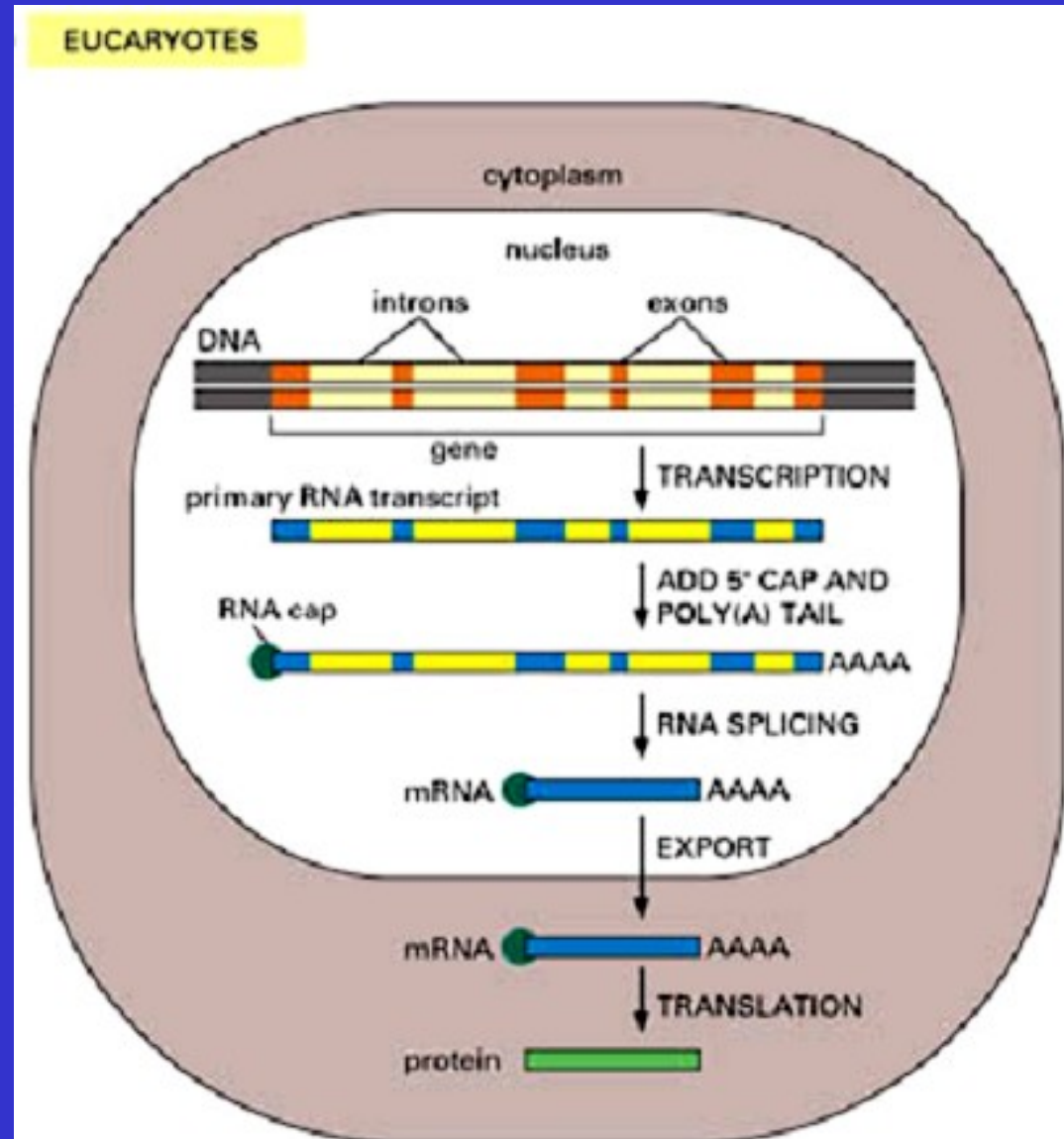


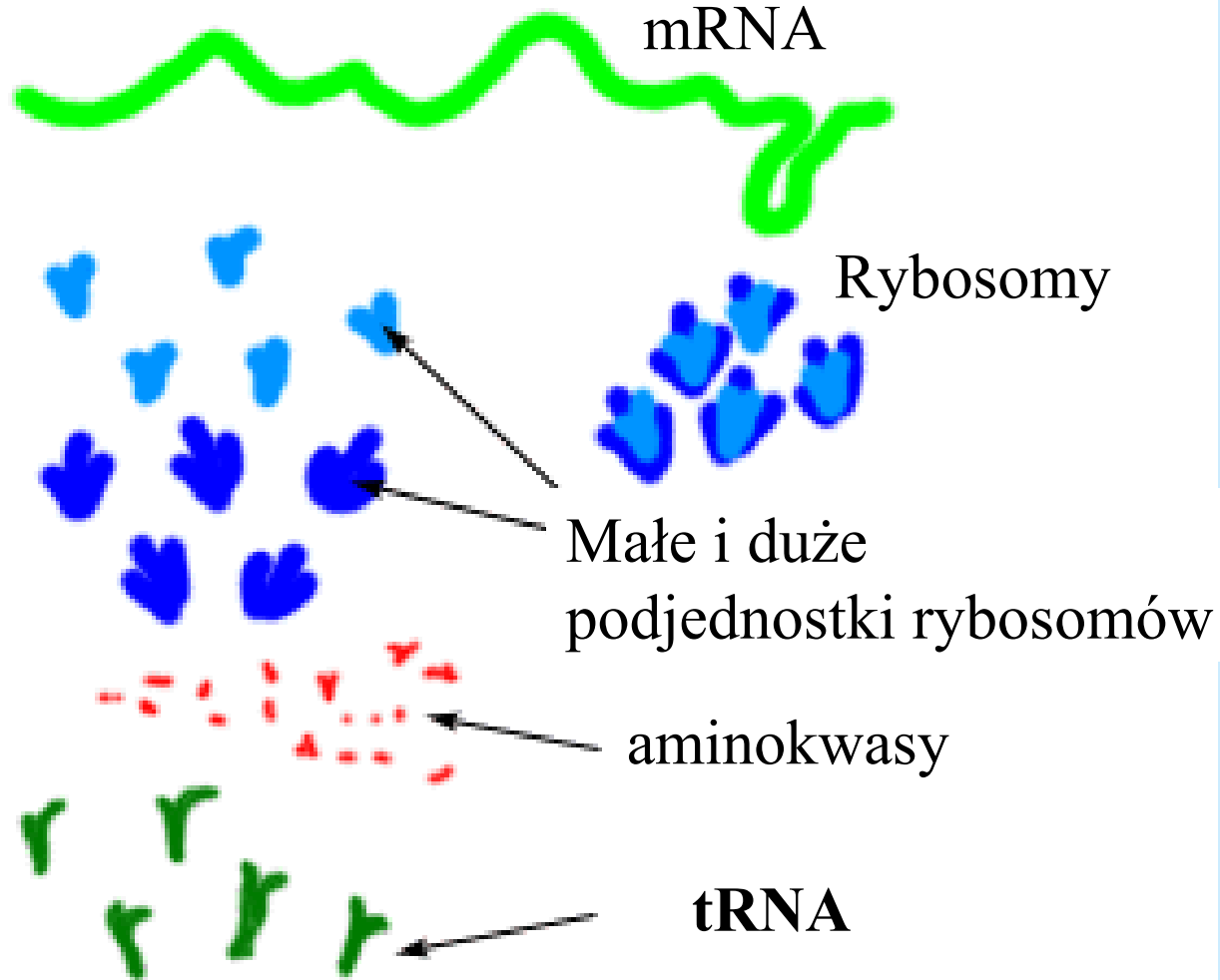
Translacja = synteza białek

**Translacja = drugi (ostatni) etap  
ekspresji genu**

# Ekspresja genów eukariotycznych



# Reagenty translacji



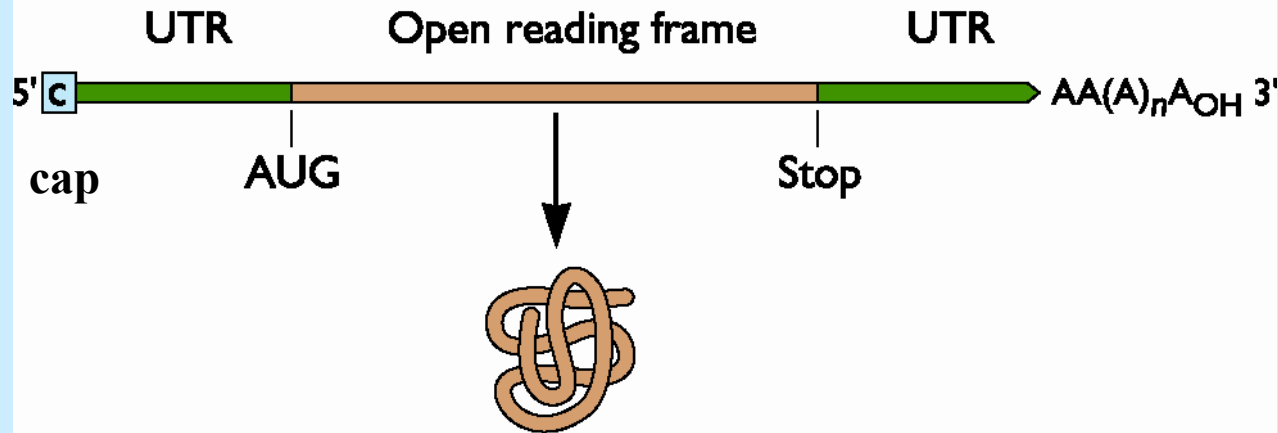
syntetazy aminoacylo-tRNA

GTP, ATP, czynniki translacyjne, peptydylotransferaza

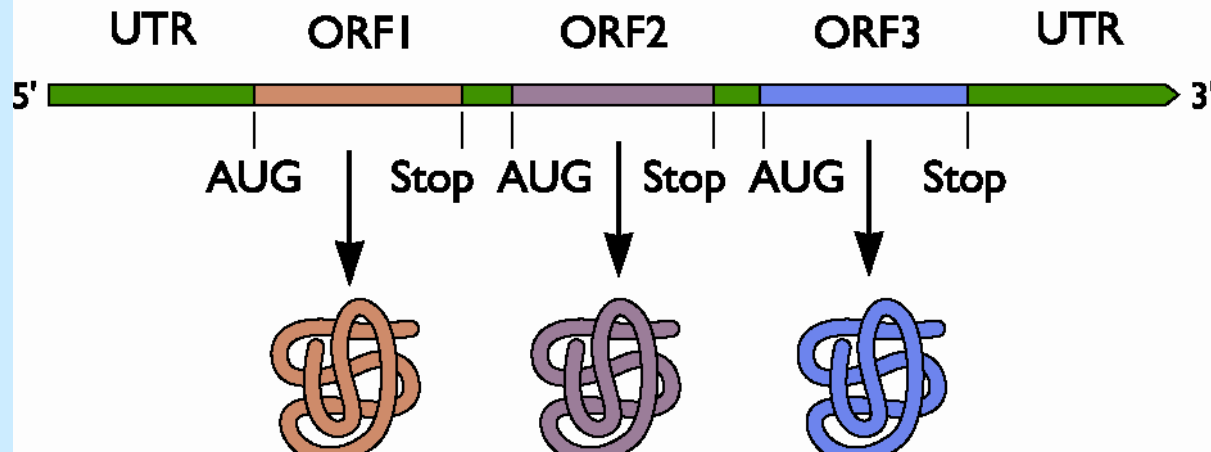
# Translacja

## Porównanie eukariotycznych i prokariotycznych mRNA

### Eukaryotic mRNA (monocistronic)



### Prokaryotic mRNA (polycistronic)



# Synteza białek = Translacja



## Pytania:

- 1. Jak sekwencja mRNA jest przekładana na sekwencję aminokwasów?**
- 2. Jak są aktywowane aminokwasy?**
- 3. Jak jest zapewniana wierność przekładu?**

# Podstawowe etapy translacji:

## 1. Aktywacja aminokwasów      syntetaza aminoacylo-tRNA

aminokwasy + tRNA -----> aminoacylo-tRNA  
**ATP**

## 2. Inicjacja translacji

rybosomy  
mRNA + inicjatorowy-tRNA<sup>met</sup> -----> kompleks inicjujący  
**Czynniki inicjujące (eIF), GTP**

## 3. Elongacja

rybosomy, mRNA  
aminoacyl-tRNA -----> rosnący łańcuch polipeptydowy  
**czynniki elongacyjne (eEF), GTP**

## 4. Terminacja translacji

mRNA (stop kodon) -----> uwolnienie peptydu  
**czynnik uwalniający (RF)**

# Kod genetyczny – przekład sekwencji mRNA sekwencję aminokwasów

## Właściwości kodu genetycznego:

- Trójkowy
- Bezprzecinkowy
- Zdegenerowany  
(wieloznaczny)
- Uniwersalny

## WYJĄTKI:

Genom

mitochondrialny:

	U	C	A	G
U	UUU = phe UUC = phe UUA = leu UUG = leu	UCU = ser UCC = ser UCA = ser UCG = ser	UAU = tyr UAC = tyr UAA = <b>stop</b> UAG = <b>stop</b>	UGU = cys UGC = cys UGA = <b>stop</b> UGG = trp
C	CUU = leu CUC = leu CUA = leu CUG = leu	CCU = pro CCC = pro CCA = pro CCG = pro	CAU = his CAC = his CAA = gln CAG = gln	CGU = arg CGC = arg CGA = arg CGG = arg
A	AUU = ile AUC = ile AUA = ile AUG = met	ACU = thr ACC = thr ACA = thr ACG = thr	AAU = asn AAC = asn AAA = lys AAG = lys	AGU = ser AGC = ser AGA = arg AGG = arg
G	GUU = val GUC = val GUA = val GUG = val	GCU = ala GCC = ala GCA = ala GCG = ala	GAU = asp GAC = asp GAA = glu GAG = glu	GGU = gly GGC = gly GGA = gly GGG = gly

ssaki: UGA (STOP) – Trp, AGA, AGG (Arg) – Stop, AUA (Ile) - Met

## Kod genetyczny...:

Kodon startu = **AUG**

Kodony stop = **UAG, UGA, UAA**

### Otwarta ramka odczytu (ORF):

Rozpoczyna się AUG i nie jest przerywana kodonem stop  
Za sekwencje kodujące uznaje się ORF zawierające co najmniej 100 kodonów

