



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Translacja czyli biosynteza białek

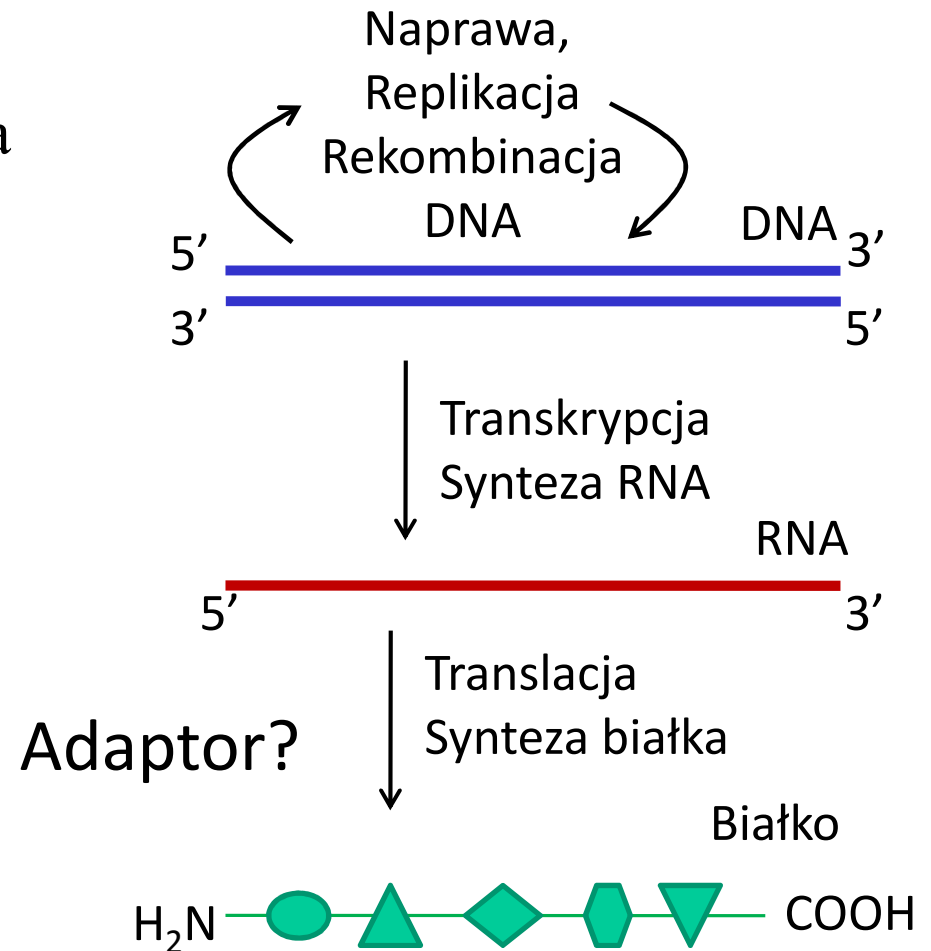
Materiały dydaktyczne współfinansowane ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.

Centralny dogmat biologii molekularnej. Potrzeba istnienia cząsteczki adaptorowej, która pośredniczyłaby pomiędzy sekwencją mRNA a sekwencją aminokwasów w łańcuchu polipeptydowym.

4 nukleotydy
20 aminokwasów
Jak to połączyć?

Jak cztery nukleotydy mogą kodować 20 aminokwasów?

$$4^3=64$$



Możliwe sposoby kodowania aminokwasów przez mRNA –
wyliczenia teoretyczne kod musi być co najmniej trójkowy,
ale czy jest:

Bezprzecinkowy
trójkowy

AAU	AUC	UUU	AAG	GGA	CCU
-----	-----	-----	-----	-----	-----

A1 A2 A3 A4 A5 A6

Bezprzecinkowy
czwórkowy

AAUC	AUCA	UUUA	UAGG	GGAC
------	------	------	------	------

A1 A2 A3 A4 A5

Przecinkowy
Przecinek co
czwarta
trójkowy

AAU	C	AUC	A	UUU	A	UAG	G	GGA	C
-----	---	-----	---	-----	---	-----	---	-----	---

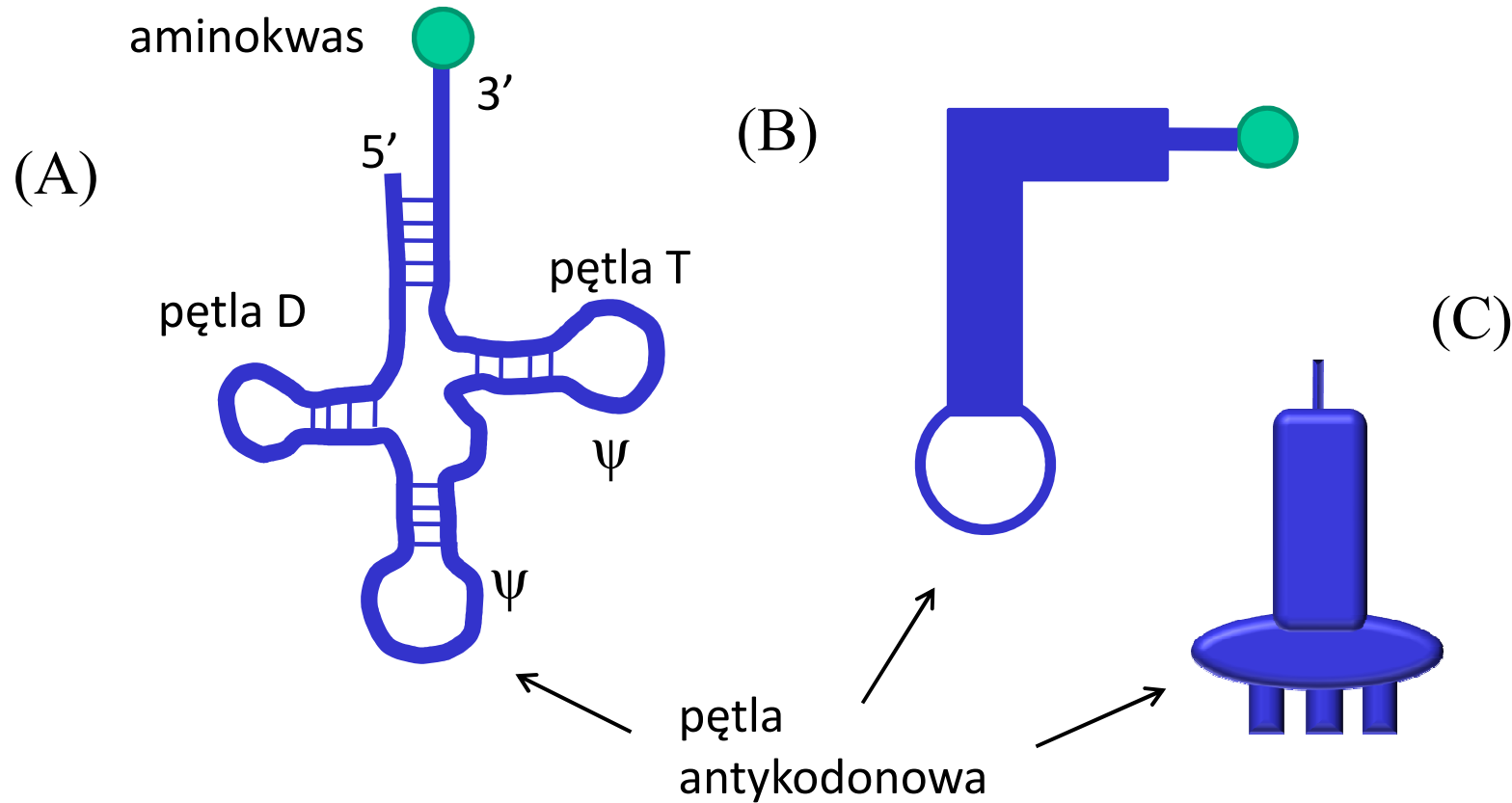
A1 A2 A3 A4 A5

Przecinkowy
G jest przecinkiem

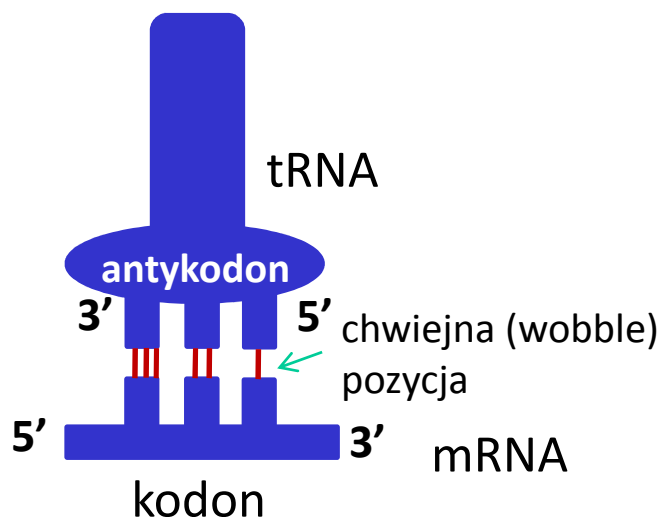
AAU	G	AUC	G	UUU	G	UAA	G	UUA	G
-----	---	-----	---	-----	---	-----	---	-----	---

A1 A2 A3 A4 A5

Budowa cząsteczki tRNA. Ilustracja (A) przedstawia sekwencję cząsteczki tRNA w postaci rozwiniętej tak aby ukazać miejsce parowania się zasad i tworzone w ten sposób dwuniciowe fragmenty oraz pętle. Końcówka 3' występuje w postaci jednoniciowej. To tam do grupy –OH rybozy jest dołączony odpowiedni aminokwas. Ten układ tRNA zwany jest strukturą koniczynki. W cząsteczce tRNA występują modyfikowane zasady: dihydrouracydina i pseudouracydina (ψ) powstające potranskrypcyjnie w wyniku chemicznej modyfikacji uracylu. Na ilustracji (B) schematycznie przedstawiono kształt cząsteczki tRNA w postaci „zwinętej”. Pętle D i T występują w zgięciu. Pętla antykodonowa jest zlokalizowana u dołu. Dla uproszczenia w dalszej części prezentacji tRNA będzie przedstawiane jak na ilustracji (C).



