

Термин IV:

Лекции:

Генетски код

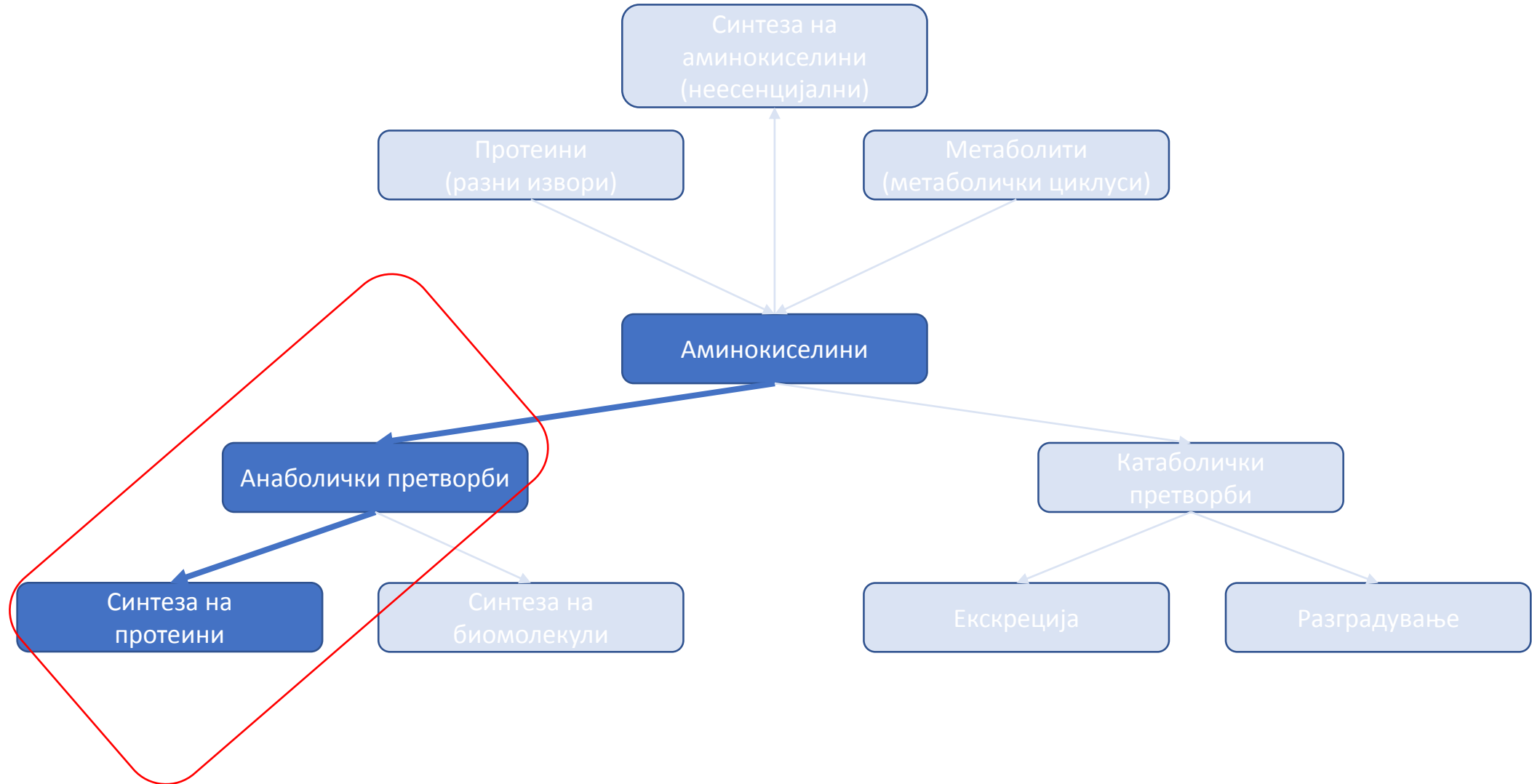
Биосинтеза на протеини

Регулација на биосинтеза на протеини

Што ќе биде опфатено во предавањата?

- Поим за генетски код и негово значење
- Врска помеѓу DNA, mRNA, tRNA и аминокиселините во синтеза на протеини
 - Код, кодон, антикодон
 - tRNA во синтезата на протеини
 - Поим за рибозоми и нивна структура и улого во синтезата на протеини
- Фази во синтеза на протеини
 - Активација на аминокиселини
 - Иницијација
 - Елонгација
 - Терминација
 - Посттранслациони модификации
- Регулација на синтеза на протеини

Биосинтезата на протеини е насложениот процес во метаболизмот на протеините



Синтезата на протеини историски претставува еден од најголемите предизвици за научниците

- На една типична клетка во секој момент ѝ се потребни илјадници протеини.
- Во процесот на синтетизирање на полипептидите се вклучуваат околу 300 различни макромолекули. Многу од овие макромолекули се организирани во сложената тридимензионална структура на рибозомот.
- За синтеза на протеините се трошат дури 90% од севкупната хемиска енергија која ја користи клетката за сите биосинтетички реакции.
- Протеините се синтетизираат со огромна брзина (и покрај сложеноста на механизмите). На пример, полипептид од 100 протеински остатоци во клетката на *Escherichia coli* на температура од 37 °C се синтетизира за околу 5 секунди.
- Синтезата на протеини зависи од нуклеинските киселини – RNA
- Постои тесна врска помеѓу DNA (носител на генетската информација) – RNA (врска/преносна форма) и ПРОТЕИНИ (финален производ)

Генетскиот код ја определува секоја аминокиселина и е клучен при изведување на синтеза на протеини

- Три откритија се клучни за разбирањето на сложениот механизам на синтеза на протеини.
- Секое откритие е поврзано со прашања кои научниците настојувале да ги одговорат.

Каде во клетката се одвива синтезата на протеини?

Какви молекули/ензими учествуваат во синтезата на протеини

На кој начин се остварува врската помеѓу генетската информација за синтеза на некој протеин и самата синтеза?

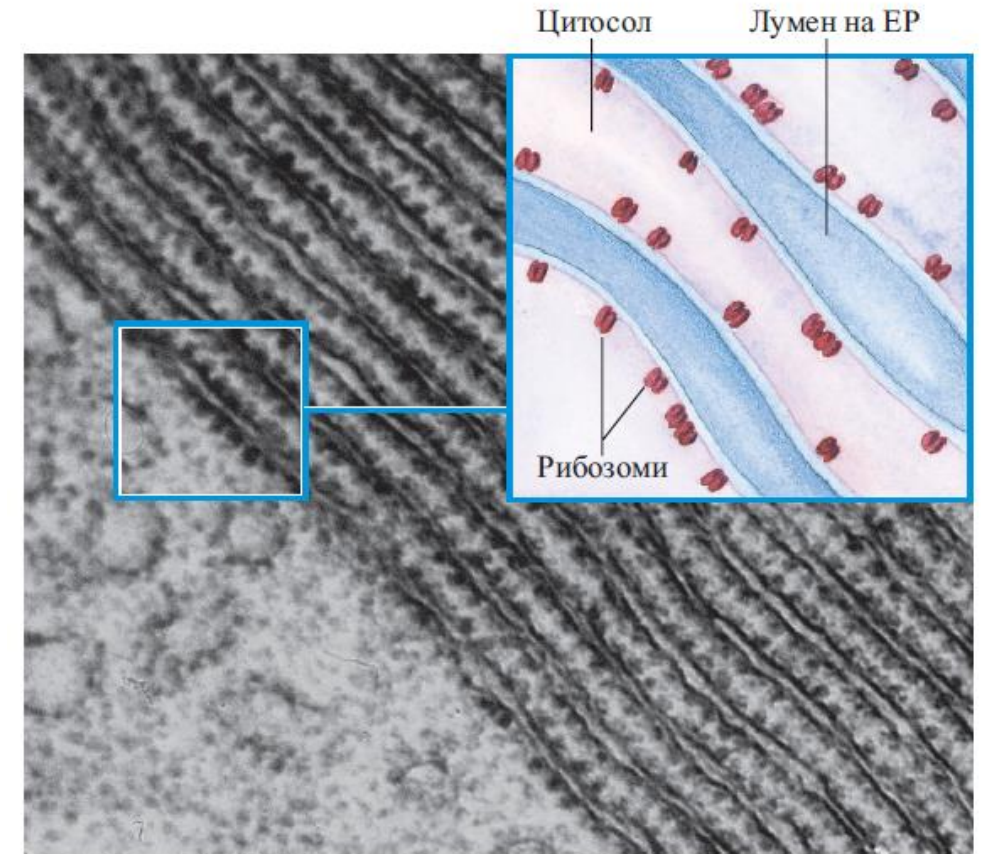
Каде во клетката се одвива синтезата на протеини?

Експерименти во раните 1950-ти години биле правени од страна на Пол Замецник и соработниците.

- Експериментите биле со изотопски-обележани аминокиселини.
- Подготовка на субклеточни фракции од хомогенизирано ткиво и следење на распространетоста на обележаните аминокиселини низ фракциите во различни временски интервали (часови, денови).

Резултат: неколку минути од инјектирањето, изотопски означените протеини се појавиле само во фракцијата која содржи мали рибонуклеопротеински честички (рибозоми).

Заклучок: Синтезата на протеини се одвива на ниво на рибозомите во клетките.

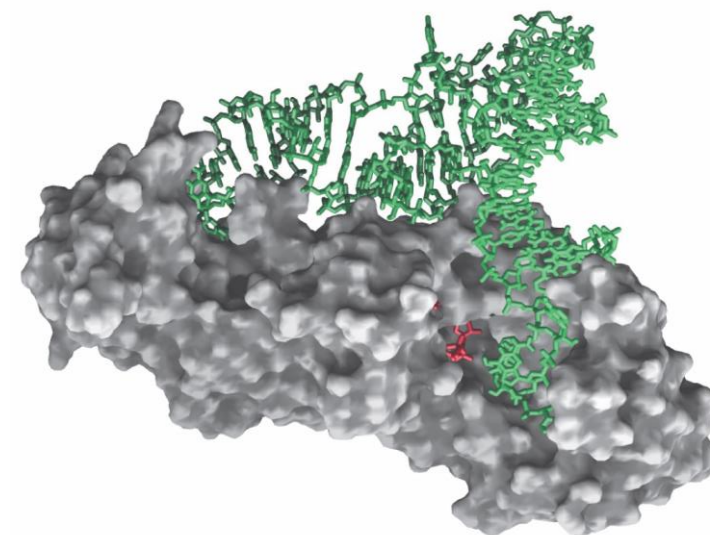


Какви молекули/ензими учествуваат во синтезата на протеини

Експерименти од Малон Хоугланд и Пол Замецник. Тие инкубирале цитосолска фракција од клетките со АТР. Аминокиселините од фракцијата се прикачувале за термостабилна растворлива RNA и образувале аминокацил-tRNA. Ензими - аминокацил-tRNA синтетази.

Резултат: аминокиселините се „активираат“ кога ќе се инкубираат со АТР и цитосолска фракција на клетки од црниот дроб (хепатоцити).

Заклучок: транспортна RNA преку ензимски катализирана реакција се сврзува со аминокиселините при што се образуваат аминокацил-tRNA.



Аминокацил-tRNA синтетаза учествува во „активирање“ на аминокиселините, односно нивно сврзување со молекула на tRNA. Препознавањето е специфично и точно определена аминокиселина се сврзува со точно определена tRNA.

На кој начин се остварува врската помеѓу генетската информација за синтеза на некој протеин и самата синтеза?

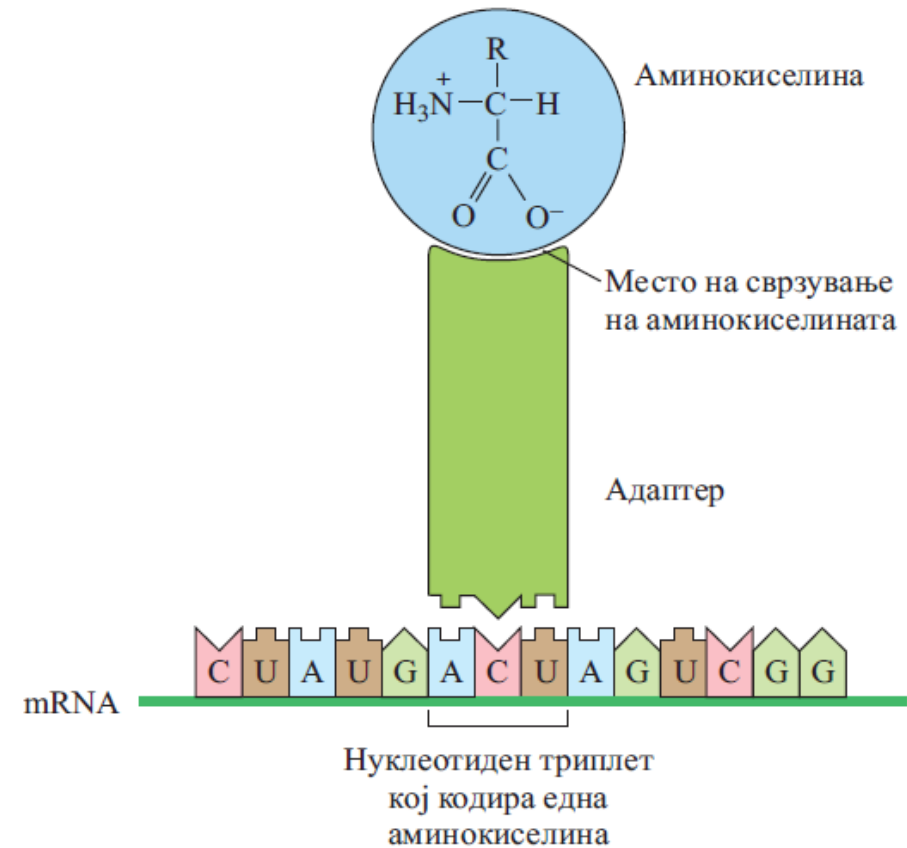
Франсис Крик го претпоставил начинот на кој генетската информација кодирана во DNA (4 бази) се преведува во протеин (20 АК).