**Synteza białek jest najbardziej energochłonnym procesem komórkowym, zużywa do 90% ATP wytwarzanego w komórkach.**



# Aktywacja aminokwasów

Aktywacja każdego aminokwasu polega na związaniu ze specyficznym dla niego tRNA

Katalizowana jest przez swoiste dla aminokwasu  
**syntetazy aminoacyl-tRNA**



## Aminoacyl Synthetase

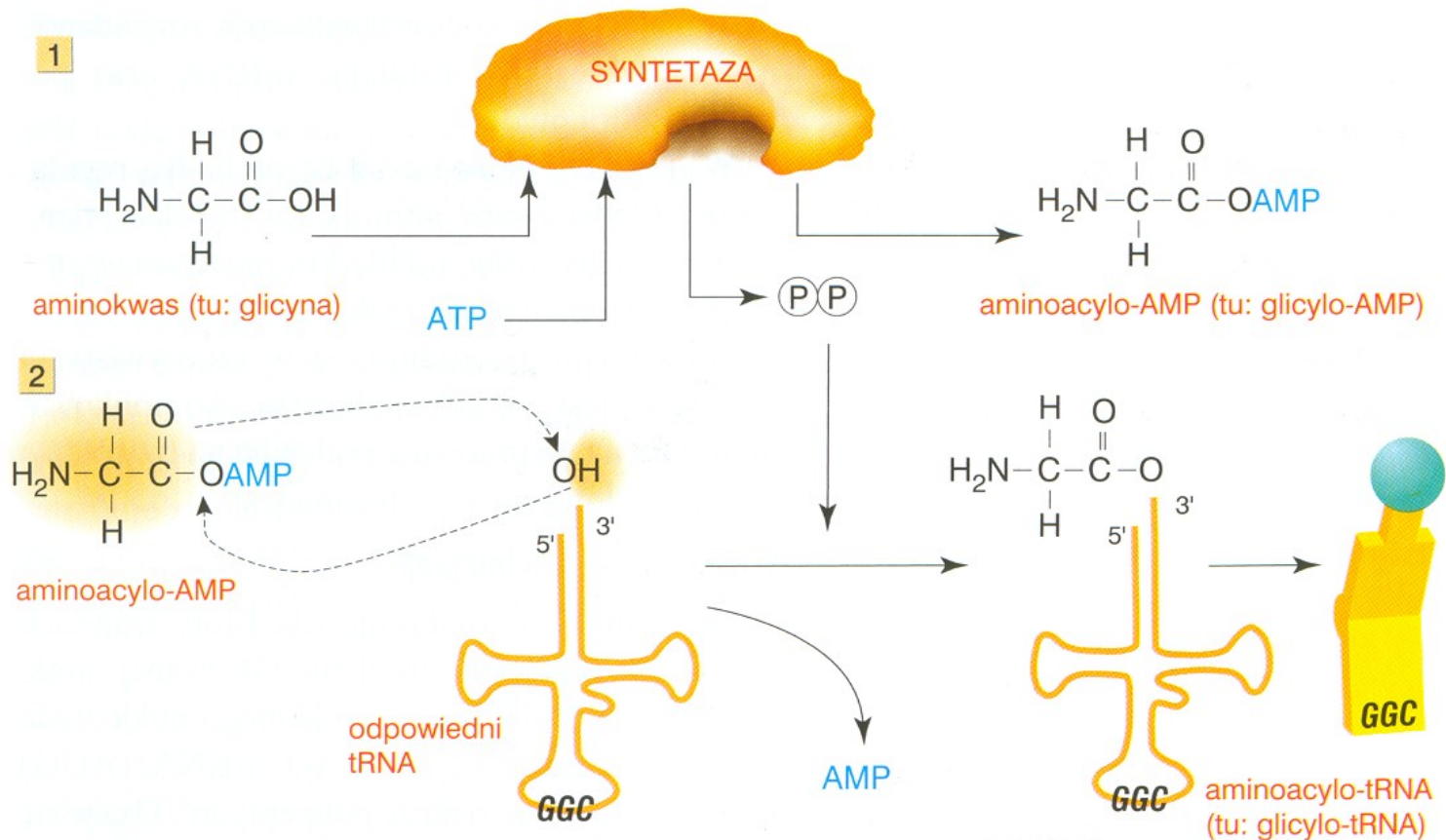
FOR EACH ANTICODON,  
THERE IS AN ENZYME  
WHICH RECOGNIZES IT  
AND ATTACHES THE  
APPROPRIATE AMINO ACID  
TO ITS tRNA.

(Gonick & Whellis 1991)

Enzymy te są swoiste  
dla każdego antykodonu.

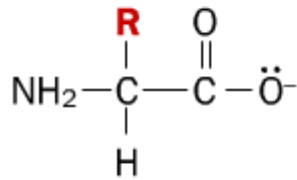
Rozpoznają  
antykonon i katalizują  
przyłączenie właściwego  
aminokwasu do końca 3'  
tRNA

# Reakcja aktywacji jest dwustopniowa

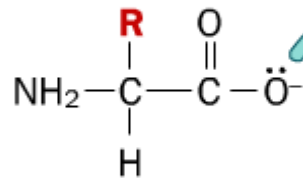
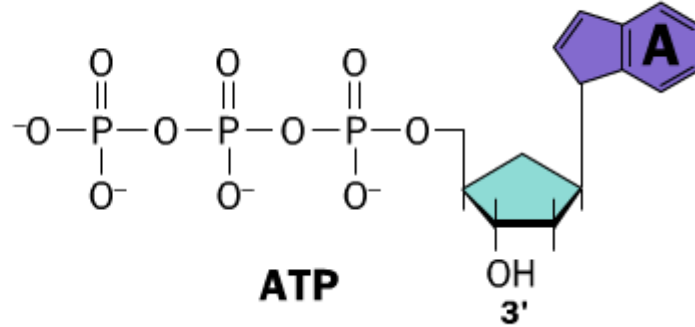


Ryc. 3.8. Dwuetapowa aminoacylacja tRNA (tu: przyłączenie glicyny – Gly)

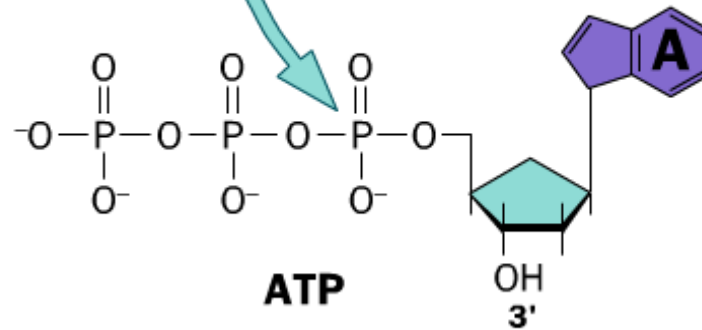
# Aktywowanie aminokwasu

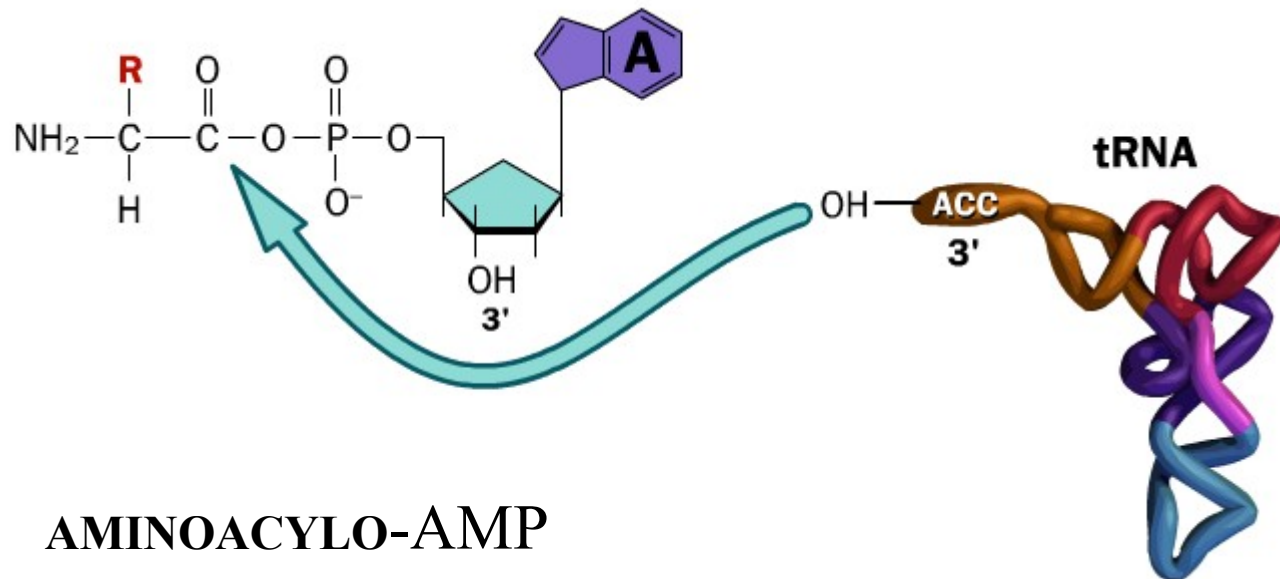
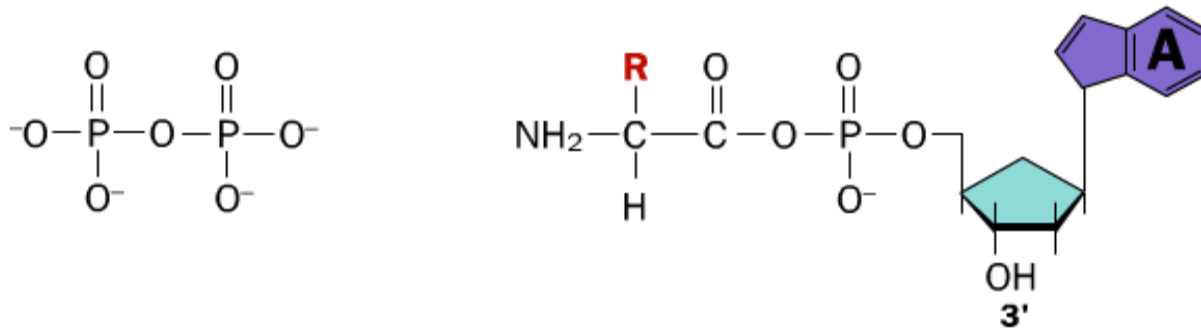


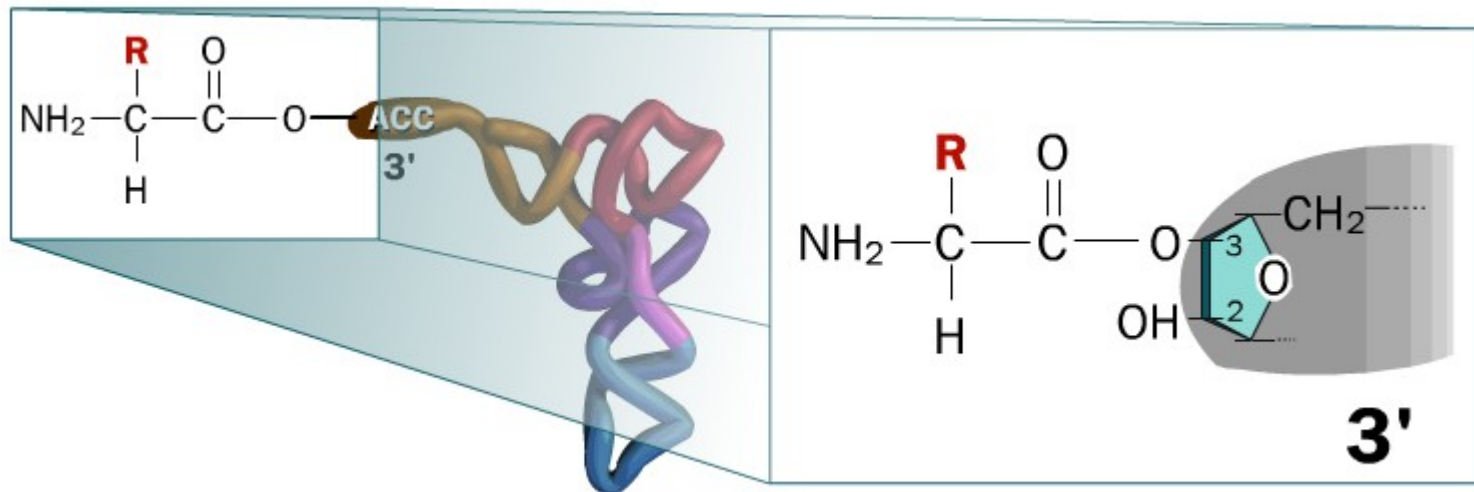
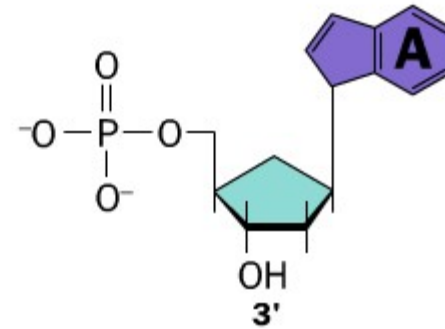
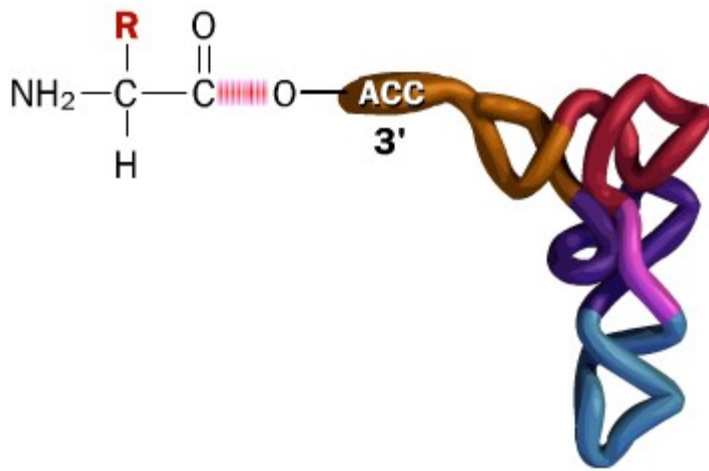
**AMINOKWAS**