Sposób oddziaływania pomiędzy kodonem i antykodonem.



BAKTERIE

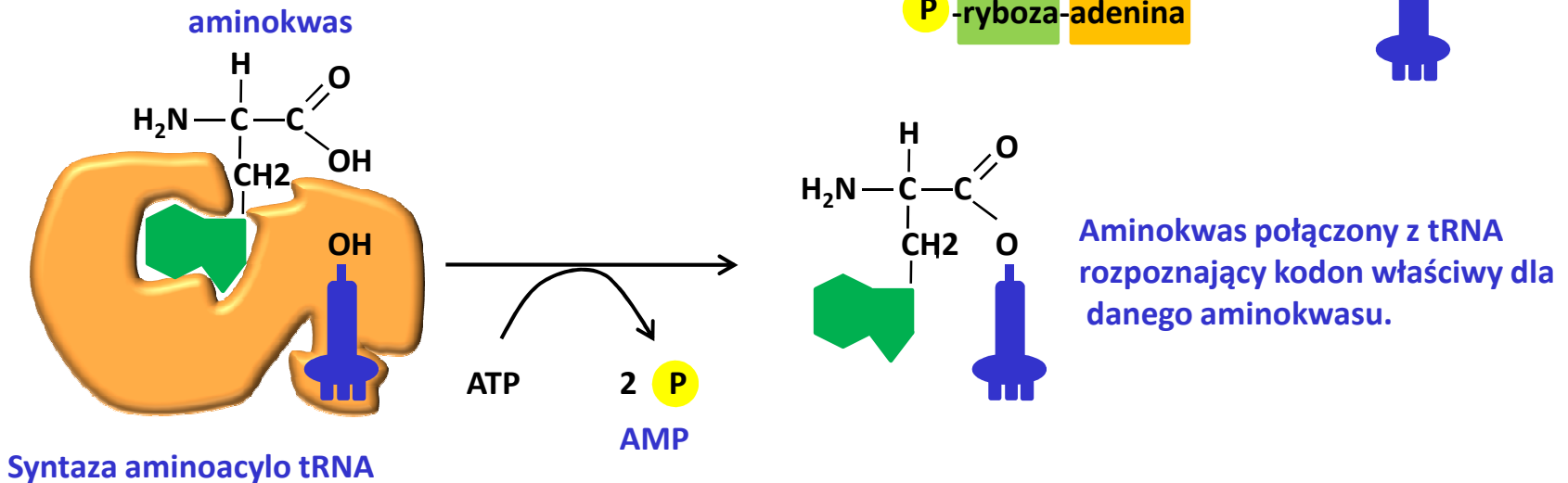
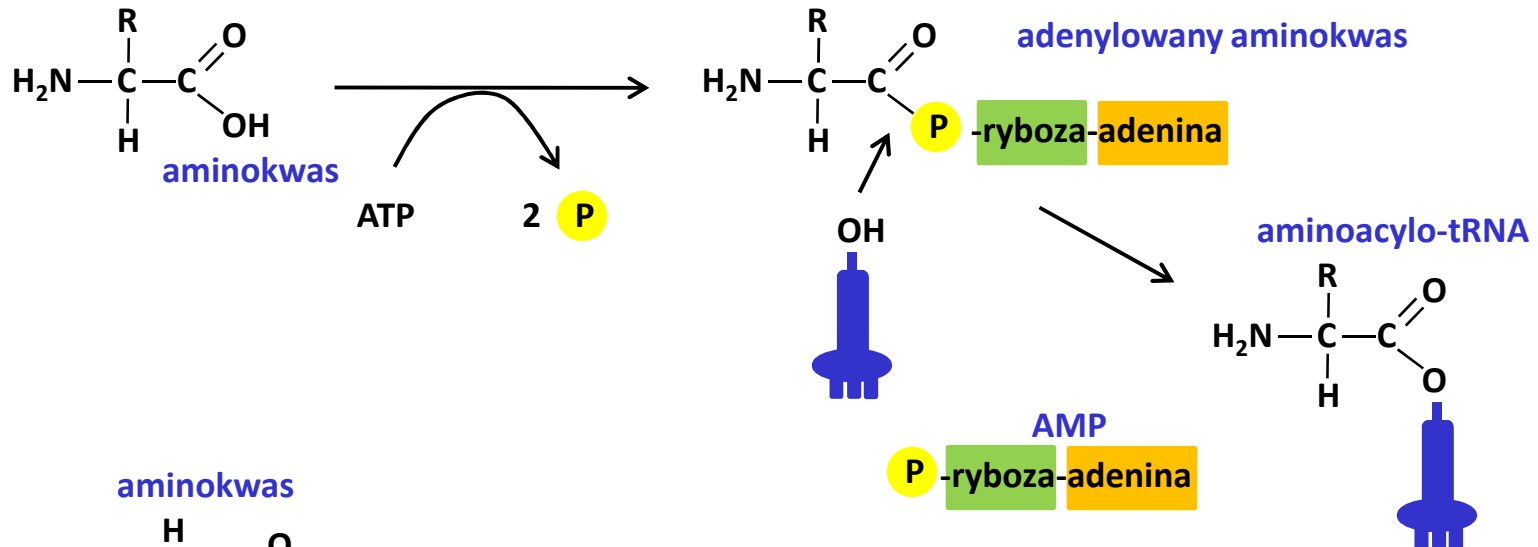
Chwiejna pozycja kodonu	Pasujące zasady antykodonu
U	A, G lub I
C	G lub I
A	U lub I
G	C lub U

EUKARIOTY

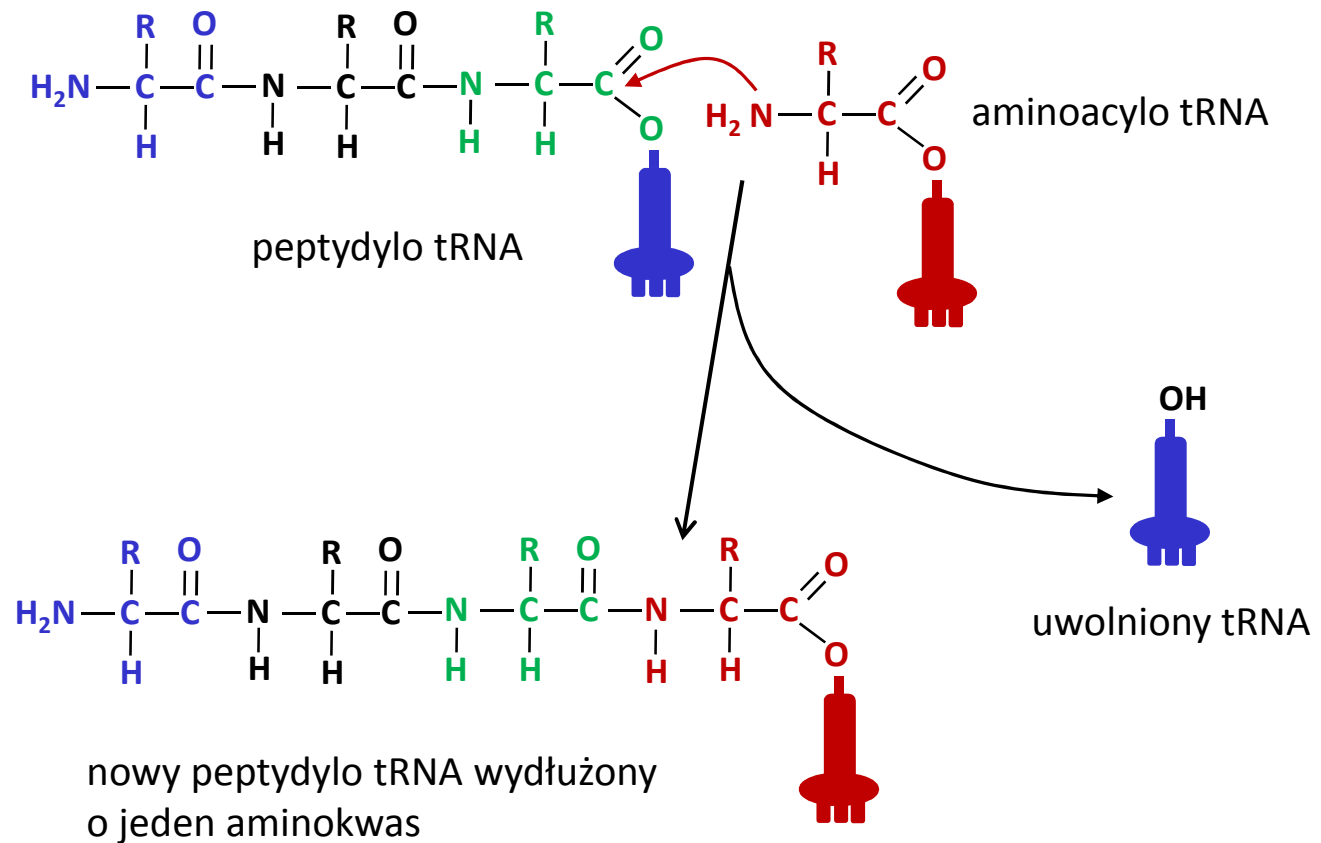
Chwiejna pozycja kodonu	Pasujące zasady antykodonu
U	A, G lub I
C	G lub I
A	U
G	C

Chwiejna (wobble) para zasad występująca podczas parowania kodonu mRNA z antykodonem na tRNA. Trzecia pozycja w kodonie zwana jest chwiejną. Może ona tworzyć parę z każdą z zasad przedstawionych w drugiej kolumnie sąsiedniej ilustracji. Tak więc jeśli w chwiejnej pozycji antykodonu występuje zasada inozyna (I) taki tRNA bakteryjny może rozpoznać trzy różne kodony. W pierwszej i drugiej pozycji kodonu tworzą się tylko klasyczne pary zasad.