Хипотеза – RNA има улога на адаптер кој со едниот крај се сврзува за специфична аминокиселина, а со другиот крај ја препознава DNA.

Оваа хипотеза била и докажана. Свкупниот процес на синтезата на протеините воден од mRNA се нарекува транслација.

Резултат: tRNA адаптерот ја „преведува“ нуклеотидната секвенца на mRNA во аминокиселинска секвенца на соодветниот протеин.

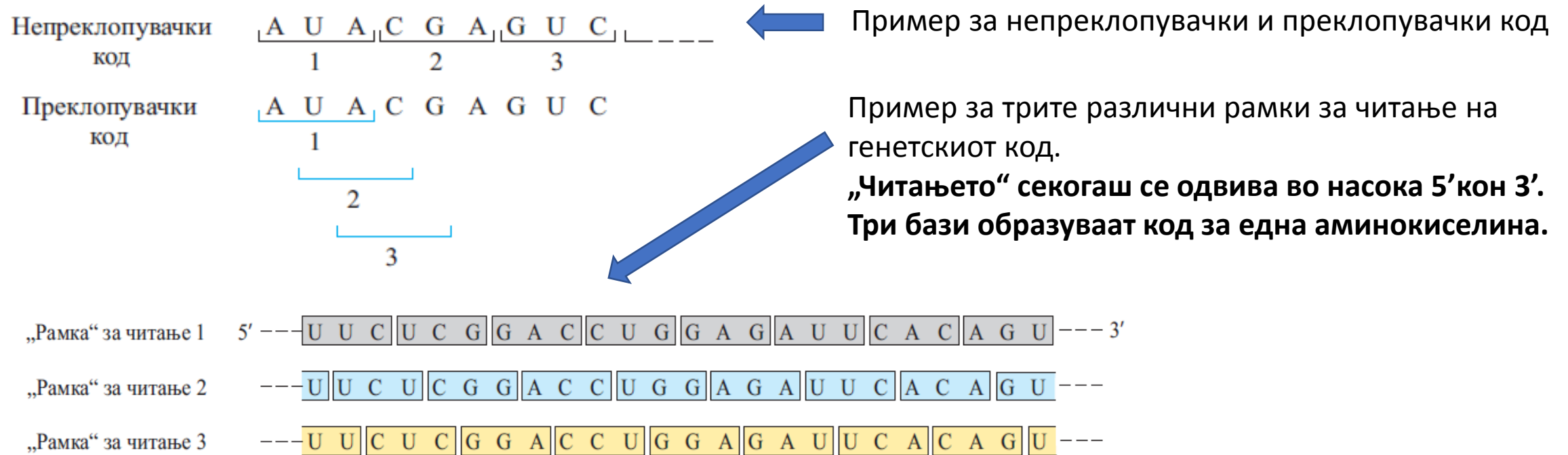
Заклучок: Синтезата на протеини се одвива преку транслација на информацијата од DNA, преку mRNA (и во посредство на tRNA).



Со транслација се „чита“ гентскиот код и се преведува од јазикот на нуклеинските киселини во јазикот на аминокиселините

- Предизвик: 4 бази во DNA (А-аденин, Г-гванин, С-цитозин и Т-тимин) треба да се употребат за да формираат уникатни кодови за секоја од 20-те аминокиселини.
- Најмалку три нуклеотидни остатоци се потребни за кодирање на секоја аминокиселина ($4^2 = 16$ различни комбинации – недоволно; $4^3 = 64$ различни комбинации – доволно)
- КОД – триплет од нуклеотиди во структурата на DNA кои носат информација за потребната (специфична) аминокиселина.
- КОДОН – кодон означува триплет од нуклеотиди во mRNA кои ја пренесуваат информацијата од DNA за да кодираат специфична аминокиселина.
- НЕПРЕКЛОПУВАЧКИ И ПРЕКЛОПУВАЧКИ КОДОВИ - Непреклопувачки генетски кодови - кодоните следуваат еден по друг и немаат заеднички нуклеотиди. Преклопувачките кодови - некои нуклеотиди се заеднички за различни кодони.
- РАМКИ ЗА ЧИТАЊЕ – начин на кој се избира триплетот на бази кој ќе означи соодвета аминокиселина.

Карактеристиките на генетскиот код се важни за правилно разбирање на синтезата на протеини



Голем број експерименти и научници работеле на „дешифрирањето“ на генетскиот код и утврдување на парот mRNA кодон – аминокиселина.

КОД, КОДОН, АНТИКОДОН...

- Важно е да се запомни – синтезата на протеини ја „диктира“ информацијата запишана во структурата на DNA.
- Која е разликата меѓу поимите за код, кодон и антикодон?
- КОД** – претставува триплет на нуклеотиди во **DNA** кои означуваат која аминокиселина е потребно да следи во синтезата на даден протеин.
- КОДОН** – претставува триплет на нуклеотиди во **mRNA** кои се комплементарни на триплетот од DNA и кои ја „пренесуваат“ информацијата за аминокиселината која треба да следи.
- АНТИКОДОН** – претставува триплет на нуклеотиди во **tRNA** кои се комплементарни на триплетот од mRNA и кои носат специфична аминокиселина за секој триплет.

3' – C – A – T – T – G – T – A – C – G – T – A – C – G – C – A – A – T – G – A – 5' код на DNA

5' – G – U – A – A – C – A – U – G – C – A – U – G – C – G – U – U – A – C – U – 3' кодон на mRNA

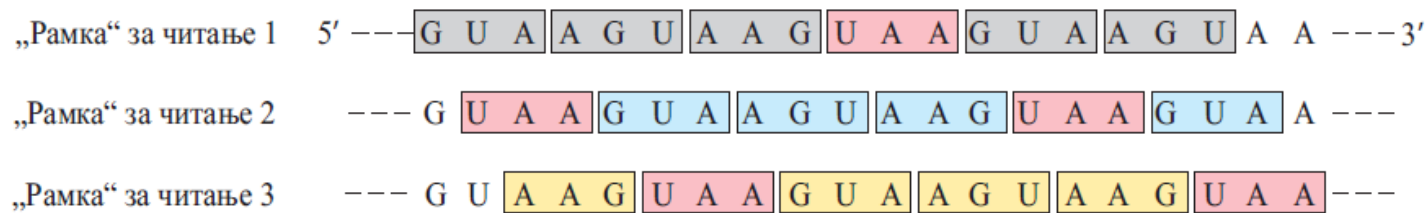
→
U – A – C G – U – A C – G – C A – A – U антикодон на tRNA
AK 1 — AK 2 — AK 3 — AK 4 —

Кодоните претставуваат клуч за пренос на генетската информација во фазата на транслација со насочување на синтезата на специфични протеини

- Клучни кодони за одвивање на синтезата:

Иницијационен кодон AUG е најчест сигнал за почеток на синтеза на протеини. Тој ја кодира синтезата на аминокиселината **Met**.

Терминациони кодони (UAA, UAG и UGA), уште познати како **СТОП**-кодони или бесмислени кодони, го сигнализираат крајот на синтезата на протеинот, и не кодираат ниту една аминокиселина



- Поставувањето на начинот на читање со „рамката“ за читање започнува со транслација на молекулата на mRNA, и се одржува како една синтетичка машинерија за последователно читање на триплетите се до некој од СТОП-кодоните.
- **„Бесмислен“ протеин** - се добива кога на „рамката“ за читање ѝ недостигаат една или две бази или кога е прескокнат нуклеотид во молекулата на mRNA, тогаш сите следни кодони нема да бидат впишани.

Постои посебен „речник“ на аминокиселинските кодови за зборовите во mRNA.

- Вкупно 61 кодон се користат за „читање“ на сите 20 аминокиселини.
- 3 кодони се СТОП-кодони (**UAA, UAG** и **UGA** – црвено)
- 1 кодон (**зелено**) е Иницијационен СТАРТ-кодон (**AUG**).
- Три бази во секој кодон – првите две – специфични.
- Третата база од секој кодон игра помала улога во специфицирањето на аминокиселината отколку првите две (кодони кои се разликуваат само по третата аминокиселина најчесто кодираат иста АК).
- Аминокиселините МЕТИОНИН (Met) и ТРИПТОФАН (Trp) имаат по еден кодон, сите други АК имаат повеќе.
- ДЕГЕНЕРАЦИЈА на генетскиот код – иако една аминокиселина може да има два или повеќе кодони, секој кодон определува само една аминокиселина.

Првата буква од кодонот (5' крај)

Втората буква од кодонот

	U	C	A	G
U	UUU Phe UUC Phe	UCU Ser UCC Ser	UAU Tyr UAC Tyr	UGU Cys UGC Cys
C	CUU Leu CUC Leu	CCU Pro CCC Pro	CAU His CAC His	CGU Arg CGC Arg
A	UAU Tyr UAG Stop	UCA Ser UCG Ser	UAA Stop UAG Stop	UGA Stop UGG Trp
G	AUU Ile AUC Ile	ACU Thr ACC Thr	AAU Asn AAC Asn	AGU Ser AGC Ser
	AUA Ile AUG Met	ACA Thr ACG Thr	AAA Lys AAG Lys	AGA Arg AGG Arg
	GUU Val GUC Val	GCU Ala GCC Ala	GAU Asp GAC Asp	GGU Gly GGC Gly
	GUA Val GUG Val	GCA Ala GCG Ala	GAA Glu GAG Glu	GGA Gly GGG Gly

Читањето на кодоните се одвива како на „производствена лента“

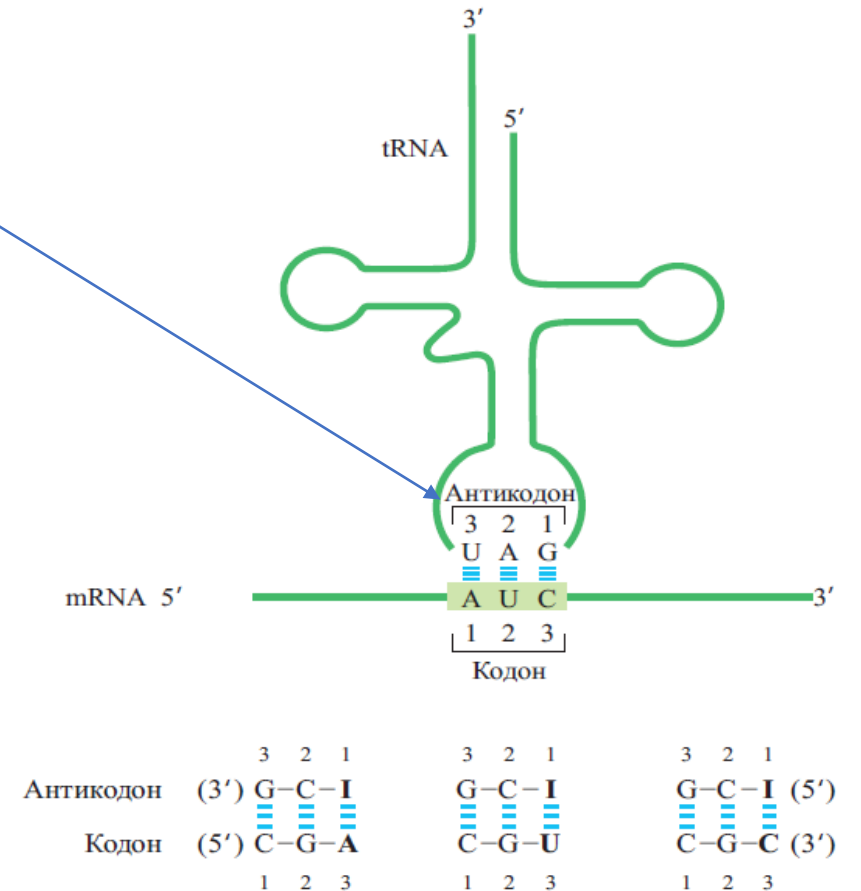
- Во една случајно избрана секвенца од нуклеотиди, во просек, секој 20-ти кодон во секоја „рамка“ на читање е СТОП кодон. „Рамката“ за читање во која на 50 или повеќе кодони нема ниту еден терминационен кодон се нарекува отворена „рамка“ за читање, ORF, (од англ. open reading frame). Долгите отворени „рамки“ за читање најчесто одговараат на гени кои кодираат протеини.
- За непрекинато генетско кодирање на типичен протеин со молекулска маса од 60 000 е потребна отворена „рамка“ за читање со 500 и повеќе кодони.