**AMINOKWAS**







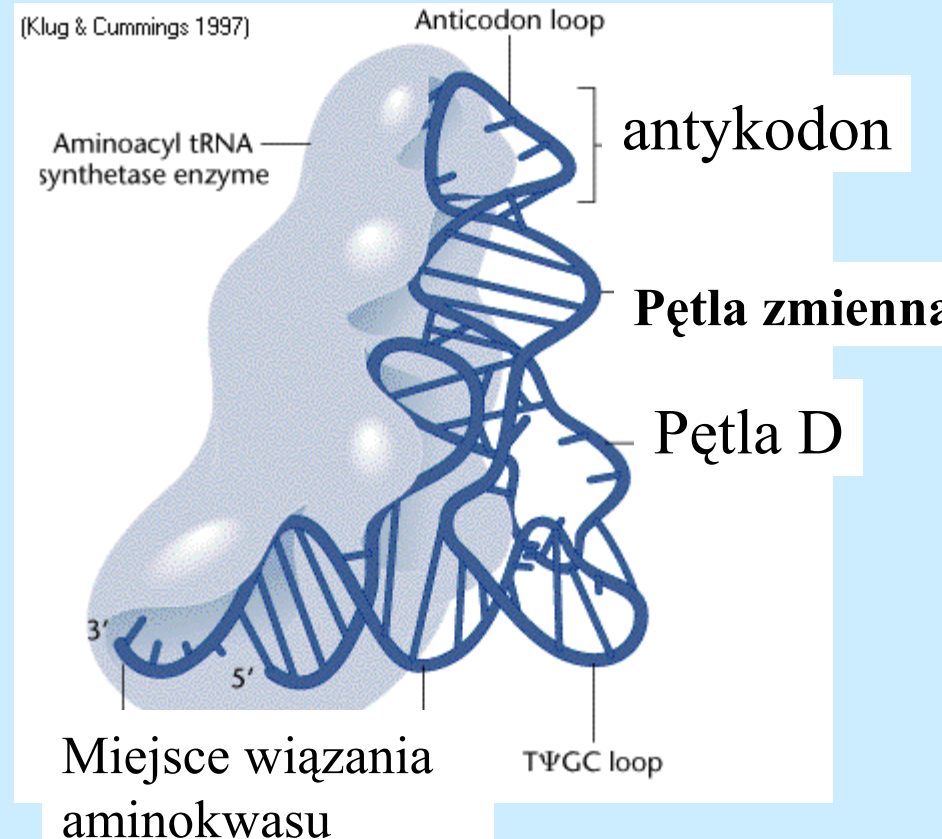
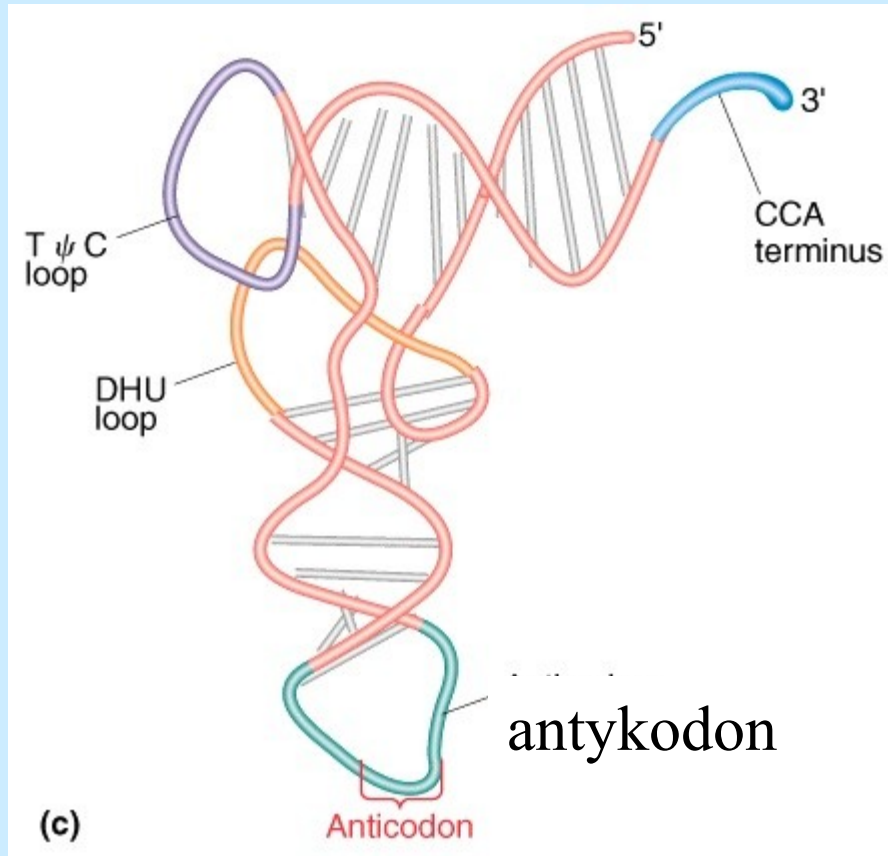
# Jak jest zapewniana poprawność przyłączania aminokwasu?

syntetazy-tRNA są swoiste dla:

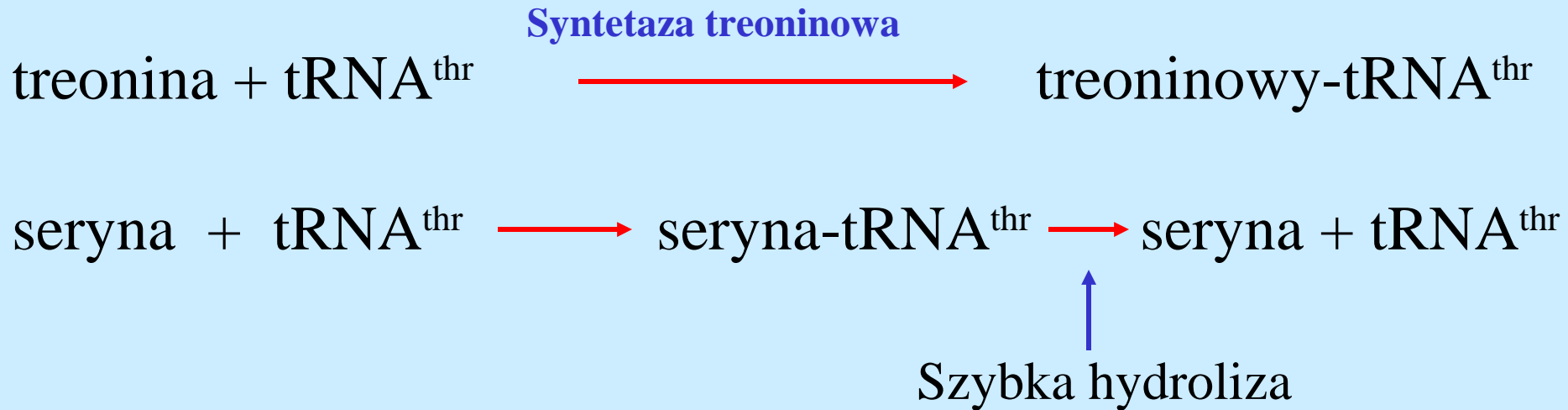
1. pojedynczego aminokwasu
2. swoistego tRNA

