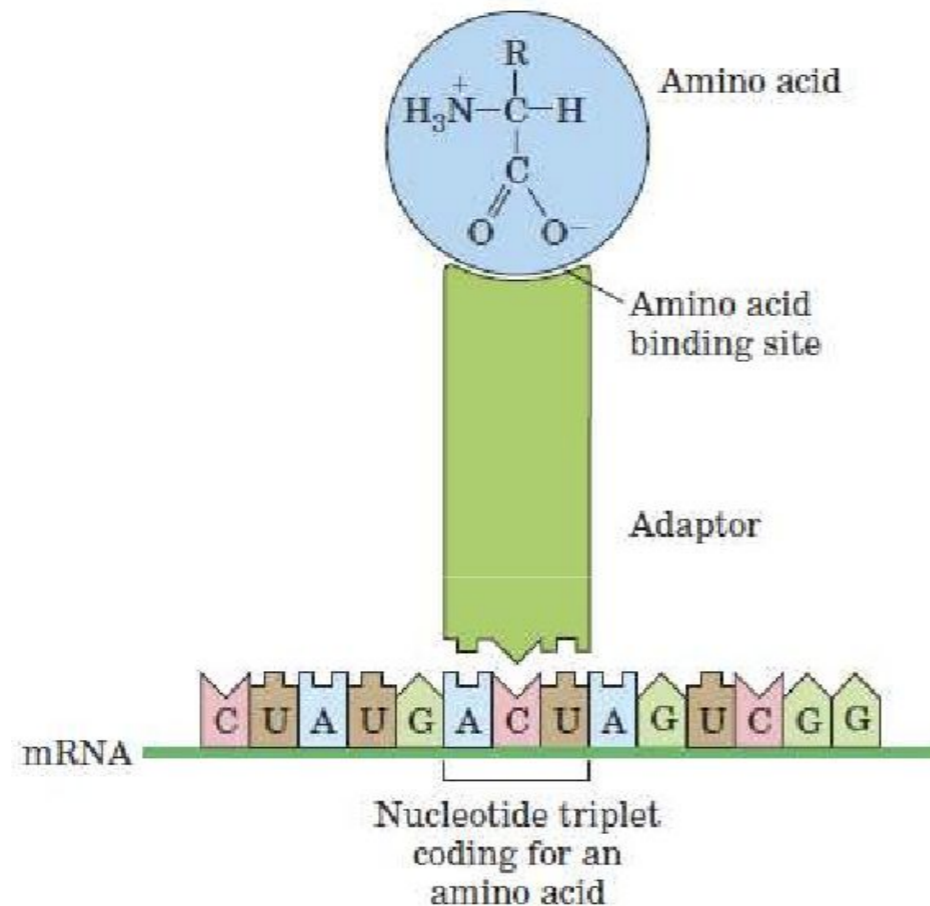
# Pseudoknots - псевдоузлы



# Вопрос:

- Что будет, если длина шпилек в псевдоузле будет, скажем, 12 нуклеотидов?

# Адапторная гипотеза (1955)



Francis Crick  
(1916-2004)

- Между мРНК и белками существует *адаптор*, ставящий в соответствие генетическую информацию и аминокислоты

# Трехбуквенный код (1953)

- 20 аминокислот
- 4 нуклеотида
- 1-битный код: 4 варианта
- 2-битный код: 16 вариантов
- 3-битный код: 64 варианта больше чем 20!



Георгий Гамов  
(1904-1968)

# Универсальный генетический код

		Second Position						
		U	C	A	G			
U	UUU	Phe / F	UCU UCC UCA UCG Ser / S	UAU	Tyr / Y	UGU UGC UGA UGG Cys / C  Trp / W		
	UUC			UAC				
	UUA	Leu / L		UAA	STOP		UGA	STOP
	UUG			UAG	STOP			
C	CUU	Leu / L	CCU CCC CCA CCG Pro / P	CAU	His / H	CGU CGC CGA CGG Arg / R		
	CUC				CAC			
	CUA				CAA		Gln / Q	
	CUG				CAG			
A	AUU	Ile / I	ACU ACC ACA ACG Thr / T	AAU	Asn / N	AGU AGC AGA AGG Ser / S  Arg / R		
	AUC				AAC			
	AUA				AAA		Lys / K	
	AUG			Met / M	AAG			
G	GUU	Val / V	GCU GCC GCA GCG Ala / A	GAU	Asp / D	GGU GGC GGA GGG Gly / G		
	GUC				GAC			
	GUA				GAA		Glu / E	
	GUG				GAG			

61 смысловой триплет. Но у человека только 38 разных тРНК. Как такое может быть?!

# Отклонения от генетического кода

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

**Table 18.1 Deviations from the “Universal” Genetic Code**

Source	Codon	Usual Meaning	New Meaning
Fruit fly mitochondria	UGA	Stop	Tryptophan
	AGA & AGG	Arginine	Serine
	AUA	Isoleucine	Methionine
Mammalian mitochondria	AGA & AGG	Arginine	Stop
	AUA	Isoleucine	Methionine
	UGA	Stop	Tryptophan
Yeast mitochondria	CUN*	Leucine	Threonine
	AUA	Isoleucine	Methionine
	UGA	Stop	Tryptophan
Higher plant mitochondria	UGA	Stop	Tryptophan
	CGG	Arginine	Tryptophan
<i>Candida albicans</i> nuclei	CTG	Leucine	Serine
Protozoa nuclei	UAA & UAG	Stop	Glutamine
<i>Mycoplasma</i>	UGA	Stop	Tryptophan

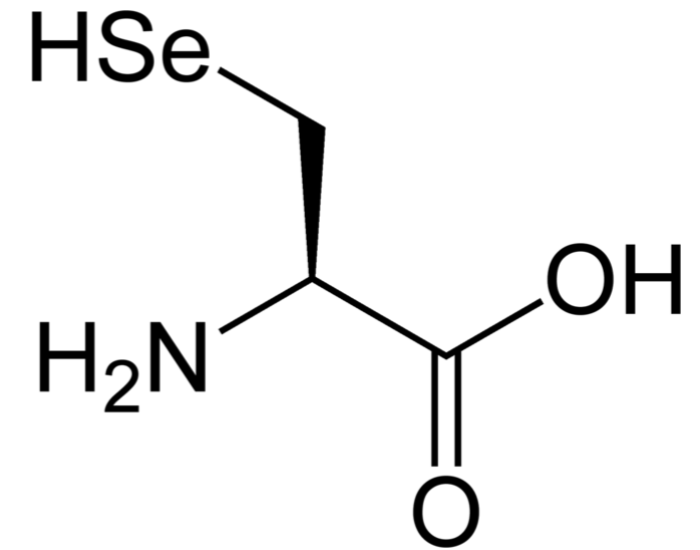
\*N = Any base

- Митохондрии, некоторые бактерии и простейшие

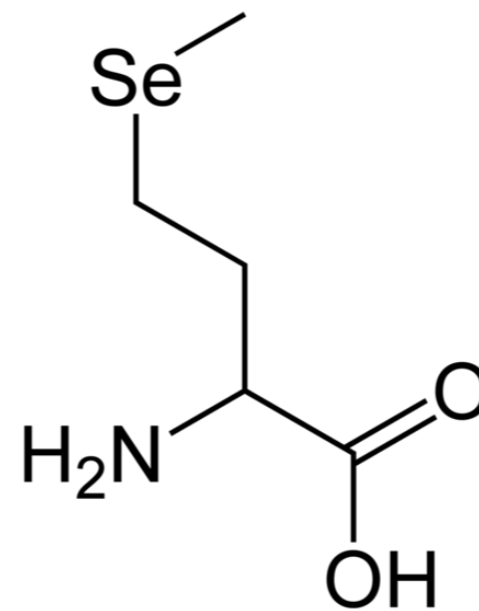


# Неканонические аминокислоты

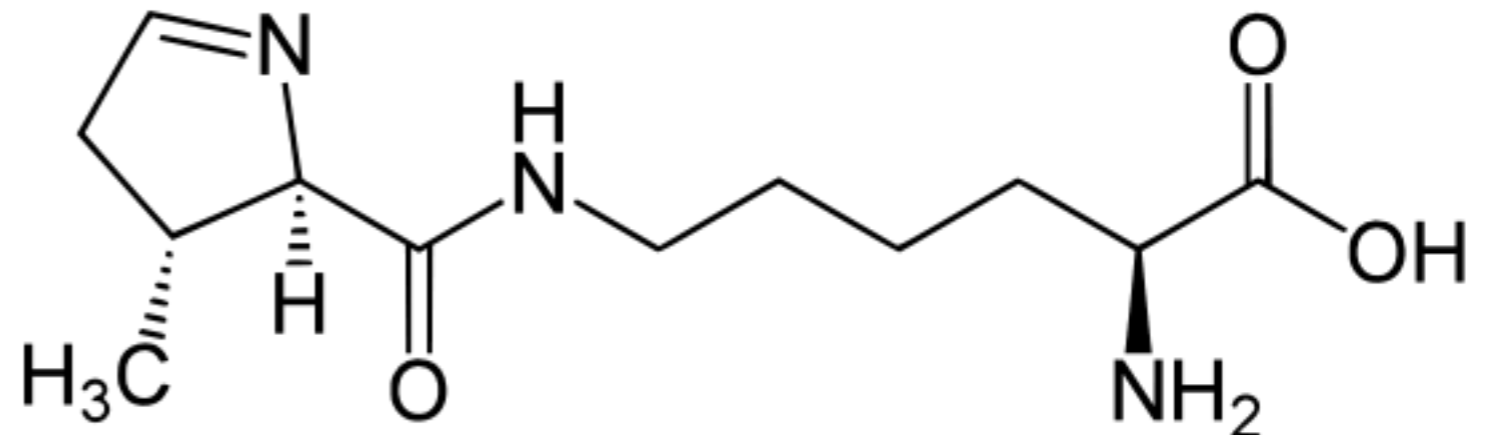
- Селеноцистеин  
(UGA)



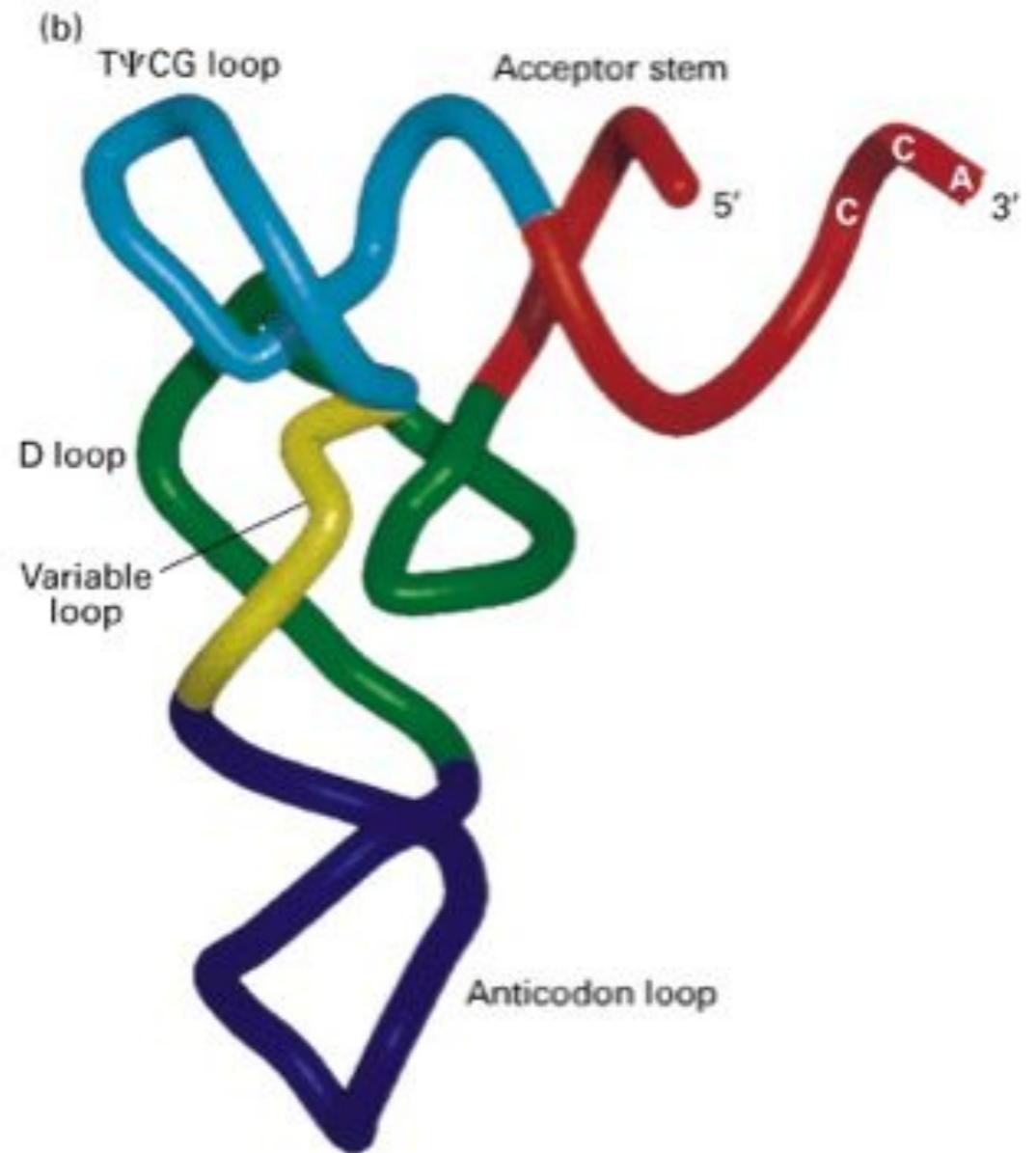
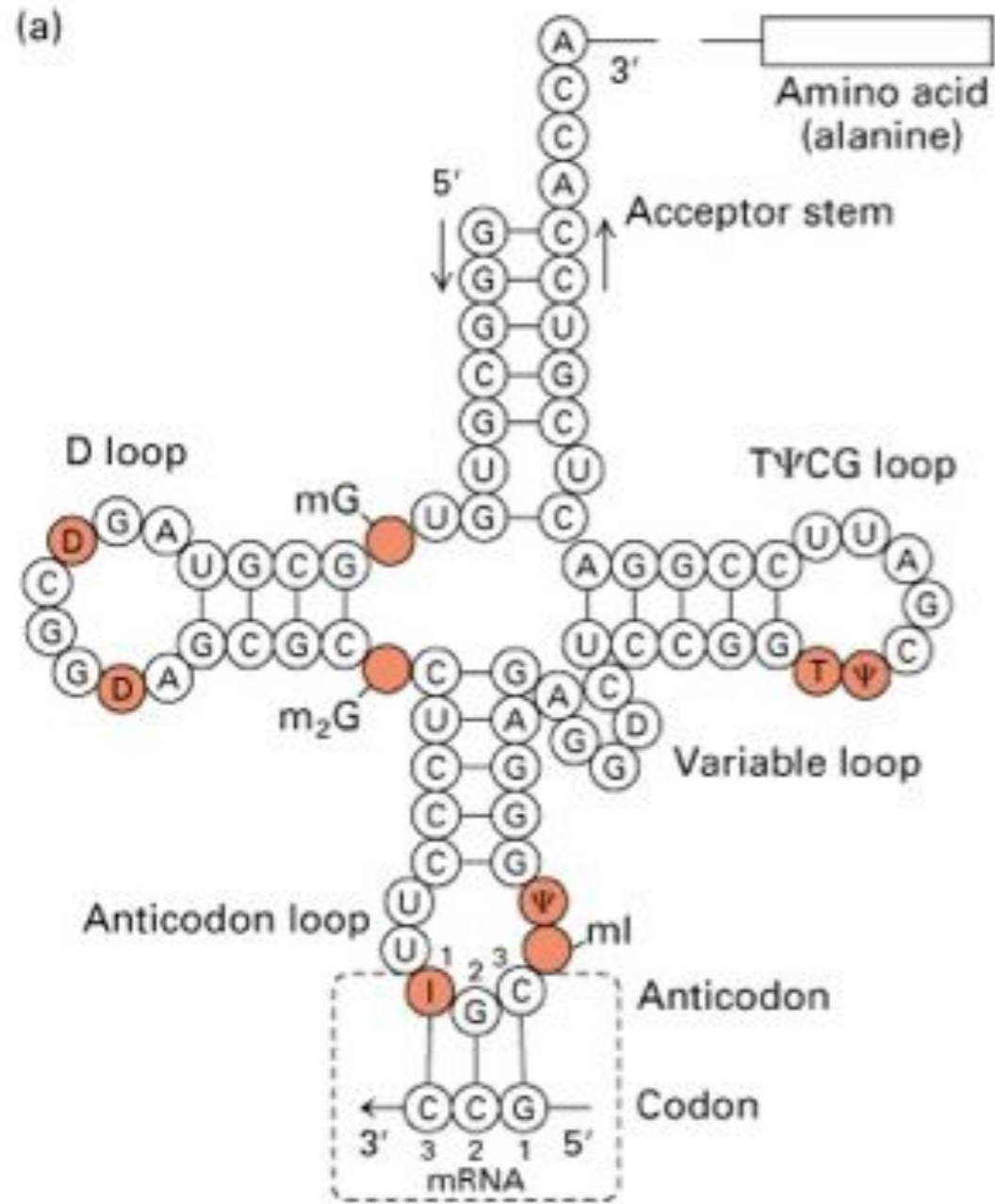
- Селенометионин  
(AUG)