ТАБЕЛА 27-3 Дегенерација на генетскиот код			
Аминокиселина	Број на кодони	Аминокиселина	Број на кодони
Met	1	Tyr	2
Trp	1	Ile	3
Asn	2	Ala	4
Asp	2	Gly	4
Cys	2	Pro	4
Gln	2	Thr	4
Glu	2	Val	4
His	2	Arg	6
Lys	2	Leu	6
Phe	2	Ser	6

- Кога неколку различни кодони определуваат една аминокиселина, тие меѓусебно се разликуваат по базата во третата положба на 3' крајот.
- На пример, аминокиселината аланин е кодирана од триплетите **GCU**, **GCC**, **GCA** и **GCG**.

Спарувањето („читањето“) на кодонот се одвива од DNA, преку mRNA и tRNA која е носител на аминокиселината

- Спарувањето на базите на транспортните RNA со кодонот на mRNA се одвива преку секвенца од три бази на tRNA, наречена **АНТИКОДОН**.
- **ПРВАТА** база од кодонот на **mRNA** (триплетот се чита во насока $5' \rightarrow 3'$), се спарува со **ТРЕТАТА** база од антикодонот на **tRNA**.
- Првите две бази од кодонот на mRNA секогаш се спаруваат со силни водородни врски со соодветните бази од антикодонот на tRNA, образувајќи **Вотсон-Крикови парови бази**.
- На третата позиција на антикодонот на tRNA често се јавува нуклеотид кој се вика инозинат (I), кој може да се спарува со различни нуклеотиди од mRNA (корисно во случаи кога различни триплети бази кодираат иста аминокиселина).



Хипотеза на нестандартни парови бази или хипотеза на конформациона варијација

- Една tRNA може да препознае еден или три кодони во mRNA.
- Кога прва база на антикодонот е **С** или **А**, спарувањето на базите е **специфично** и соодветната tRNA препознава само еден кодон.
- Кога прва база е **U** или **G**, сврзувањето е помалку специфично и можат да бидат прочитани два различни кодони.
- Кога прв нуклеотид е инозинот (I) (нестандарден нуклеотид), тогаш можат да бидат препознаени три различни кодони (максимален број за која било молекула tRNA).
- Кога една аминокиселина е определена од неколку различни кодони, тогаш се потребни различни tRNA молекули.

Заклучок: За вклучување на сите аминокиселини при синтеза на протеини се потребни најмалку 32 tRNA за да се транслатираат сите 61 кодони (31 кодон се користи за кодирање на аминокиселини и 1 за иницијација)

ТАБЕЛА 27-4

На кој начин нестандартната база од антикодонот го определува бројот на кодони кои може да ги препознае tRNA

1. Еден препознаен кодон:

Антикодон	(3') X – Y – C (5')	(3') X – Y – A (5')
	— — —	— — —
Кодон	(5') X' – Y' – G (3')	(5') X' – Y' – U (3')

2. Два препознаени кодони:

Антикодон	(3') X – Y – U (5')	(3') X – Y – G (5')
	— — —	— — —
Кодон	(5') X' – Y' – A (3')	(5') X' – Y' – C (3')

3. Три препознаени кодони:

Антикодон	(3') X – Y – I (5')	
	— — —	
Кодон	(5') X' – Y' – A (3')	(5') X' – Y' – U (3')

Забелешка: Со X и Y се означуваат базите кои се комплементарни и силно се спаруваат со стандардните Вотсон-Крикови, X' и Y' бази. Нестандардните бази на 3' позицијата во кодонот и 5' положбата во антикодонот се обоени розово.

Реакциите на корекција на RNA е значајна за синтеза на правилниот протеин

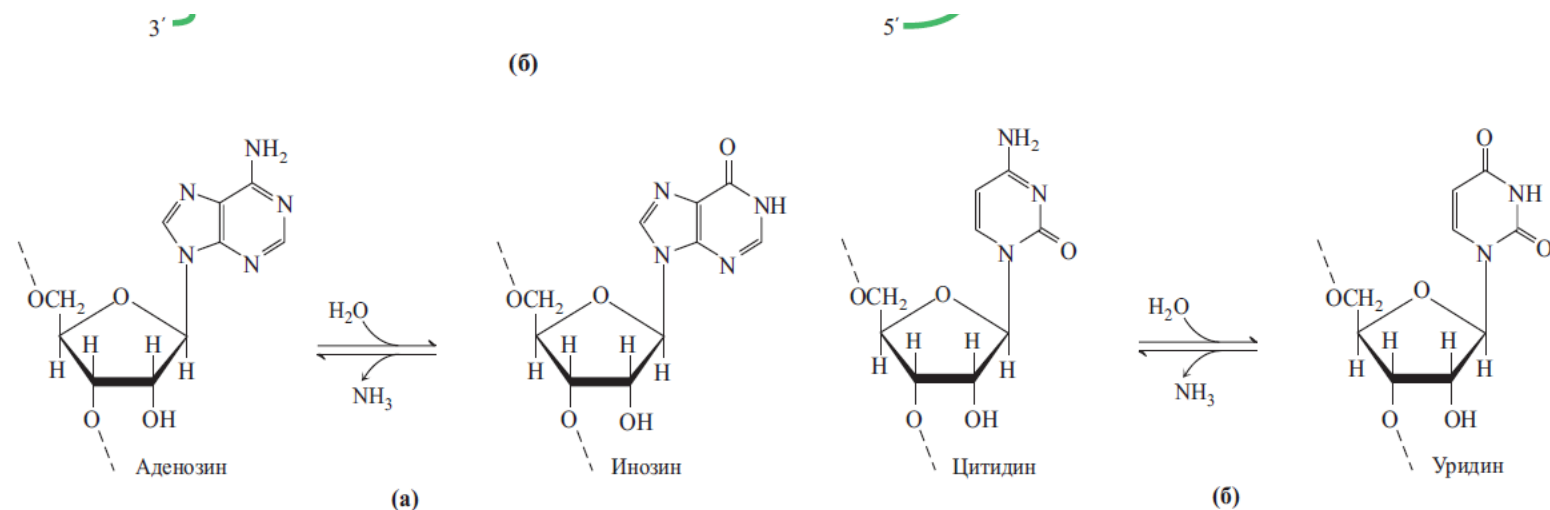
- Корекцијата на RNA вклучува адиција, делеција или менување на нуклеотидите во mRNA во случаи кога има грешка во „препишувањето“ на информацијата од DNA на mRNA.

DNA кодирач низа	Остаточен број	2,146	2,148	2,150	2,152	2,154	2,156	
Коригир mRNA	Човечки црн дроб (apoB-100)	5'---C A A C U G C A G A C A U A U A U G A U A C A A U U U G A U C A G U A U ---3'						
		— Gln — Leu — Gln — Thr — Tyr — Met — Ile — Gln — Phe — Asp — Gln — Tyr —						
	Човечко тенко црево (apoB-48)	---C A A C U G C A G A C A U A U A U G A U A U A U A U U U G A U C A G U A U ---						
		— Gln — Leu — Gln — Thr — Tyr — Met — Ile — Стоп						

mRNA

Водилка

СЛИКА 27-12. Корекција на транскриптот од RNA од генот за компонентата apoB-100 кај LDL. Со деаминација која се одвива само во цревата, специфичен цитидин се претвора во уридин, при што се менува кодонот за Gln во стоп-кодон и на тој начин се добива скратен протеин.

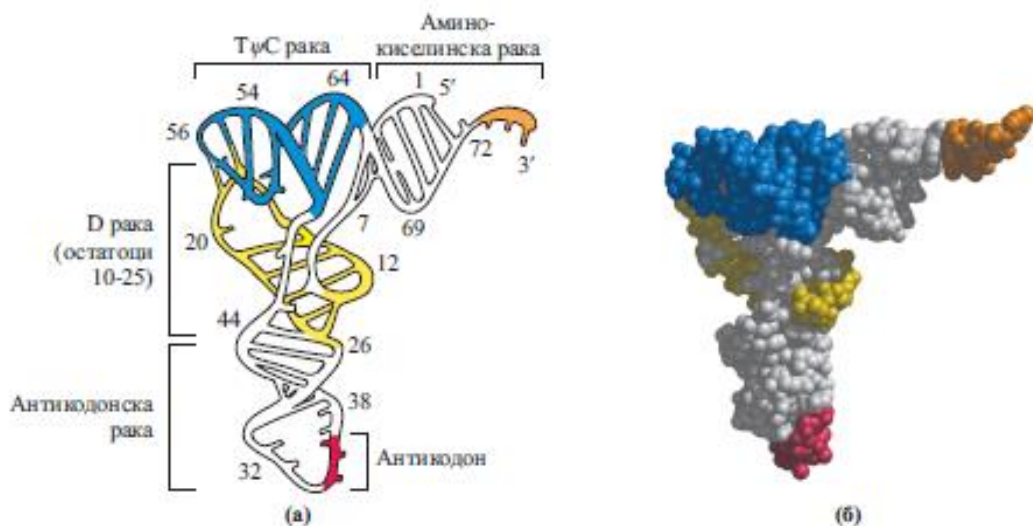


СЛИКА 27-11. Реакции на деаминација што доведува до корекција на RNA. (а) Претворбата на аденозин нуклеотиди во инозин нуклеотиди е

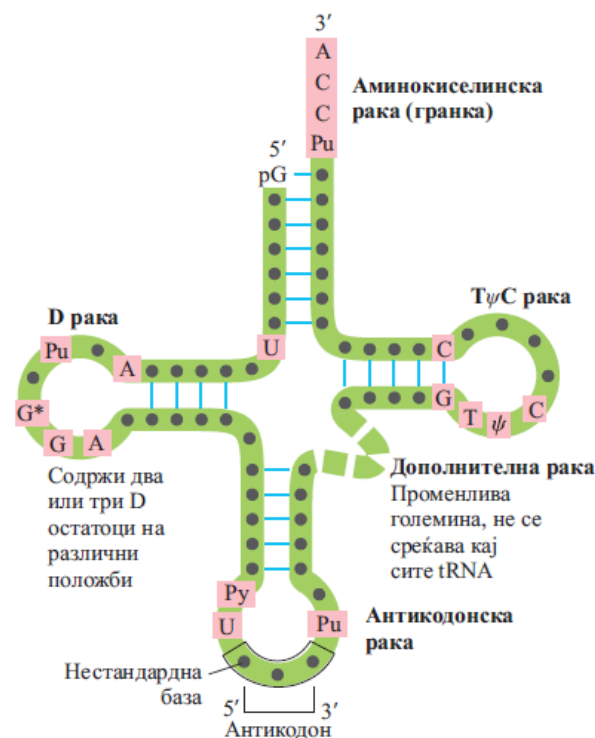
катализирано од ензимите ADAR. (б) Претворбите цитидин-уридин се катализирано од фамилијата ензими APOBEC.

tRNA е една од клучните молекули во процесот на синтеза на протеини

- Транспортните RNA се релативно мали молекули кои се состојат од една верига на RNA со точно определена и карактеристична тридимензионална структура (шематски означена како детелинка).
- tRNA кај еукариотските клетки е изградена од 73-93 нуклеотиди (MW≈30000).
- Во клетките има најмалку 32 tRNA за препознавање на сите аминокиселински кодони (некои клетки имаат повеќе).



Тридимензионалната структура на tRNA е во форма на извиткана буква L. Двете значајни сврзувачки места во структурата се антикодонт (каде се сврзува со mRNA) и аминокиселинската рака (каде се сврзува со аминокиселина).



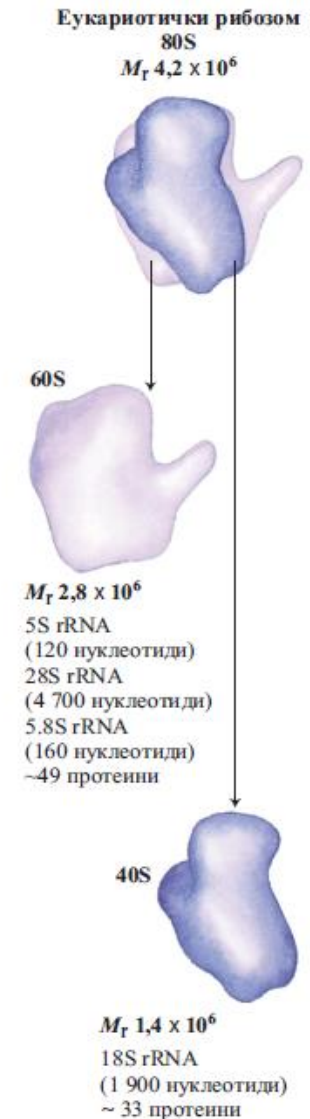
Шематски приказ на структура на tRNA е во форма на детелина. Двете значајни сврзувачки места во структурата се наоѓаат на спротивните краеве на молекулата: антикодонт (долу) и аминокиселинската рака (на 3` крајот).

Со црни точки се претставени нуклеотидите во секвенцата, чии азотни бази се спарени (по правило на комплементарност A=U и G≡C) – сини линии.

Оваа шема е доволна за испит.

Биозинтезата на протеини се одвива на ниво на рибозомите

- Што претставуваат рибозомите?
 - Рибозомите претставуваат сложени супермолекули кои во својот состав содржат околу 2/3 rRNA (рибозомална RNA) и 1/3 протеини.
 - Изградени се од две субединици означени како мала (40S) и голема (60S).
 - Рибозомите може да се разделат на нивните составни компоненти и повторно да се соединат.
 - Поседуваат две места за сврзување на tRNA при синтеза на протеините.
- Значајно откритие – синтезата на протеини се одвива на ниво на рибозомите (Замецник).
- Улога на рибозомите – можност да помагаат во два типа реакции: хидролитичкото разложување на фосфодиестерски врски и преносот на фосфорил група.
- Клучна улога на рибозомите во синтезата на протеини – поседуваат еден (или неколку) распореди на нуклеотидни остатоци во активниот центар кој може да ја катализира синтезата на пептидите.
- Во големата субединица рибонуклеотидниот октет (5')AUAACAGG(3') претставува една зачувана секвенца која се наоѓа во активниот центар на пептидил трансферазата во рибозомите на сите клетки.