1. Jak zapewniana jest swoistość aminokwasu?
  - a. swoistość substratowa
  - b. korygowanie błędów

# Połączenie t-RNA ze swoistą dla niego syntetazą aminoacylo-tRNA

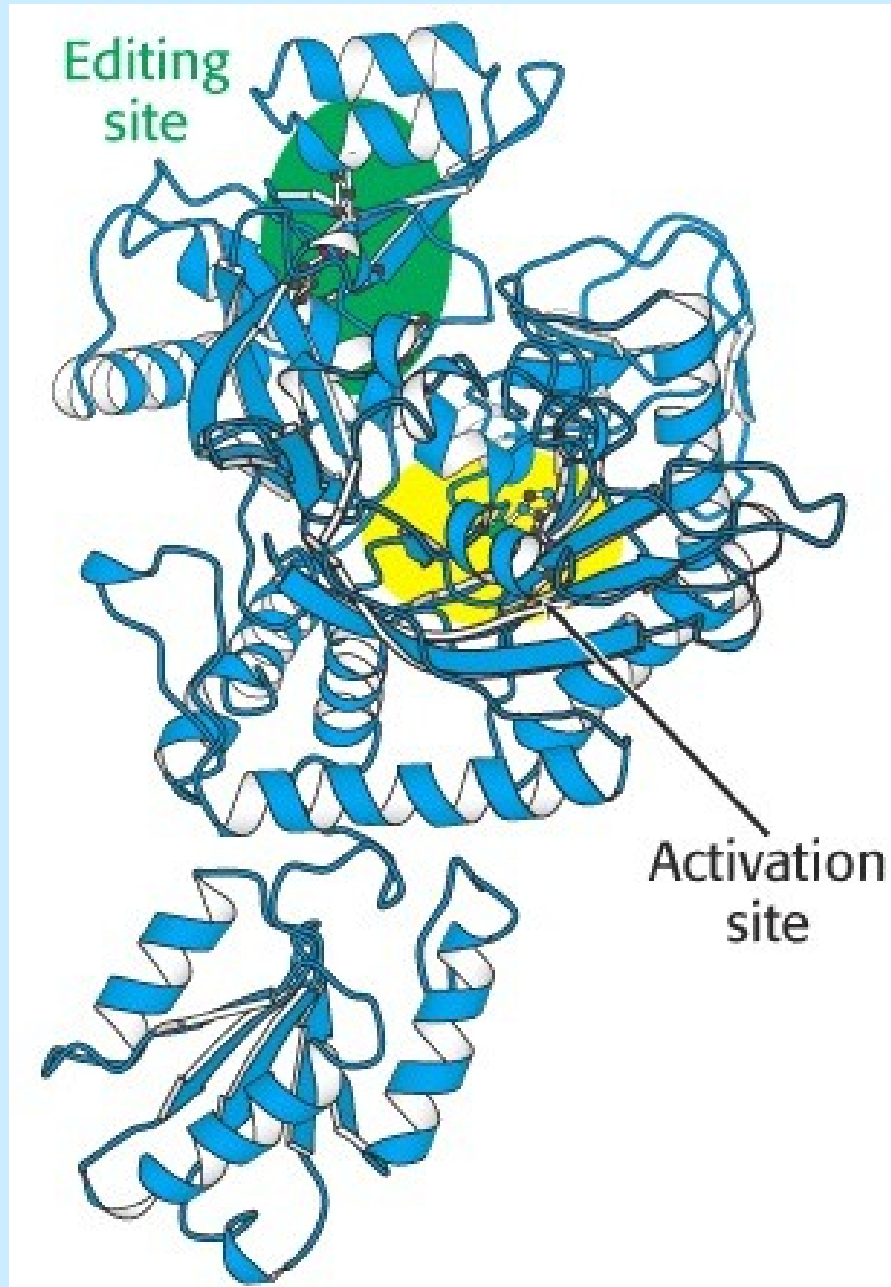


# Korekta Aminoacyl-tRNA

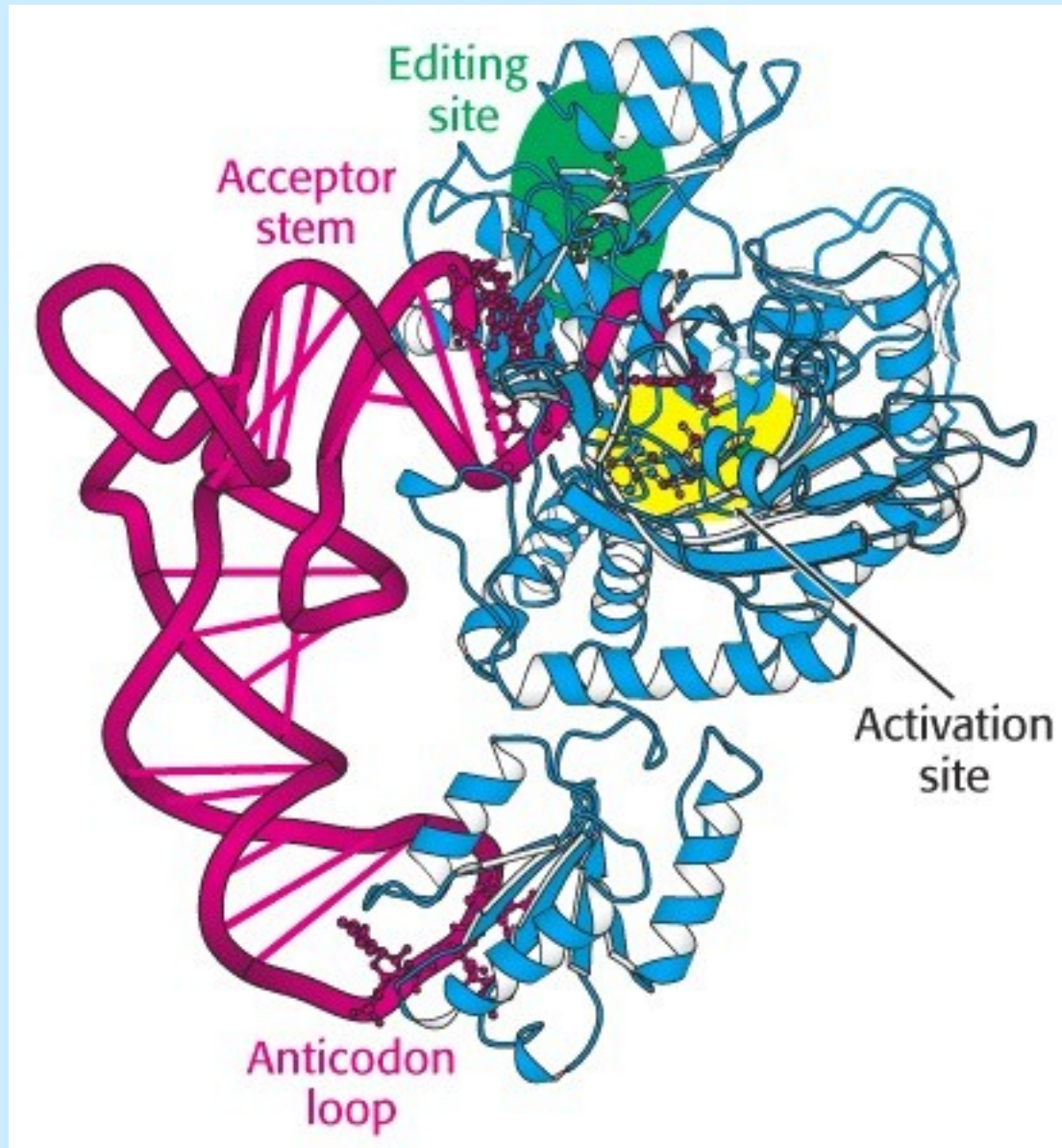




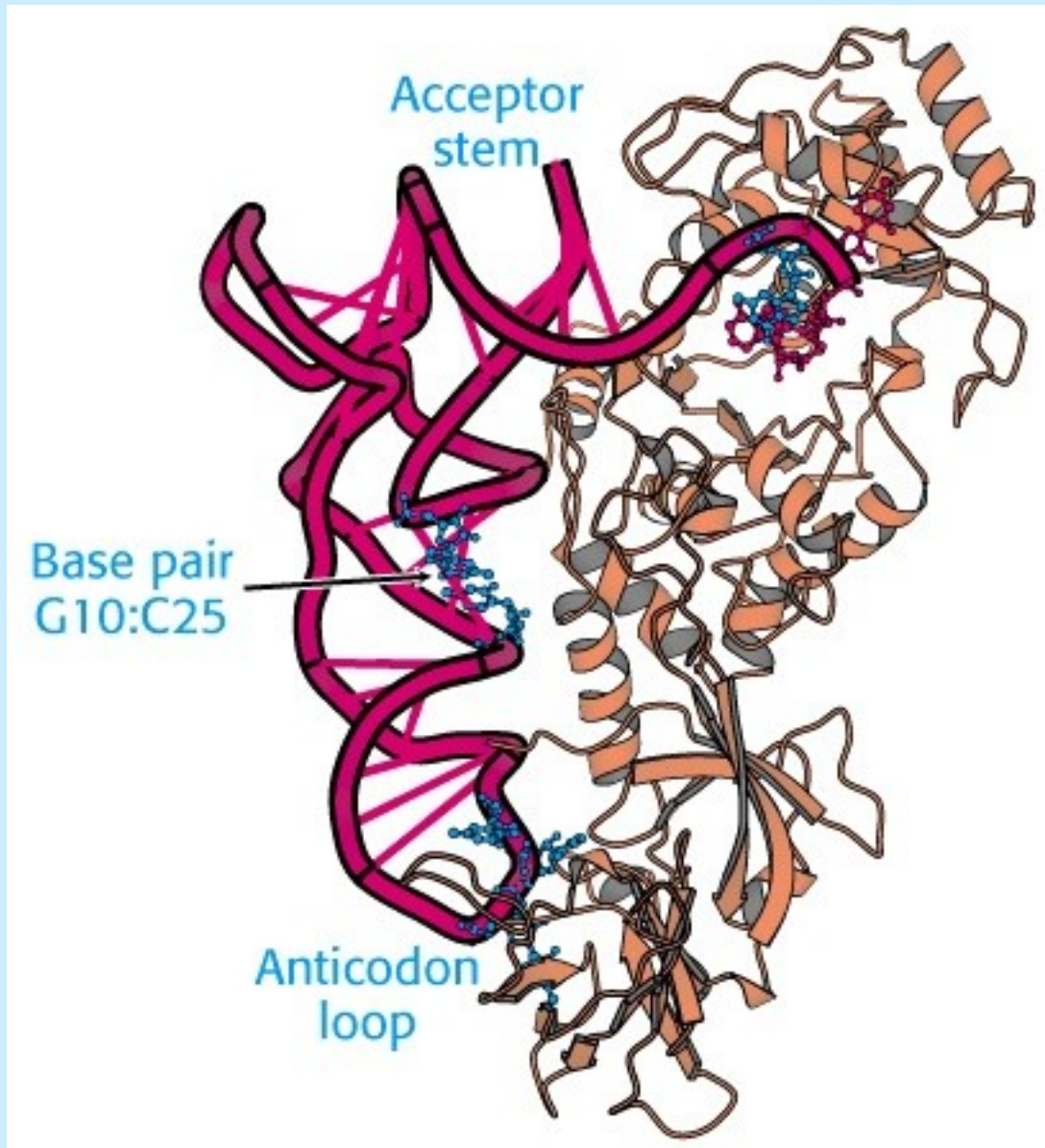
# Syntetaza treoniny



# Syntetaza treoniny



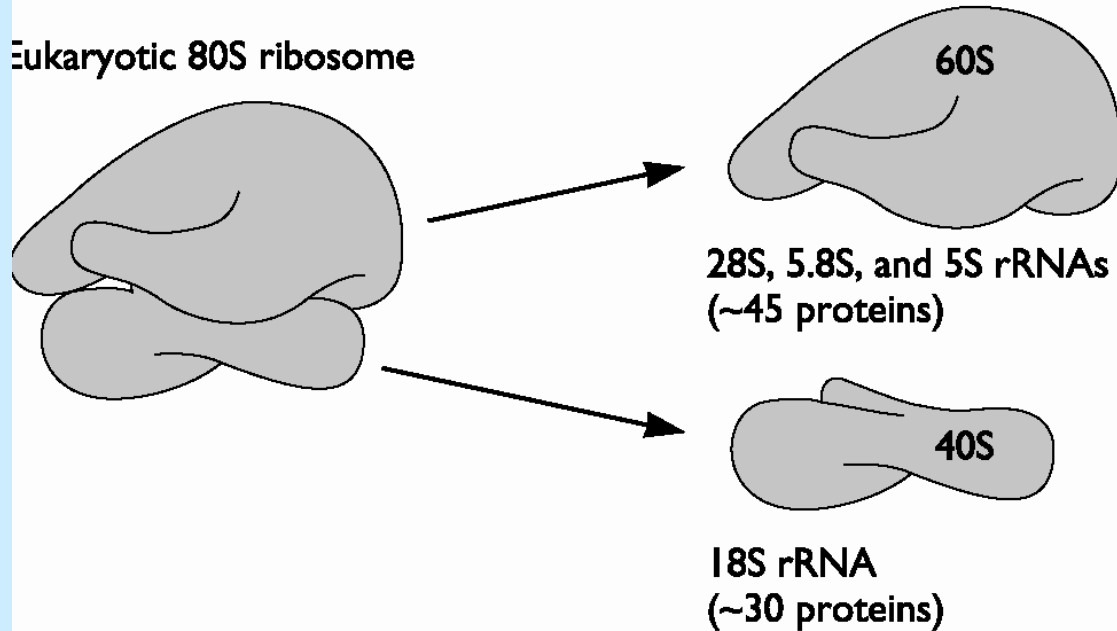
# Syntetaza glutaminy



# Translacja przebiega dzięki rybosomom....

**A**

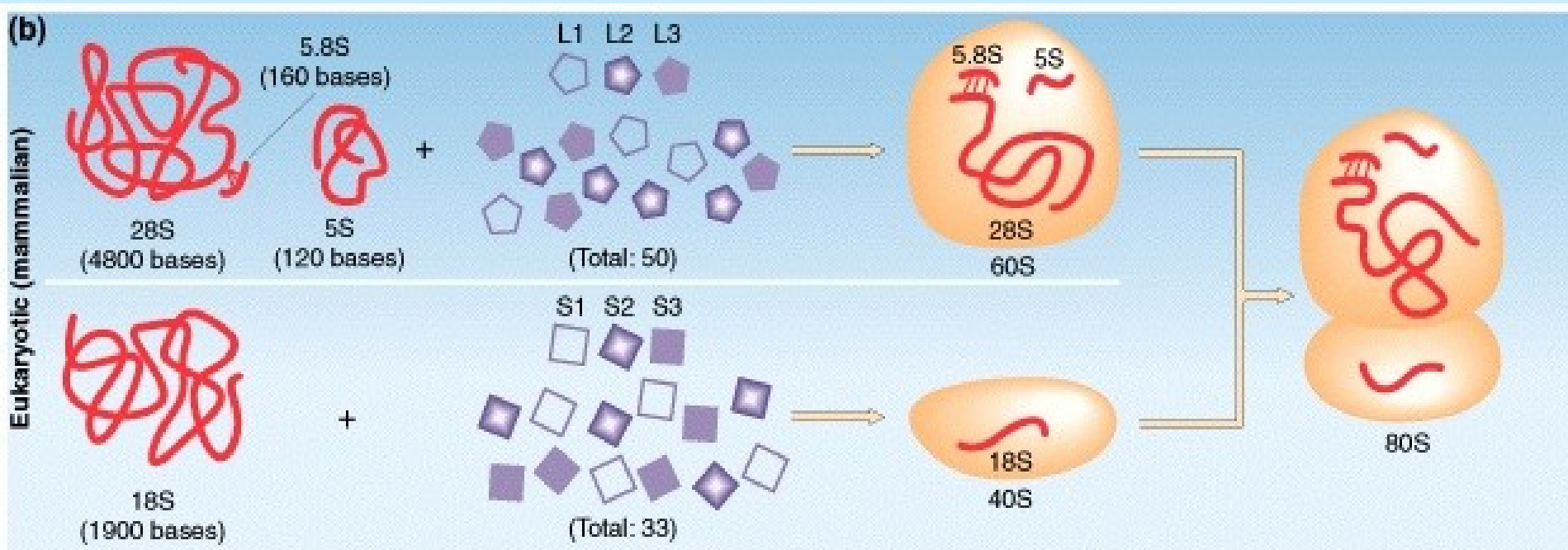
Eukaryotic 80S ribosome

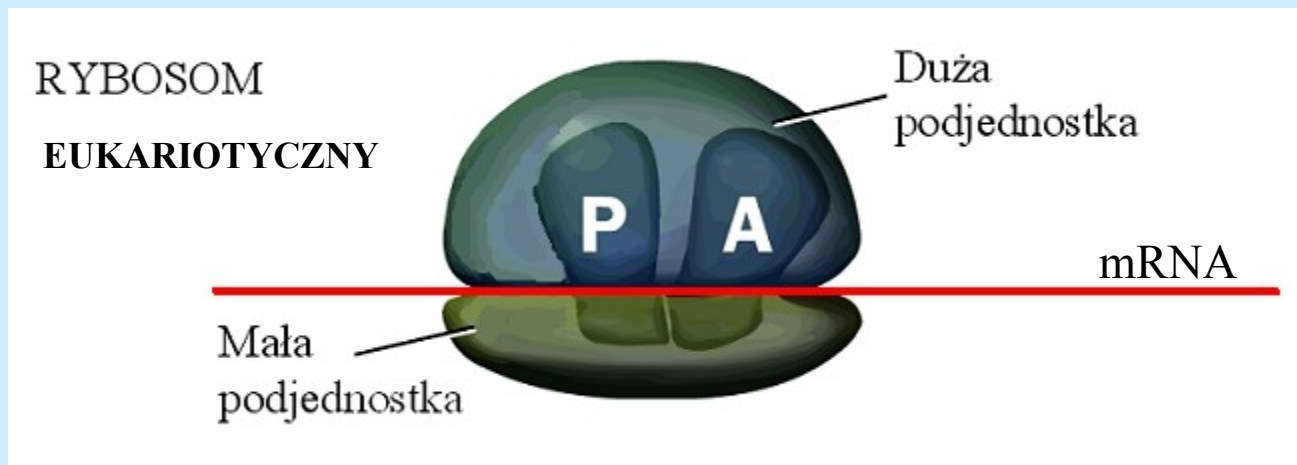


**Dowód że RNA rybosomu pełni funkcje katalityczne:**

- Po usunięciu 95% białek rybosomalnych, podjednostka 60S może katalizować tworzenie wiązań peptydowych
- Białka rybosomalne pomagają w prawidłowym fałdowaniu rRNA