- Пирролизин  
(UGA)

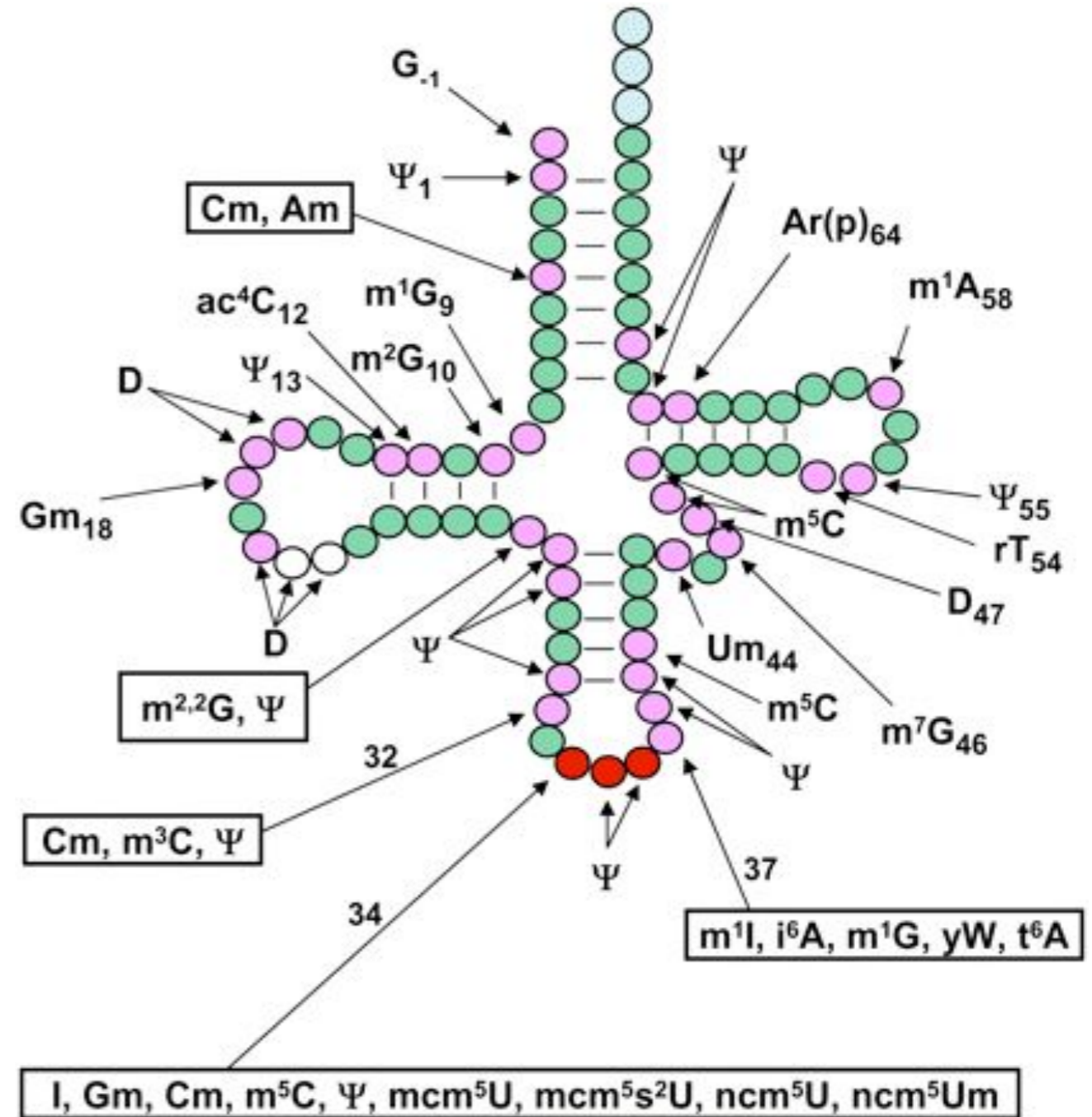


# Пространственная структура тРНК



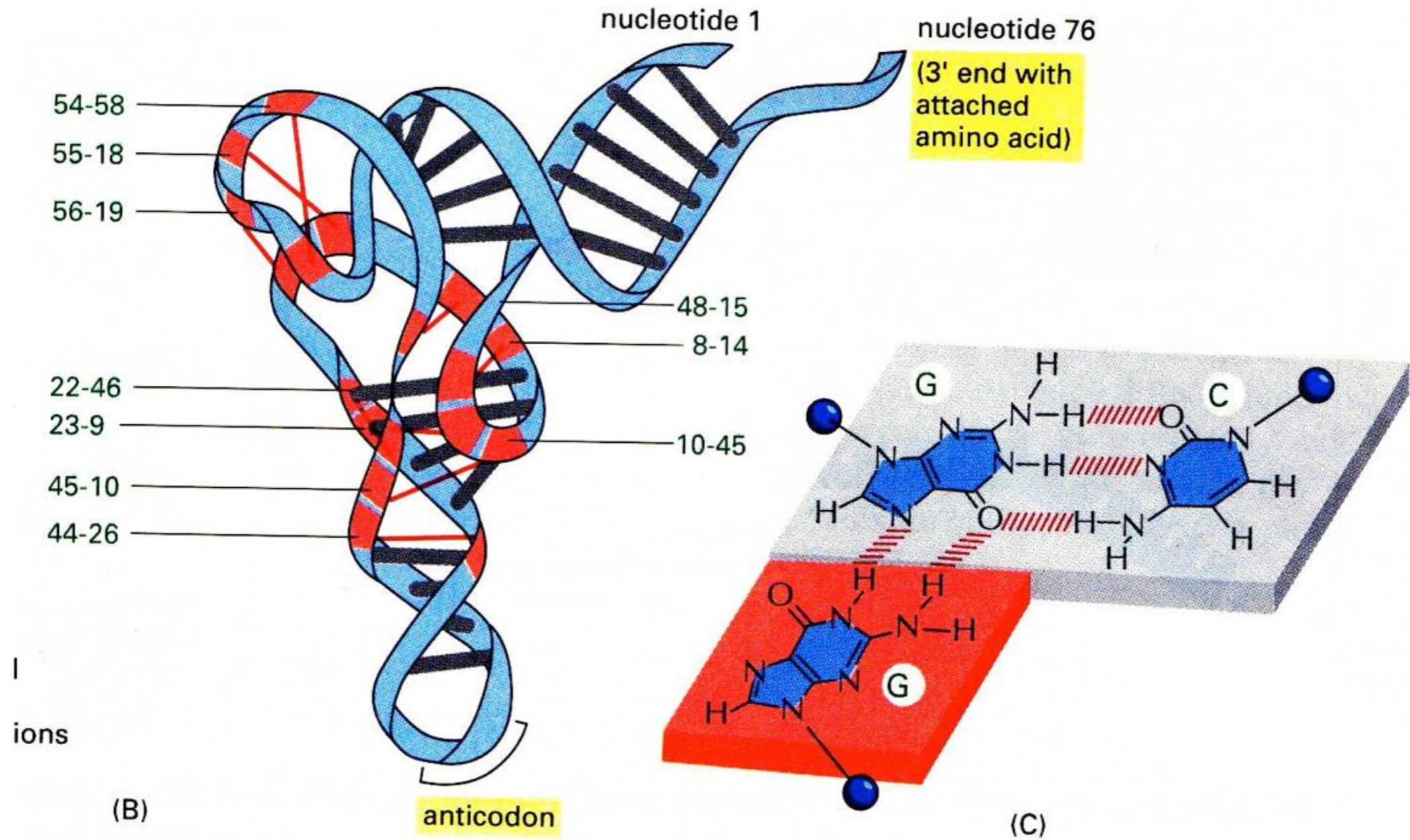
# Модифицированные нуклеотиды в тРНК

- 2'-O-methyl (A, C, U, G)
- $m^7G$ ,  $m^1G$ ,  $m^2G$ ,  $m^{2,2}G$ ,  $m^5C$ ,  $m^3C$
- I,  $\psi$ , W, rT, D
- 4-Ac-A
- ...

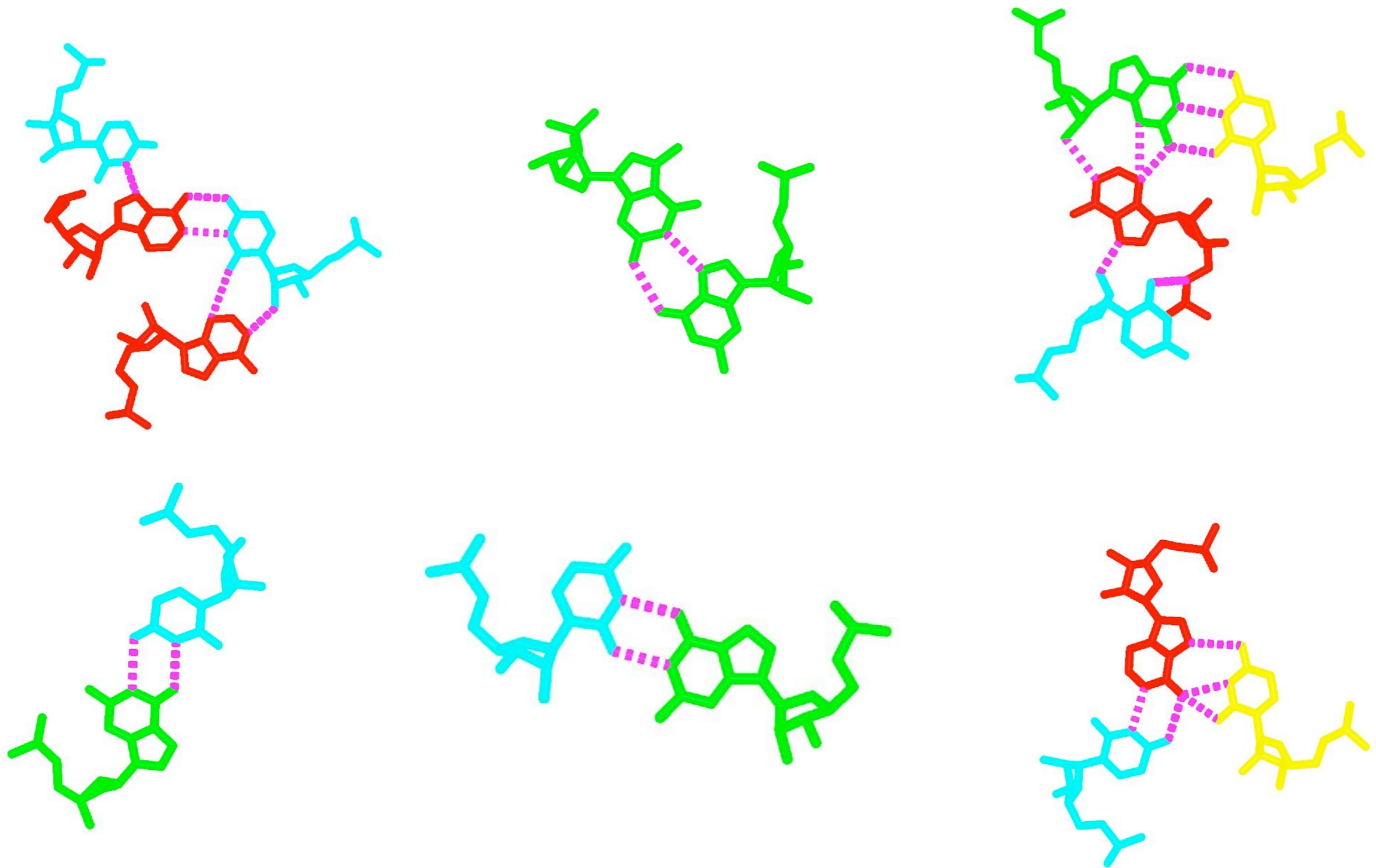


<http://modomics.genesilico.pl/>

# Неканонические структуры в РНК

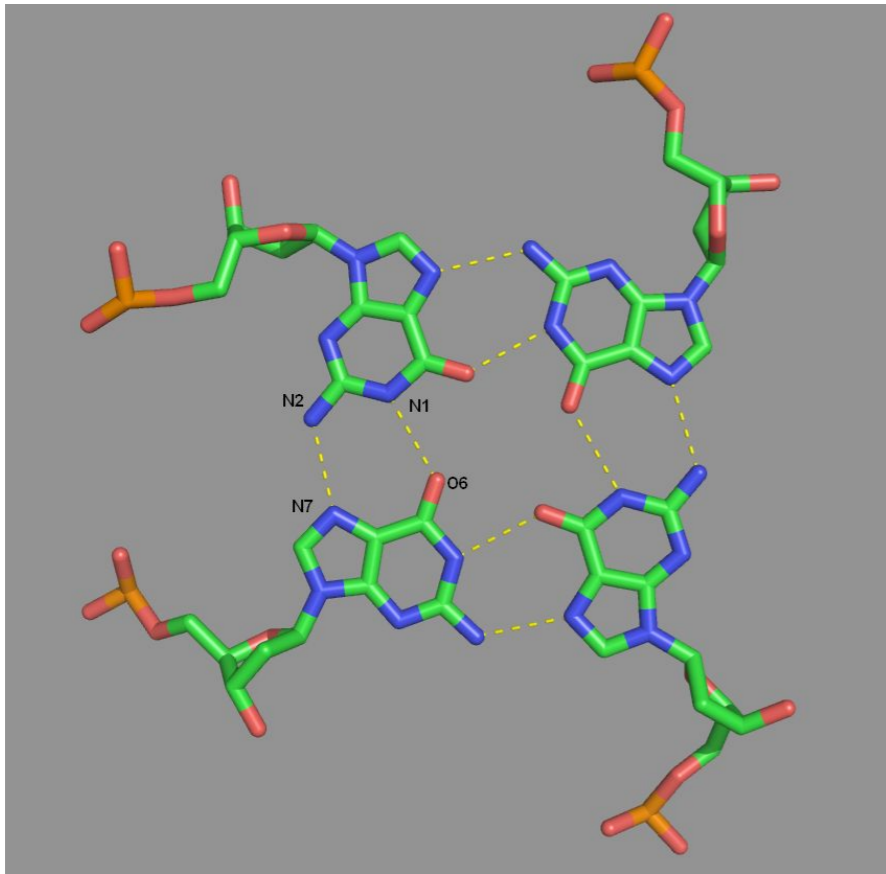


# Неканонические пары в тРНК

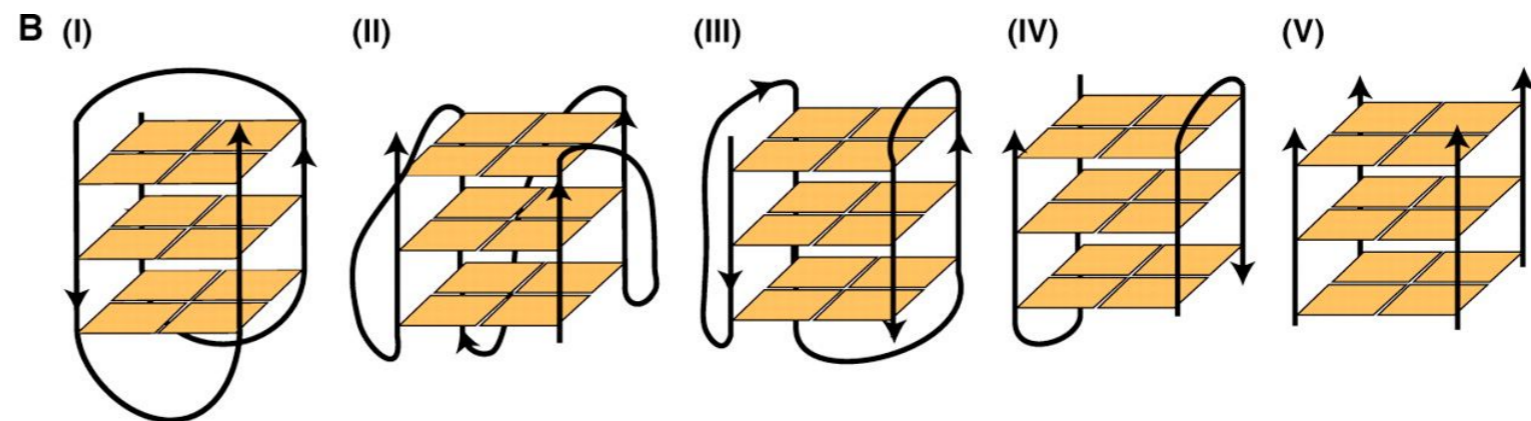
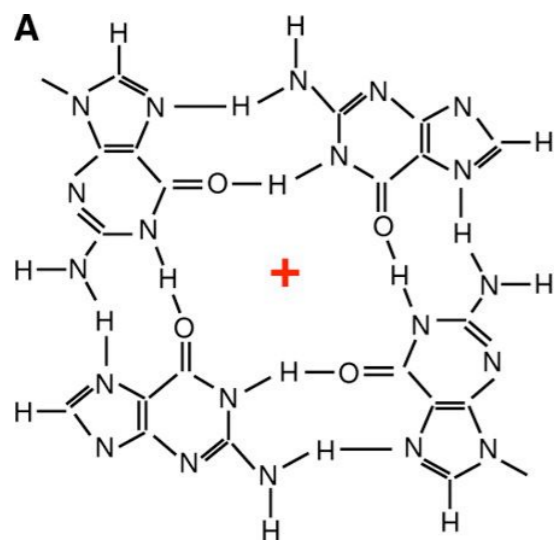