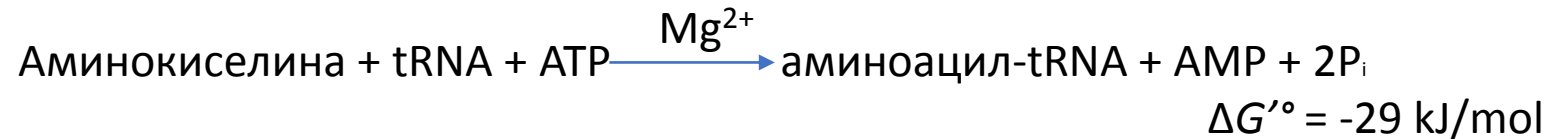
Биосинтезата на протеини се одвива во пет фази

- Фаза 1: Активација на аминокиселини – се врши со сврзување на аминокиселината за tRNA. Важно – специфичност на сврзувањето - вистинската аминокиселина ковалентно се сврзува со вистинската tRNA.
- Фаза 2: Иницијација – опфаќа образување на иницијационен комплекс (сложен систем од аминоацил-tRNA, мала и голема рибозомна субединица и фактори за иницијација).
- Фаза 3: Елонгација – претставува издолжување (растење на полипептидната низа. Во елонгацијата учествуваат цитосолни протеини - фактори за елонгација).
- Фаза 4: Терминација и рециклирање на рибозоми – се вржи со СТОП кодон во mRNA кој сигнализира завршување на синтезата. Рибозомот се рециклира за следна синтеза.
- Фаза 5: Свиткување и пост-транслациона обработка – означува ензимска обработка и додавање или отстранување на групи во структурата.

Фаза	Важни компоненти
1. Активација на аминокиселини	20 аминокиселини 20 аминоацил-tRNA синтетазы 32 или повеќе tRNA ATP Mg ²⁺
2. Иницијација	mRNA N-Формилмететонил- tRNA ^{fmet} Иницијационен кодон во mRNA (AUG) 30S рибозомална субединица 50S рибозомална субединица Фактори за иницијација (IF-1, IF-2, IF-3) GTP Mg ²⁺
3. Елонгација	Функционален 70S рибозом (комплекс за иницијација) Аминоацил-tRNA специфицирана од кодоните Фактори за елонгација (EF-Tu, EF-Ts, EF-G) GTP Mg ²⁺
4. Терминација и рециклирање на рибозом	Терминационен кодон во mRNA Фактори за ослободување (RF-1, RF-2, RF-3, RRF) EF-G IF-3
5. Свиткување и пост-транслациона обработка	Специфични ензими, кофактори и други компоненти за отстранување на остатоците од иницијацијата и сигналните секвенци, дополнителна протеолитичка обработка, модификација на крајните остатоци и сврзување на ацетил, фосфатна, метил, карбоксилна, јаглехидрати или простетични групи

ФАЗА I: Аминокиселините се АКТИВИРААТ со сврзување со нивните tRNA

- Фаза I се одвива во ЦИТОСОЛОТ.
- Во основа – реакција на естерификација – помеѓу 20-те аминокиселини и нивните tRNA под дејство на аминоксил-tRNA синтетази.
- Една аминоксил-tRNA синтетаза е ВИСОКО СПЕЦИФИЧНА за секоја аминокиселина, и за определена tRNA.
- Постојат две класи на аминоксил-tRNA синтетази во зависност од начинот на кој вршат катализа на реакцијата: Класа I (двостепен механизам преку трансестерификација) и Класа II (директен пренос на аминоксил група).

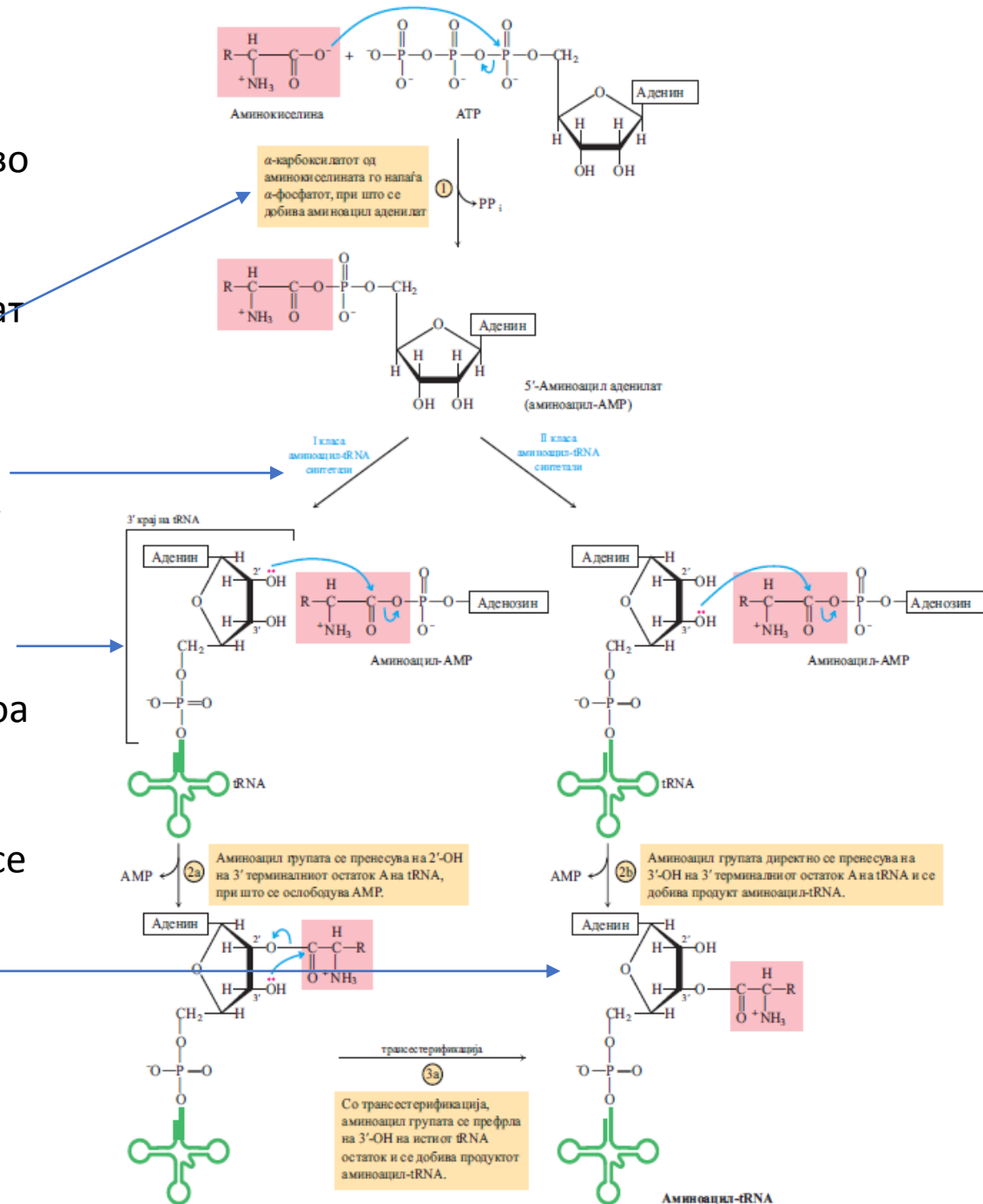


- ВТОР ГЕНЕТСКИ КОД – го означува местото каде заемодејствуваат аминоксил-tRNA синтетазите и tRNA молекулите.
- Со аминоксилација на tRNA се постигнуваат **две цели**:
 - (1) активација на аминокиселината за може да се образува пептидна врска
 - (2) соодветно вметнување на аминокиселината во полипептидната низа што расте и се продолжува

Механизам на реакцијата на активација (сврзување) на аминокиселина со tRNA под дејство на две класи ензими од групата на аминоксил-tRNA синтетази.

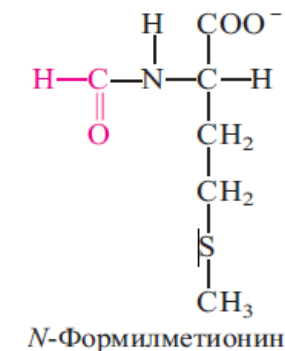
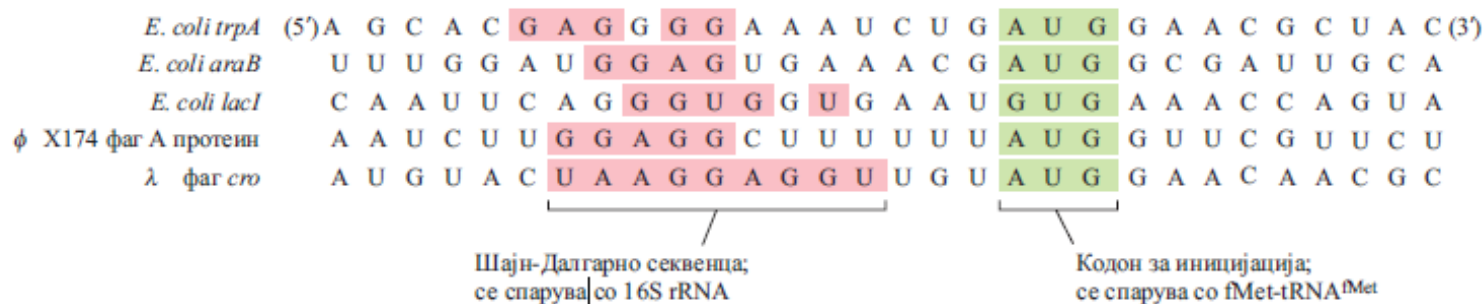
- Во првиот чекор се добива аминоксил аденилат кој останува сврзан за активниот центар.
- Во вториот чекор, аминоксил групата се пренесува на tRNA. Механизмот на овој чекор малку се разликува за двете класи аминоксил-tRNA синтетази.

- Кај I ензимска класа, аминоксил групата најпрво се префрла на 2' хидроксилната група на 3' терминалниот остаток А, а потоа на 3' хидроксилната група по пат на реакција на трансестерификација.
- Кај II ензимска класа, аминоксил групата се пренесува директно на 3' хидроксилната група на терминалниот аденилат.



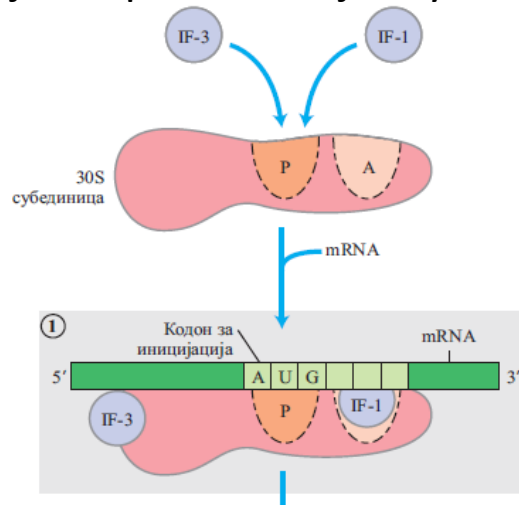
ФАЗА II: Една аминокиселина ја ИНИЦИРА синтезата на протеините

- Синтезата на протеините започнува на N-крајот и продолжува со постепен адиција на аминокиселини кон C-крајот на полипептидот.
- Секоја синтеза започнува со AUG кодонтот за иницијација кој определува аминокиселина – МЕТИОНИН (Met).
- Кај сите организми има еден кодонт за метионин (AUG), но две tRNA! Причина: една tRNA се користи само за внесување на терминален Met (почеток), а втората tRNA служи за внесување Met во средина на полипептидната низа на протеинот кој се синтетизира.
- Различни карактеристики на терминалниот Met се среќаваат кај бактериските и еукариотските клетки. Кај бактериите почетниот Met е формилиран (N-формилметионин, ензим: трансформилаза); кај еукариотите синтезата започнува со метионин.
- **Шајн-Далгарно секвенци** - Одредени секвенци од mRNA служат како сигнали за иницијација на синтезата на протеините кај бактериите. Точно определени секвенци сигнализираат дека кодонтот AUG е блиску и дека синтезата ќе започне.