# Budowa rybosomów eukariotycznych





**Rybosom posiada 3 miejsca wiążące RNA: 1 - dla mRNA i 2 - dla tRNA .**

**Miejsce P** - peptydylo –tRNA, utrzymuje tRNA połączone z rosnącym łańcuchem polipeptydowym

**Miejsce A** - wiąże aminoacyl-t RNA, czyli tRNA załadowany aminokwasem.

**tRNA są utrzymywane w tych miejscach wiązaniem z komplementarnymi parami zasad.**

# **PRZEBIEG TRANSLACJI**

## **I. Inicjacja u eukariontów**

- jest etapem regulowania tempa translacji**
- wymaga hydrolizy ATP i GTP**
- w jej wyniku powstaje kompleks zawierający mRNA, rybosom i inicjatorowy Met-tRNA**



# **TRANSLACJA U EUKARIOTA -INICJACJA (2)**

**Dwa mechanizmy inicjacji:**

**1. Zależny od struktury CAP**

**2. Niezależny od struktury CAP**

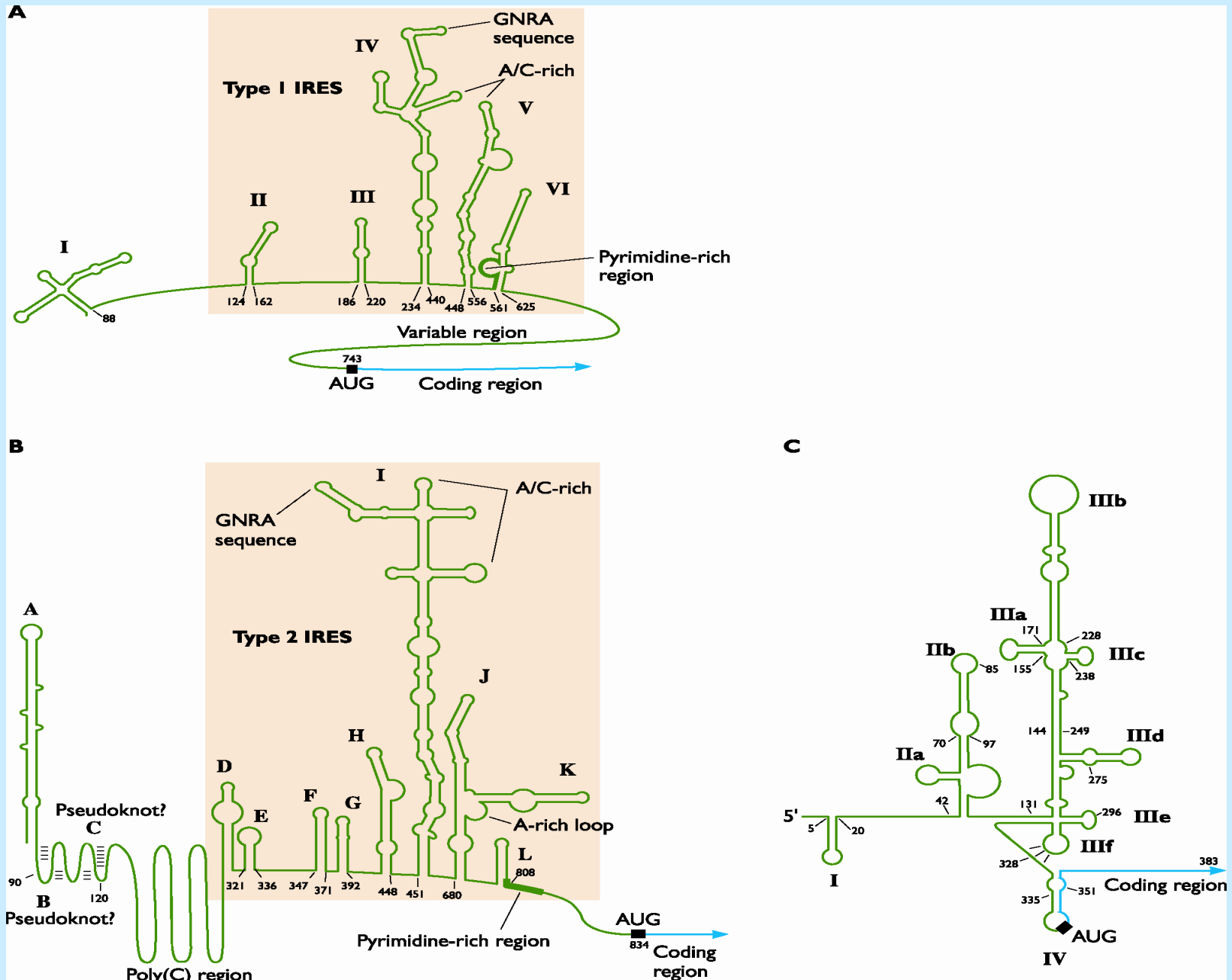
**W translacji mRNA nie posiadających czapeczki inicjacja zachodzi poprzez sekwencję IRES „internal ribosome entry site”**

**Mechanizm ten wykryto u wirusów np. wirus polio posiada na końcu 5' sekwencję o dług. 741 nukleotydów zawierającą 7 kodonów AUG**

**Dotychczas u wirusów wykryto 3 różne typy sekwencji IRES**



# 3 type IRES



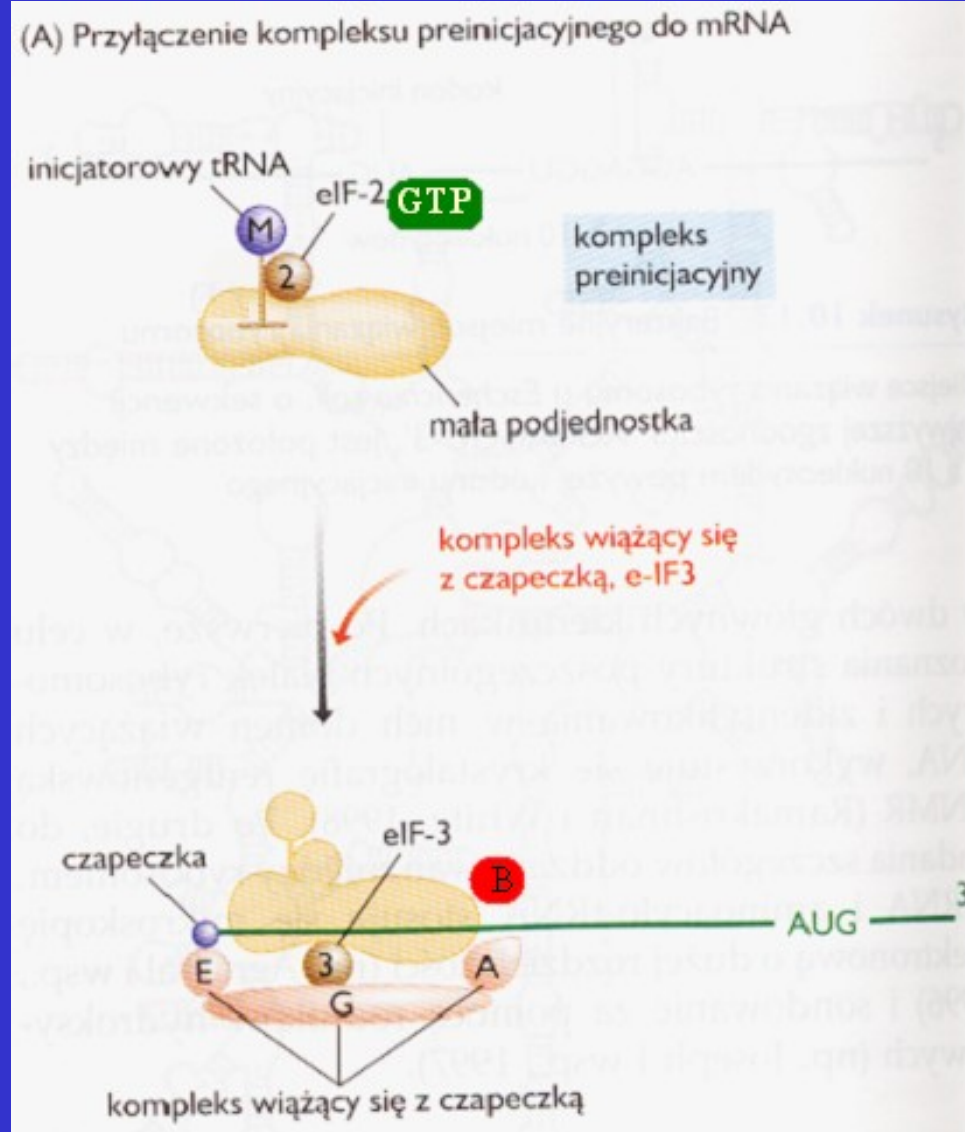
# **TRANSLACJA U EUKARIOTA**

## **-INICJACJA (4)**

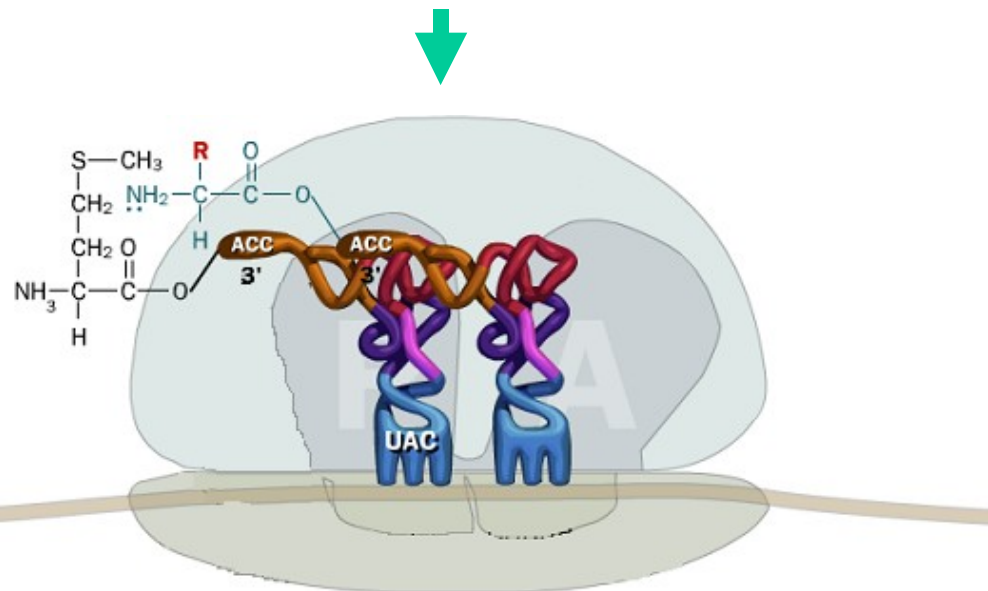
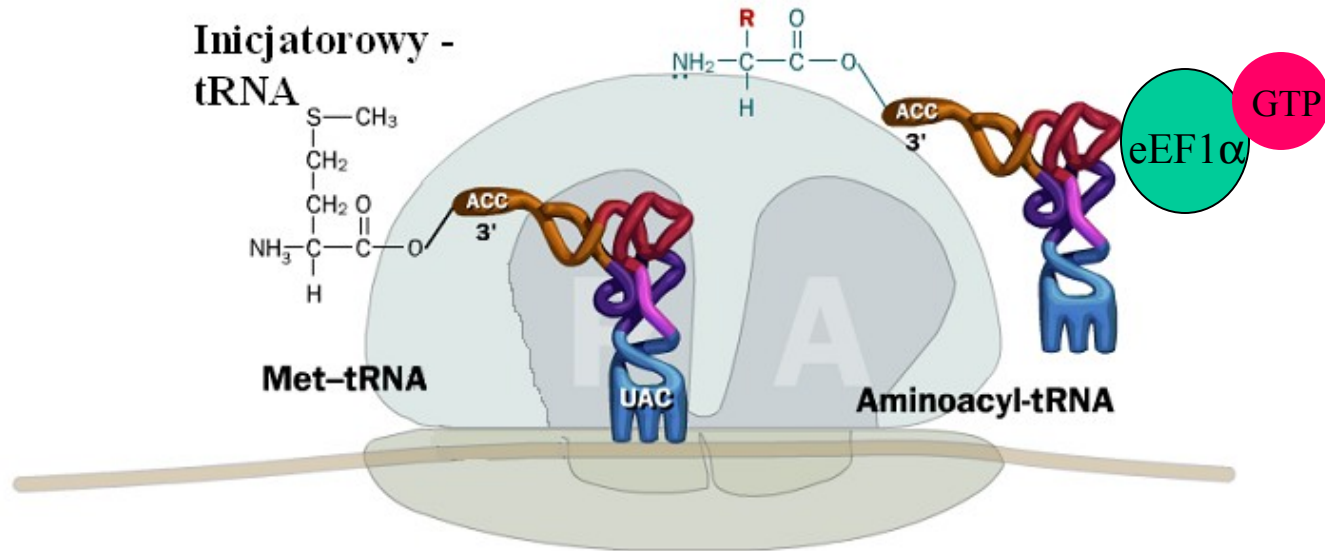
- **W inicjacji zależnej od czapeczki ( cap) kompleks inicjacyjny przyłącza się do 5' cap i przesuwa się od 5' do 3' do napotkania kodonu startu AUG**

