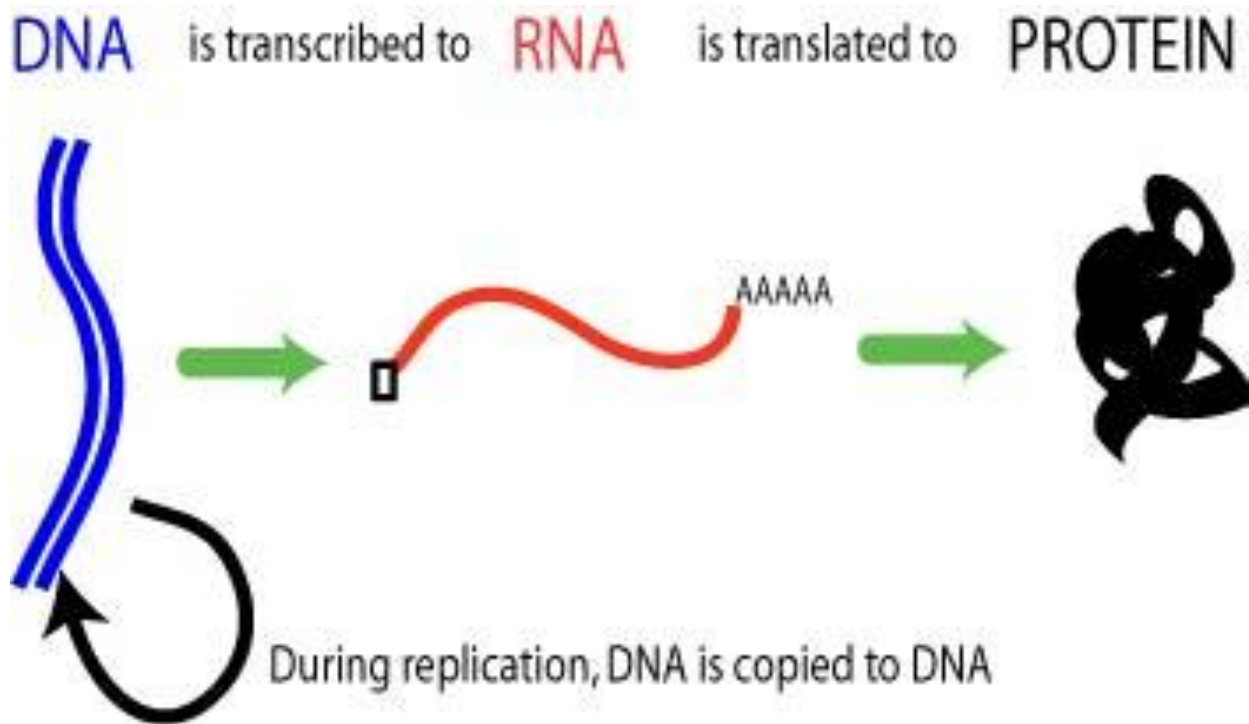

Synteza Białek – Proces Translacji

Dr hab. Marta Koblowska, prof. UW

Pracownia Analiz Mikromacierzy UW/IBB PAN

Zakład Biologii Systemów UW

Niemal do końca lat 60-tych ubiegłego wieku nie było bezpośredniego dowodu na to, że geny kodują białka



Informacja genetyczna zawarta w sekwencji nukleotydów kwasu nukleinowego (DNA) ulega tłumaczeniu na sekwencję – kolejność aminokwasów w białkach w procesie biosyntezy białek

Kod genetyczny – reguła wg której informacja zawarta w kwasach nukleinowych jest tłumaczona na aminokwasy

Kod genetyczny

NIEZACHODZĄCY

TRÓJKOWY

KOLINEARNY

JEDNOZNACZNY

UNIWERSALNY

ZDEGENEROWANY

Jak DNA koduje białka?

1. Ile liter ma kod genetyczny?

ATGGATGGCTTTTAT... → Met Asp Gly Phe Tyr ...