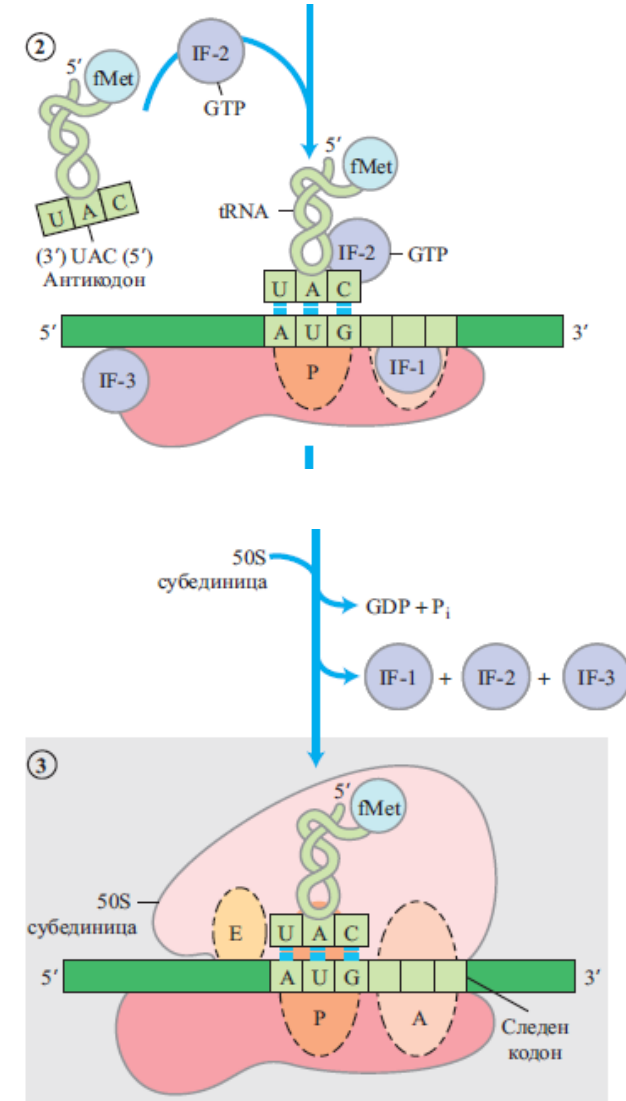


Фазата на иницијација се одвива во три чекори во бактериските клетки

- **Прв чекор** - за малата рибозомската субединица се сврзуваат два фактори на иницијација, IF-1 и IF-3.
- Потоа, mRNA се сврзува за малата субединица.
- На крај, tRNA молекулите се сврзуваат на 3 места во бактерискиот рибозом: аминоксил (A) место, пептидил (P) место и место за излез (E). На местата A и P се сврзуваат аминоксил-tRNA молекулите, а на E местото се сврзуваат „ненатоварените“ tRNA молекули кои ја извршиле својата улога на рибозомот.



- **Втор чекор** - се гради комплексот кој е составен од малата рибозомска субединица, IF-3 и mRNA со помош на IF-2 (со GTP) и fMet-tRNA^{fMet} за иницијација. Потоа, антикодонот од оваа tRNA точно се спарува со кодонот за иницијација на mRNA.

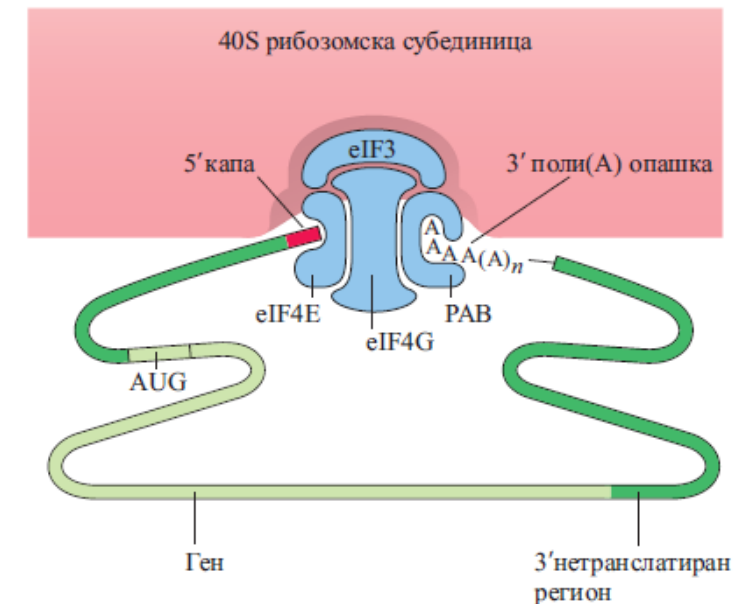


- **Трет чекор** – комплексот од чекор два се комбинира со големата рибозомската субединица. GTP од IF-2 се хидролизира до GDP и P_i кои се ослободуваат од комплексот. Трите фактори за иницијација во овој дел од процесот го напуштаат рибозомот.

Фаза II кај еукариотските клетки се одвива на сличен начин

- При образување на комплексот за иницијација кај еукариотите се образуваат сложени протеински комплекси, при што 3' и 5' краевите на mRNA молекули се поврзани преку комплекс протеини кој вклучува неколку фактори за иницијација и поли (A) протеин за сврзување (PAB). Факторите eIF4E и eIF4G се дел од поголемиот комплекс наречен eIF4F. Овој комплекс се сврзува за малата рибозомската субединица. Други протеински комплекси го овозможуваат сврзувањето на големата рибозомална субединица.

Фактор	Функција
eIF2	Го олеснува сврзувањето на Met-tRNA ^{Met} за иницијација со 40S рибозомската субединица
eIF2B, eIF3	Први фактори кои се сврзуваат за 40S субединицата; ги олеснуваат понатамошните чекори
eIF4A	Со RNA хеликаза се отстрануваат секундарните структури во mRNA за да се дозволи сврзување за 40S субединицата; дел од eIF4F комплексот
eIF4B	Се сврзува за mRNA; го олеснува скенирањето на mRNA за да се лоцира првиот AUG
eIF4E	Се сврзува за 5' капата од mRNA; дел од eIF4F комплексот
eIF4G	Се сврзува за eIF4E и за поли(A) протеинот за сврзување (PAB); дел од комплексот eIF4F
eIF5	Предизвикува дисоцијација на неколку други фактори за иницијација од 40S субединицата пред асоцијацијата на 60S субединицата, при што се гради 80S комплексот за иницијација
eIF6	Се олеснува дисоцијацијата на неактивниот 80S рибозом до 40S и 60S субединици



Не треба да се учат одделните функции на сите фактори

ФАЗА III: Елонгацијата се одвива во три чекори

- Елонгацијата претставува процес на „растење“ на полипептидната низа кој се одвива во **три чекори** кои се повторуваат онолку пати колку што има аминокиселини во полипептидната низа.
- За да се одвива елонгацијата се потребни
 - (1) комплекс за иницијација (од фаза II)
 - (2) аминоксил-tRNA
 - (3) група од три растворливи цитосолни протеини наречени фактори за елонгација (EF-Tu, EF-Ts и EF-G во бактериите) и
 - (4) GTP

Чекор 1

Сврзување на следната АК во низата

- АК се сврзува за факторите за елонгација (3) и GTP (4)
- Се одвива во А-местото на големата рибозомална субединица

Чекор 2

Образување на пептидна врска

- Се образува меѓу две АК кои се сврзани преку tRNA за А и Р местата на големата субединица во рибозомот
- Ензим: пептидил трансфераза

Чекор 3

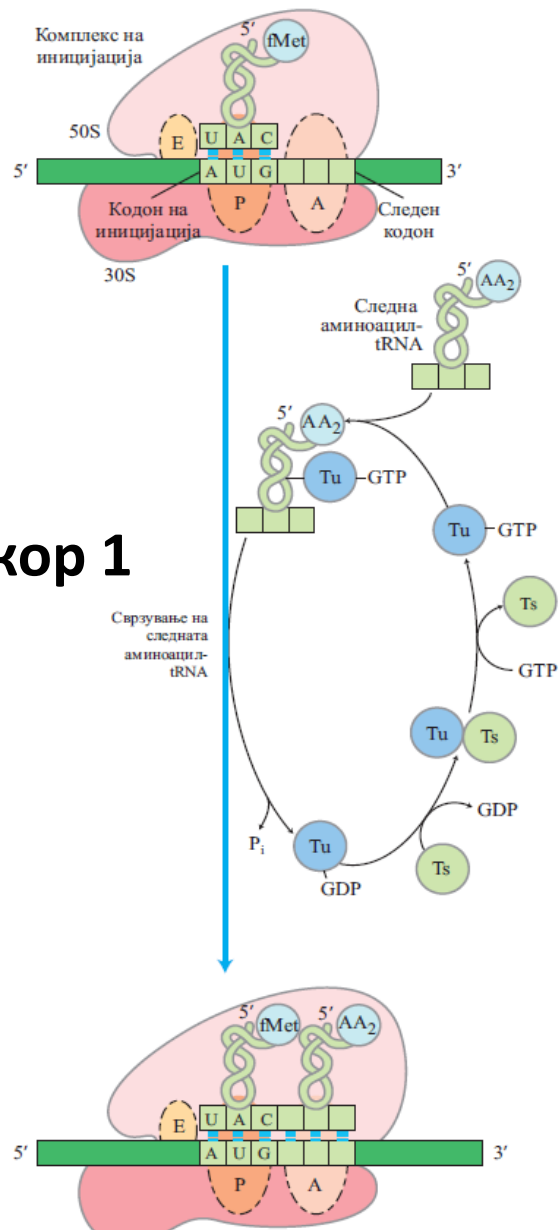
Транслокација

- Се поместува еден кодон кон 3' крајот од mRNA...поместување од А кон Р и од Р кон Е местата во рибозомот
- Протеин: транслоказа, енергија GTP

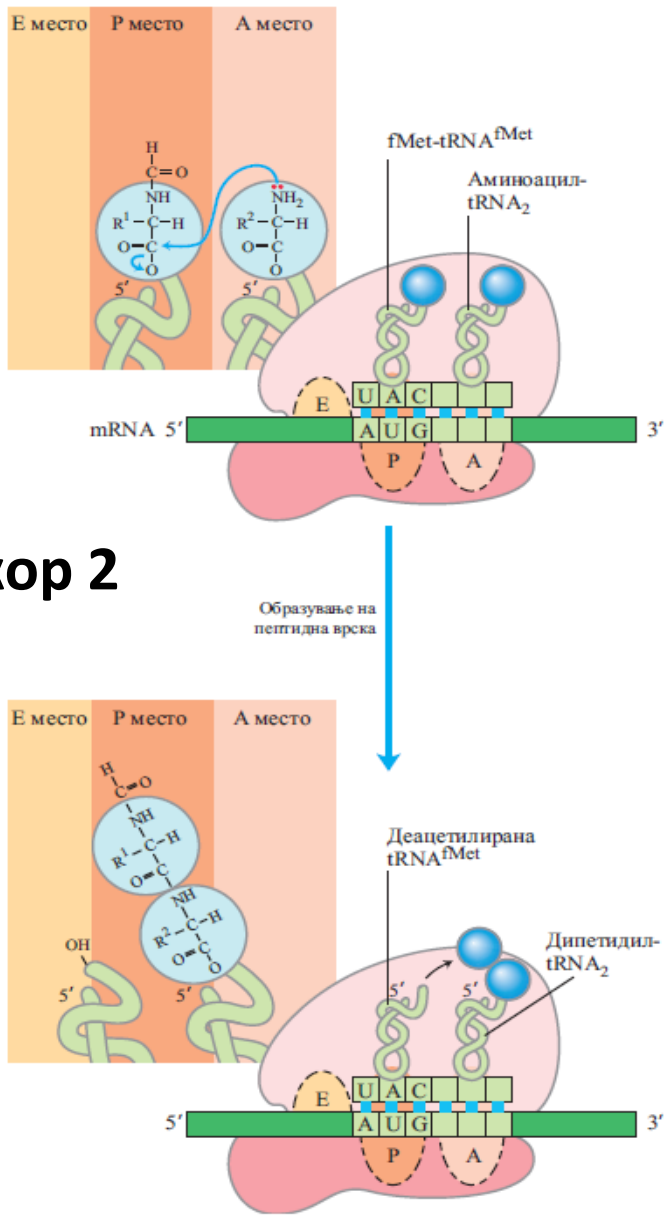
Важно: Еукариотичките рибозоми немаат Е место на сврзување, па tRNA молекулите се ослободуваат директно од Р местото на сврзување.