# INICJACJA

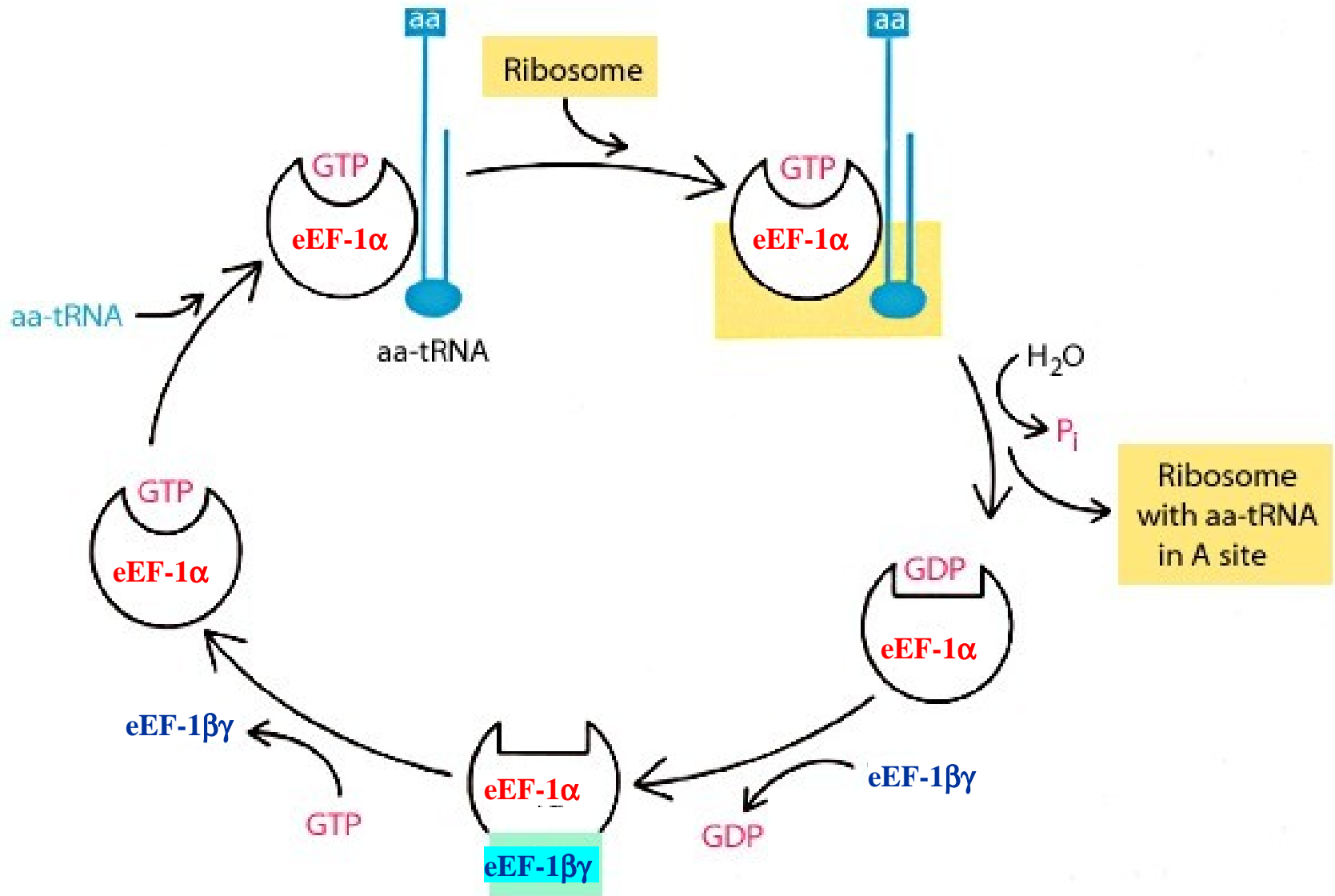
- Związanie eIF3 i eIF4C z małą podjednostką rybosomu, to umożliwia:
- Złożenie kompleksu preinicjacyjnego: inicjatorowy tRNA + eIF2 + GTP
- Związanie kompleksu preinicjacyjnego z mRNA za pomocą kompleksu wiążącego eIF4F (składa się z czynników: eIF-4A, eIF-4E, eIF-4G) (rozpoznaje "Cap").
- skaning mRNA (odnalezienie AUG w kontekście 5'**CCRAUGG**-3' (R = puryna). Odbywa się to prawdopodobnie dzięki aktywności helikazy czynników eIF-4A i eIF-4B.
- eIF5 hydrolizuje GTP i wypiera eIF2 oraz eIF3
- eIF4C wspomaga wiązanie podjednostki 60S (po odłączeniu eIF6) powstaje kompleks inicjujący 80S
- kompleks eIF2-GDP uwolniony z małej podjednostki jest ponownie wprowadzany do cyklu inicjacji przez eIF2B (szybkość tego procesu jest regulowana przez fosforylację podjedn. alfa eIF2 (fosforylacja eIF2 hamuje inicjację translacji)

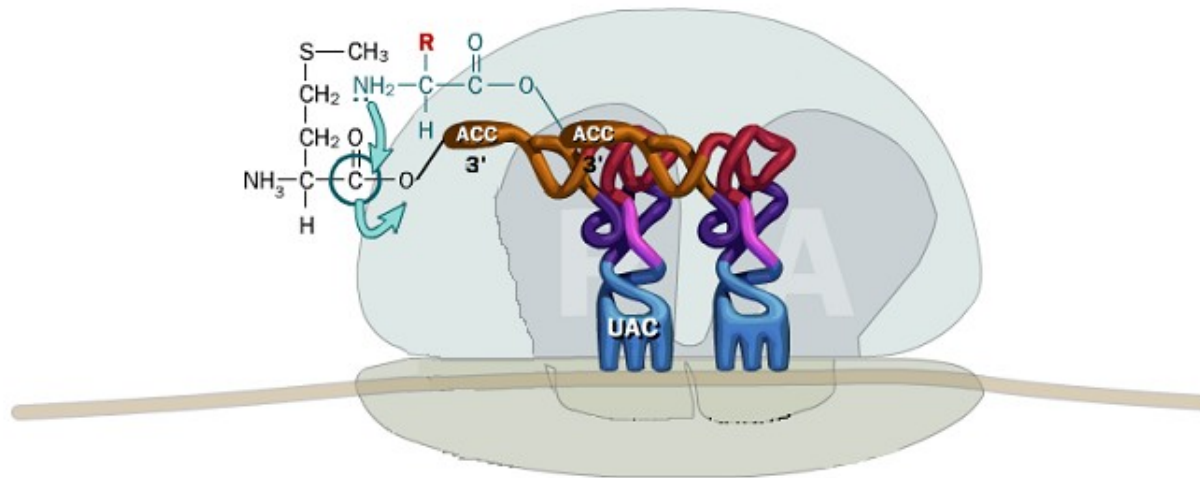


# ELONGACJA

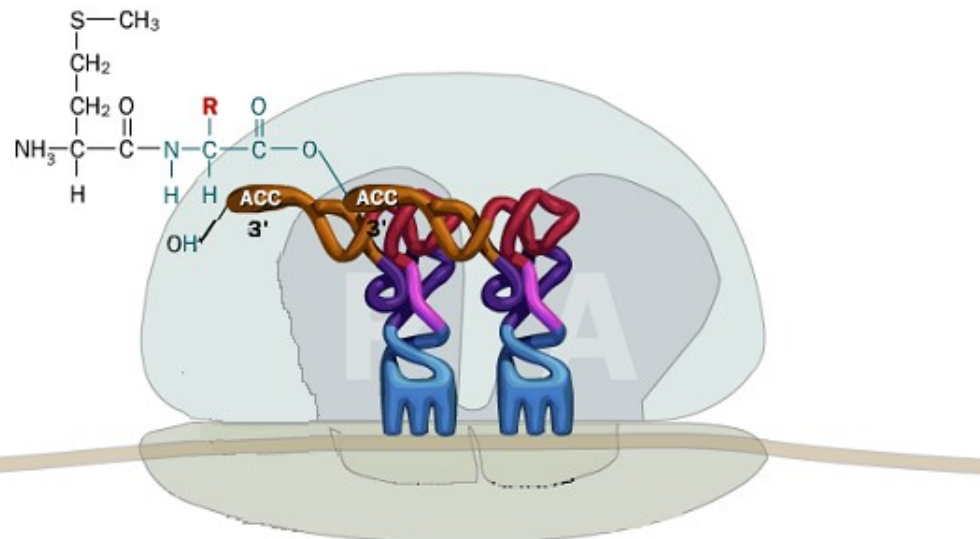


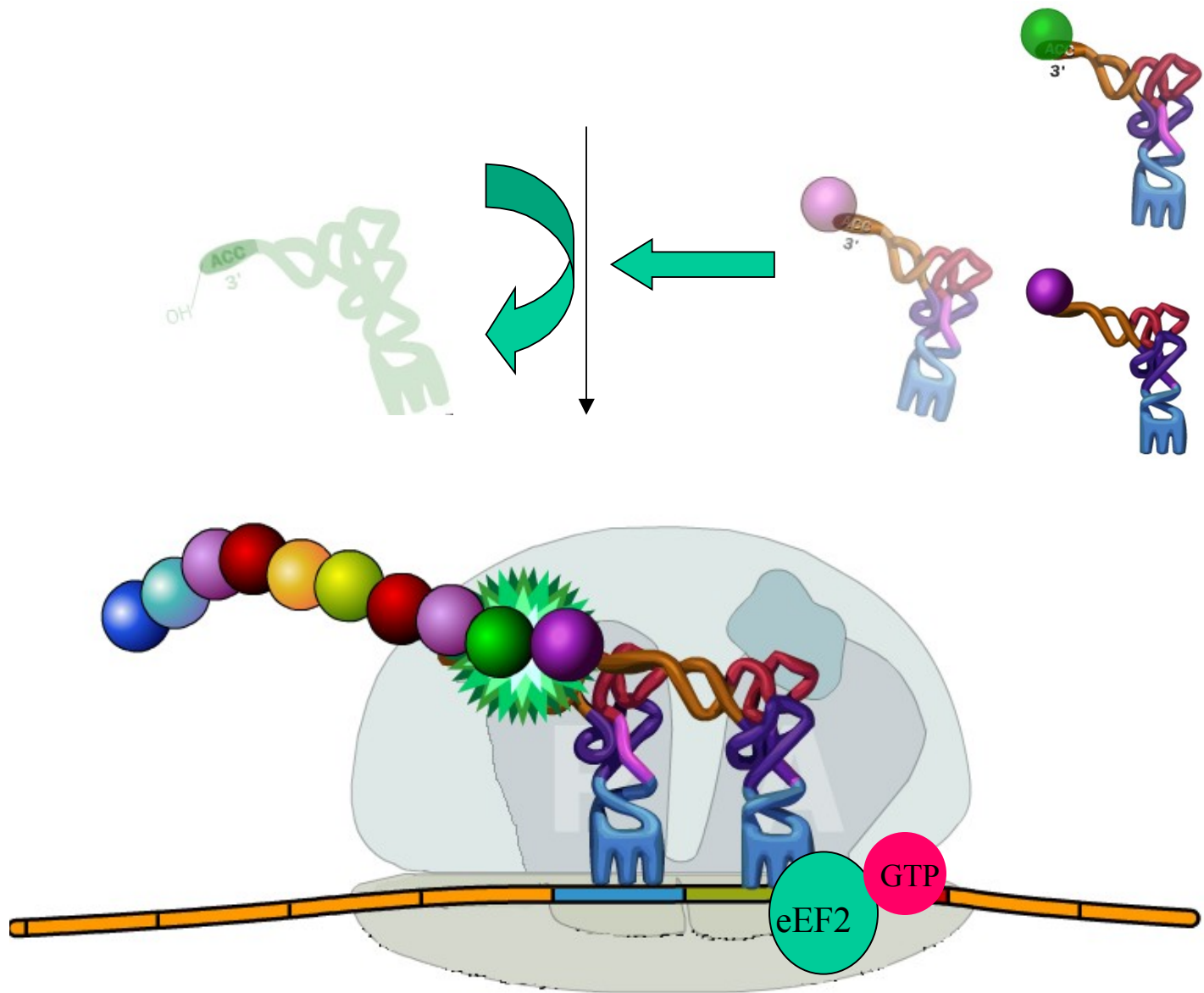
# Czynnik elongacyjny, **eEF-1 $\alpha$** , dostarcza aa-tRNA do miejsca “A”





**PEPTYDYLOTRANSFERAZA**

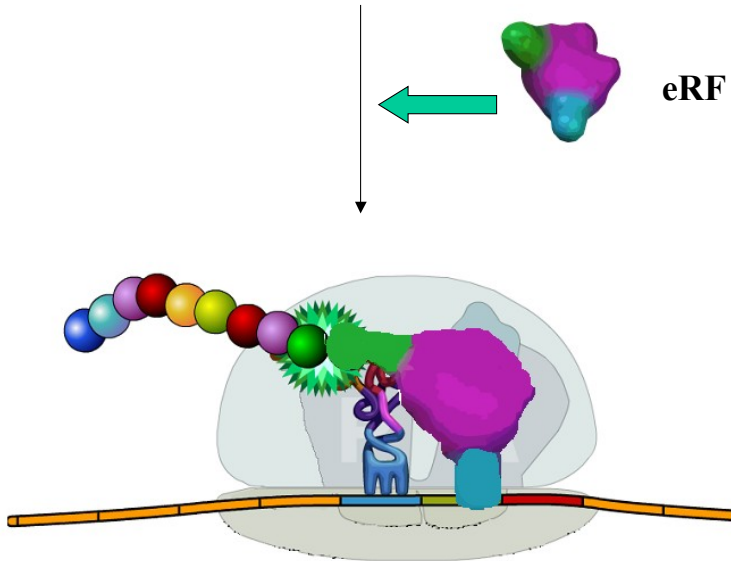




# TERMINACJA

1 czynnik uwalniający (**eRF**) rozpoznaje wszystkie kodony “stop”; wymaga GTP,

również ogonek poliA może zatrzymywać translację



**Czynniki RF powodują, że peptydylotransferaza przenosi polipeptyd na cząsteczkę wody a nie na aminoacylo-tRNA**



# **Potranslacyjne modyfikacje białek.**

# **NAJCZĘSTSZE POTRANSLACYJNE MODYFIKACJE BIAŁEK**

- PROTEOLITYCZNE ROZSZCZEPIANIE**
- WYCINANIE INTEIN**
- MODYFIKACJE CHEMICZNE**

# Proteolityczne rozszczepienie białka

➤ Wykorzystywane jest do usuwania krótkich fragmentów z końca N lub C polipeptydu