<http://bps.rutgers.edu/bps>

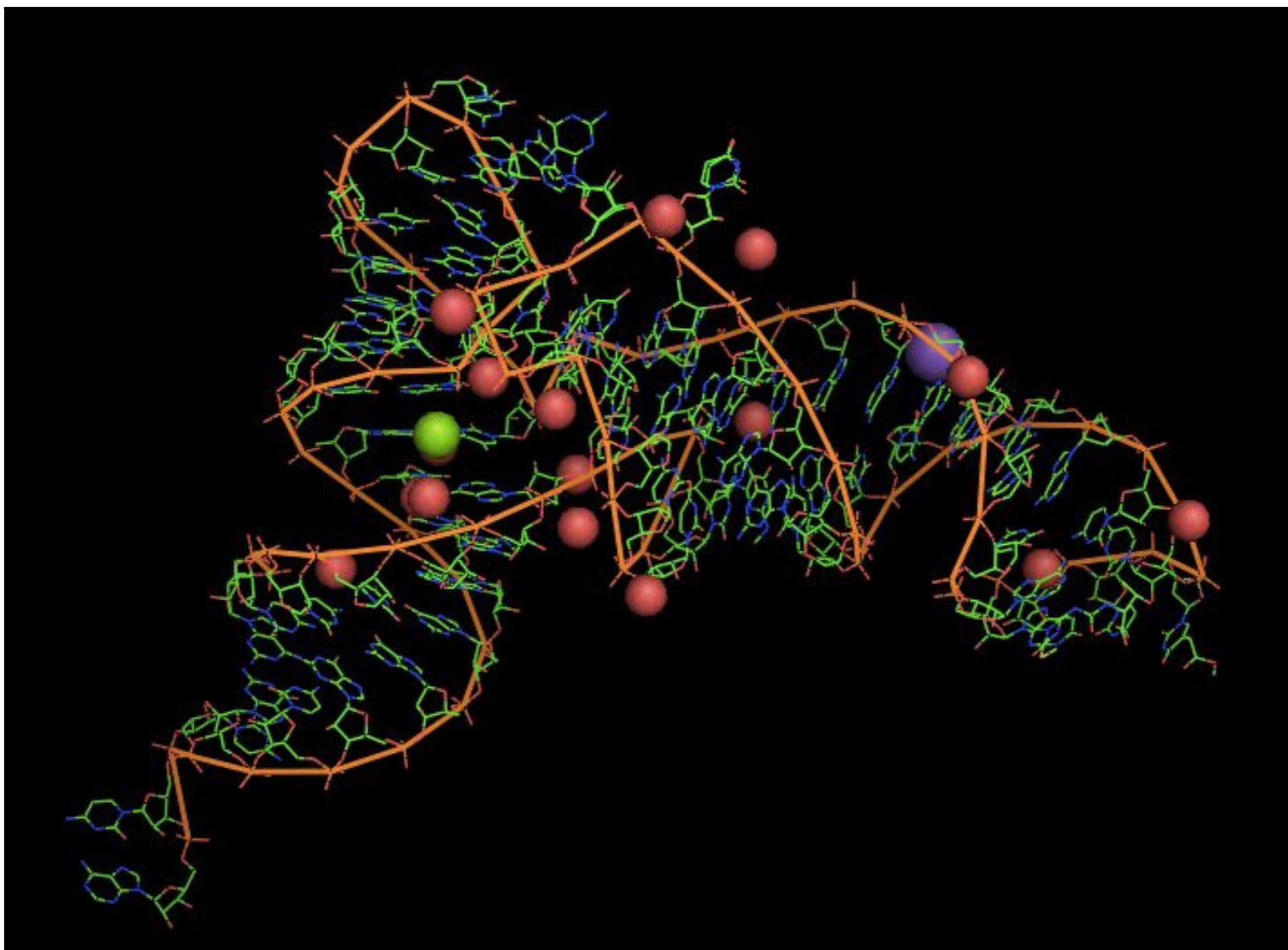
# G-Quadruplex



- Внутримолекулярные и межмолекулярные
- Теломеры
- Промоторы
- мРНК



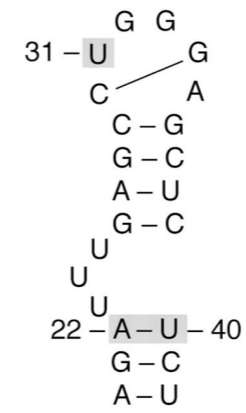
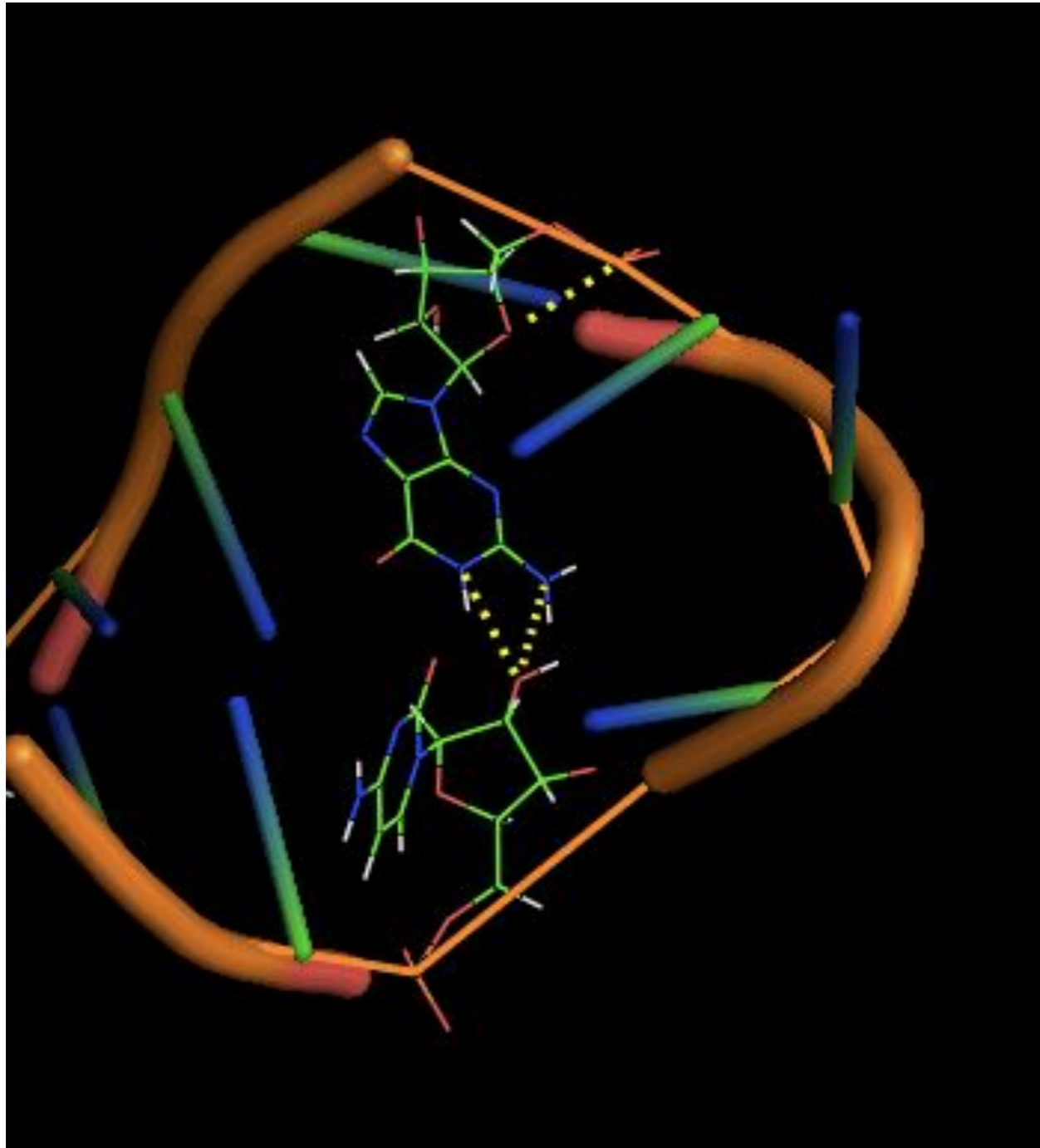
# Неорганические ионы в структуре тРНК



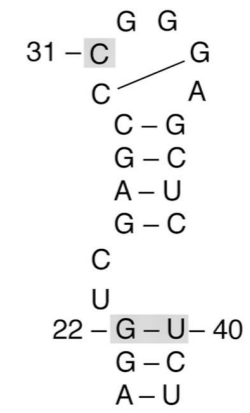




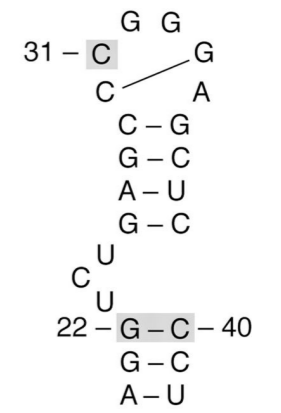
# TAR HIV-1



HIV-1: LAI (B)