Процесот на елонгација вклучува образување на пептидни врски на ниво на аминокиселините и постојано „поместување“ долж mRNA

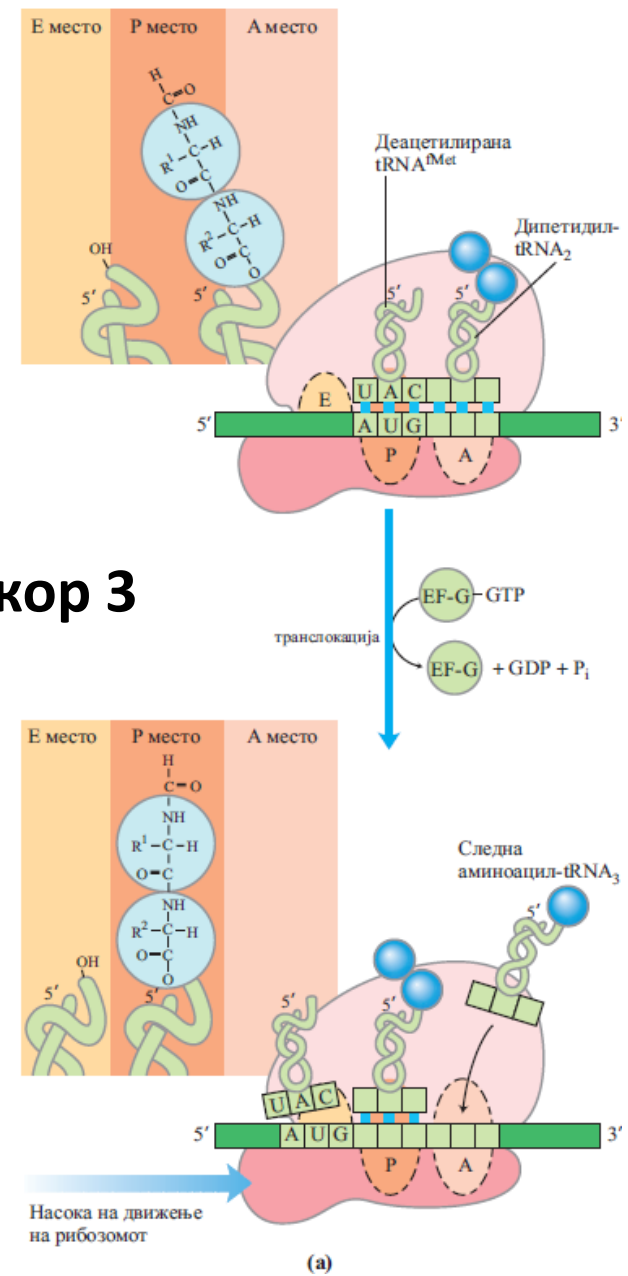
Чекор 1



Чекор 2



Чекор 3



ФАЗА IV: СТОП кодоните го одредуваат крајот на синтезата на полипептидот

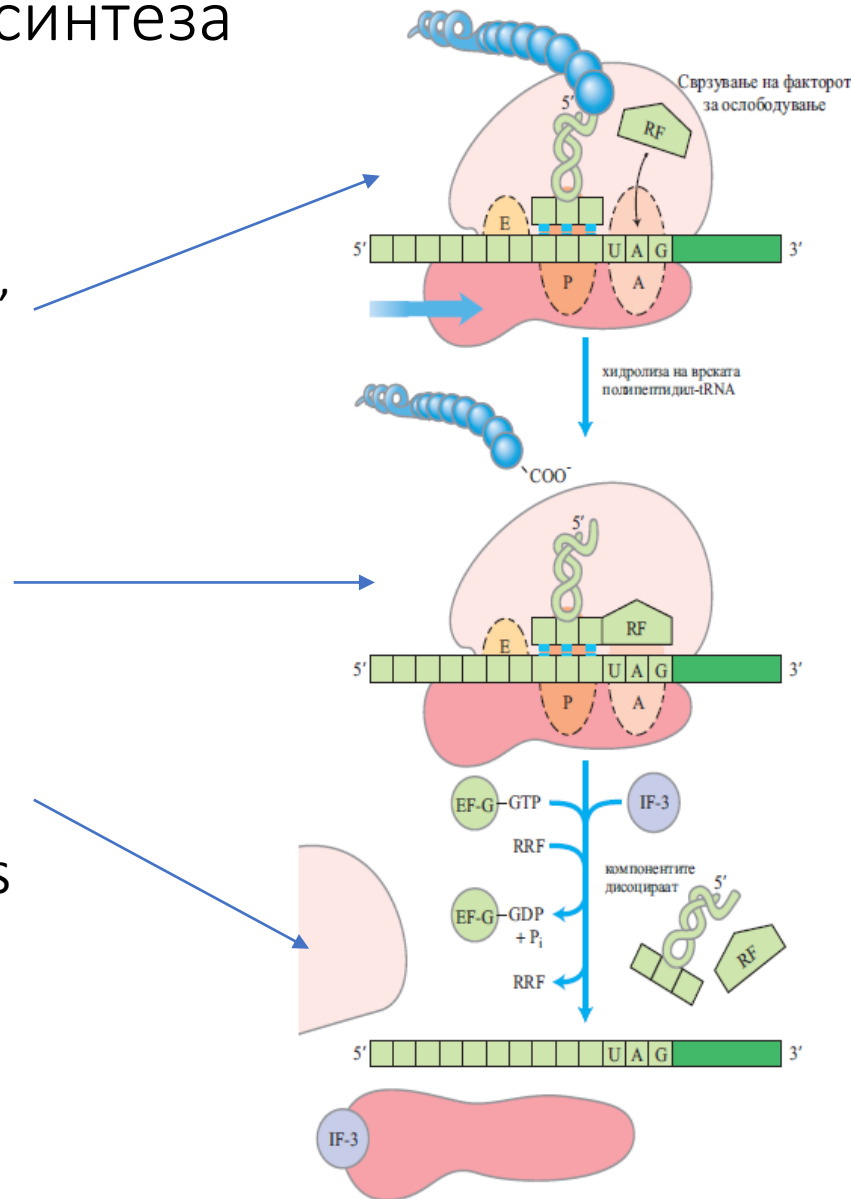
- Терминација е четвртата фаза од синтезата, во која се потврдува присуството на еден од СТОП кодоните во mRNA (UAA, UAG, UGA).
- Фактори на терминација (фактори на ослободување) – протеини кои учествуваат во комплетирањето на синтезата на полипептидот и ослободување на крајниот продукт од комплексот со рибозомот и факторите.
- Протеини кои претставуваат фактори на терминација се RF-1, RF-2 и RF-3, и учествуваат во реакции на
 - (1) хидролиза на терминалната пептидил-tRNA врска
 - (2) ослободување на слободен полипептид и последната tRNA од местото P во рибозомот
 - (3) дисоцијација на 70S рибозомот и добивање на неговите 30S (мала) и 50S (голема) субединици
- RF-1 ги препознава кодоните за терминација UAG и UAA
- RF-2 се сврзува на кодонот за терминација и ја индуцира пептидил трансферазата да го катализира преносот на полипептидната низа што расте до молекула вода, а не до друга аминокиселина.
- Точната функција на RF-3 сè уште не е целосно определена, но се смета дека има улога во ослободувањето од рибозомот.

Важно: Кај еукариотите постои уште еден фактор, eRF, кој може да ги препознае сите три стоп кодони (UAA, UAG и UGA)

Неколку фактори учествуваат во завршувањето на синтезата и раскинување на комплексот за синтеза

- Терминацијата започнува кога ќе се препознае кодонот за терминација во местото А.
- **Чекор 1:** Сврзување на факторот за ослободување, RF (RF-1 или RF-2, во зависност од тоа кој кодон за терминација е присутен), за местото А во рибозомот.
- **Чекор 2:** ХИДРОЛИЗА на естерската врска помеѓу полипептидот и tRNA во местото Р и ослободување на полипептидот.
- **Чекор 3а:** Раскинување на комплексот со заминување на mRNA, деацилирана tRNA и факторот за ослободување.
- **Чекор 3б:** Дисоцијација на рибозомот до 30S и 50S субединиците со помош на рибозомскиот фактор за рециклирање (RRF), IF-3 и енергија (GTP).

Комплексот помеѓу 30S субединицата и IF-3 се рециклира и може да започне нова синтеза.

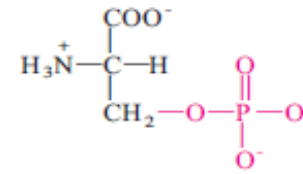


ФАЗА V: Протеините подлежат на понатамошна обработка во клетката

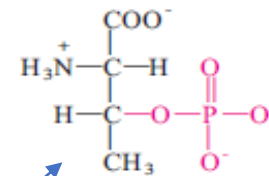
- Синтетизираниот полипептид не е функционален протеин, туку подлежи на модификации (фаза V), со кои ја добива својата финална форма и функционалност.
- Процеси се одвиваат во текот на синтезата или непосредно по неа: природна конформација со градење соодветни водородни врски ван дер Ваалсови, јонски и хидрофобни интеракции меѓу страничните низи на аминокиселините.
- Пост-транслациони модификации: се одвиваат после завршување на синтезата преку една или повеќе реакции на процесирање.
- Главно место за почнување на пост-транслационите модификации е во ендоплазматичниот ретикулум.
- Примери за пост-транслациони реакции се: модификации на N- и C-крајот на низата; губење на сигналната секвенца; модификација на одделни аминокиселини; сврзување на странични јаглеводородни низи; адиција на изопренил групи; адиција на простетични групи; протеолитичко процесирање и образување накрсни дисулфидни врски.
- Посебни процеси на модификација на протеините претставуваат гликозилација (сврзување на јаглехидратни остатоци со протеинот и образување на гликопротеини) и фосфорилација (до фосфопротеини).

Пост-транслационите модификации се клучни за функционалноста на синтетизираниот протеин

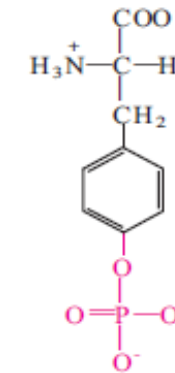
- **Модификации на N-крајот и C-крајот** – кај 50% од еукариотичките протеини, аминокислотата од остатоците на N-крајот е N-ацилирана.
- **Губење на сигналната секвенца** - од 15 до 30 остатоци од N-крајот играат улога при насочување на протеинот до неговата крајна локација во клетката, но не се поврзани со неговата функционалност, поради што се отстрануваат откако протеинот ќе стаса на локацијата.
- **Модификација на одделни аминокиселини**
 - Фосфорилација на хидроксилните групи Ser, Thr и Tyr со АТР
 - Карбоксилација - внесување дополнителни –COOH групи на Glu
 - Метилирање - внесување на метил групи на Lys и Glu
- **Сврзување на странични јаглеводородни низи** – јаглеводородната странична низа ензимски се сврзува за остатоци на Asn кај N-гликозидни олигосахариди, и за Ser или Thr (кај O-гликозидни олигосахариди)



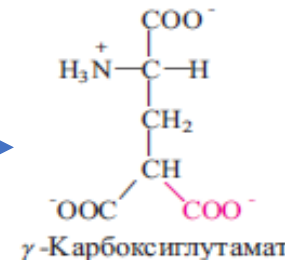
Фосфосерин



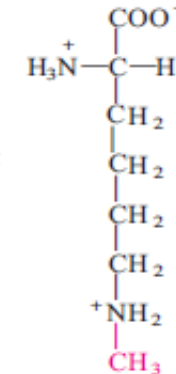
Фосфотреонин



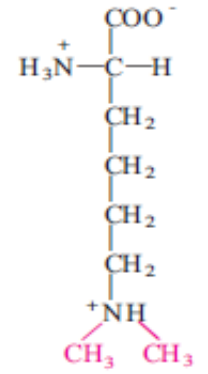
Фосфотирозин



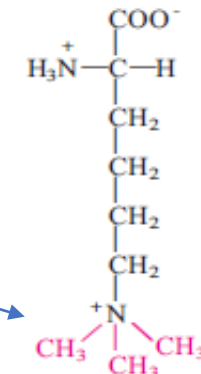
γ-Карбоксиглутамат



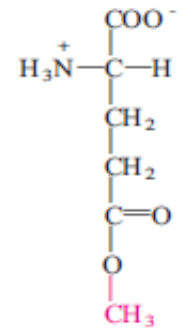
Метил-лизин



Диметил-лизин



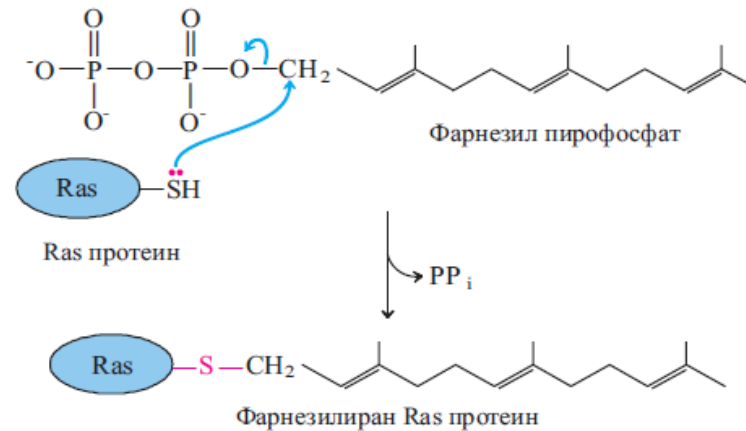
Триметил-лизин



Метилглутамат

Пост-транслационите модификации се клучни за функционалноста на синтетизираниот протеин (продолжува)

- **Адиција на изопренил групи** – кај еукариотичките клетки изопренилирани протеини се формираат со образување тиестерска врска помеѓу S од аминокиселината Cys и изопренилски групи (добиеени во метаболизмот на холестерол).