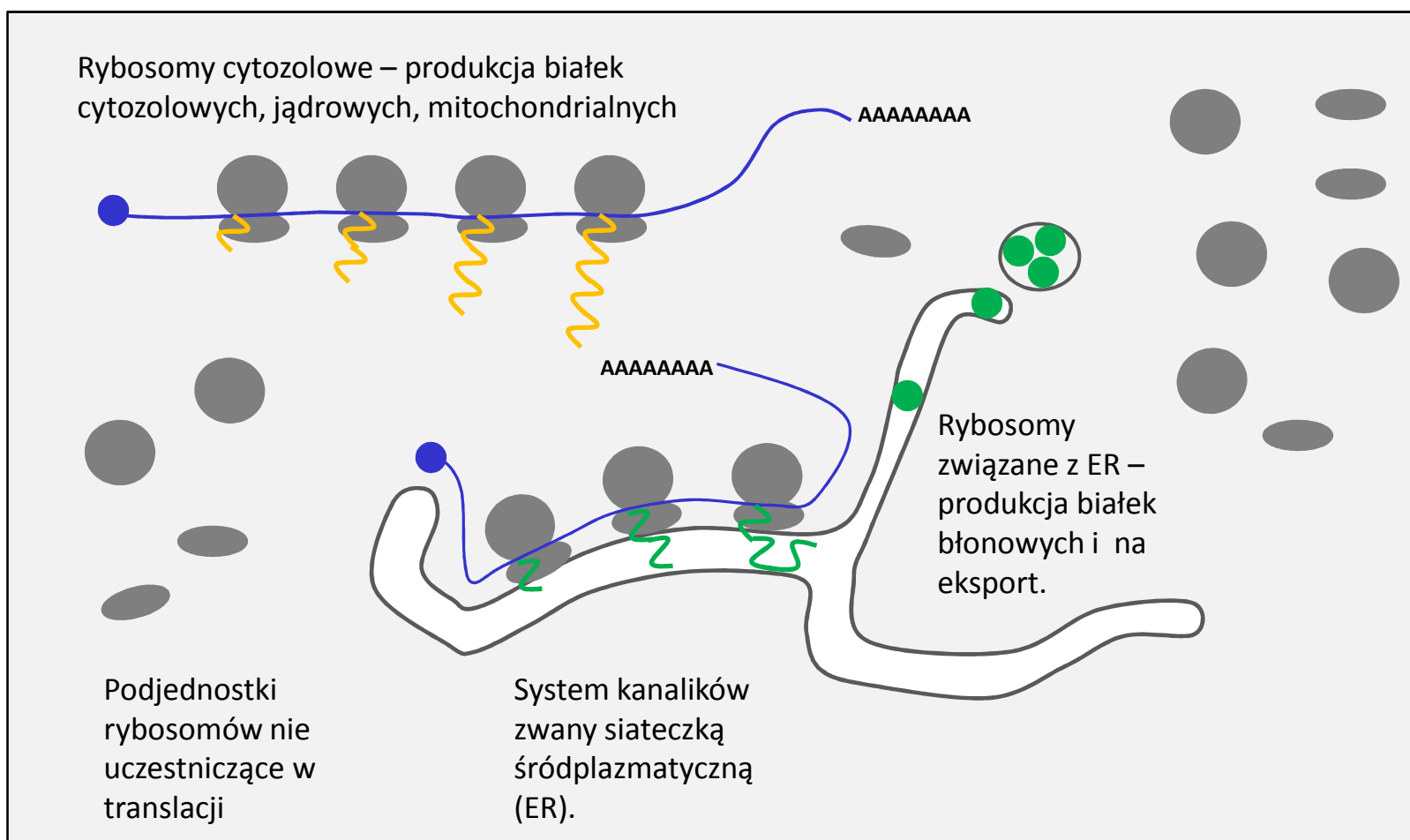
Łączenie aminokwasu z tRNA wymaga zużycia cząsteczki ATP (energia). Ta reakcja ma kluczowe znaczenie w dokładności odczytu kodu - aminokwas musi być połączony z tRNA zawierającym odpowiedni antykodon.



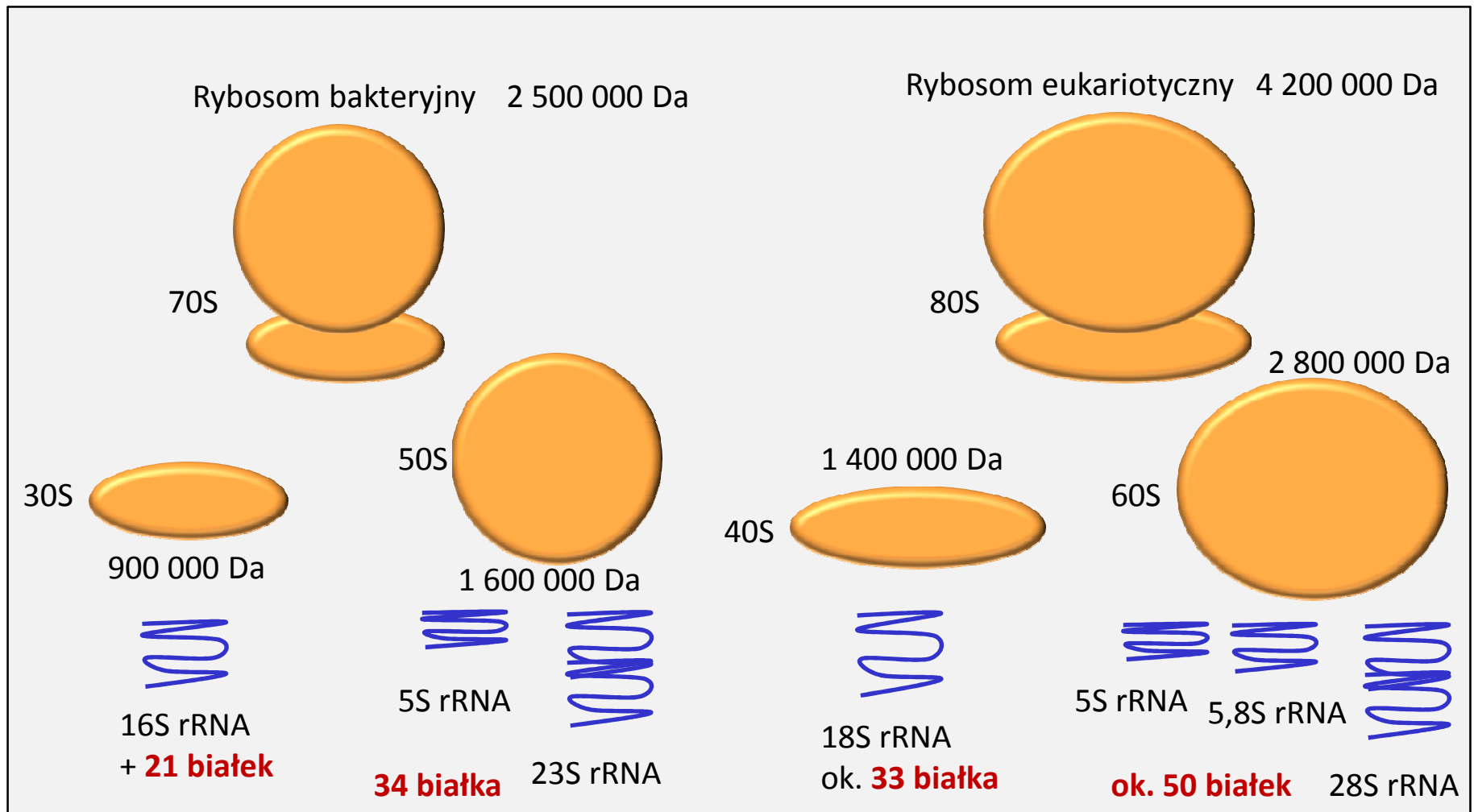
Uproszczony schemat elengacji łańcucha polipeptydowego. W teorii mRNA i załadowane aminokwasem tRNA wystarczyłyby do swoistej syntezy łańcucha polipeptydowego ale aby ten proces mógł rzeczywiście zachodzić potrzebne są rybonukleoproteinowe superagregaty – rybosomy.