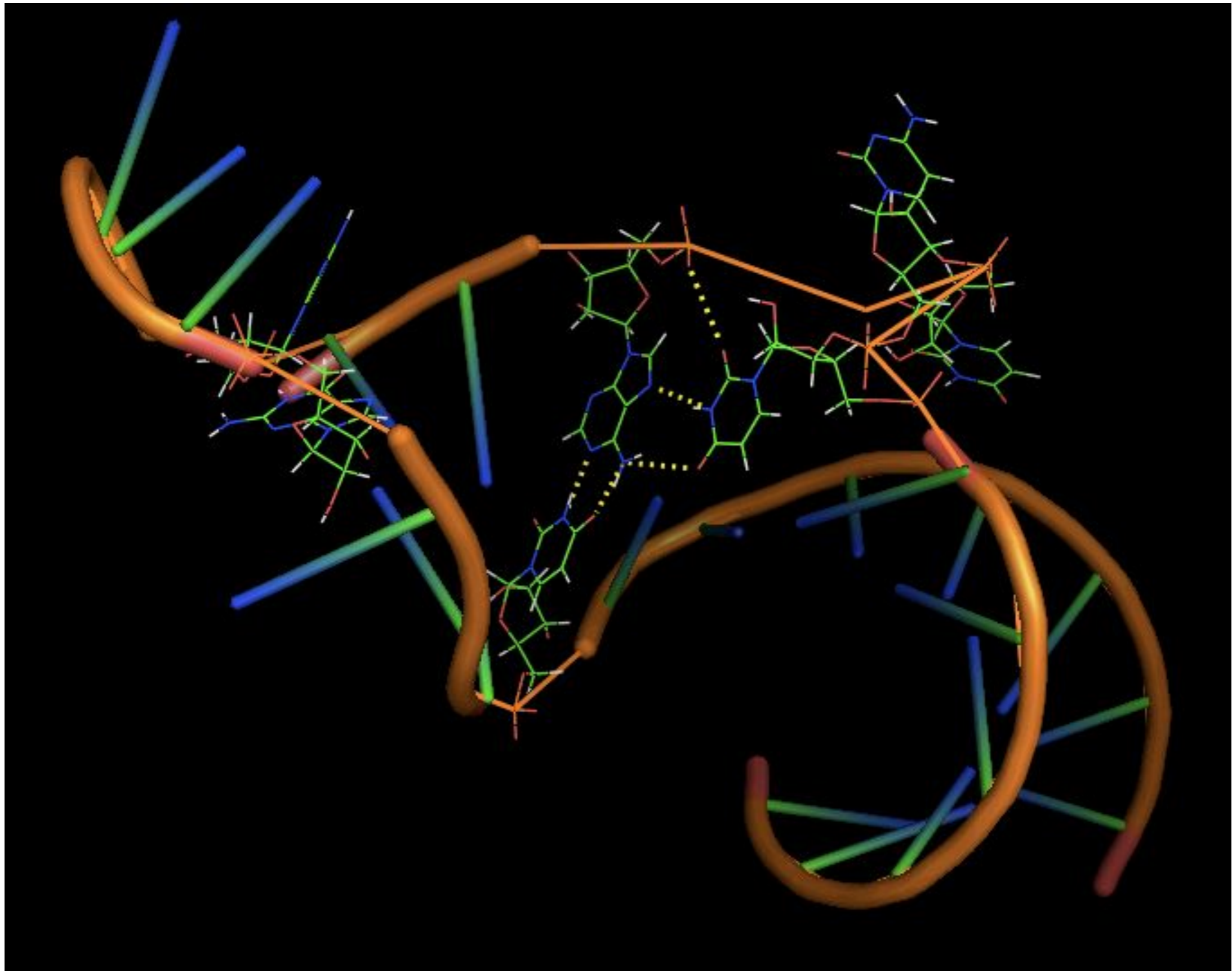


HIV-1: subtype A and E



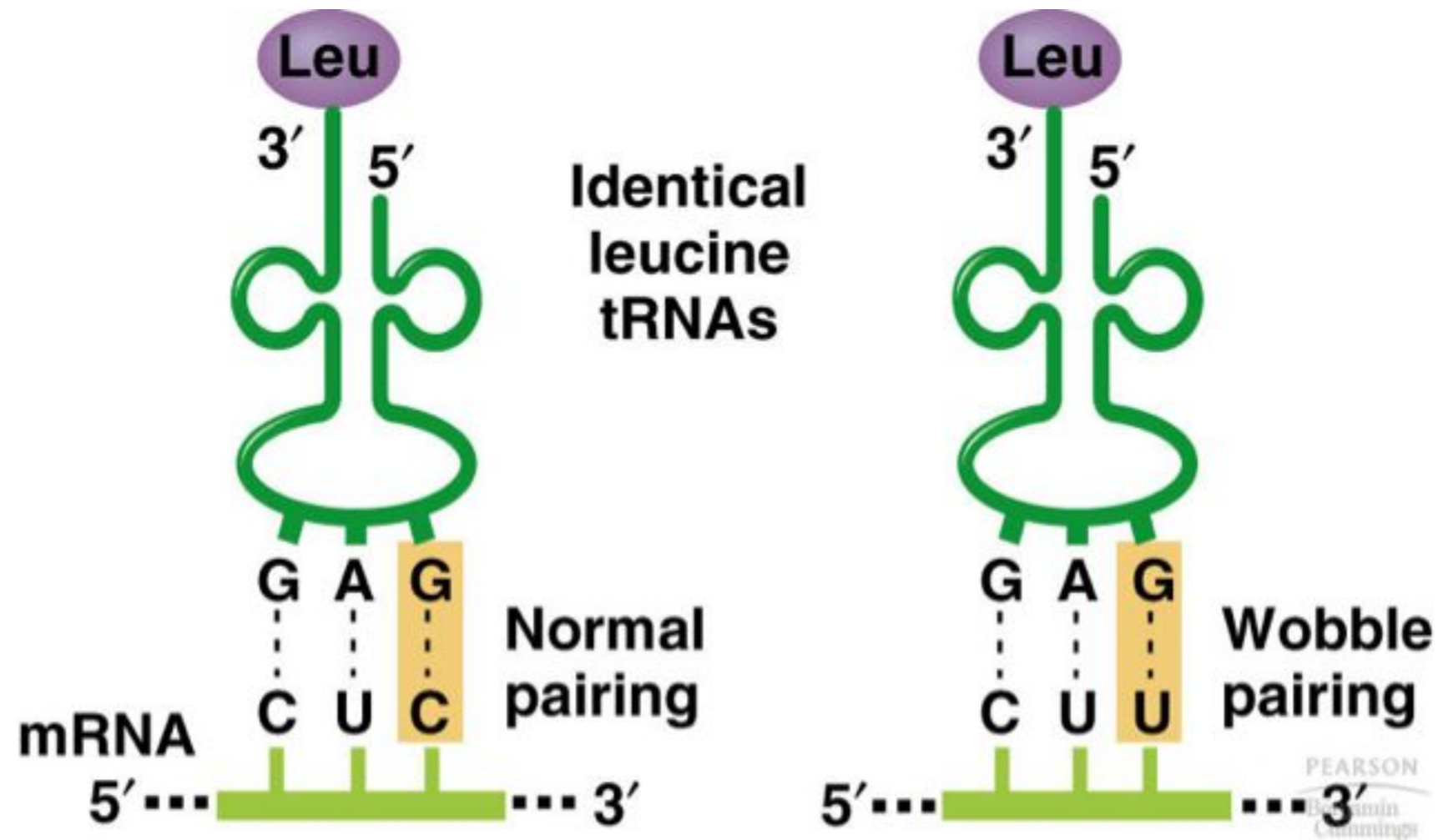
HIV-1: O group

# Triple contact in TAR



**Как 38 тРНК могут  
«обслуживать» 61  
кодон?!**

# Wobble-гипотеза (F.Crick, 1966)



- Объясняет, почему тРНК меньше, чем КОДОНОВ

# Варианты wobble-взаимодействий

**Table 6.1**

**Wobble in the Genetic Code**

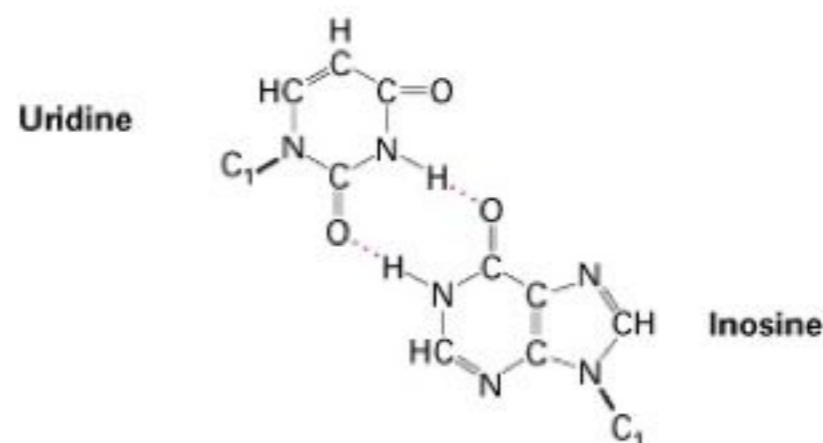
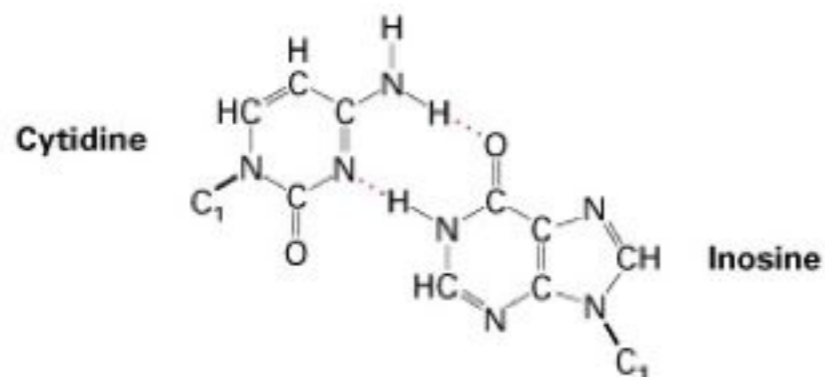
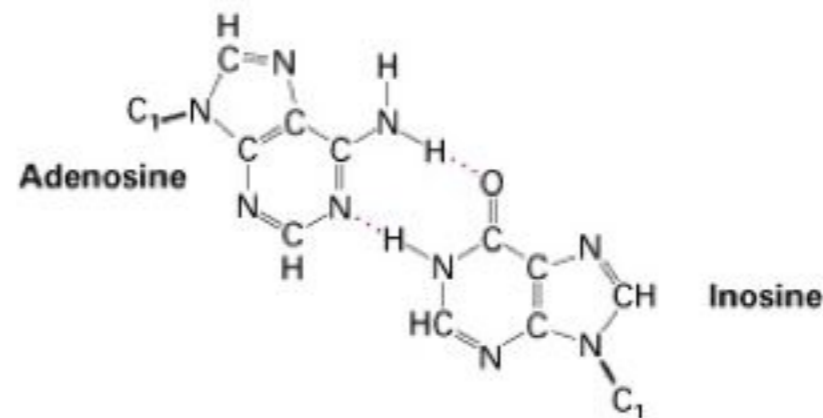
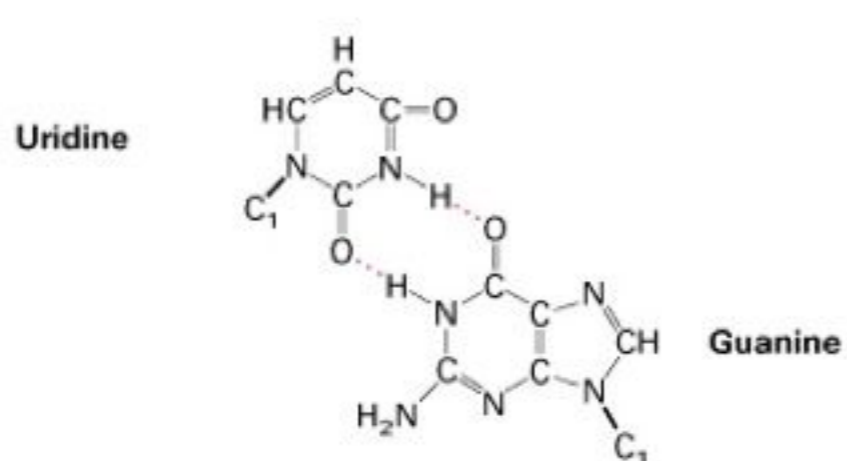
Nucleotide at 5' End of Anticodon		Nucleotide at 3' End of Codon
G	can pair with	U or C
C	can pair with	G
A	can pair with	U
U	can pair with	A or G
I (inosine)	can pair with	A, U, or G

Revised wobble rules	
Nucleotide of anticodon	Third nucleotide of codon
G	C, U
C	G
A	U, C, (A), G
U	A, U, G, (C)
I	U, C, A
$xm^5s^2U$	A, (G)
$xm^5U^5$	
Um	
$xm^5U$	
$xo^5U$	U, A, G
$k^2C$	A

(b)

PEARSON  
Benjamin  
Cummings

# Неканонические пары в кодон-антикодоновом взаимодействии



# 3 tRNA<sup>Ser</sup> - 6 триплетов

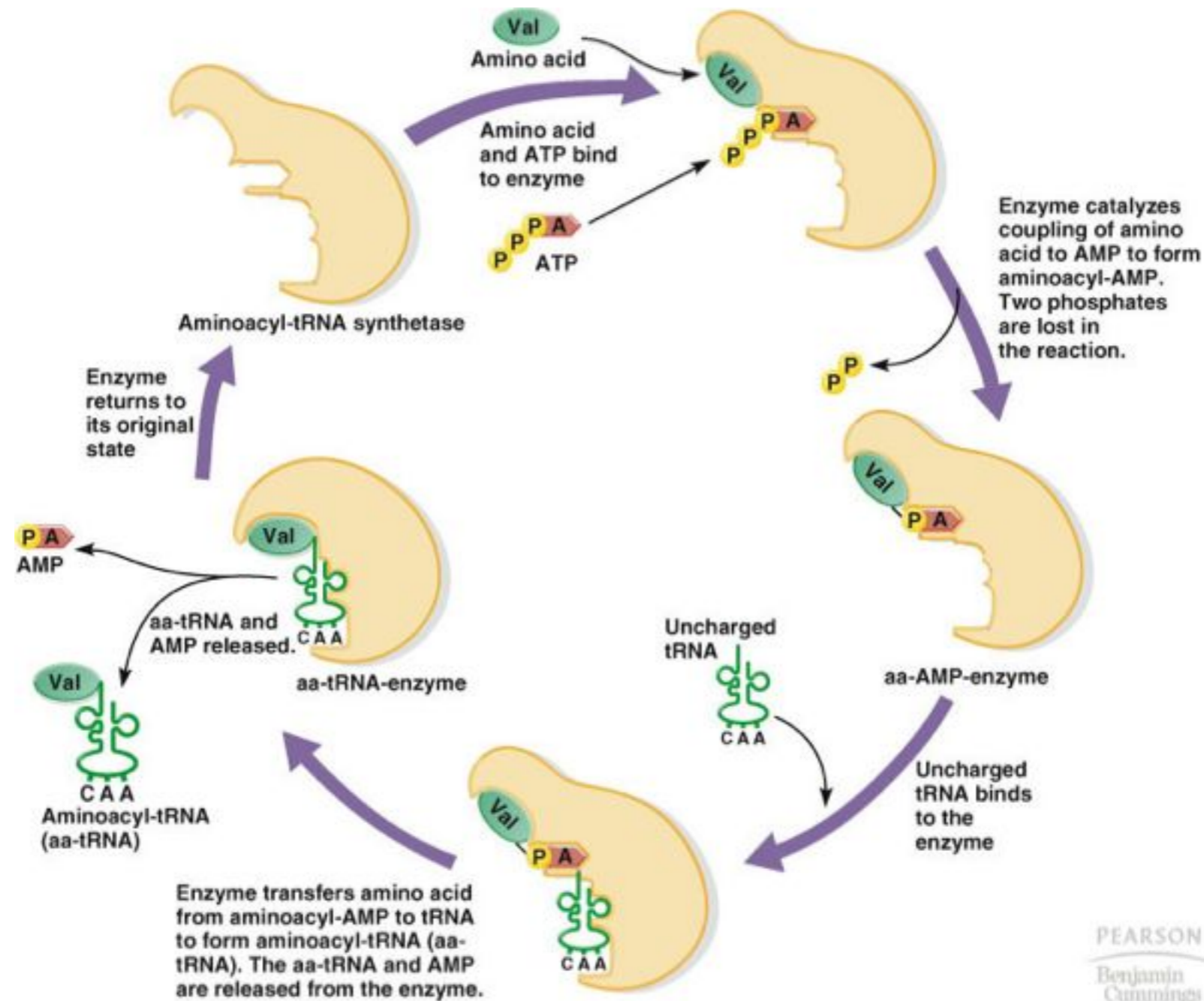
**Table 9-2** Different tRNAs That Can Service Codons for Serine

tRNA	Anticodon	Codon
tRNA <sup>Ser</sup> <sub>1</sub>	ACG + wobble	UCC UCU
tRNA <sup>Ser</sup> <sub>2</sub>	AGU + wobble	UCA UCG
tRNA <sup>Ser</sup> <sub>3</sub>	UCG + wobble	AGC AGU

**Кто заметил ошибку  
на предыдущем  
слайде? :)**



# Аминоацил-тРНК синтетазы

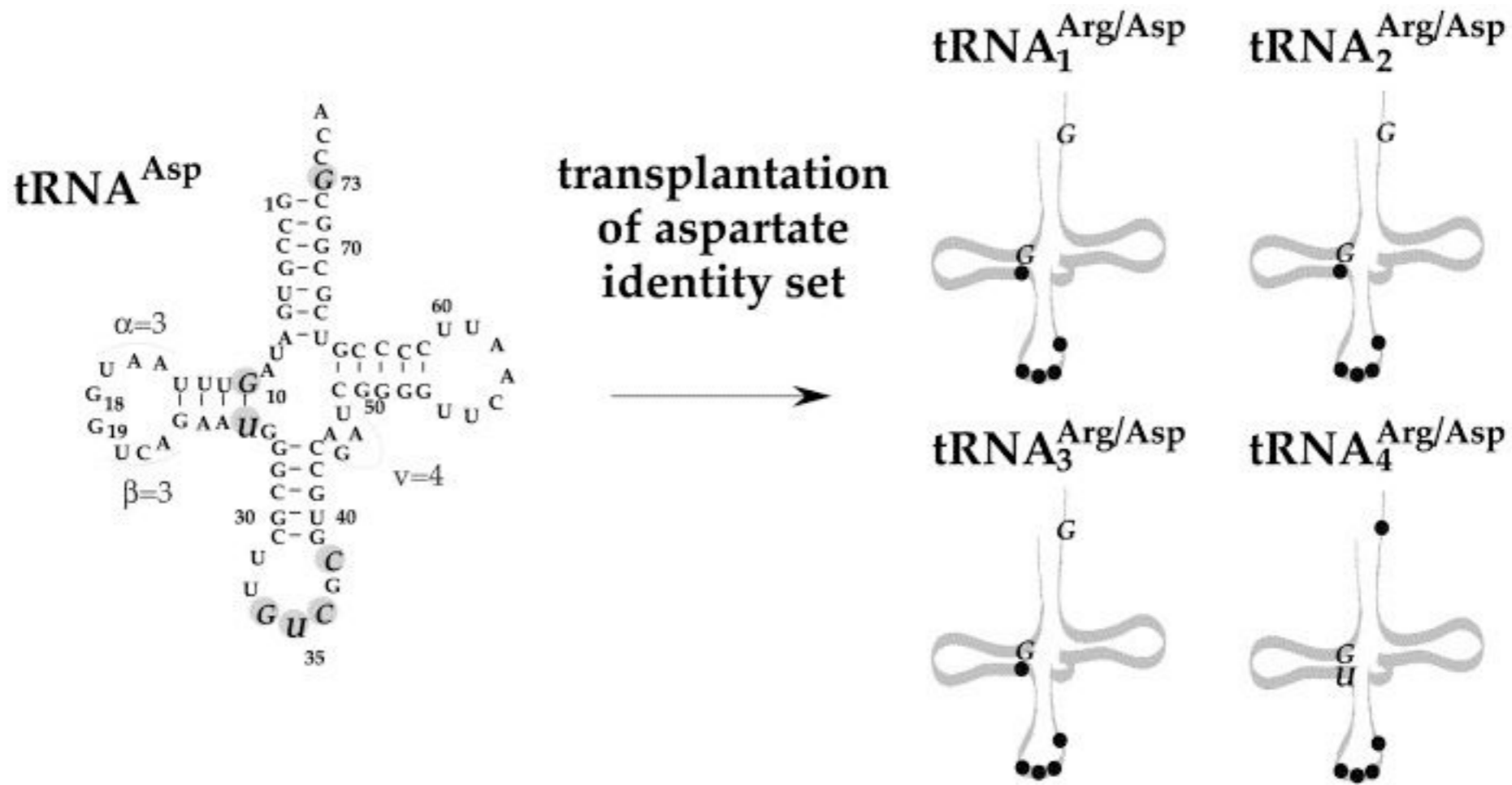


- Некоторые ARSase могут деацилировать неправильно ацилированные тРНК

# У вас должны были возникнуть вопросы:

- К какому концу тРНК пришивается аминокислота?
- Как аминоацил тРНК синтетаза распознает свою тРНК?