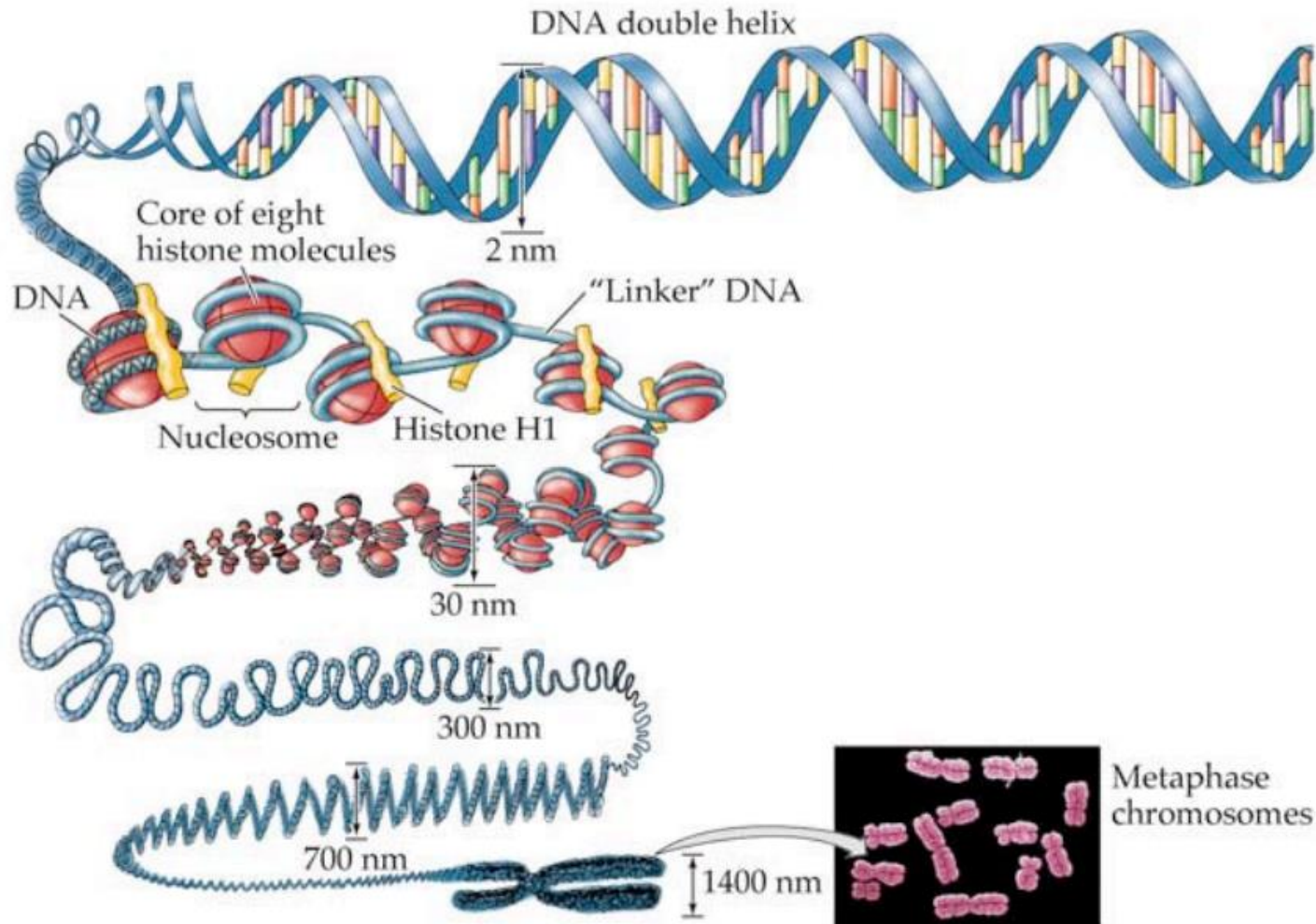


- **Адиција на простетични групи** – означува ковалентно сврзување на простетични групи за протеинот. Два примери се адиција на биотин во ацетил CoA карбоксилазата и хем групата од хемоглобинот или цитохром c.
- **Протеолитичко процесирање** – означува активирање на протеинот со откинување на еден дел од секвенцата. Две форми на протеинот: неактивна (целосна секвенца) и активна (протеолитички разложена секвенца). Примери се голем број ензими кои учествуваат во метаболизмот (протеази), проинсулин (активен инсулин) и вирусни протеини.
- **Образување накрсни дисулфидни врски** – дисулфидни мостови помеѓу остатоци на Cys меѓу различни протеини или во самата низа на протеинот. Значењето на овие врски е за оджување на тридимензионалната структура на протеините.

Регулацијата на синтезата на протеини се одвива на повеќе нивои и зависи од голем број фактори

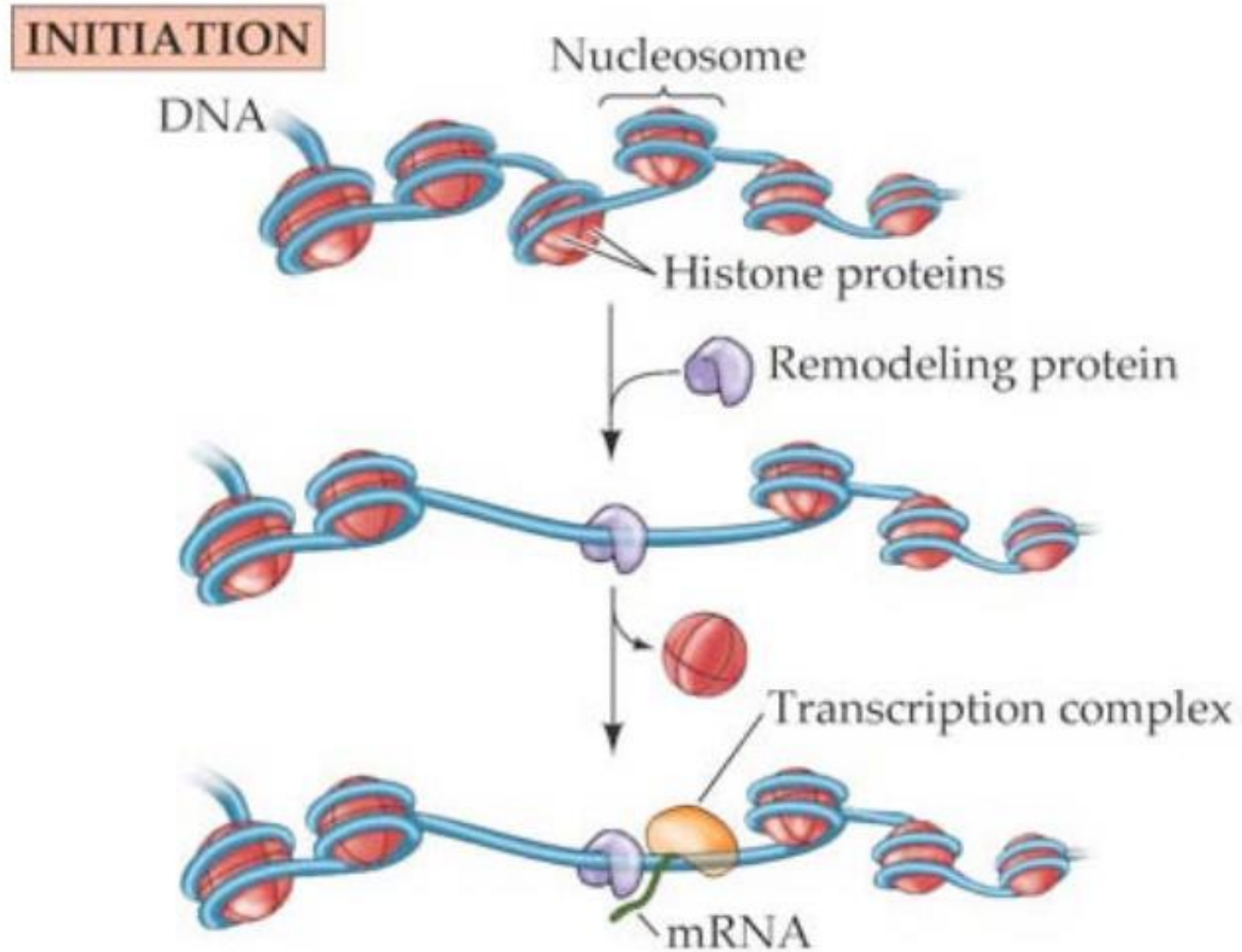
- Синтезата на протеини кај еукариотите зависи од правилното функционирање на сложена машинерија која вклучува DNA, mRNA, tRNA и голем број ензими и фактори.
- Регулацијата се одвива на секое ниво и тоа:
- На ниво на DNA
 - Одвиткување на хроматин
 - Модификации на хистони
- На ниво на транскрипција (од DNA на mRNA)
 - Отстранување на интрони
 - Додавање на поли-аденинска секвенца
- На ниво на транслација
 - Присуство на фактори и образување на комплекс на ниво на рибозом
 - Правилно насочување на процесите во клетката
- Пост-синтеза
 - Степен на разградување на протеини
 - Употреба на протеини од страна на клетките
 - Ензимски системи

Двојната низа на DNA мора да се „отпакува“ за да може да се кодира синтезата на протеинот.



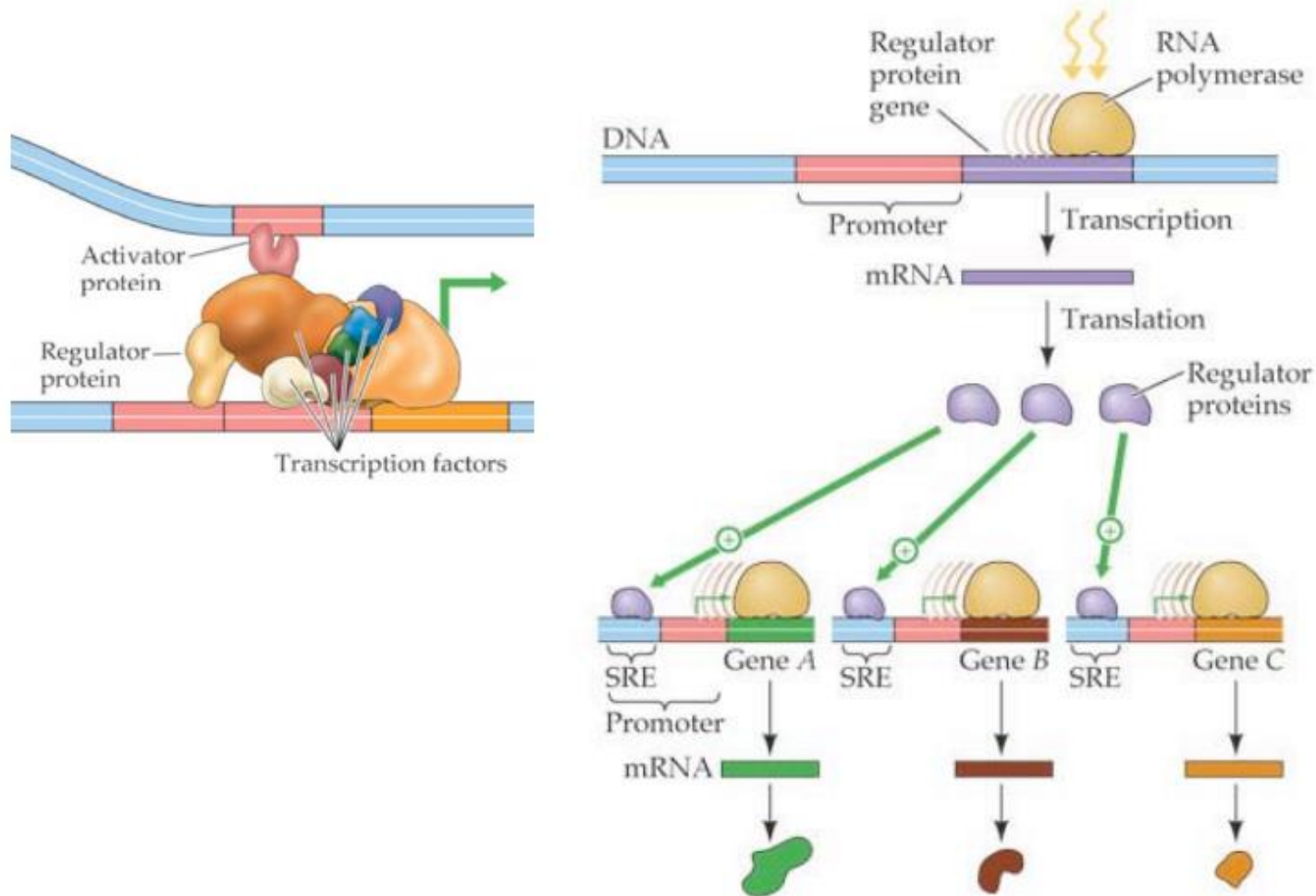
Доколку постои грешка во било кој процес од хромозомот до отпакување на DNA од хистоните, синтезата на протеинот нема да се одвива!

Процесот на транскрипција „препишување“ на кодот од DNA во кодон на mRNA е сложен процес кој се одвива со посредство на транскрипциониот комплекс.