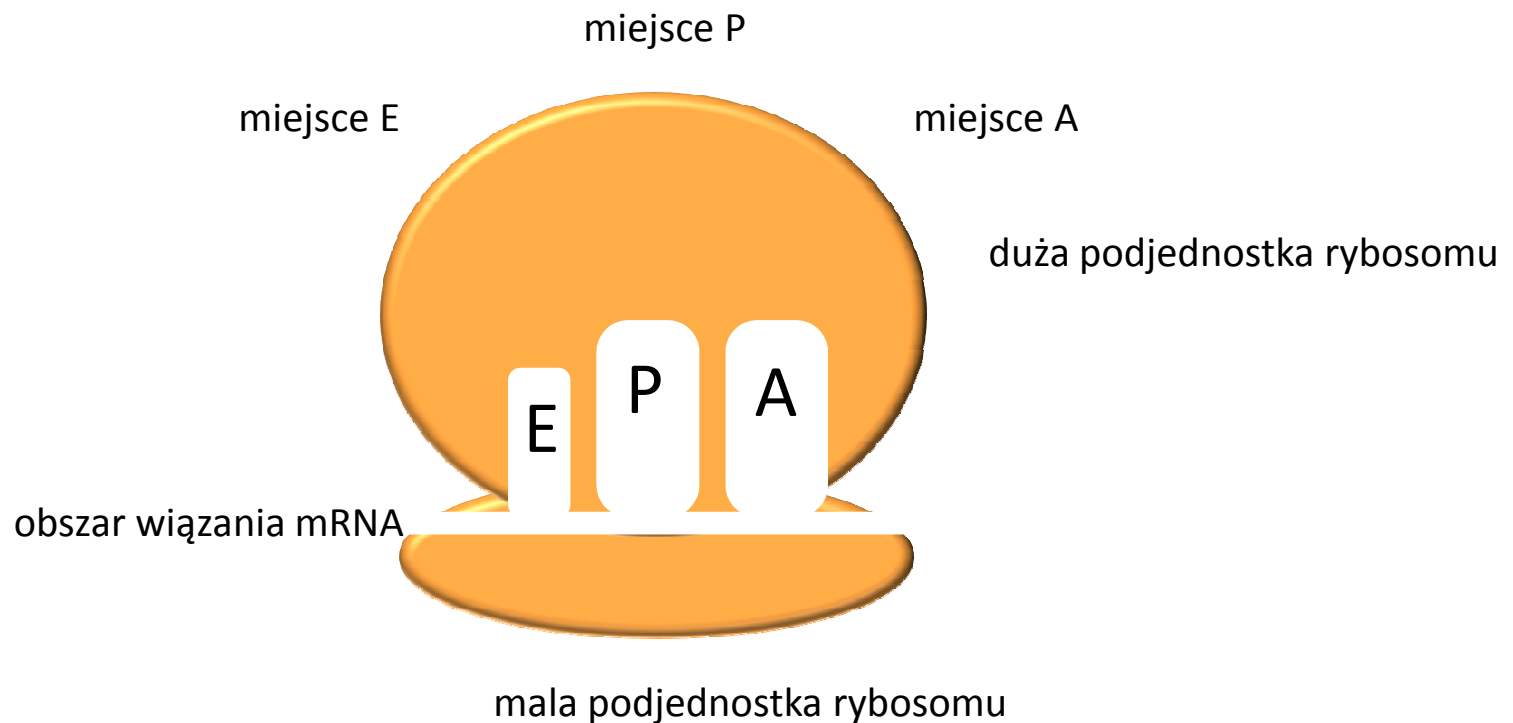
Synteza białka odbywa się w wyspecjalizowanych organellach – rybosomach, składających się z rRNA oraz białek. Rybosomy są widoczne w mikroskopie elektronowym. Składają się z dwóch podjednostek – dużej i małej łączących się tylko na czas syntezy łańcucha polipeptydowego.



Porównanie budowy prokariotycznych i eukariotycznych rybosomów. Rybosomy bakteryjne są nieco mniejsze zawierają bowiem mniej białek oraz krótsze fragmenty rRNA, ponadto większa podjednostka rybosomu eukariotycznego zawiera dodatkową cząsteczkę rRNA. Pomimo różnic ogólny plan budowy oraz syntezy białek jest podobny u organizmów prokariotycznych i eukariotycznych.

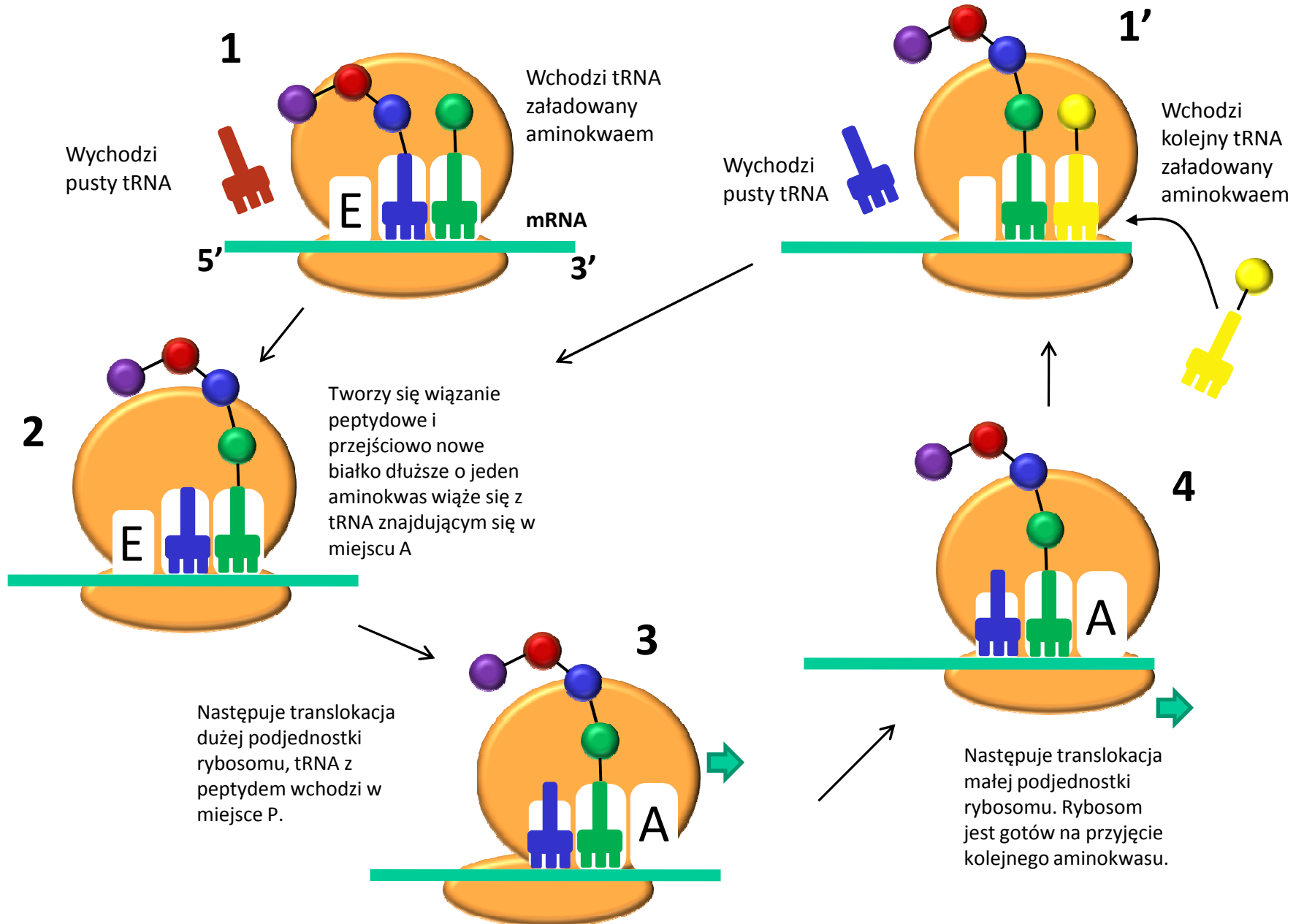


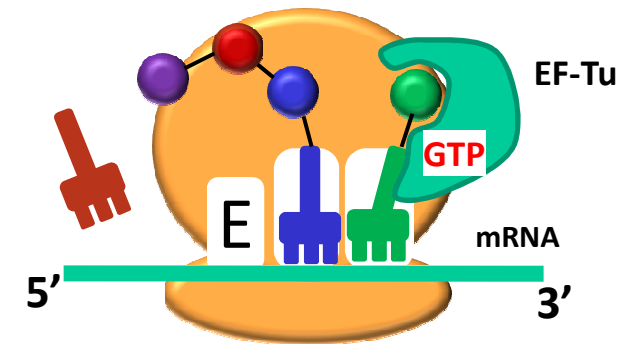
Rybosomy zawierają trzy miejsca (ang. *sites*), w które wchodzi cząsteczki tRNA załadowane bądź łańcuchem polipeptydowym (miejsce P) bądź zaktywowanym aminokwasem (miejsce A). Miejsce E (ang. exit) umożliwia wyjście pustego tRNA.



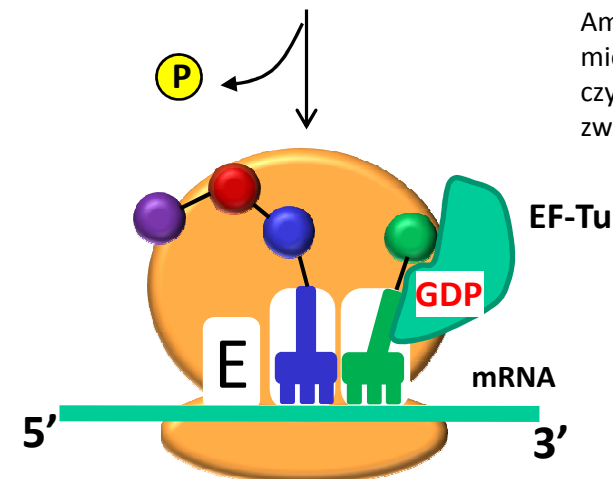
Na podstawie: *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Biosynteza białka - schemat.

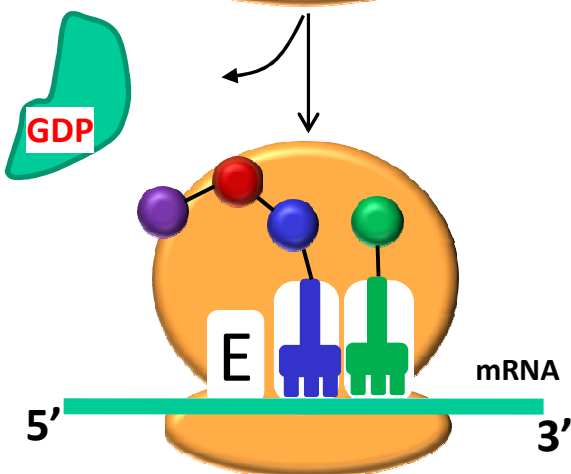




Aminoacylo tRNA wchodzi w miejsce A w towarzystwie czynnika elongacyjnego EF-Tu związanego z GTP.....