4
nukleotydy

<u>kod:</u>	<u>liter:</u>	<u>kombinacji:</u>
jedynkowy	1	4
dwójkowy	2	$4^2=16$
trójkowy	3	$4^3=64$
czwórkowy	4	$4^4=256$

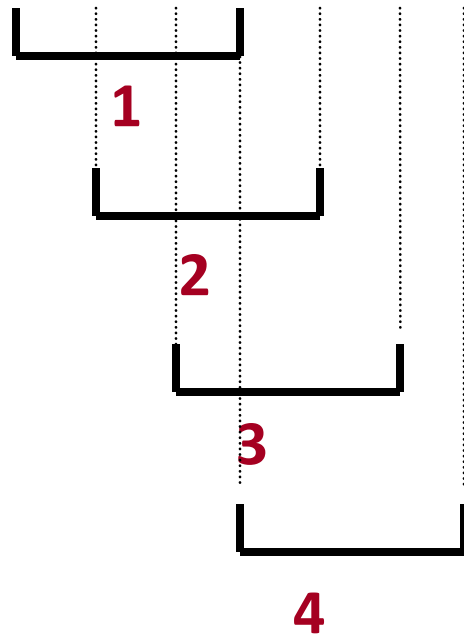
20
aminokwasów

Trójkowy

Jak DNA koduje białka?

3. Czy kod genetyczny jest zachodzący?

GTCACCCATGGAGGTATCT



James Neel



Neel

Badania nad anemią sierpowatą

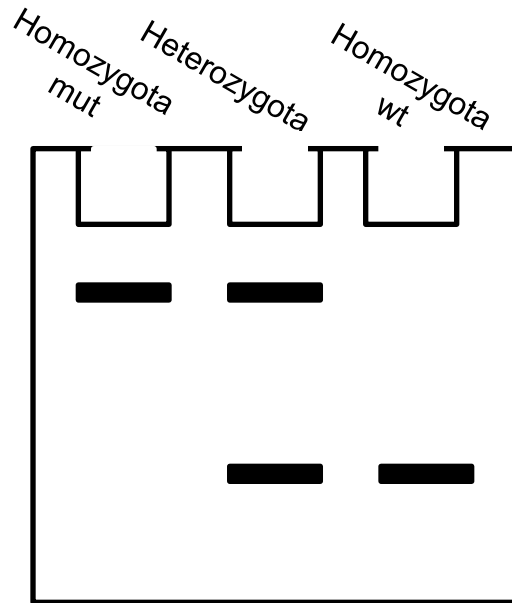
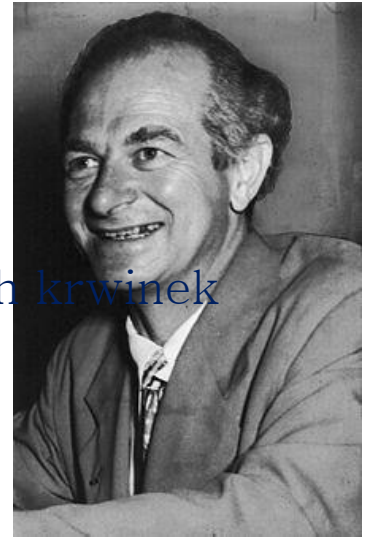
Analiza rodzin dotkniętych chorobą

Dziedziczenie pojedynczej cechy, uszkodzenie czerwonych
krwinek

Badania biochemiczne wykazały, że biochemiczna zmiana jest
przyczyną fenotypowo zmienionych czerwonych krwinek

Linus Pauling

Przeprowadził analizę hemoglobiny izolowanej z czerwonych krwinek zdrowych osób i chorych na anemie sierpowata



Zademonstrował powiązanie mutacji w genach ze zmianami biochemicznymi polipeptydów

Vernon Ingram

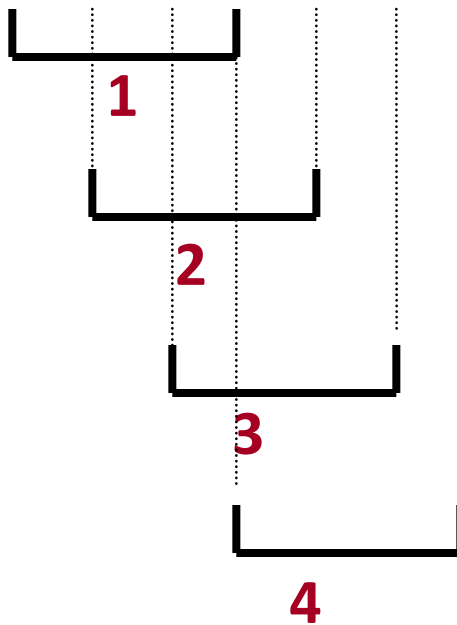
W 1956 roku scharakteryzował pojedynczą zmianę aminokwasową w hemoglobinie ludzi chorych na anemię sierpowatą. Wykazał, że nastąpiła zamiana kwasu glutaminowego na walinę.