❖ melityna wydzielana przez pszczoły - aktywne białko powoduje lizę komórek zwierzęcych. M. syntetyzowana jest jako nieaktywny prekursor, mający na końcu N 22 dodatkowe aminokwasy

❖ Enzymy z rodziny proteaz asparaginianowych

❖ Insulina

# Proteaza asparaginianowa *Ancylostoma ceylanicum*



MARLVLLLLALFTLAVASVHRRTFHQPRRYVKSVSLSRQPTLRERLLGTGS  
WEDYQKQRYHYQKKLLAKYAANKASKLQSTNEIDELLRNYMDAQYFGTIQ  
IGTPAQNFTVIFDTGSSNLWVPSRKCPFYDIACMLHHRYDSGASSTYKED  
GRKMAIQYGTGSMKGFISKDNVCIAGICAVEQPFAEATSEPGLTFIAAKF  
DGILGMAFPEISVLGVPPVFHTFIEQKKVPSPVF AFWLNRNPDSELGGEI  
TLGGMDPRRYVEPITWTPVTRRGYWQFKMDKVQGGSTSIACPNGCQAIAD  
TGTS LIAGPKAQVEAIQKFIGAEPLMKGEYMI PCDKVPSLP ELSFVIEGR  
TFILKGEDYVLT VKAGGKSICLSGFMGMDFPERIGELWILGDVFIGKYYT  
VFDIGQARLGFAQAKSEDGYVGPVAVRRYNKFSEDS DSD EDDVFTL



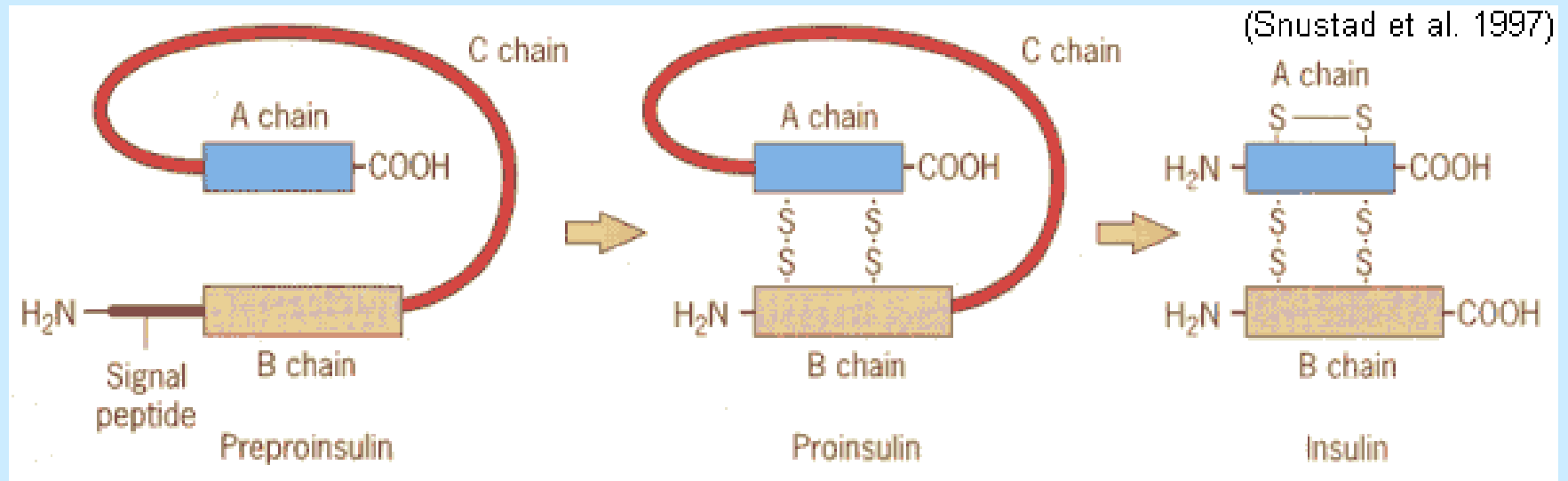
Kompletna sekwencja aminokwasowa: 1..446

Oczekiwana sekwencja sygnałowa: 1..16

Oczekiwana sekwencja prpeptydu: 17..446

Oczkekiwana sekwencja części katalitycznej: 79..446

# INSULINA

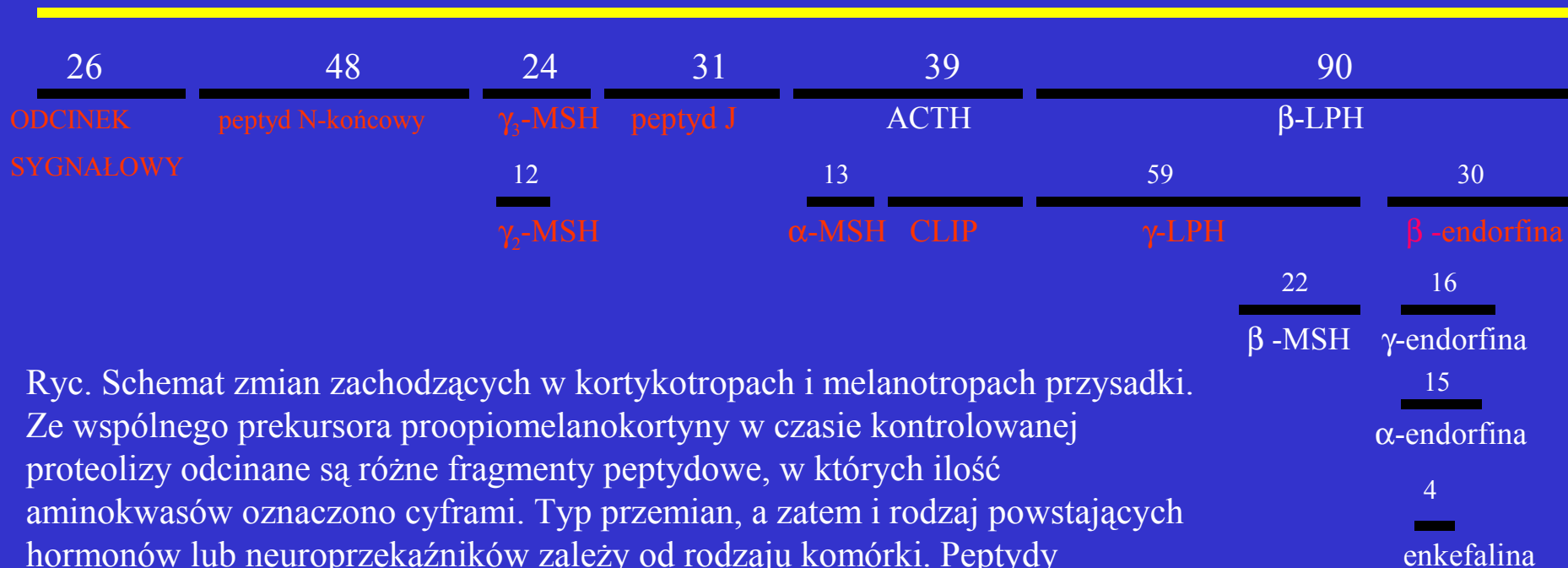


➤ Wykorzystywane jest również do cięcia poliprotein na segmenty.  
**Każdy z fragmentów staje się aktywnym białkiem**

(niektóre białka początkowo syntetyzowane są jako poliproteina, długi polipeptyd zawierający kilka białek połączonych jedno za drugim, sposobem głowa-ogon; bakteriofagi, wirusy eukariotyczne, hormony peptydowe).

## PROOPIOMELANOKORTYNA

265 aa

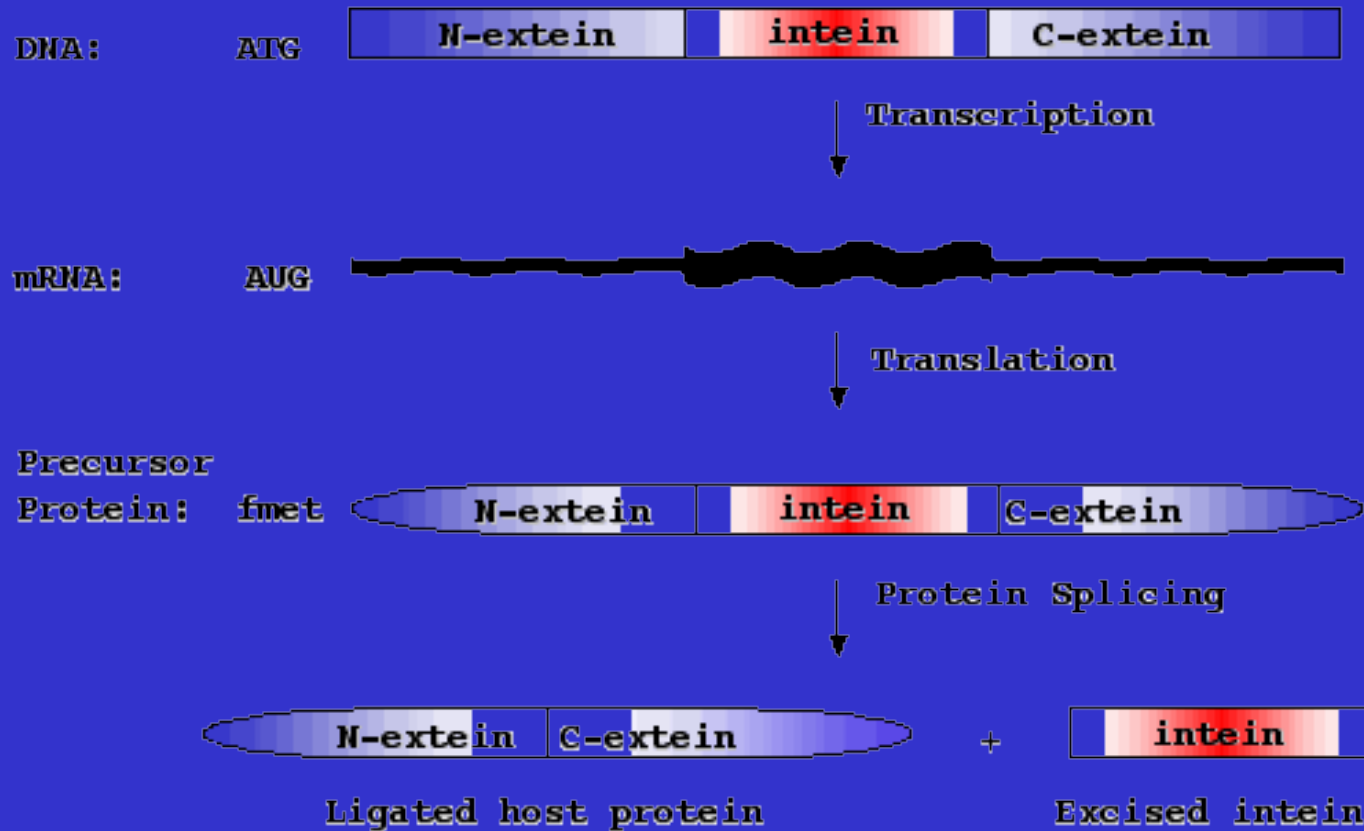


Ryc. Schemat zmian zachodzących w kortykotropach i melanotropach przysadki. Ze wspólnego prekursora proopiomelanokortyny w czasie kontrolowanej proteolizy odcinane są różne fragmenty peptydowe, w których ilość aminokwasów oznaczono cyframi. Typ przemian, a zatem i rodzaj powstających hormonów lub neuroprzekaźników zależy od rodzaju komórki. Peptydy powstające w melanotropach części pośredniej przysadki zaznaczono kolorem różowym (Kawiak, Podstawy Cytofizjologii, 1995, zmodyfikowane).

# WYCINANIE INTEIN = BIAŁKOWA WERSJA WYCINANIA INTRONÓW Z PRE-mRNA

- **INTEINY** są to wewnętrzne segmenty białek wykryte po raz pierwszy u drożdży w 1990 r (do 2000 r wykryto 20, głównie w genach archeonów ale także u bakterii i niższych eukariontów).
- Inteiny eukariotyczne występują zarówno w białkach kodowanych przez geny jądrowe jak i geny poszczególnych organelli
- Większość intein ma od 300 do 600 aminokwasów długości
- sekwencje na końcach inteiny są podobne we wszystkich znanych przypadkach (pierwszym aminokwasem jest metionina a dwa ostatnie to histydyna i asparagina.
- Wewnątrz inteiny znajduje się również kilka konserwatywnych aminokwasów.
- Przypuszcza się, że aminokwasy te biorą udział w procesie wycinania, który jest katalizowany przez samą inteinę

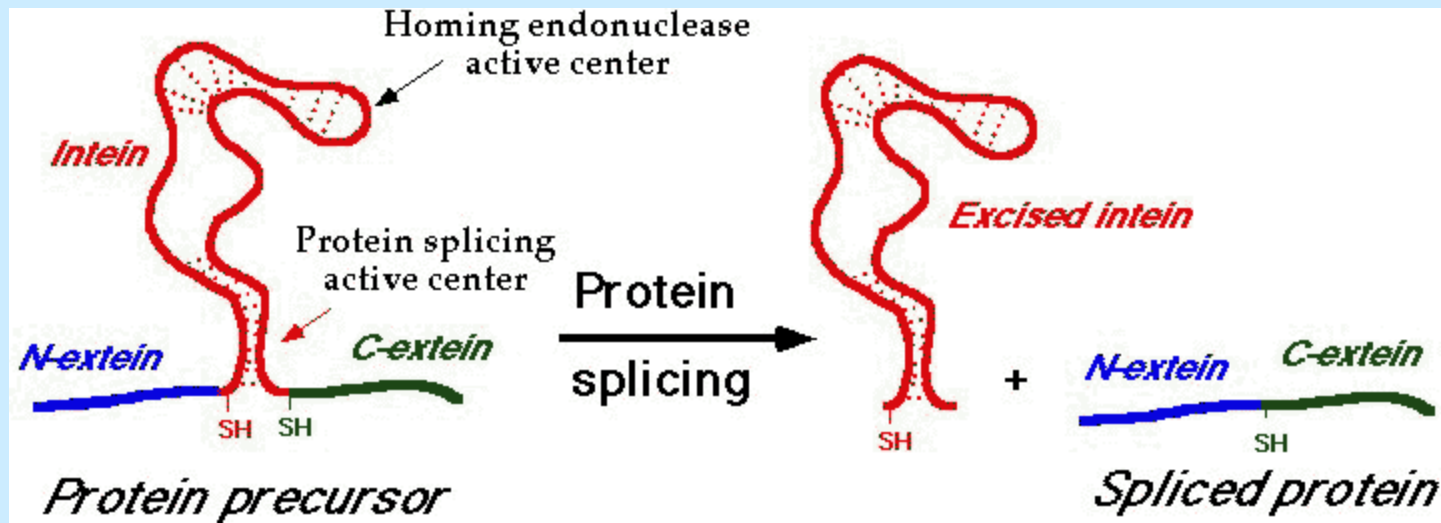
# WYCINANIE INTEIN





Inteiny mają zdolność do ukierunkowanego przemieszczania się

- mogą wycinać sekwencję DNA kodującą inteinę (zdolność endonukleazy), która może być włączona w DNA kodujący bezinteinową wersję białka.