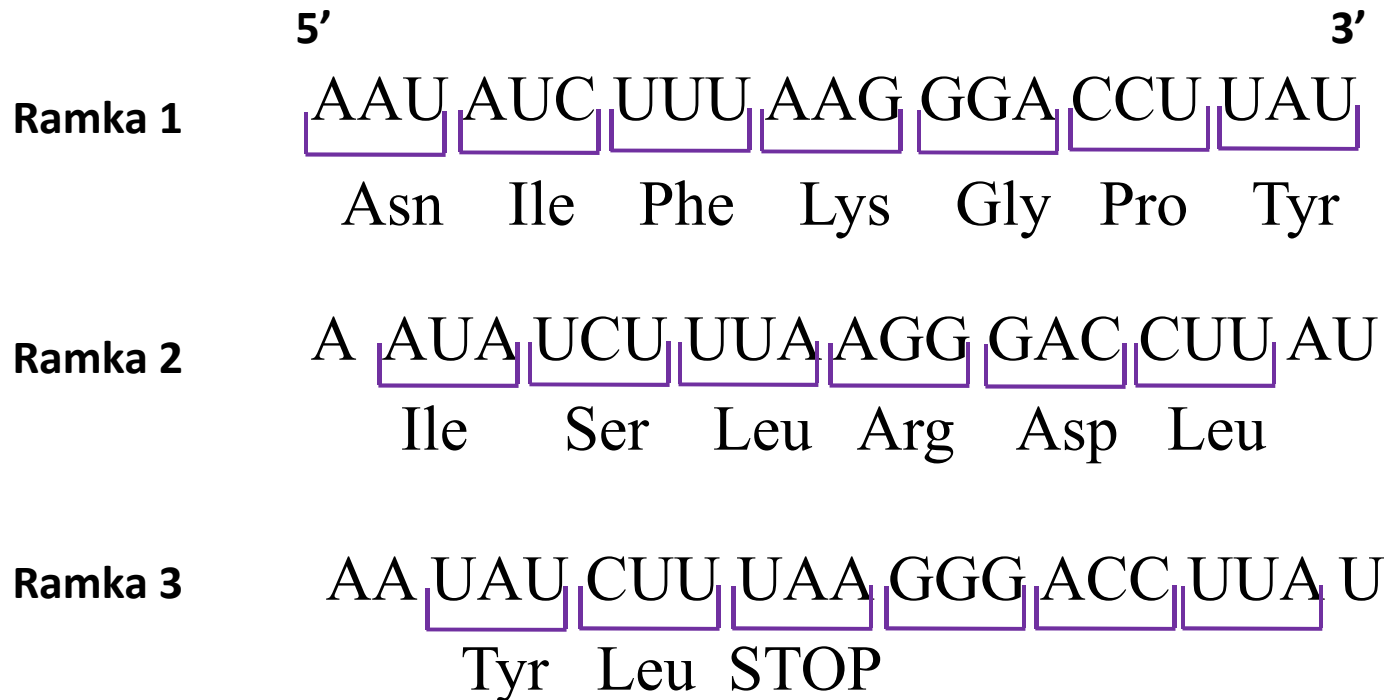


.....jeśli wiązanie kodonu z antykodonem jest poprawne, GTP ulega hydrolizie i czynnik elongacyjny zmienia kształt i oddysocjuje umożliwiając właściwe ustawienie aminokwasu w rybosomie.



Mechanizm sprawdzania poprawności nowo wprowadzonego załadowanego tRNA w miejsce A. Hydroliza GTP wymaga czasu. Jeśli nowy tRNA z aminokwasem był niepoprawny wyskakuje on z miejsca A, jeśli jest poprawny pozostaje w miejscu i może zostać przyłączony do łańcucha peptydowego. W czasie syntezy zaledwie jeden aminokwas na 10 000 zostaje wprowadzony błędnie.

Właściwości kodu genetycznego sprawiają, że na cząsteczce mRNA istnieją trzy tzw. ramki odczytu (ang. *reading frames*), każda posiadająca zdolność kodowania innego łańcucha polipeptydowego.



Jak czytać kod genetyczny

Pierwsza (5') pozycja kodonu	Druga pozycja kodonu				Trzecia (3') pozycja kodonu
	U	C	A	G	
U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr ■ ■	Cys Cys ■ Trp	U C A G
C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G

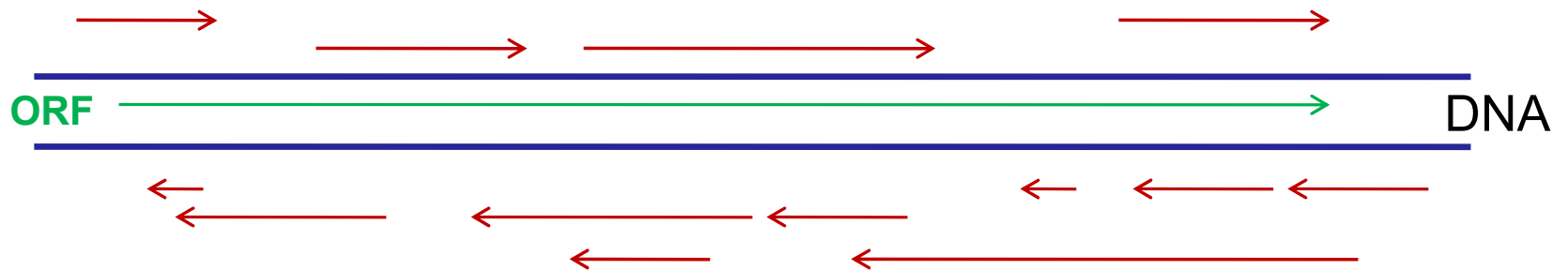
Sposób poszukiwania otwartej ramki odczytu (ORF).

```
TCCGCCGCC GTCCACACCC GCCGCCAGCT CACCATGGAT GATGATATCG
                                     M D D D I A

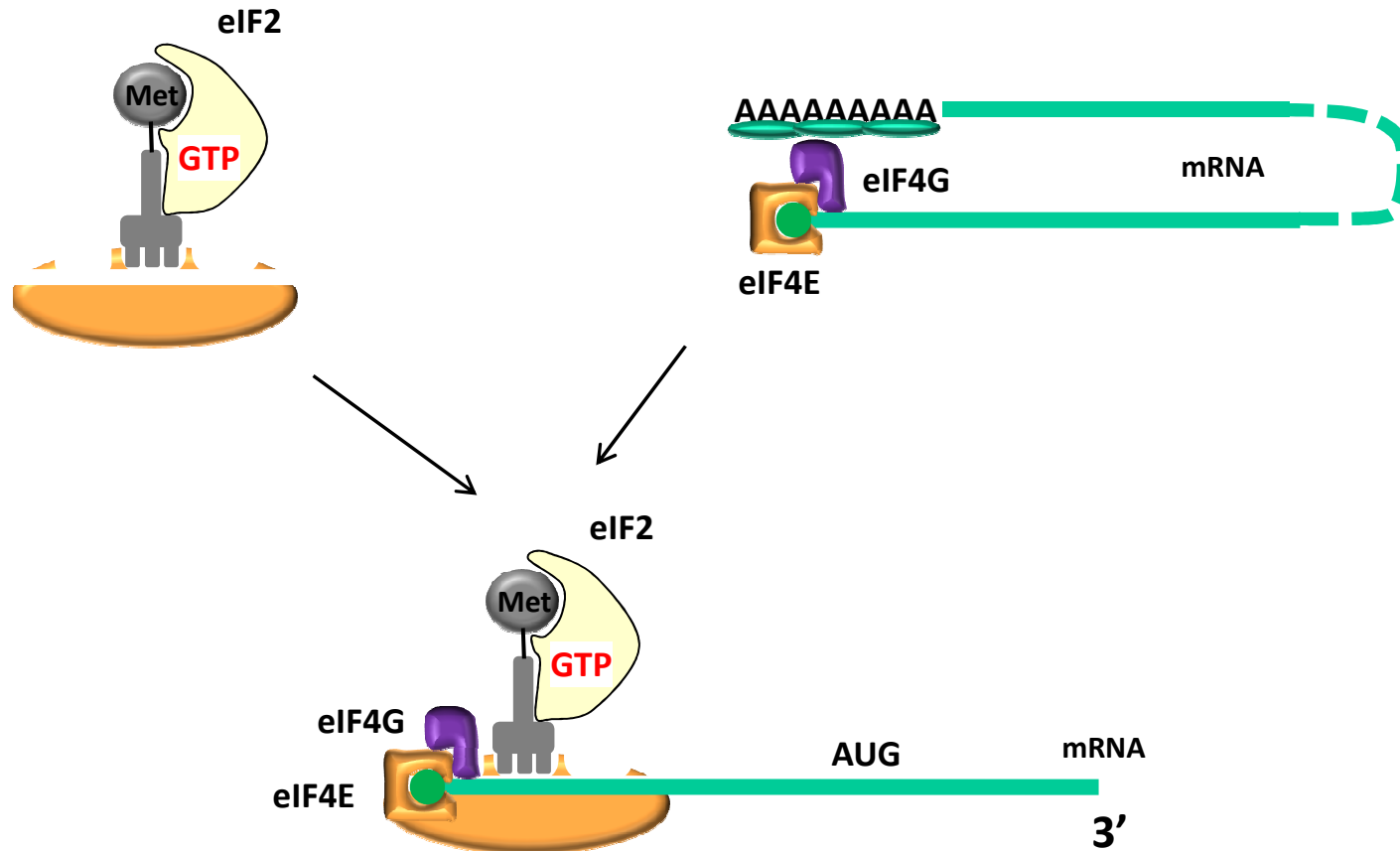
101 CCGCGCTCGT CGTCGACAAC GGCTCCGGCA TGTGCAAGGC CGGCTTCGCG
    A L V V D N G S G M C K A G F A

151 GCGGACGATG CCCCCGGGC CGTCTTCCCC TCCATCGTGG GCGCCCCTAG
    G D D A P R A V F P S I V G R P STOP
```