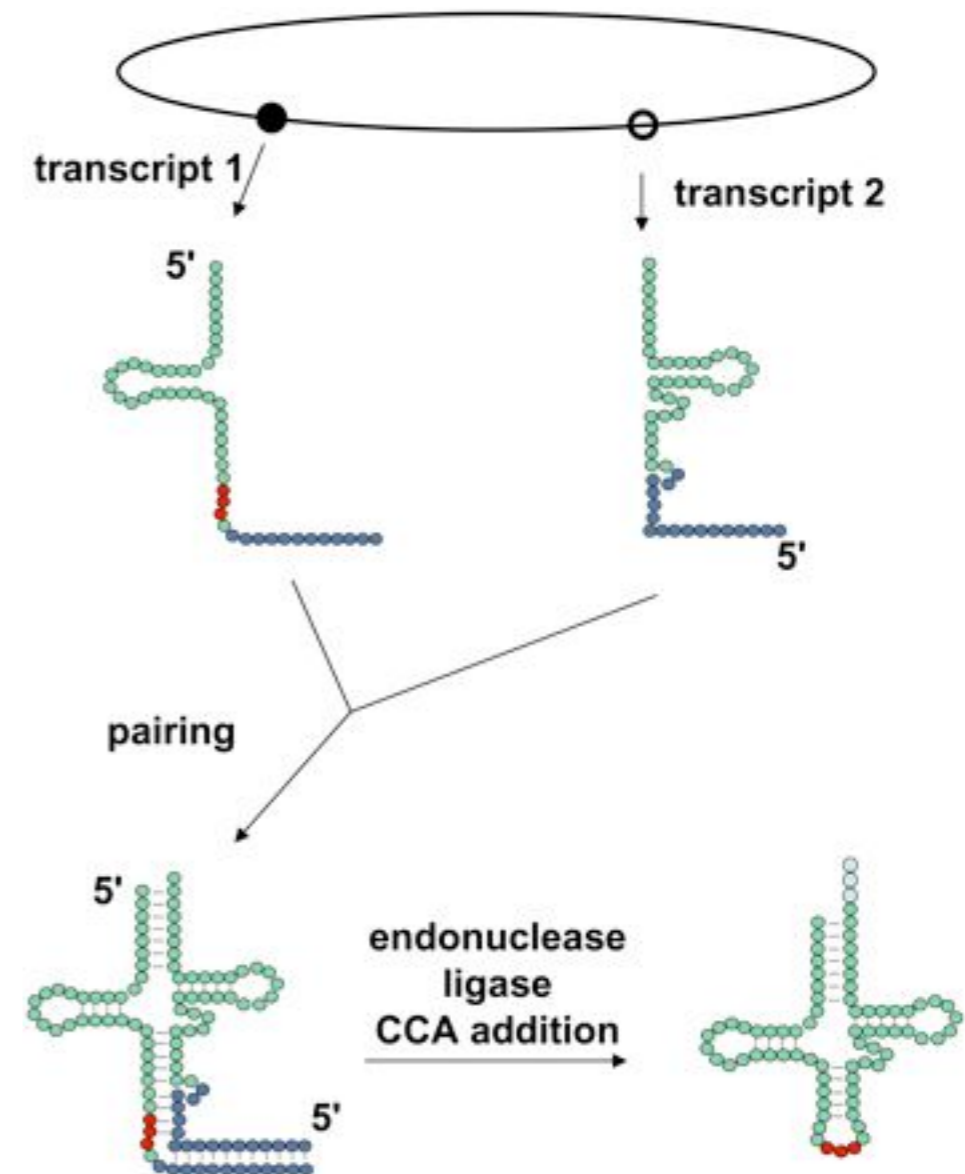
# Identity Elements



Изменяя identity elements, можно обмануть ARSase - и она начнет навешивать не ту аминокислоту

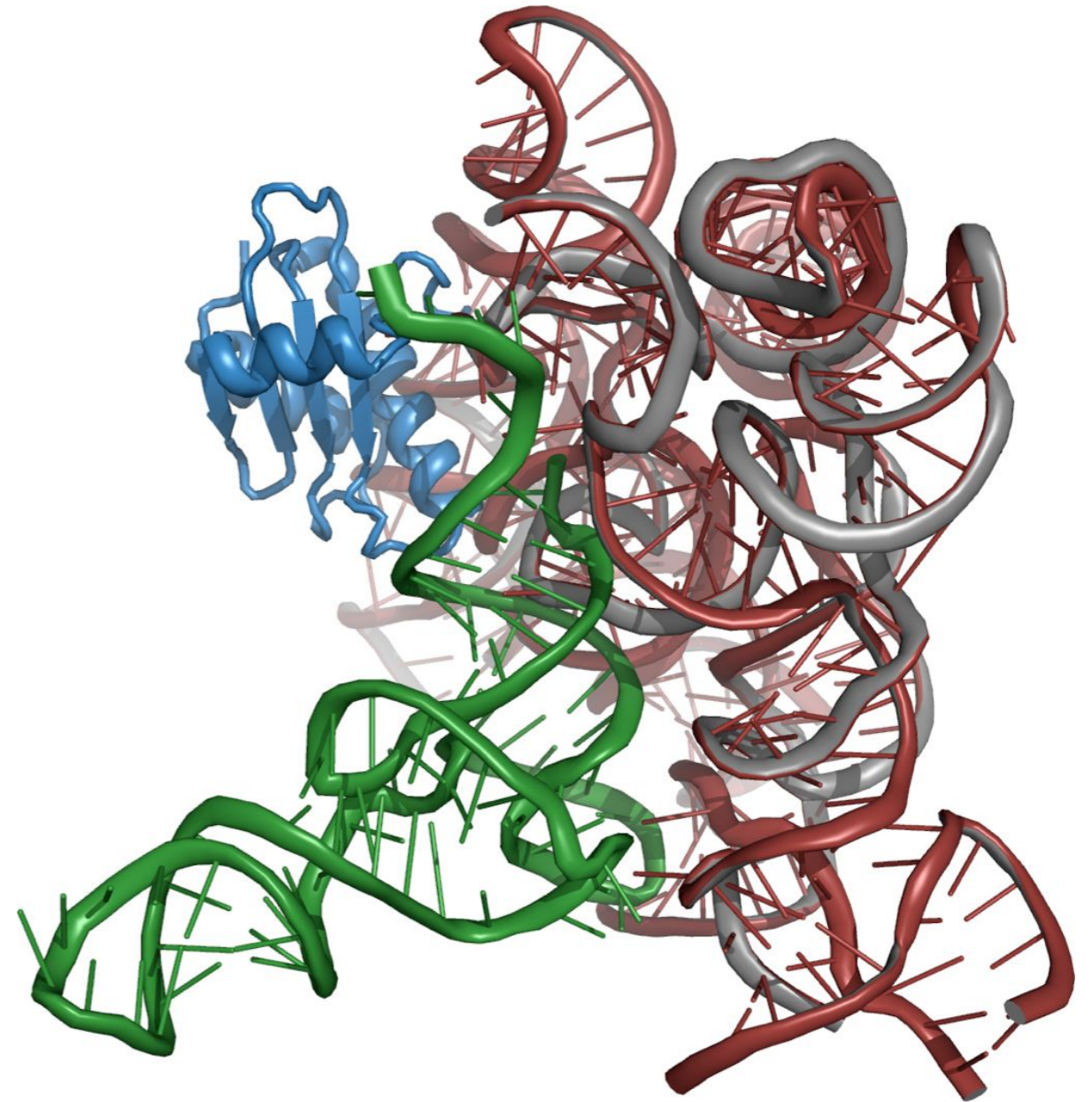
# Созревание тРНК *N. equitans*

- Две половинки тРНК закодированы в разных генах на разных хромосомах

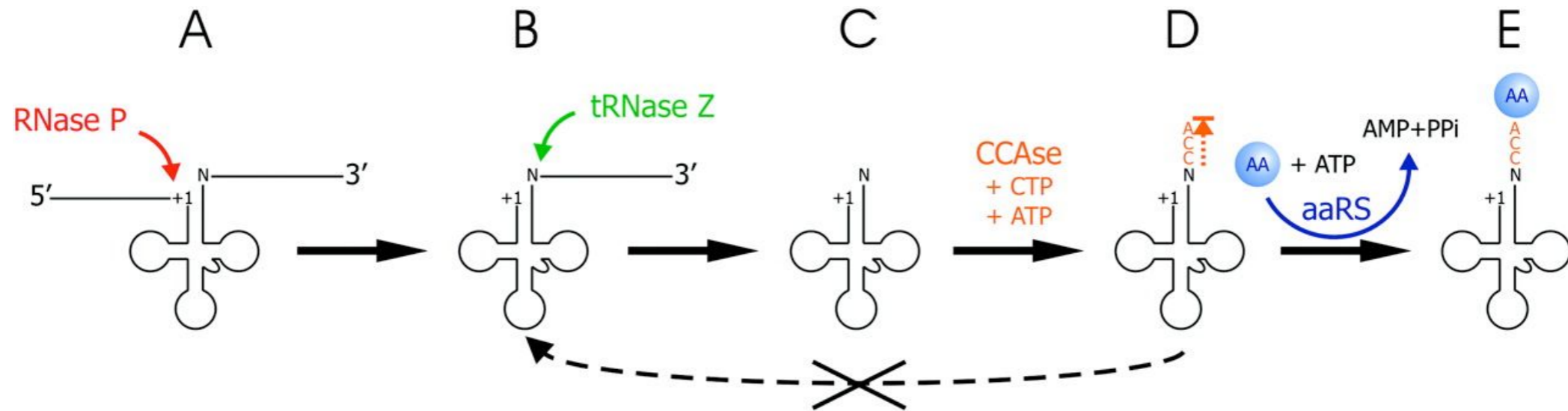


# RNAse P

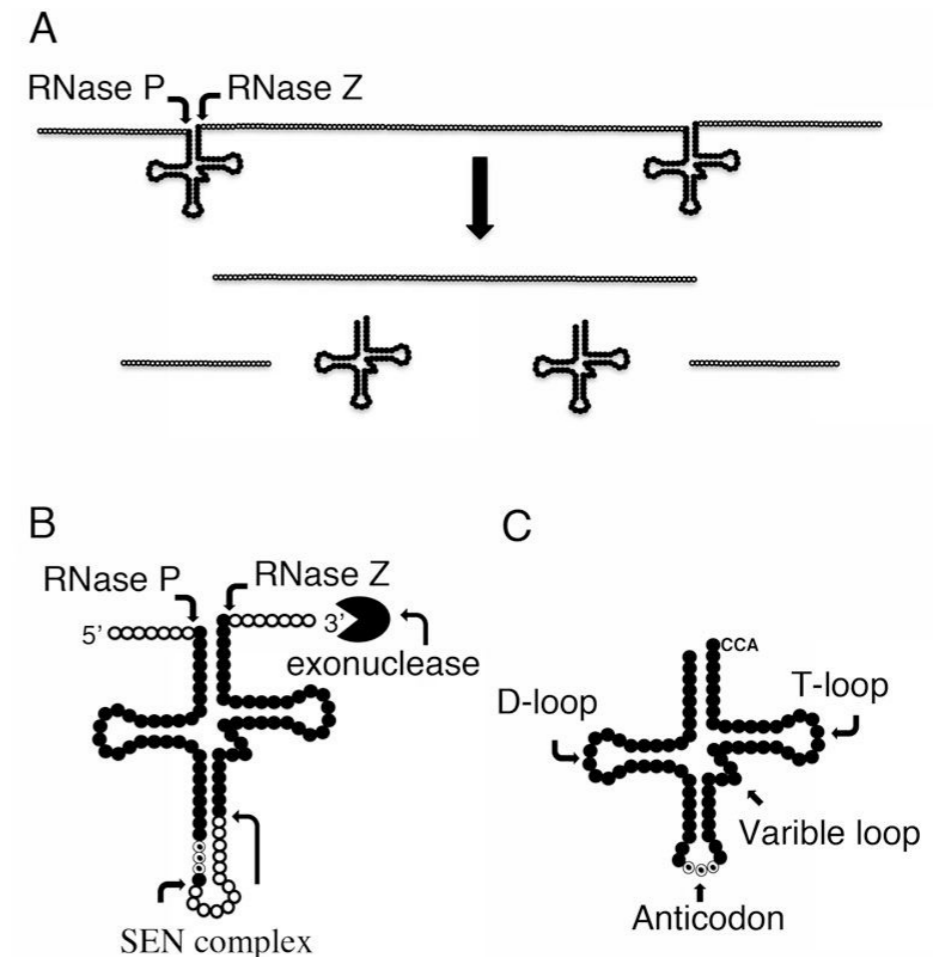
- RNP -  
рибонуклеопротеин
- RNAse P - рибозим
- Но! RNAse P из  
МИТОХОНДРИЙ  
человека не  
содержит RNA



# Процессинг тРНК

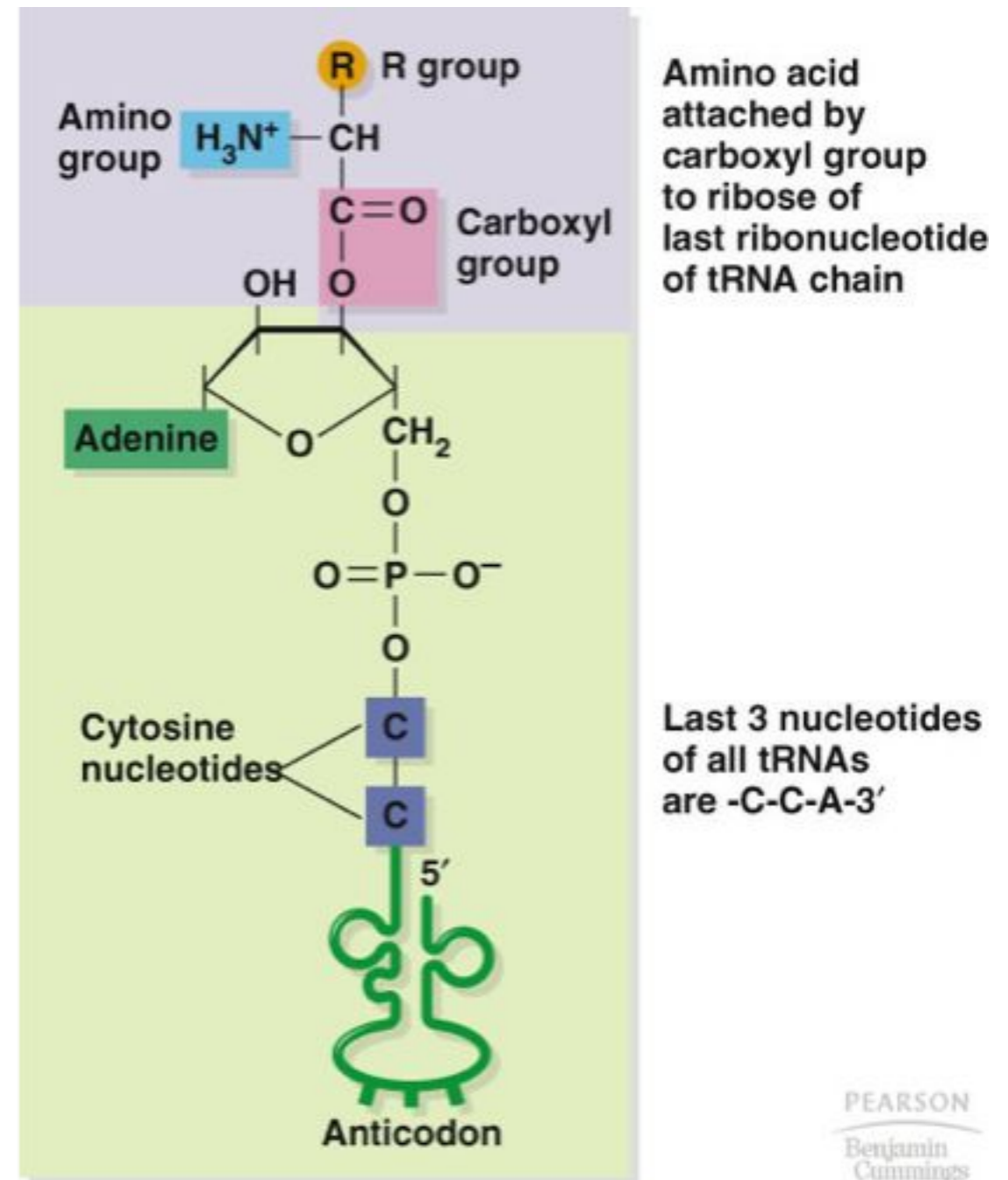


- tRNA вырезается из транскрипта (Pol III)
- У архей и эукаритот в tRNA еще есть интрон