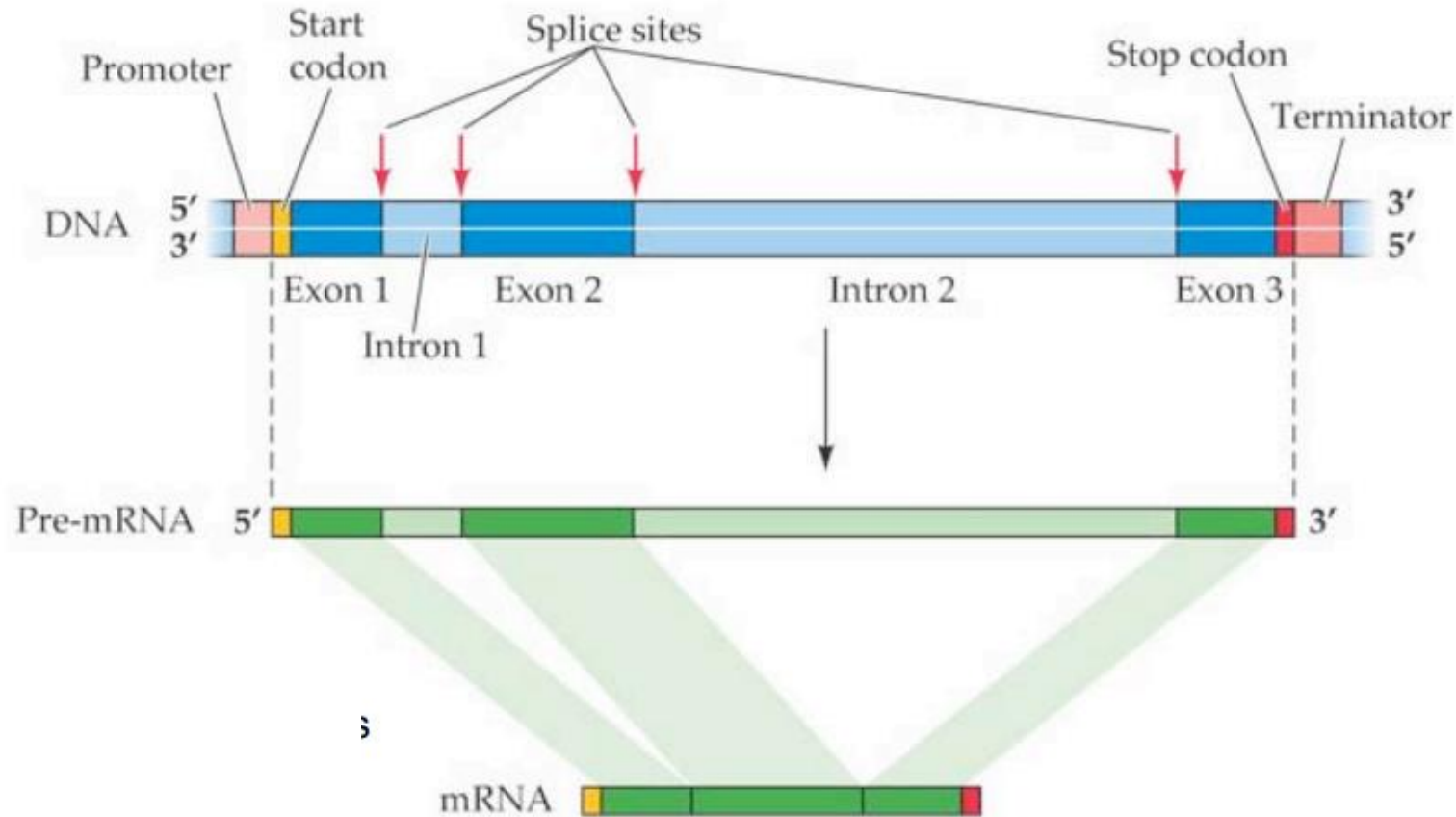


Доколку постои грешка во распакувањето на хистоните или неправилна функција на некој од факторите во комплексот за транскрипција, нема да се синтетизира точната mRNA, а со тоа ниту толниот протеин.

Промени или недостаток на било која компонента од сложениот систем на фактори за транскрипција и транслација ќе резултира со



mRNA кај еукариотите подлежи на процесирање пред да се вклучи во синтезата на целниот протеин

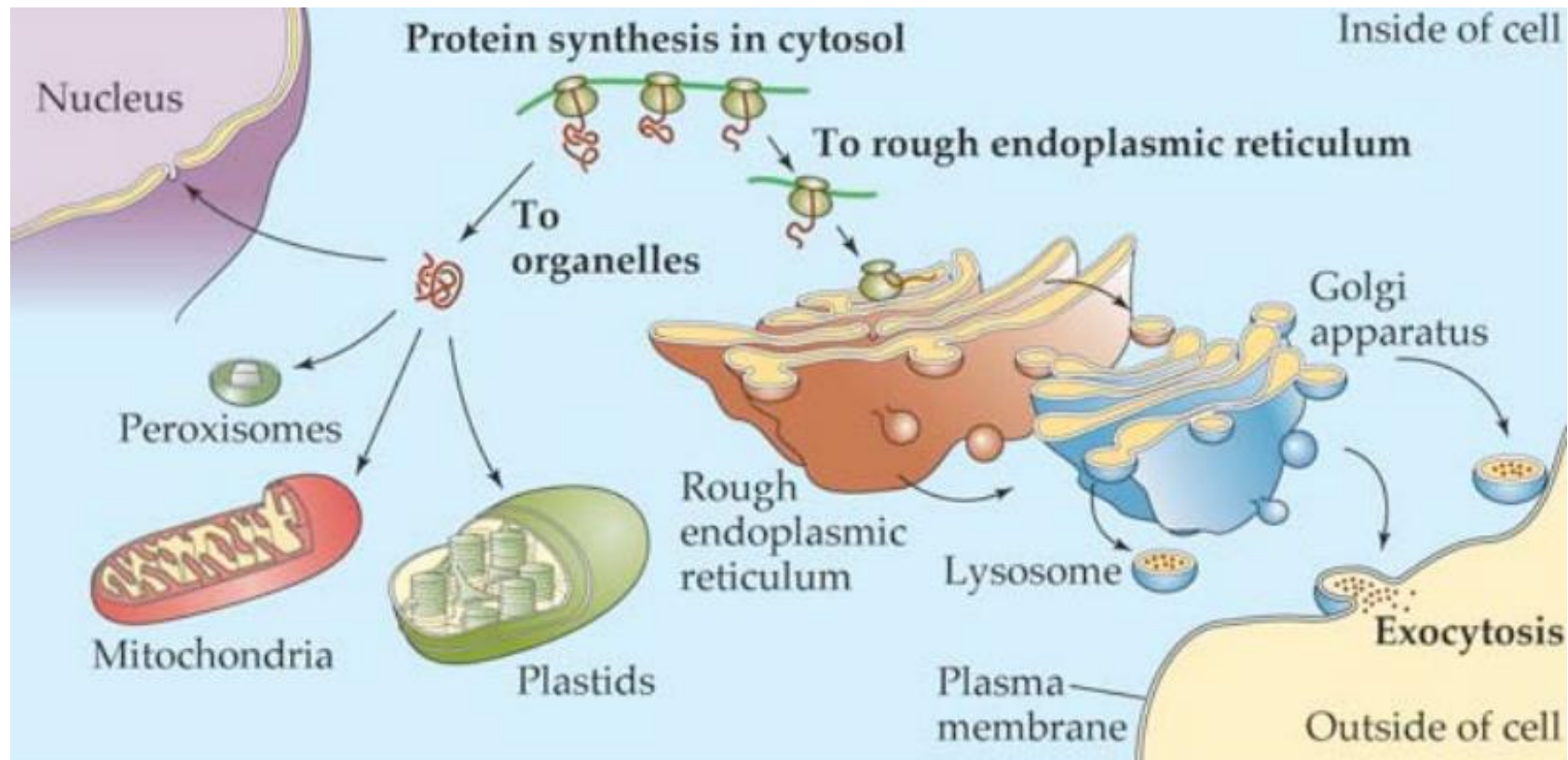


Интрони – некодирачки секвенци

Егзони – кодирачки секвенци

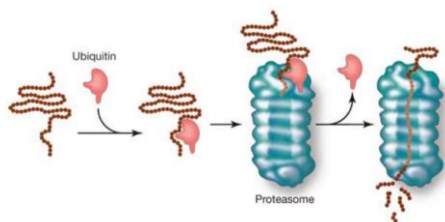
Неправилно „сечење“ и „лепење“ на кодирачките секвенци, макар и за една аминокиселина, може да предизвика синтеза на погрешен протеин.

Некои протеини после синтезата мора да се пренесат до други делови во клетката за да може да ја вршат својата функција



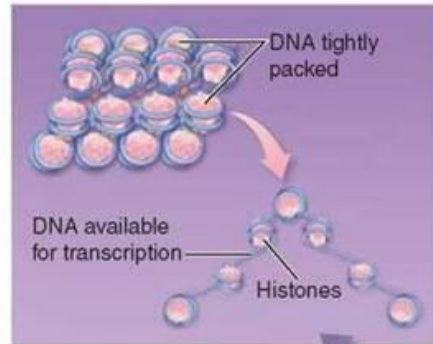
Нарушувањата во транспортните системи во клетката може да резултираат со неправилна функција на протеинот (на пример – мембрански протеин, доколку не се вгради во клеточната мембрана не е функционален во цитосолот).

Шематски приказа на местата за контрола на синтезата на протеини

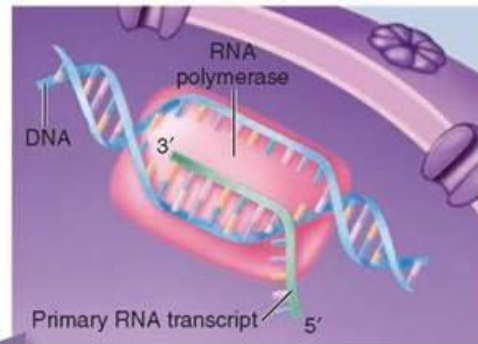


На ниво на разградување на протеините

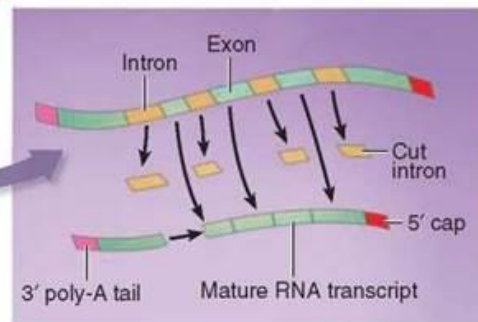
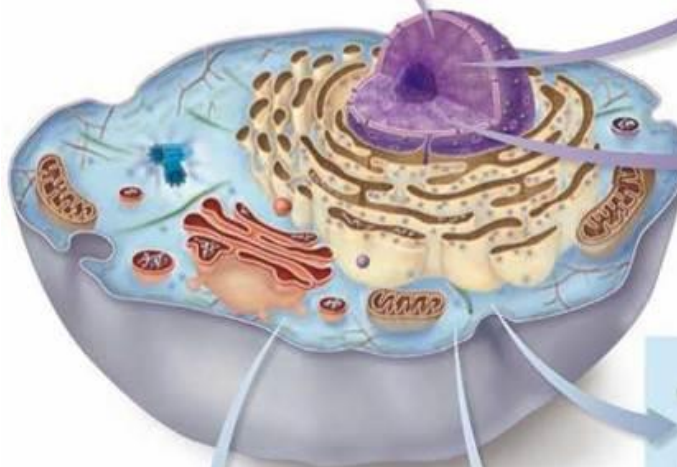
Важно: Шемите на слајдовите 34 до 38 се да му послужат на студентот за полесно разбирање на комплексоста на синтезата на протеини и бројните процеси каде истата може да се наруши. За испит нема да требаат.



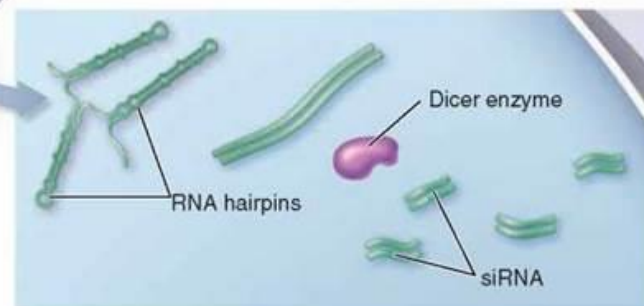
На ниво на хромозоми



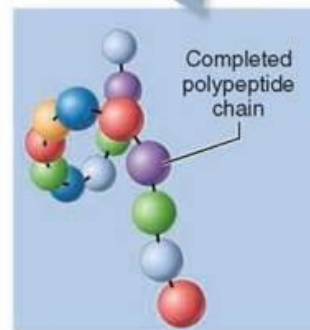
На ниво на транскрипција



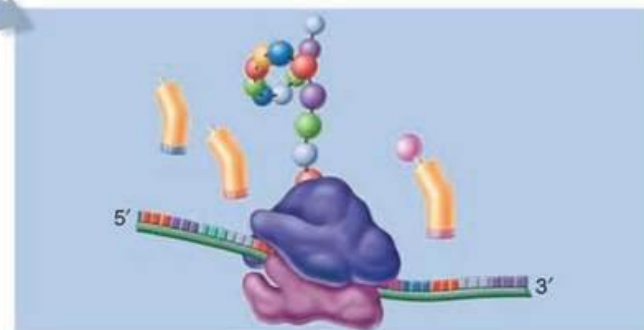
На ниво на обработка на RNA (интрони, егзони, кодирачки секвенци)



На ниво на генска регулација



На ниво на пост-транслациона обработка на протеините



На ниво на самата синтеза на протеини (секоја фаза на синтеза)

Резиме на тематската единица

- Синтезата на протеини кај еукариотите зависи од правилното функционирање на сложена машинерија која вклучува DNA, mRNA, tRNA и голем број ензими и фактори.
- RNA и рибозомите имаат клучна улога во процесите на синтеза на протеини.
- Синтезата на протеини се одвива главно во 5 фази
 - Активирање на аминокиселините
 - Иницијација
 - Елонгација
 - Терминација и
 - Пост-транслациона обработка
- Сите фази во синтезата на протеини вклучуваат голем број фактори за правилно одвивање на синтезата.
- Регулацијата на синтезата на протини се одвива на различни нивои и тоа на ниво на гени, транскрипција, обработка на mRNA, транслација, сите фази на синтеза на протеини, пост-транслациона обработка на протеините, нивна распределба во клетката и нивно разградување.