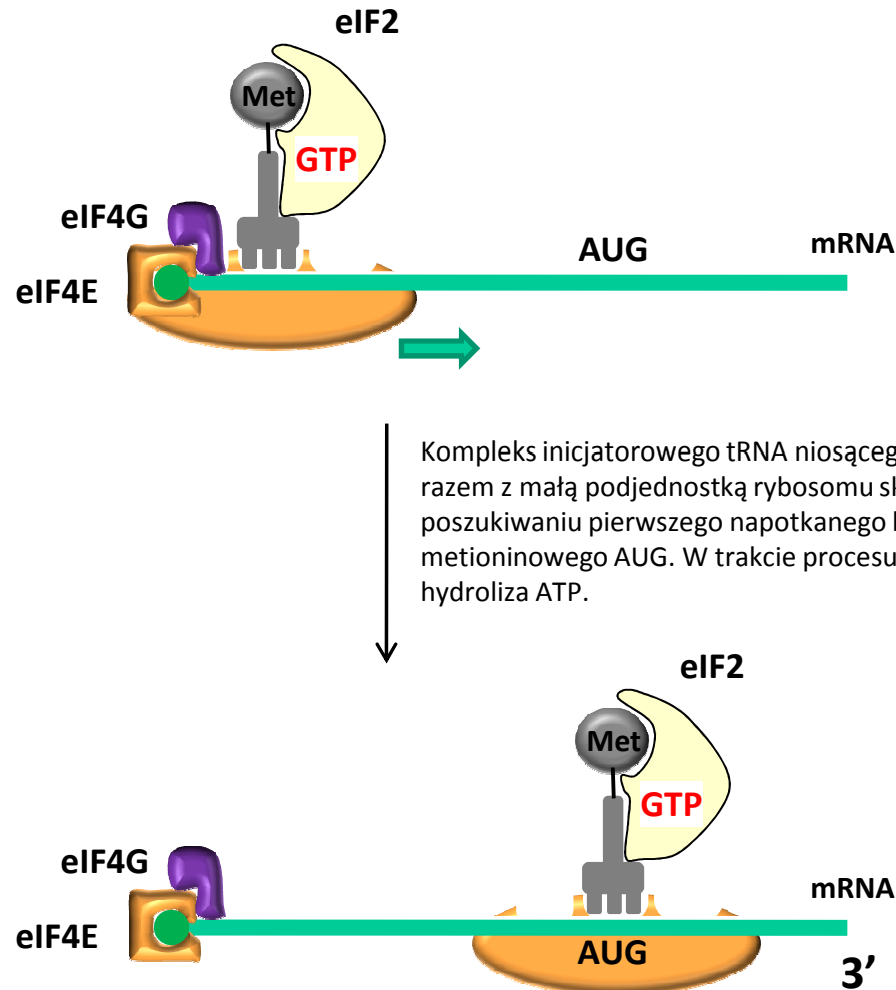
Znaleźć kodon start (ATG) i korzystając z kodu genetycznego tłumaczyć na aminokwasy kolejne kodony. Jeśli powstanie sekwencja polipeptydu dłuższa niż 100 aminokwasów to prawdopodobnie ta sekwencja koduje białko. Jeśli analizujemy nieznaną sekwencję należy przeanalizować 6 ramek odczytu – po trzy z każdej nici. Obecnie poszukiwanie ORF wykonują proste programy komputerowe dostępne on line.



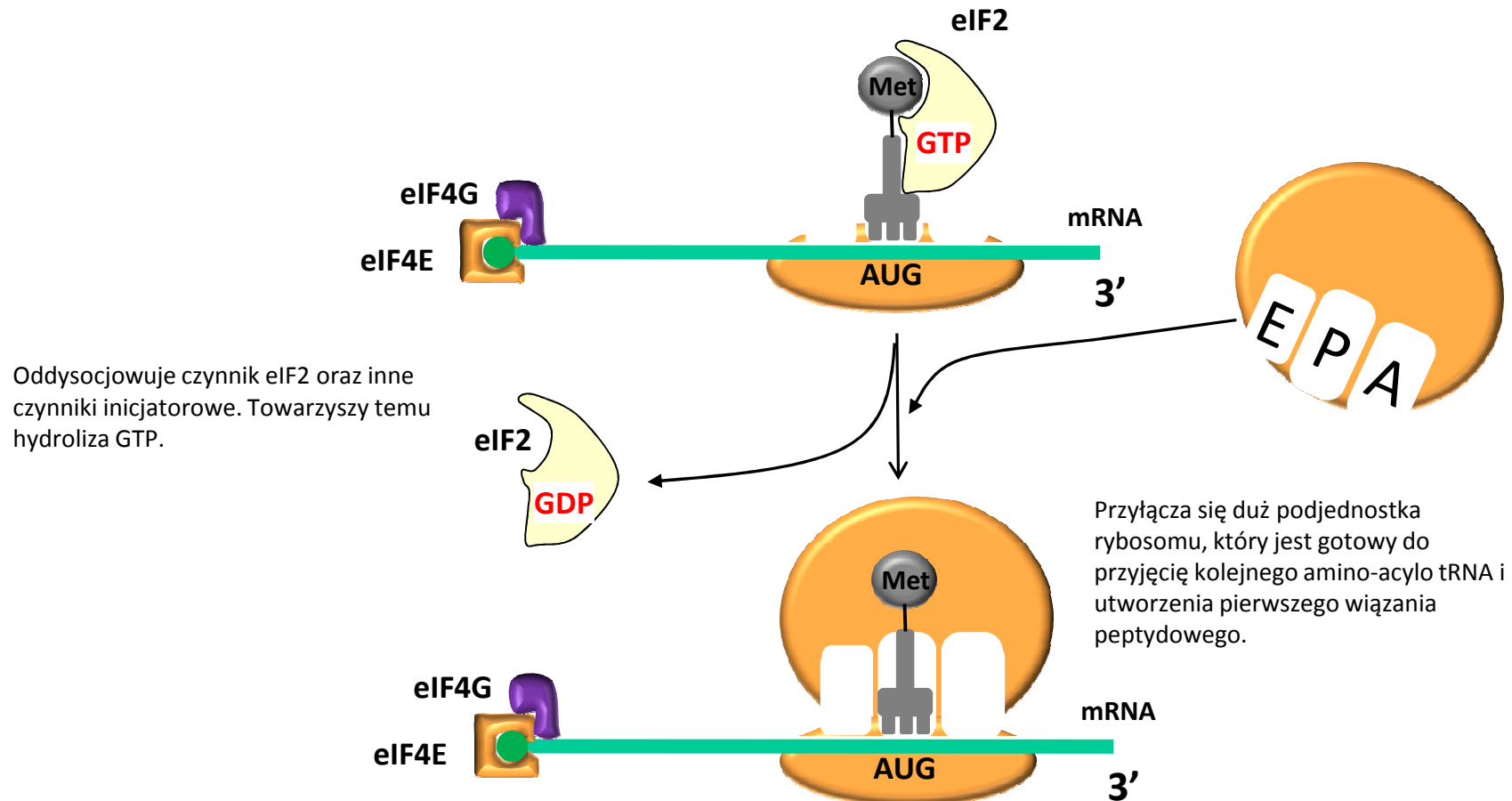
Mechanizm inicjacji syntezy: najpierw mała podjednostka rybosomu łączy się z inicjatorowym tRNA załadowanym metioniną.



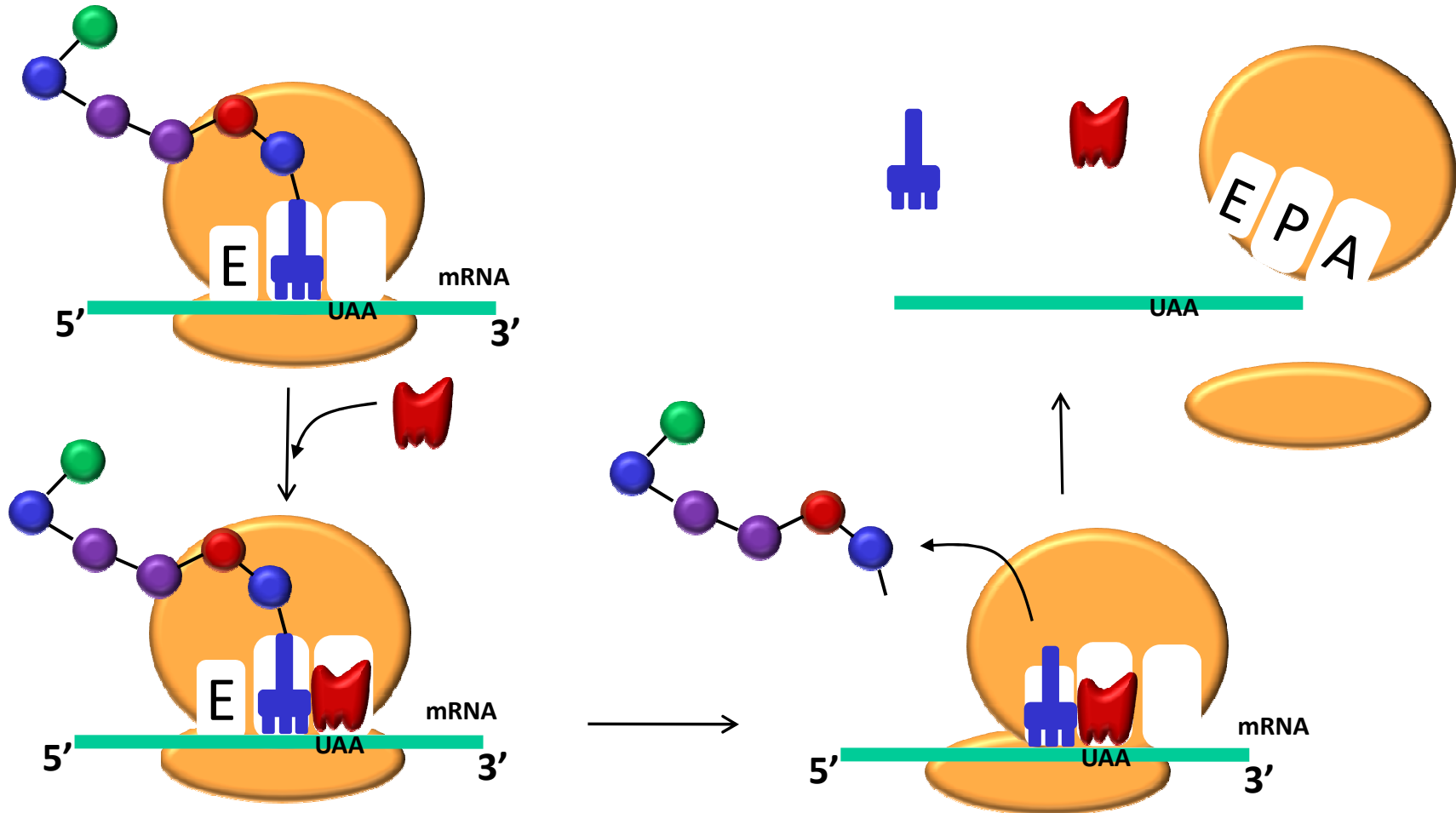
Następnie poprzez skanowanie rozpoznany zostaje kodon AUG.