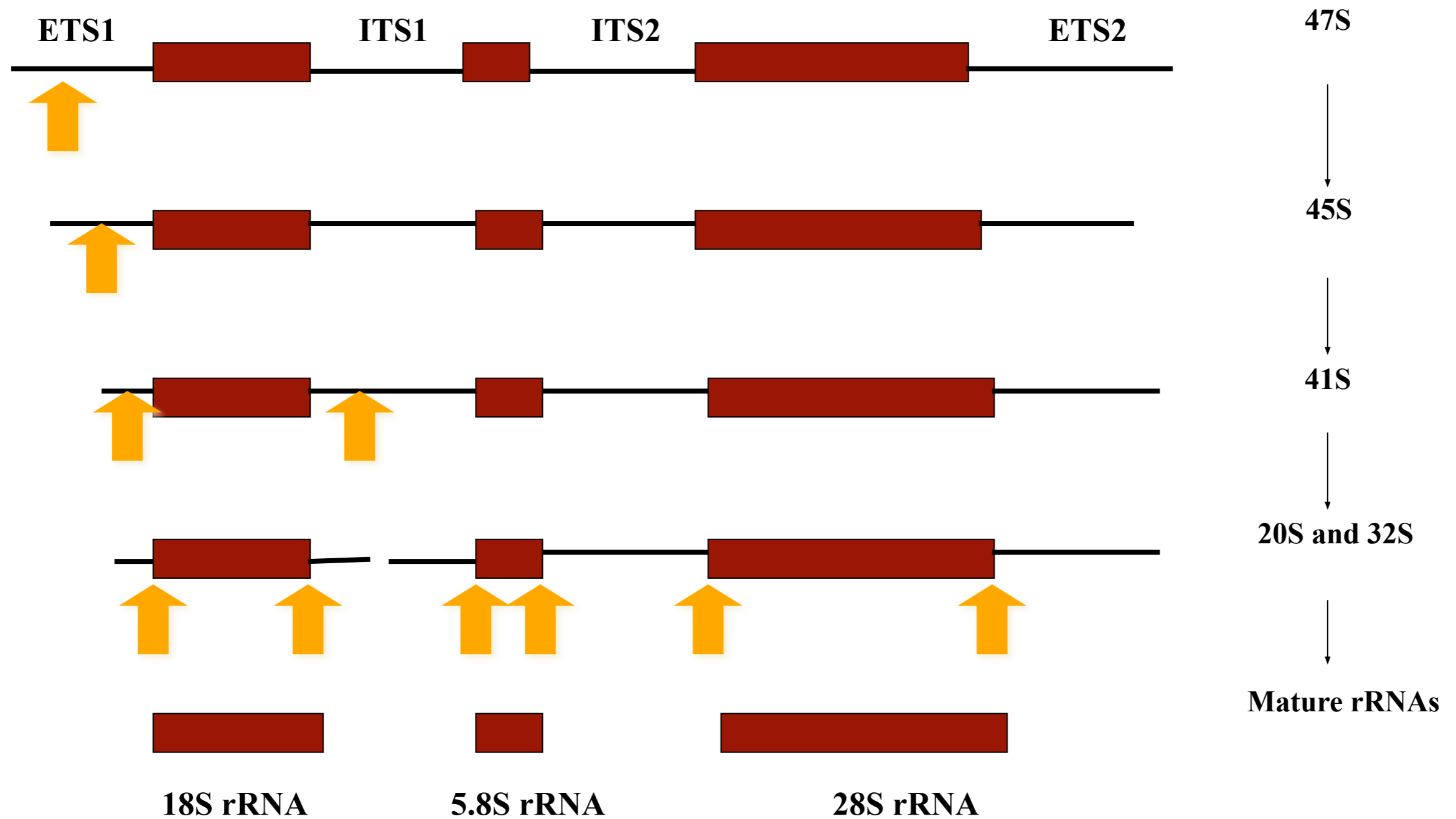


# Аминоацил-тРНК

- На 3'-конце всех тРНК находится ССА-триплет
- Он не закодирован в ДНК, а доводится пост-транскрипционно

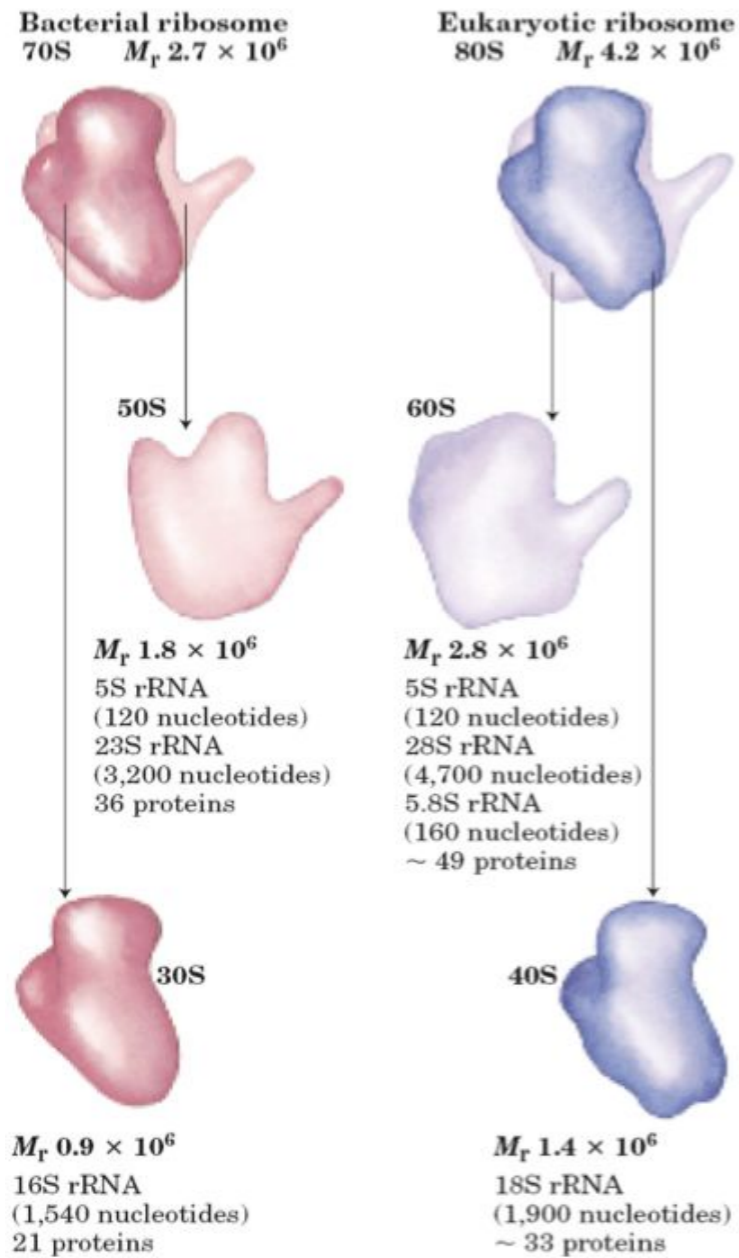


# Процессинг рибосомных РНК





# Сравнение прокариотических и эукариотических рибосом

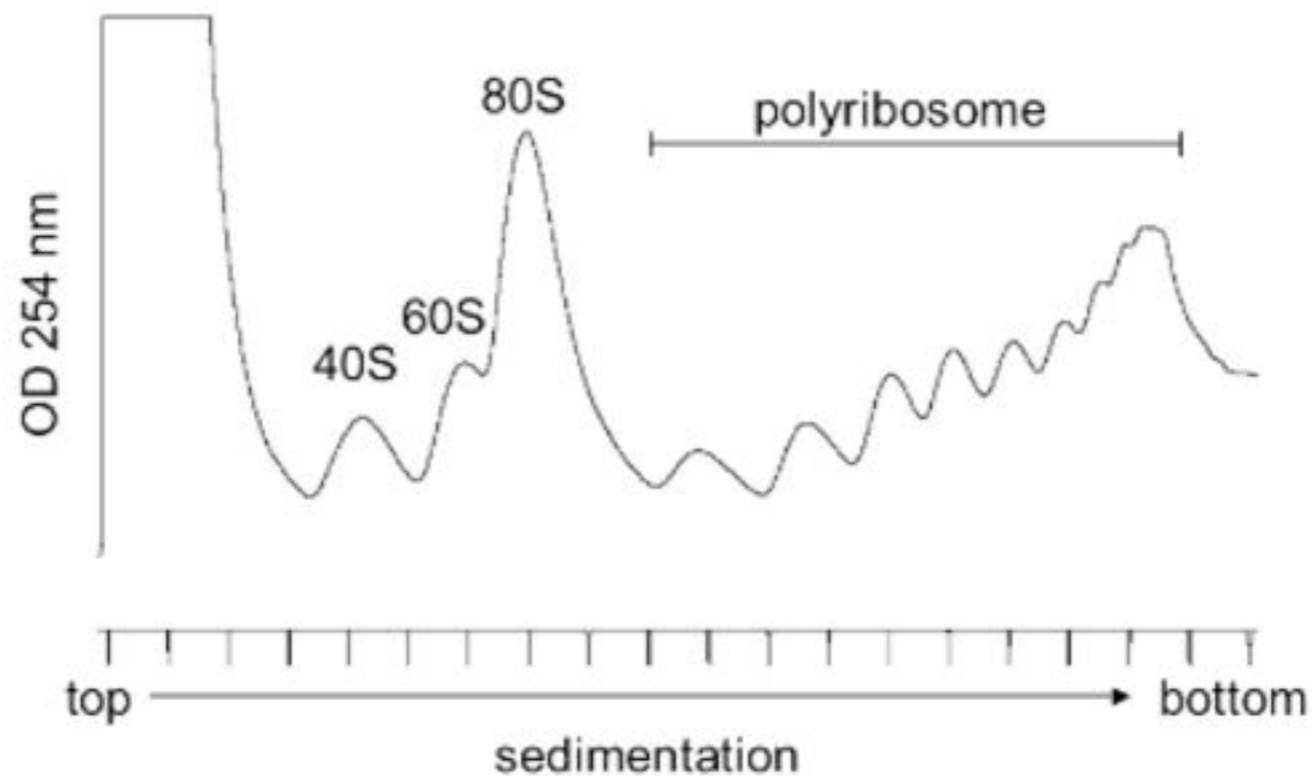


Prokaryotic <sup>a</sup>		Eukaryotic <sup>b</sup>	
Component	Mass, kDa	Component	Mass, kDa
Small (30S) subunit	850	Small (40S) subunit	1440
16S RNA	500	18S RNA	700
Proteins (21)	350 (total)	Proteins (~30)	740
Large (50S) subunit	1450	Large (60S) subunit	2800
23S RNA	950	28S RNA	1700
5S RNA	40	5.8S RNA	51
Proteins (32-34)	460	5S RNA	39
Complete (70S) ribosome	2300	Complete (80S) ribosome	4240

<sup>a</sup> Data from Wittmann, H. G. (1982) *Ann. Rev. Biochem.* **51**, 155-183. Based on sequences of all components. Presence of spermine, K<sup>+</sup>, etc., may add 10%.

<sup>b</sup> Data from Freifelder, D. (1983) *Molecular Biology*, 2nd ed., Jones and Bartlett, Boston, Massachusetts (p. 419) and Mao, H., and Williamson, J. R. (1999) *J. Mol. Biol.* **292**, 345-349.

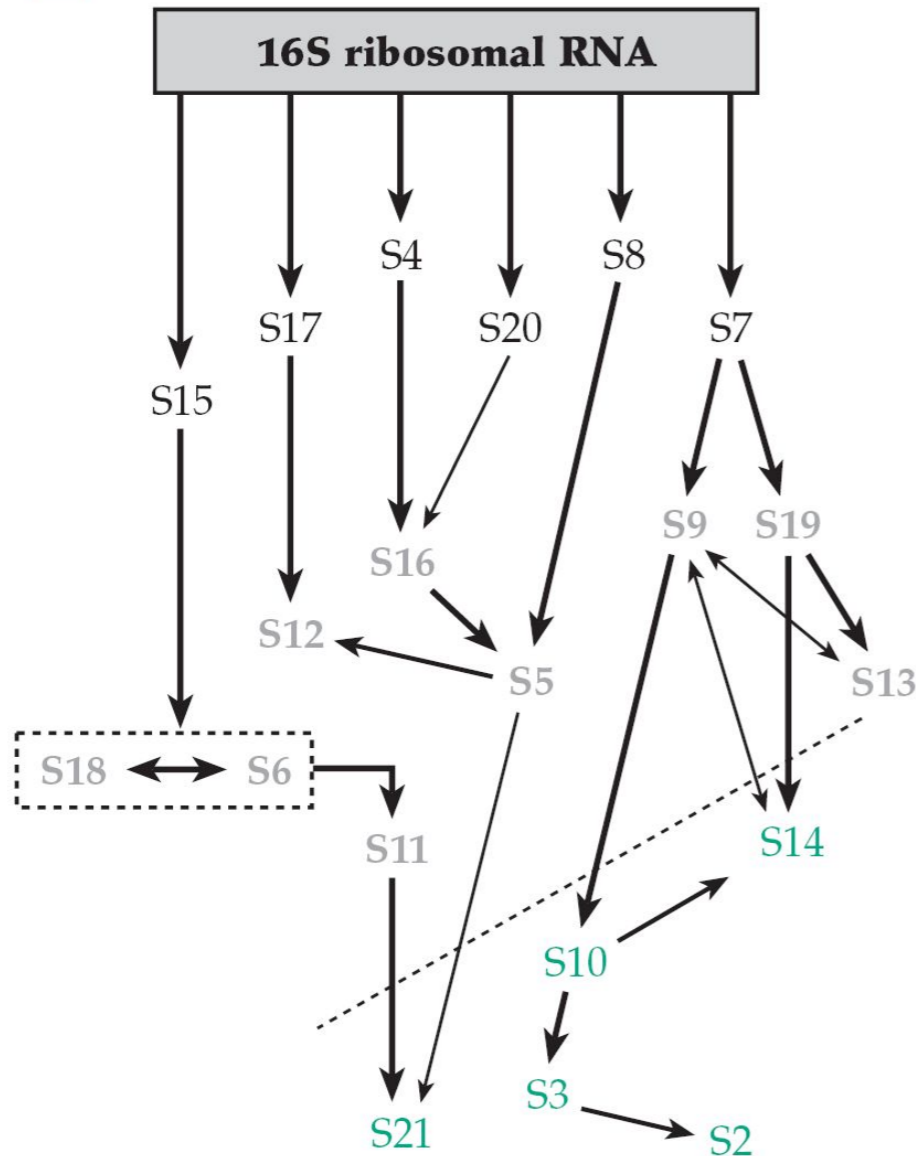
# Центрифугирование в градиенте сахарозы



Коэффициент седиментации (S):  
зависит от формы частицы  
зависит от массы частицы

# Сборка рибосомы

D

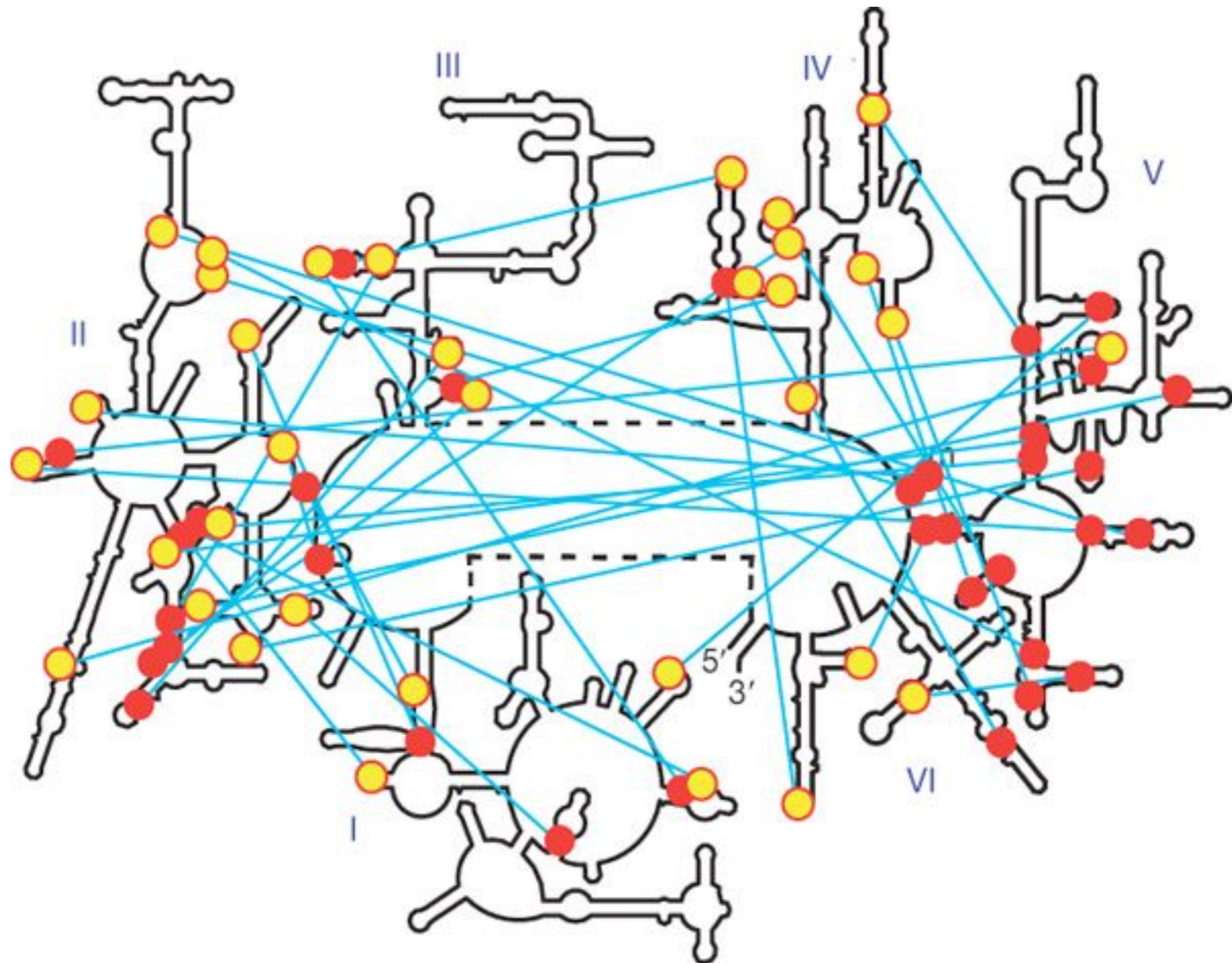


Masayasu Nomura

- Умение разбирать и собирать рибосому ПОЗВОЛИЛО локализовать на ней многие важные участки