# CHEMICZNA MODYFIKACJA BIAŁKA

- **Najprostsza – dołączanie małej grupy chemicznej np. grupy: acetylowej  
metylowej  
fosforanowej (w różnych białkach wykryto ponad 150 różnych modyfikowanych aminokwasów)**
- **aktywna transkrypcyjnie chromatyna jest szczególnie bogata w acetylowane formy histonów. Wykazano istnienie korelacji pomiędzy wzrostem acetylacji histonów H3 i H4 („superacetylacja”) i syntezą RNA.**

# GLIKOZYLACJA = przekształcenie peptydów w glikoproteiny

## ➤ **Najbardziej złożona modyfikacja**

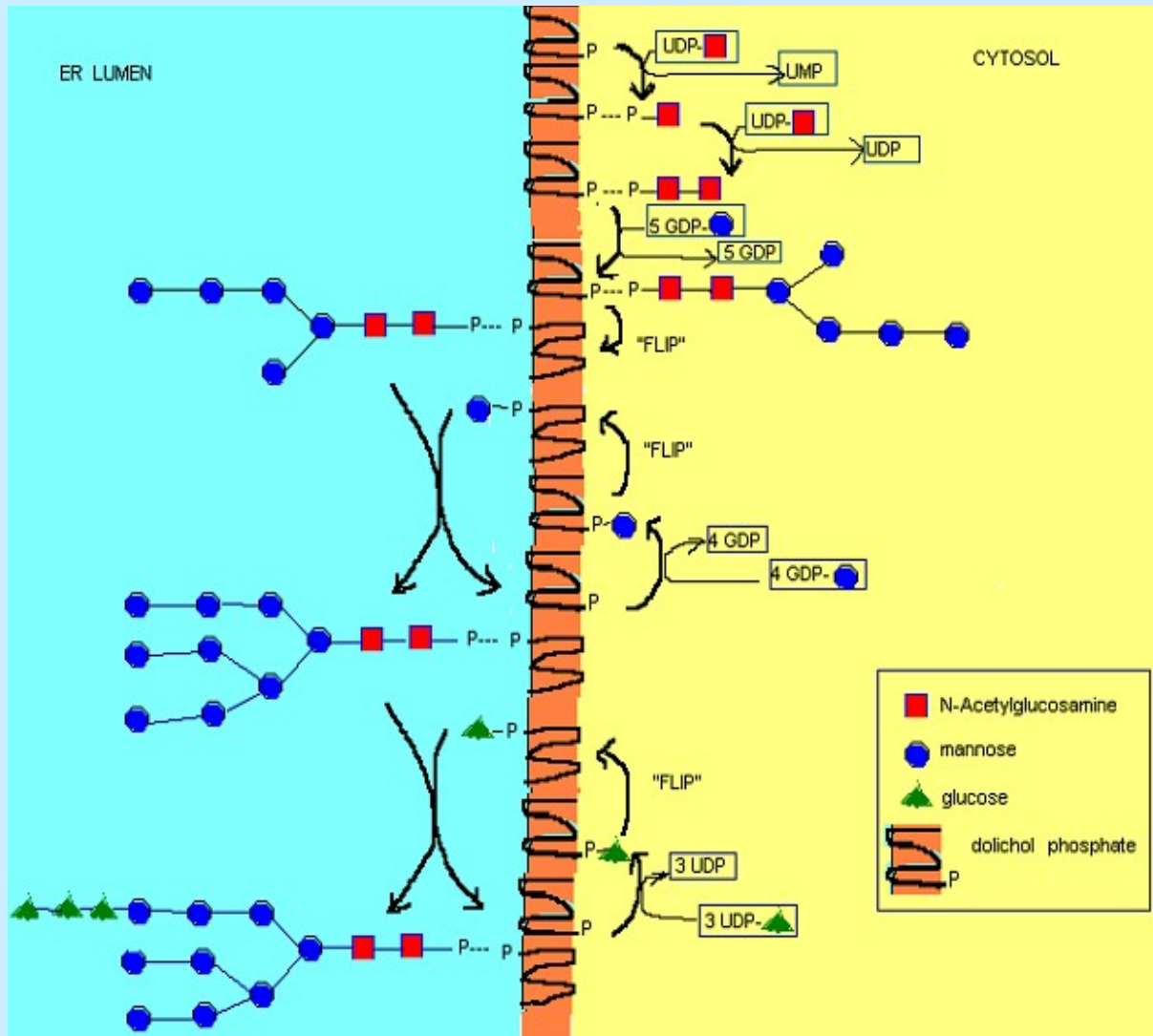
Wynikiem glikozylacji może być przyłączenie do białka dużych struktur tworzących rozgałęzioną sieć, w której skład wchodzi 10-20 różnego typu jednostek cukrowych.

Te łańcuchy boczne kierują białko do odpowiedniego miejsca w komórce i decydują o stabilności białek krążących w krwiobiegu

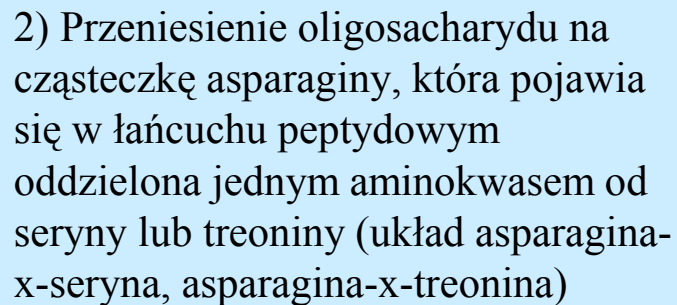
★ **Glikozylacja typu O – polega na przyłączeniu bocznego łańcucha cukrowego poprzez grupę hydroksylową seryny lub treoniny**

★ **Glikozylacja typu N – w jej wyniku następuje przyłączenie poprzez grupę aminową asparaginy**

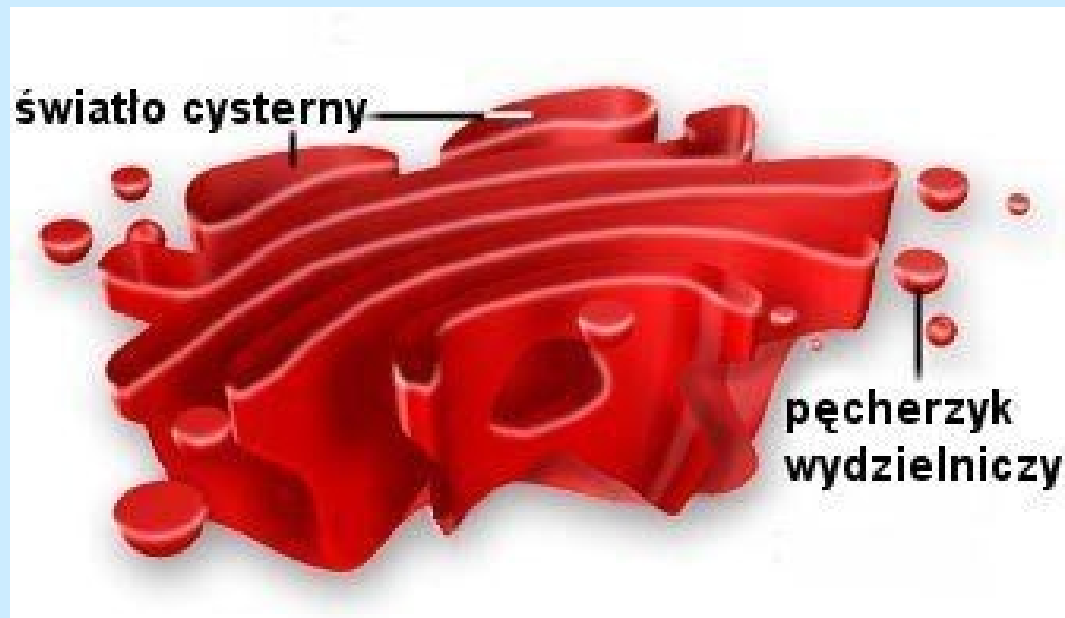
# N - Glikozylacja



1) Wytworzenie prekursora cukrowego za pośrednictwem ufosforylowanego glikolipidu – dolicholu



# Aparat Golgiego



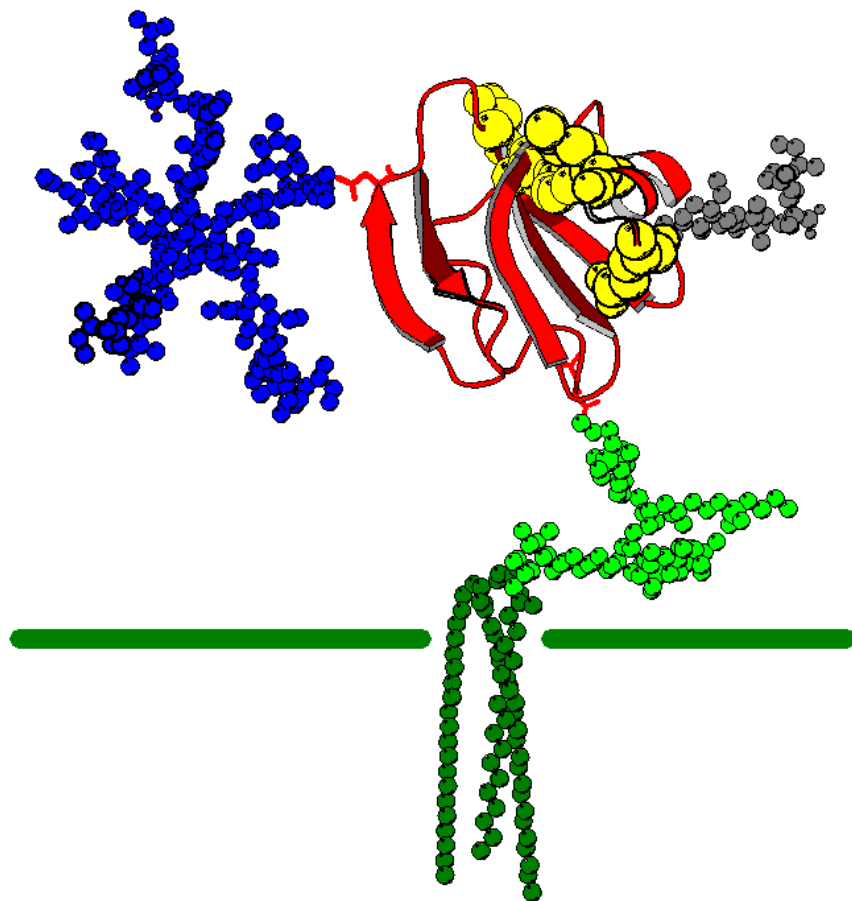
## Modyfikacje na terenie Aparatu Golgiego

- Glikozylacja poprzez wiązanie O-glikozydowe
- Siarkowanie – dodawanie reszt kwasu siarkowego do produktów wydzielniczych (siarkowane glikozoaminoglikany wchodzą w skład proteoglikanów tkanki łącznej i stanowią ważny biologicznie produkt wydzielniczy fibroblastów, chondroblastów, czy komórek tłuszczowych).
- Reakcje fosforylacji – dołączanie reszt kwasu fosforowego (kazeina z komórek gruczołu mlekowego, grupy fosforanowe przyłączone estrowo do seryny)
- Acylacja i formowanie lipoprotein – tworzenie lipoaminokwasów i lipopolisacharydów

# Przykłady potranslacyjnych modyfikacji chemicznych

Modyfikacja	Modyfik. aa	Przykł. białko
Acetylacja	Lizyna	Histony
Metylacja	Lizyna	Histony
Fosforylacja	Seryna	b. sygnałowe
Hydroksylacja	Prolina, lizyna	kolagen
N-formylacja	N-końcowa glicyna	melityna
Glikozylacja t.O	Seryna, treonina	b. wydzielane i bł.
Glikozylacja N	Asparagina	” ”
Dodanie bocznego ł. lipid	Seryna, treonina,	
Acylacja	Cysteina	białka błonowe
N-mirystylacja	N-końcowa glicyna	niektóre kinazy





Dziękuję za uwagę