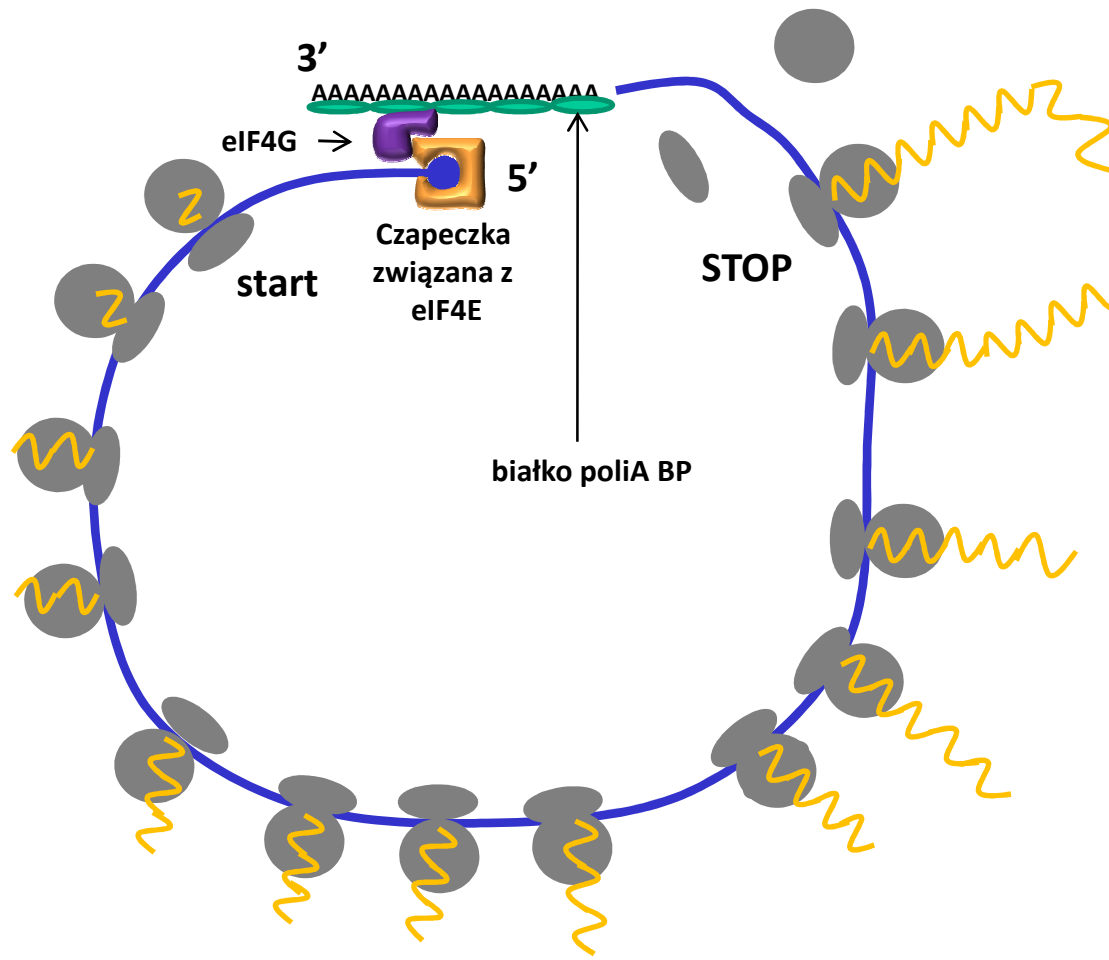
Następnie przyłącza się duża podjednostka rybosomu a czynniki inicjacyjne oddysocjują. Tworzą się warunki do przyłączenia kolejnego tRNA z aminokwasem.



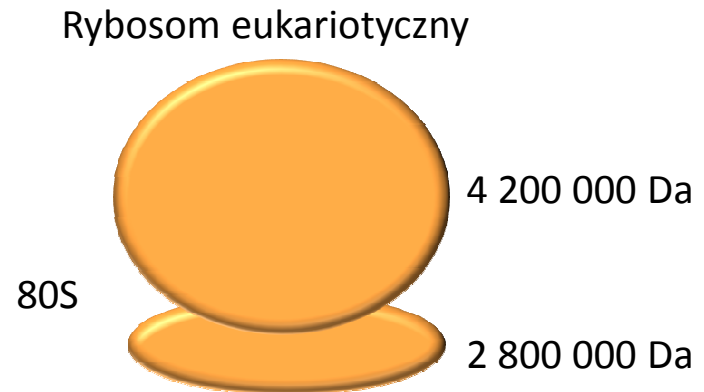
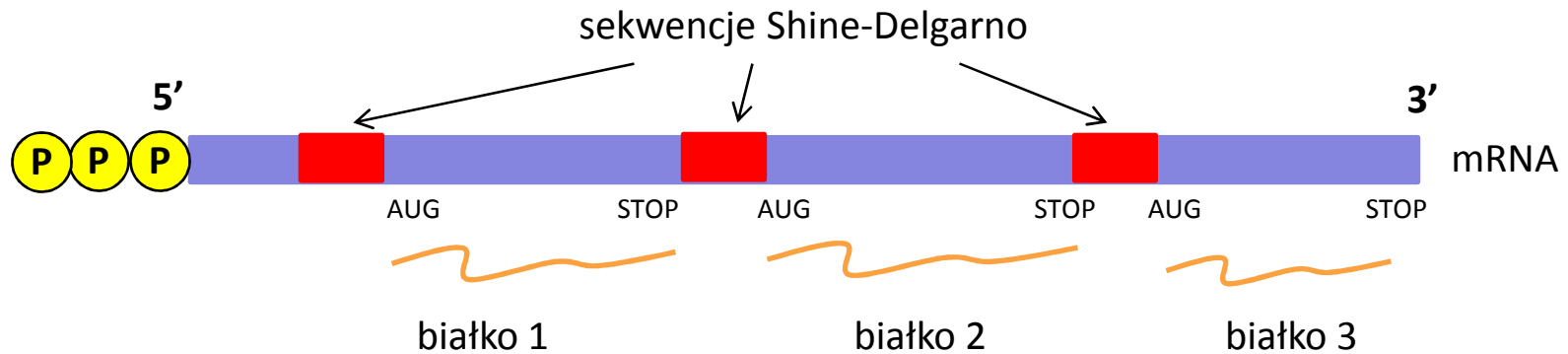
Zakończenie (terminacja) syntezy łańcucha polipeptydowego.
Terminacji towarzyszy oddzielenie mRNA od rybosomu oraz
małej podjednostki od dużej podjednostki rybosomu.



Z jedną cząsteczką mRNA najczęściej łączy się wiele rybosomów produkujących ten sam polipeptyd. Takie polirybosomy można łatwo zauważyć w mikroskopie elektronowym.



Przykład typowego mRNA bakteryjnego. Maszynie translacyjnej prokariotów i eukariotów nieco się różnią. Np. rybosomy bakteryjne są nieco mniejsze. Inicjacja translacji mRNA bakterii nie zależy od „czapeczki” lecz od wyspecjalizowanych sekwencji w mRNA (sekwencje Shine-Delgarno) mogących znajdować się wewnątrz cząsteczki mRNA.



Wiele antybiotyków działa poprzez hamowanie różnych etapów biosyntezy białka. Ponieważ maszyna biosyntezy białka bakterii i eukariotów różni się znacząco możliwa jest stosunkowo duża selektywność antybiotyków.

Inhibitory	Sposób działania
<i>Działające na bakterie</i>	
Tetracyklina	Blokuje wiązanie aminoacylo-tRNA z miejscem A rybosomu.
Streptomycyna	Blokuje przejście między inicjacją a elongacją translacji.
Chloramfenikol	Blokuje reakcję peptydylotransferazy rybosomu.
Erytromycyna	Blokuje kanał wyjściowy na rybosomie hamując elongację łańcucha.
Rifamycyna	Blokuje inicjację syntezy łańcucha RNA wiążąc się z polimerazą RNA.
<i>Działające na bakterie i eukarioty</i>	
Puromycyna	Powoduje przedwczesne zakończenie syntezy łańcucha łącząc się z końcem powstałego polipeptydu.
Aktynomycyna D	Wiąże się z DNA blokując poruszanie się polimerazy RNA wzdłuż matrycy.
<i>Działające na eukarioty</i>	
Cykloheksamid	Blokuje reakcję translokacji na rybosomie.
Anizomycyna	Blokuje powstawanie wiązania peptydowego podczas reakcji translacji.
α -Amanityna	Blokuje synteżę mRNA wiążąc się preferencyjnie z polimerazą II RNA.