# 23S rRNA



● 2000 - 70S из *Thermus thermophilus*, 3,3Å

## Структурный анализ рибосом

● 2000 - 50S из *Haloarcula marismortui*, 2,4Å

● 2001 - 30S из *Thermus thermophilus* с IF1, 3,2Å

● 2004 - 80S из *Saccharomyces cerevisiae* со связанным eEF2, 11,7Å, cryo-EM

● 2009 - 80S из *Thermomyces lanuginosus*, 8,9Å, cryo-EM

● 2010 - 80S из *Triticum aestivum*, 5,5Å, cryo-EM

● 2011 - 80S из *Saccharomyces cerevisiae*, 3Å

● 2011 - 40S из *Tetrahymena thermophila* со связанным с ней eIF1, 3,9Å

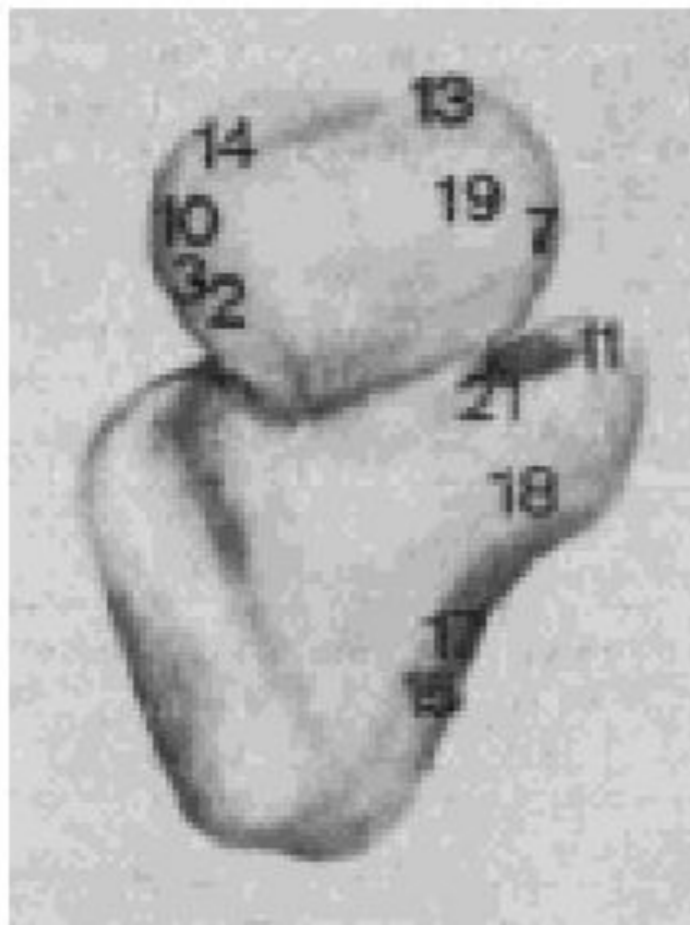
● 2013 - 60S из *Tetrahymena thermophila* со связанным с ней eIF6, 3,5Å

● 2013 - 80S из *Trypanosoma brucei*, 5Å, cryo-EM

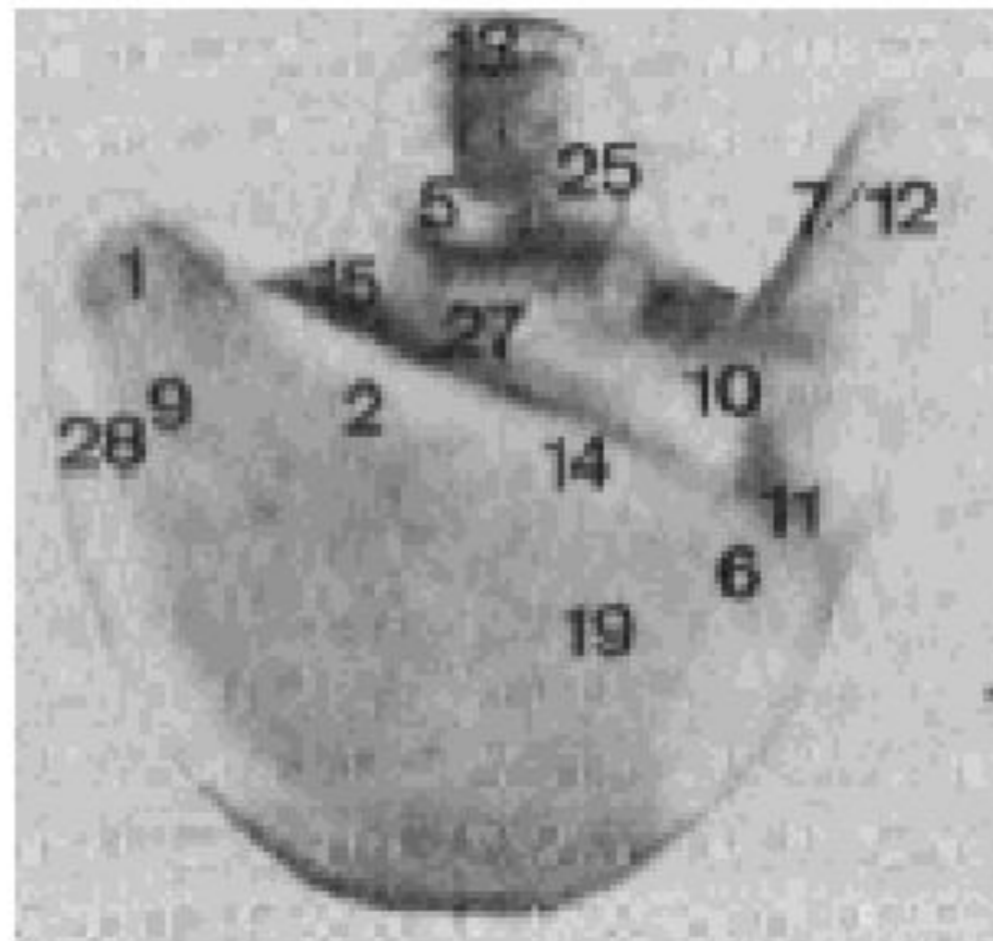
● *Saccharomyces cerevisiae*

# Рибосома *E. coli* (конец 80-х)

30S

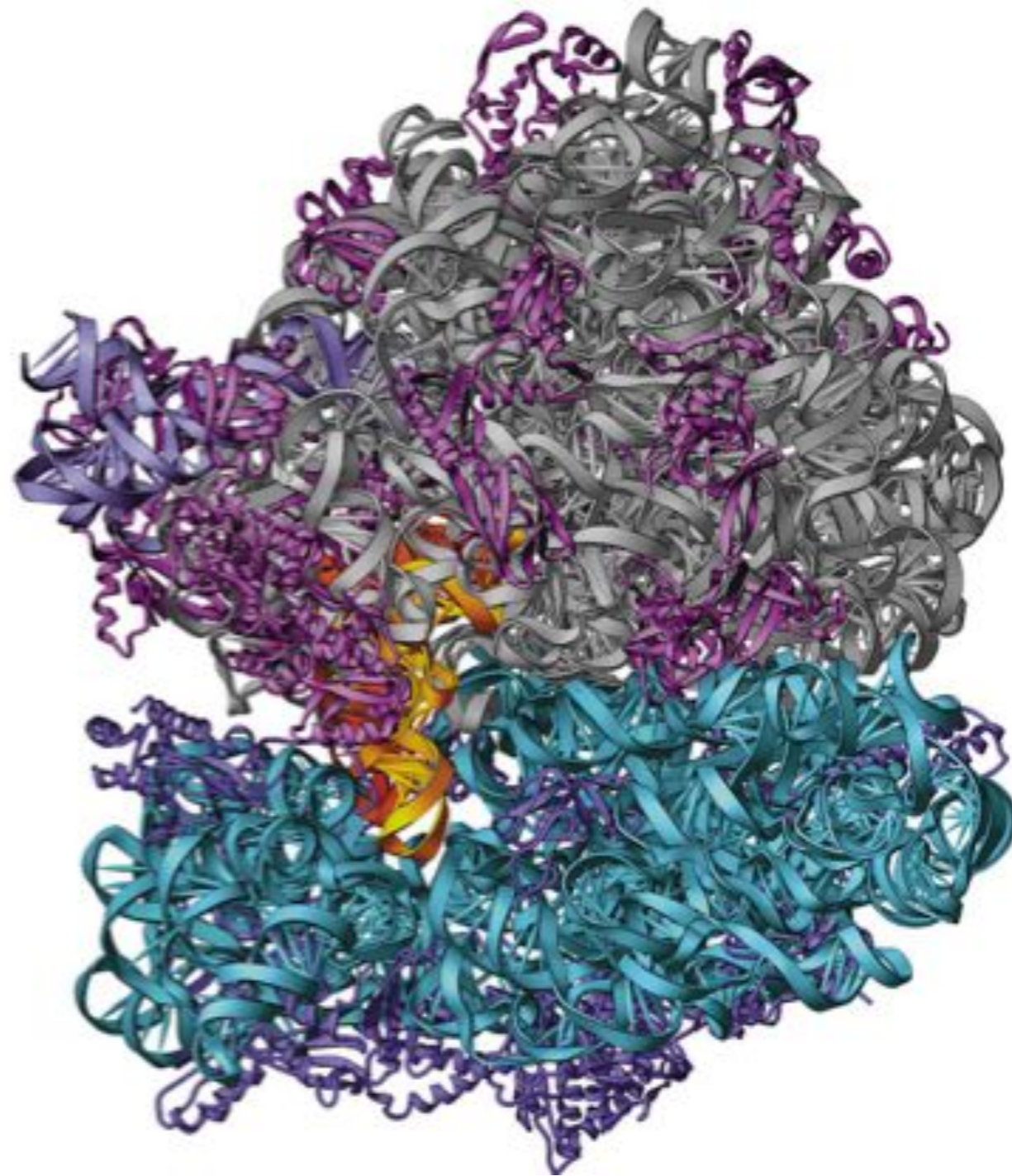


50S



# *Thermus thermophilus* 70S

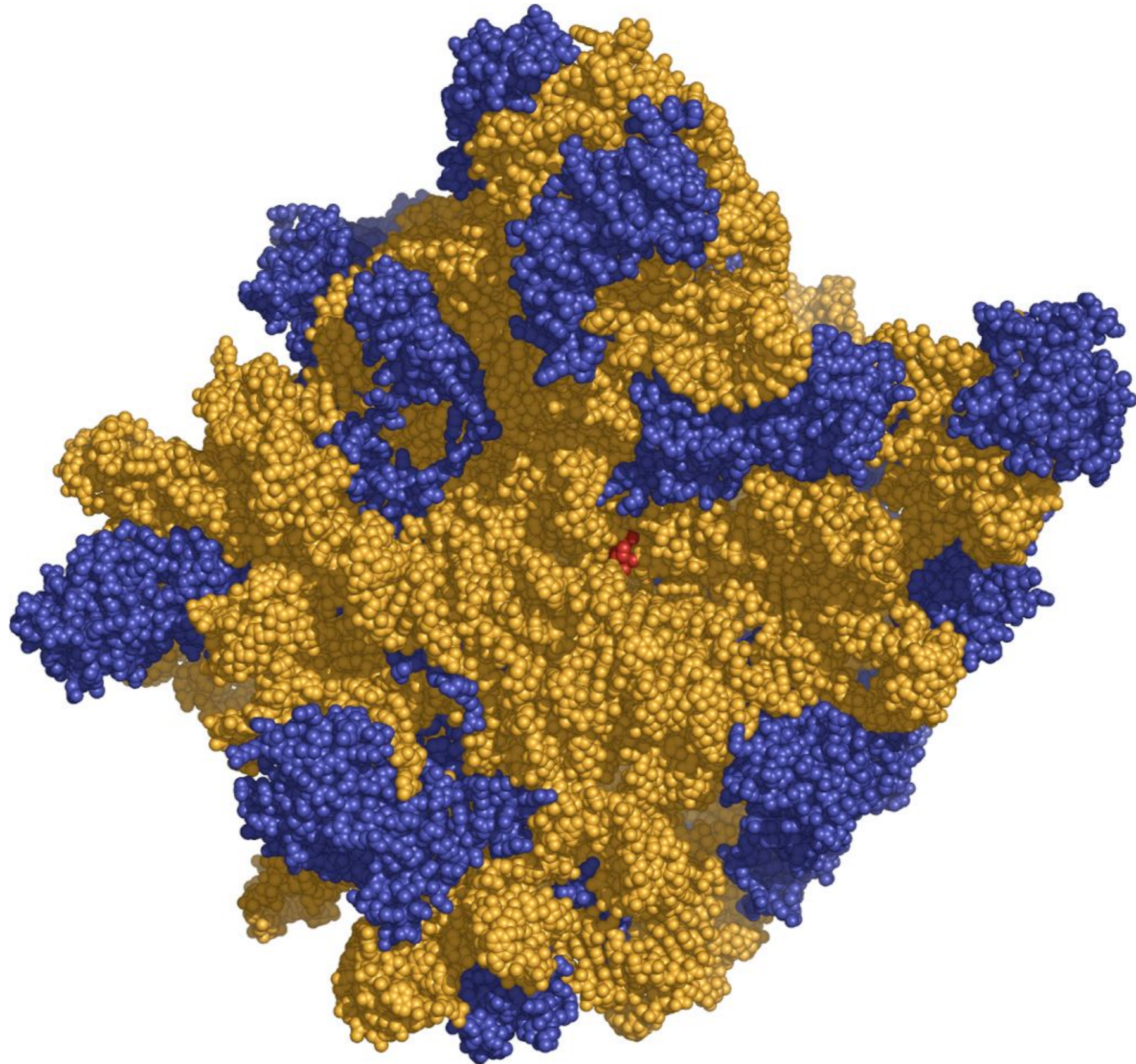
(Yusupov et. al, 2001)





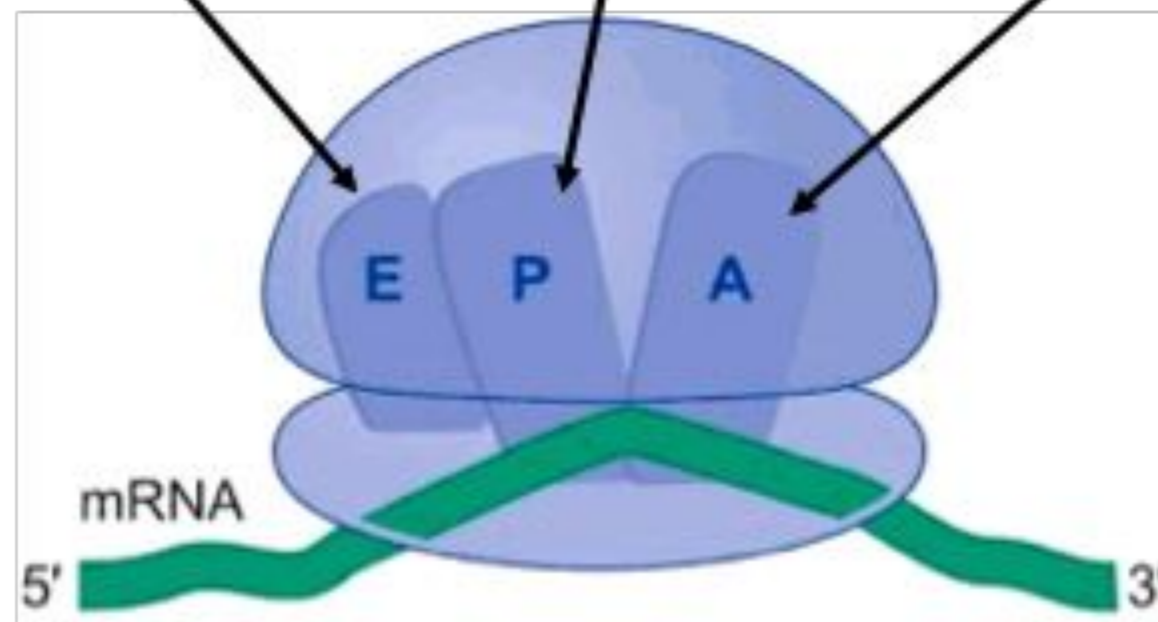


# 50S ribosome



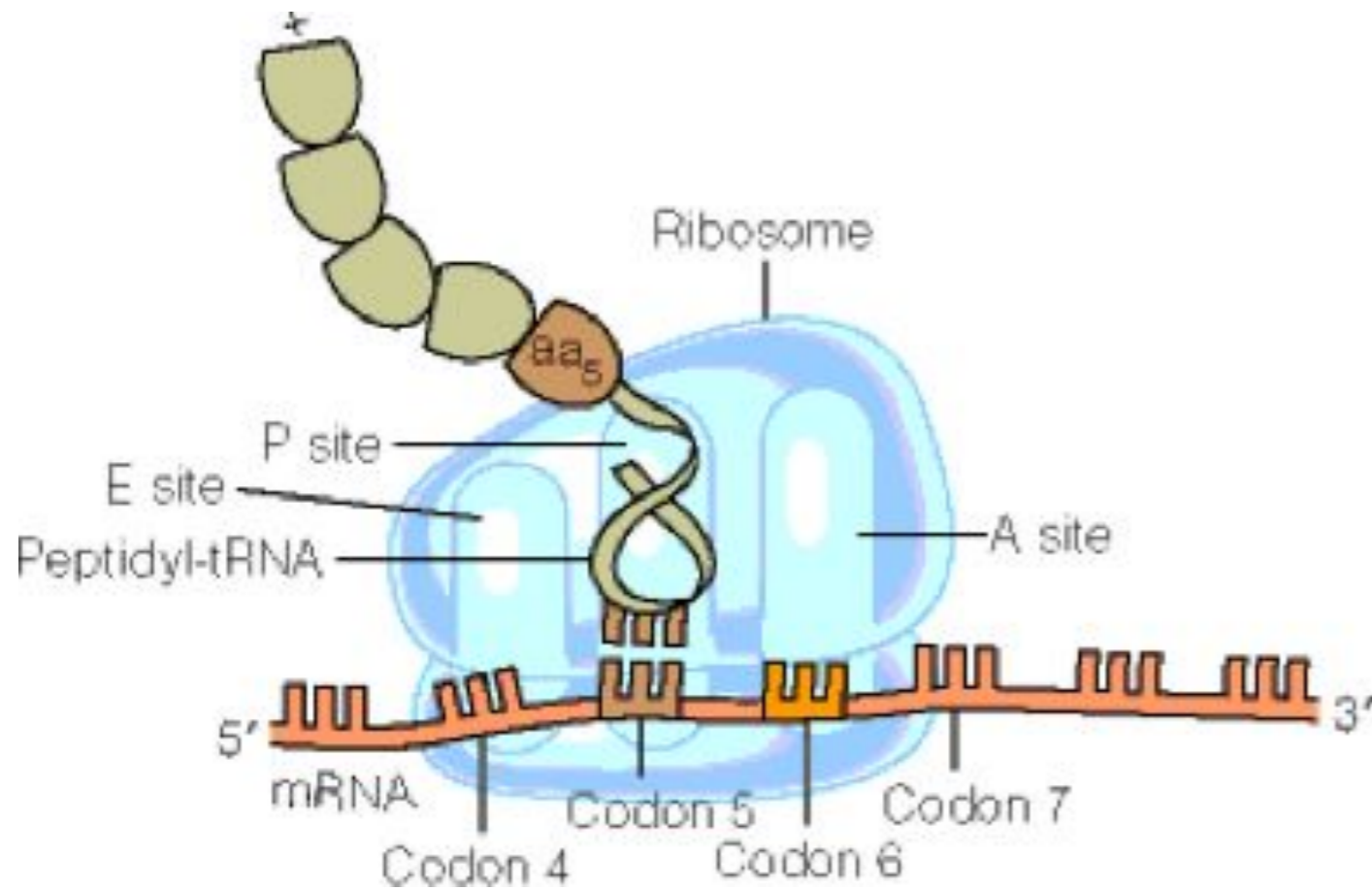
# 3 участка связывания тРНК на рибосоме

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



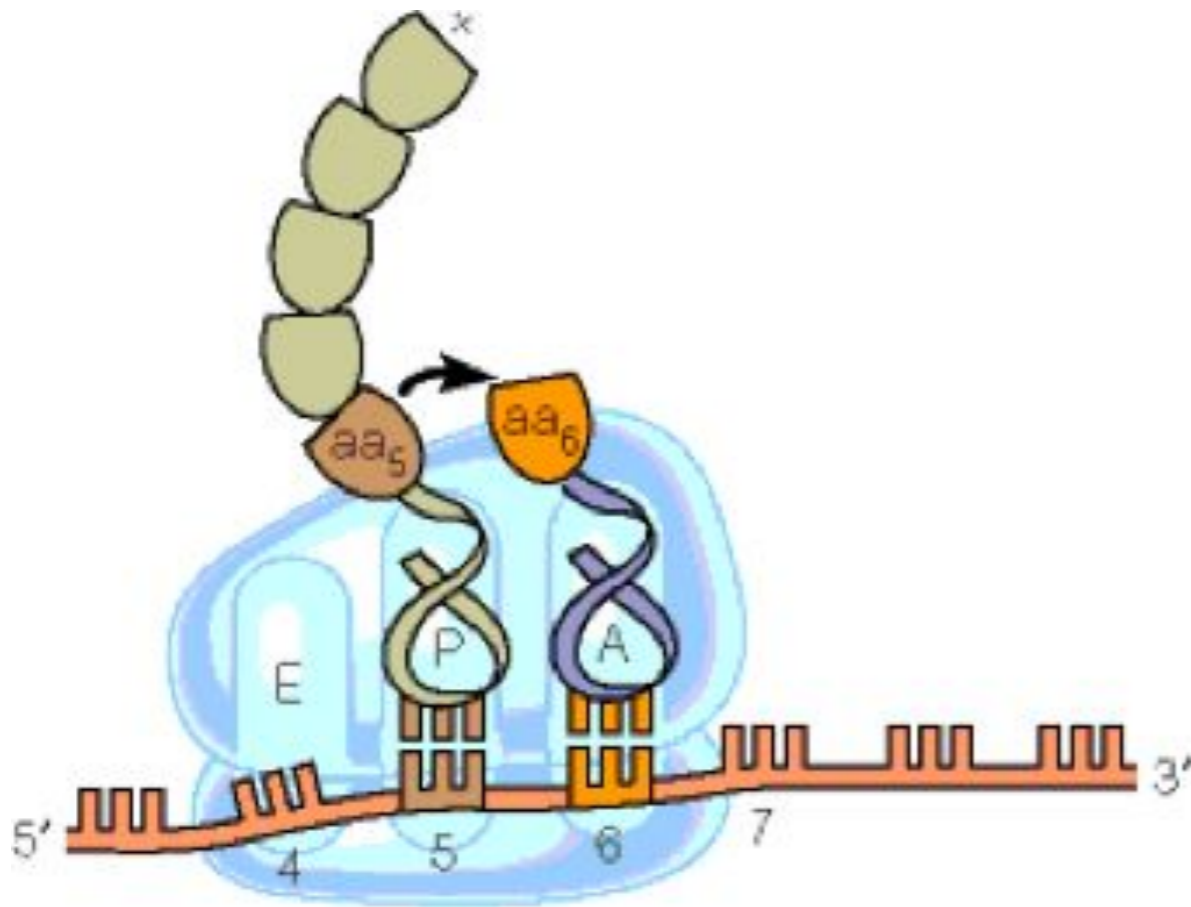
- **Инициация: тРНК связывается с Р-сайтом**
- **Элонгация: тРНК связывается с А-сайтом**

# Элонгация трансляции. Шаг I.



- Инициаторная Мет-тРНК в Р-сайте
- А-сайт свободен

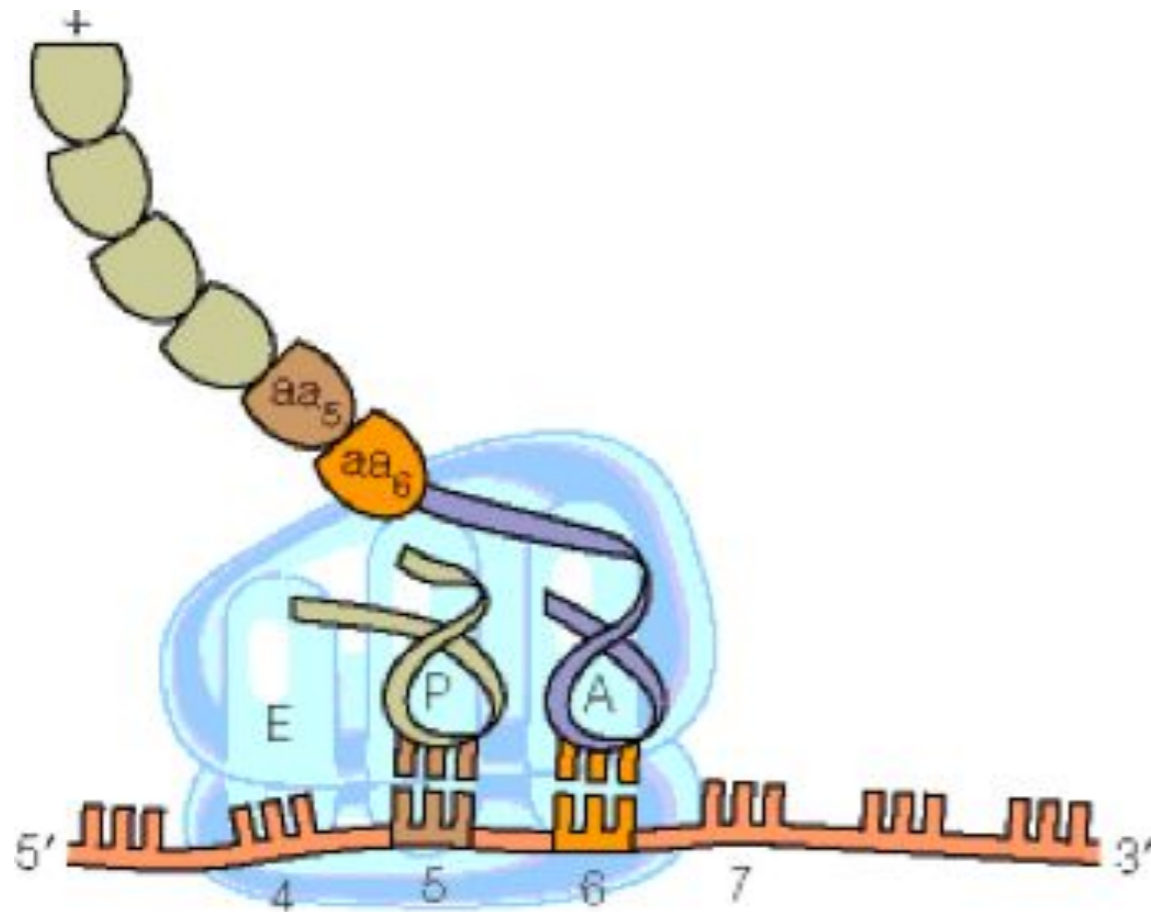
# Элонгация трансляции. Шаг II.



- Р-сайт занят  
**п**ептидил-тРНК
- В А-сайт  
связывается новая  
**а**миноацил-тРНК

## Элонгация трансляции. Шаг III.

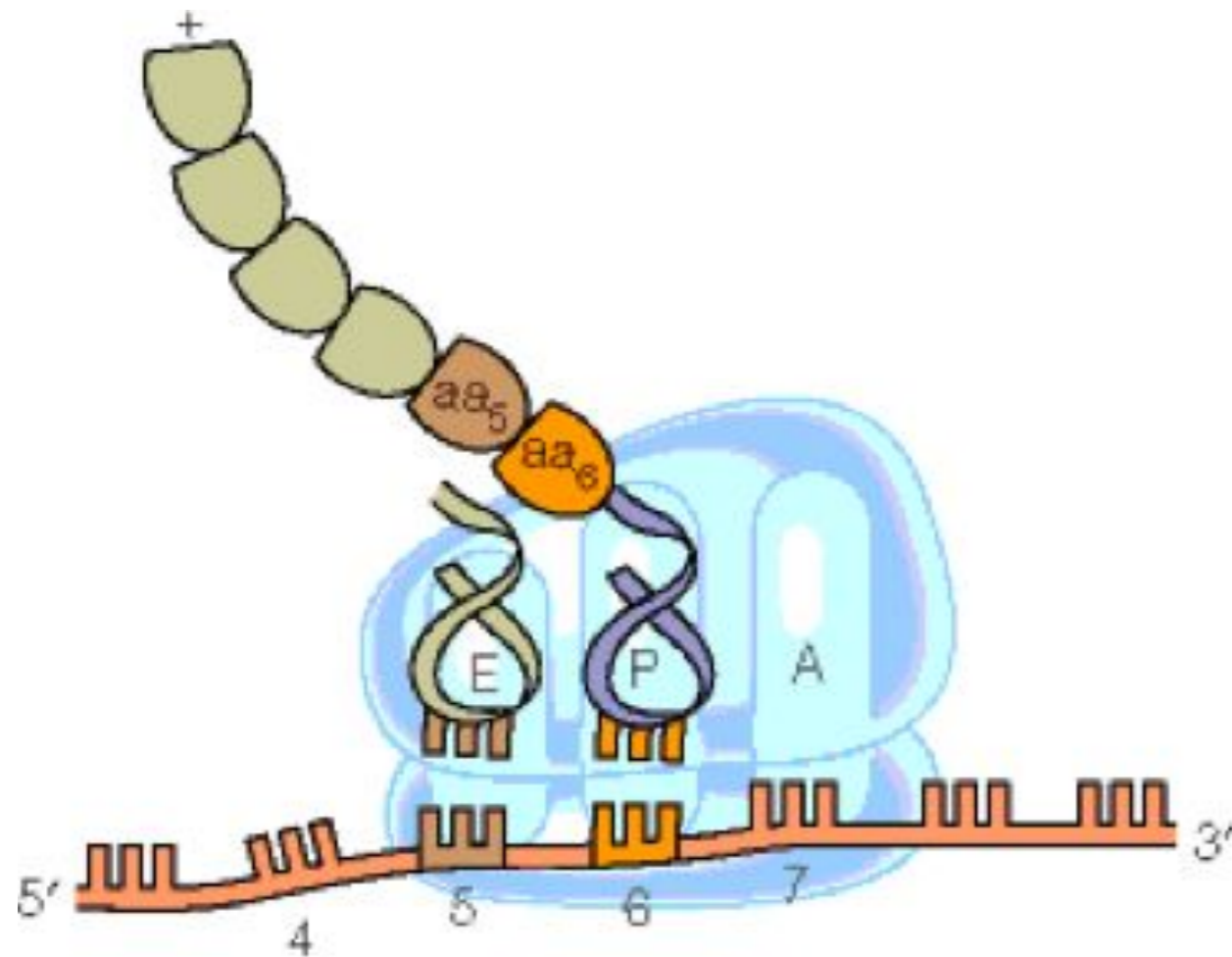
# Транспептидация.



- 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



# Рибосомный туннель



**Конец**