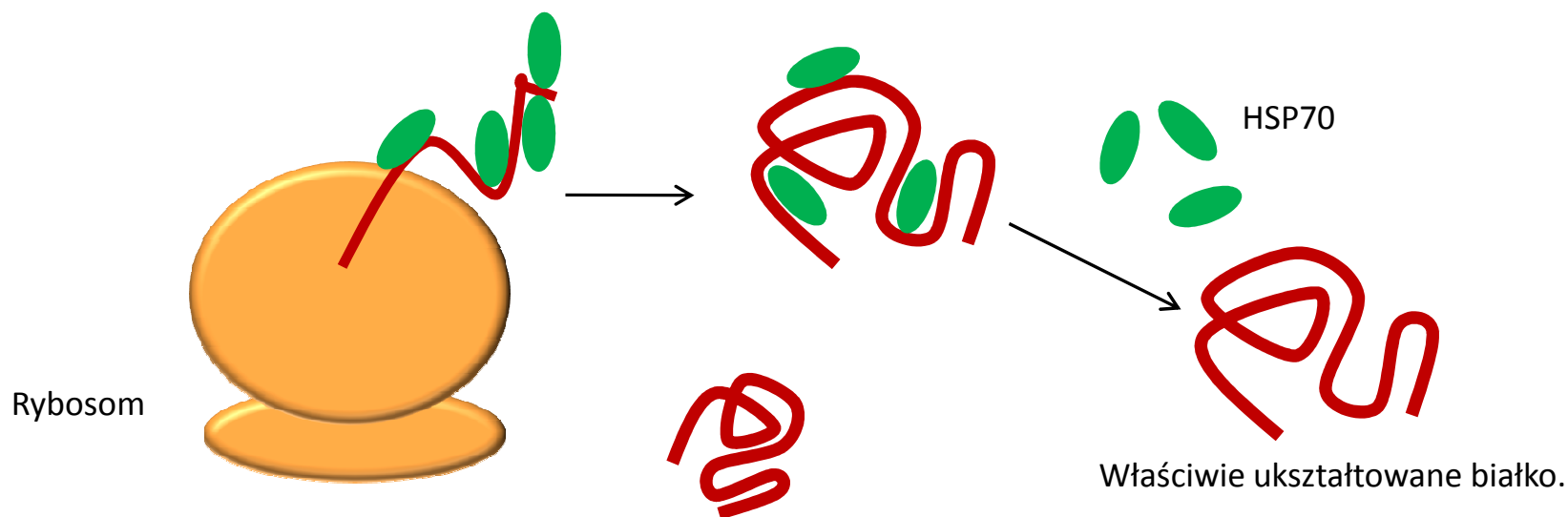
Mitochondria mają kod genetyczny, który nieco różni się od kodu uniwersalnego.

kodon	Kod uniwersalny	Kod mitochondrialny			
		ssaki	bezkęgowce	drożdże	rośliny
UGA	STOP	Trp	Trp	Trp	STOP
AUA	Ile	Met	Met	Met	Ile
CUA	Leu	Leu	Leu	Thr	Leu
AGA	Arg	STOP	Ser	Arg	Arg
AGG					

Fałdowanie się białka odbywa się już podczas translacji. W poprawnym fałdowaniu białek biorą udział tzw. białka opiekuńcze z rodziny HSP.

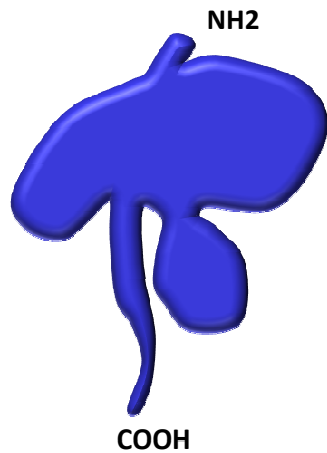
Opiekuńcze białka z rodziny HSP70 (zaznaczone na zielono) łączą się z nowo powstającym łańcuchem polipeptydowym (czarwone pasmo) pomagając mu właściwie się ukształtować.

Po właściwym ukształtowaniu się łańcucha białka HSP oddysocjują. Białka HSP zużywają do pracy energię w postaci hydrolizy ATP.



Niewłaściwie ukształtowane białko przeznaczone jest do degradacji poprzez napiętnowanie specjalnym białkiem zwanym ubikwityną.

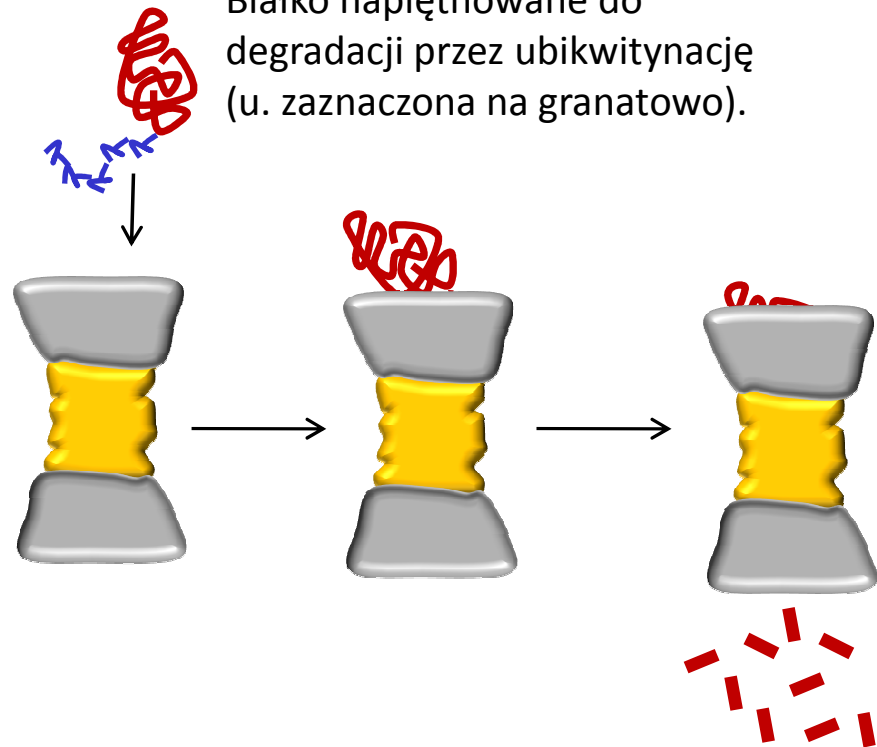
Niepoprawnie ukształtowane cząsteczki białek lub białka o krótkim czasie półtrwania są piętnowane do degradacji przez dołączenie krótkiego polipeptydu (ubikwityny) i degradowane w proteosomie.



Przybliżony kształt ubikwityny. Łączy się ona z docelowymi białkami karboksylową grupą ostatniego aminokwasu.

Degradacja białka w proteosomie

Białko napiętnowane do degradacji przez ubikwitynację (u. zaznaczona na granatowo).

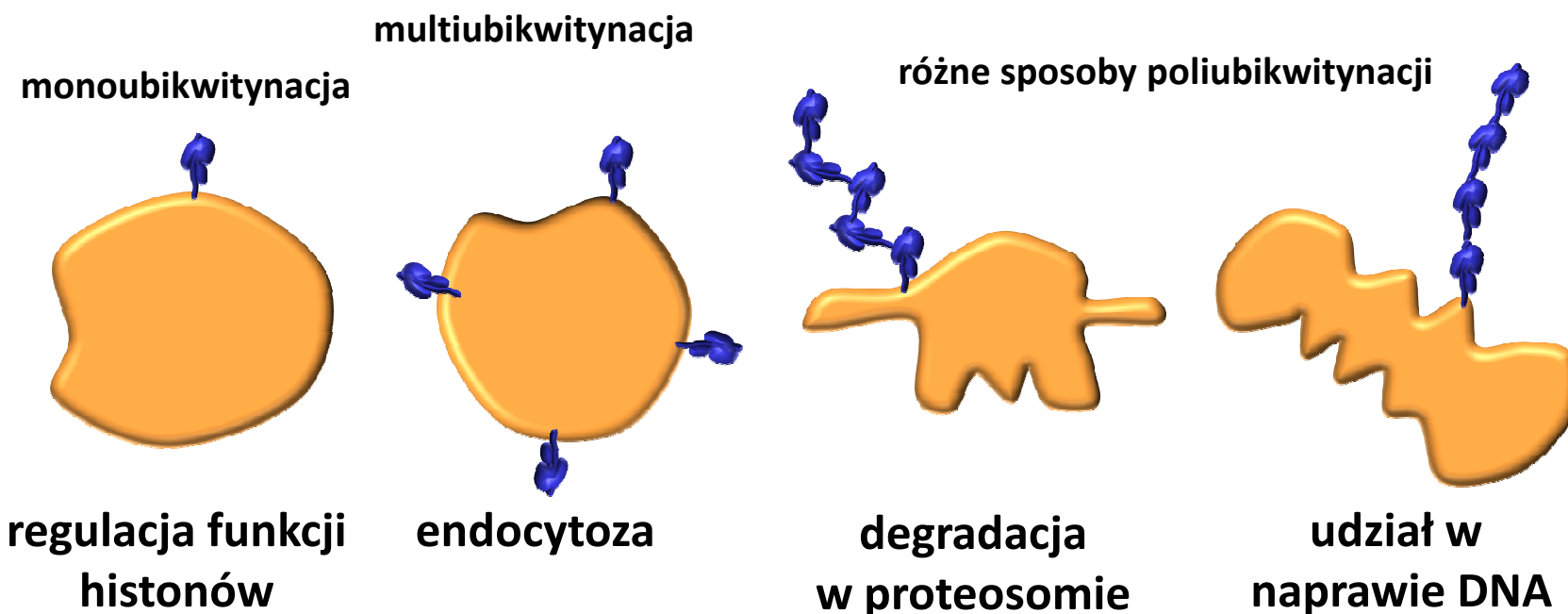


Centralny cylinder zawierający proteazę.

Czapeczka

Struktura proteosomu

Napiętnowanie białek do degradacji przez poliubikwitynację jest tylko jedną z funkcji ubikwityny (cząsteczka z lewej strony ilustracji). Inną, ważną funkcją jest regulowanie lokalizacji i sposobu działania białek poprzez dołączenie jednej, kilku lub wielu cząsteczek ubikwityny. Ważny jest również sposób rozgałęziania reszt poliubikwitynowych. W komórce istnieją ponadto białka ubikwitynopodobne (SUMO) również regulujące lokalizację i funkcje białek.





KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Materiały dydaktyczne współfinansowane ze
środków Unii Europejskiej w ramach
Europejskiego Funduszu Społecznego.