Wykazał, że zmiana pojedynczego nukleotydu w genie kodującym hemoglobinę powoduje zmianę pojedynczego aminokwasu

Jeśli mutacja pojedynczego nukleotydu zmienia pojedyncze białko to kod genetyczny musi być odczytywany w sposób NIEZACHODZĄCY.

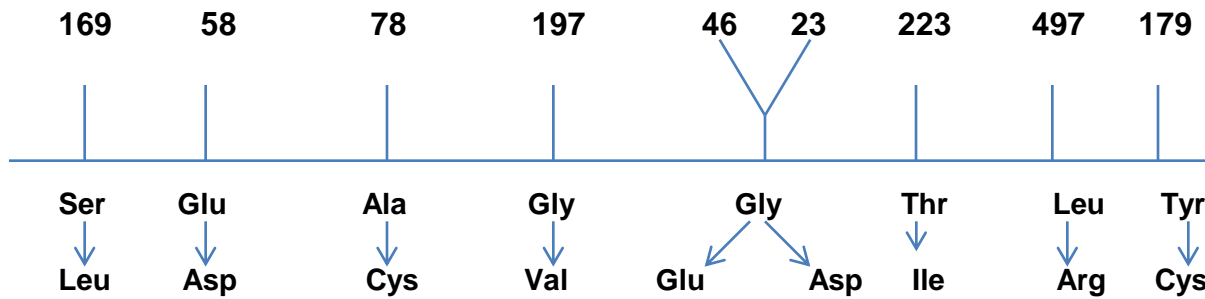
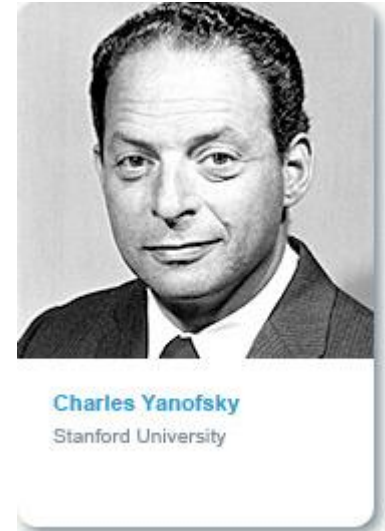
Jak DNA koduje białka?

GTCACCCATGGAGGTATCT



- Jeśli byłby zachodzący- po danym kodonie (np. **GTC**) mogą wystąpić tylko cztery inne kodony (**TCA**, **TCT**, **TCG**, **TCC**)
- obok jednego aminokwasu mogą wystąpić tylko cztery inne
- Jest niezachodzący** - po danym kodonie może wystąpić dowolny inny kodon

Charles Yanofsky



Badał mutacje w genie syntetazy tryptofanu

Analizował biochemicznie zmutowane białka

Ustalił, że porządek zmian aminokwasowych każdego mutantu odpowiada lokalizacji zmian w genie kodującym badane białko

Sekwencja informacji zawartej w genie i kodowanym białku jest KOLINEARNA

*THE COMPLETE AMINO ACID SEQUENCE OF THE
TRYPTOPHAN SYNTHETASE A PROTEIN (α SUBUNIT) AND ITS
COLINEAR RELATIONSHIP WITH THE GENETIC
MAP OF THE A GENE**

BY CHARLES YANOFSKY, GABRIEL R. DRAPEAU,† JOHN R. GUEST,†
AND BRUCE C. CARLTON†

DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCES, STANFORD UNIVERSITY

Communicated December 19, 1966

298

GENETICS: YANOFSKY ET AL.

PROC. N. A. S.

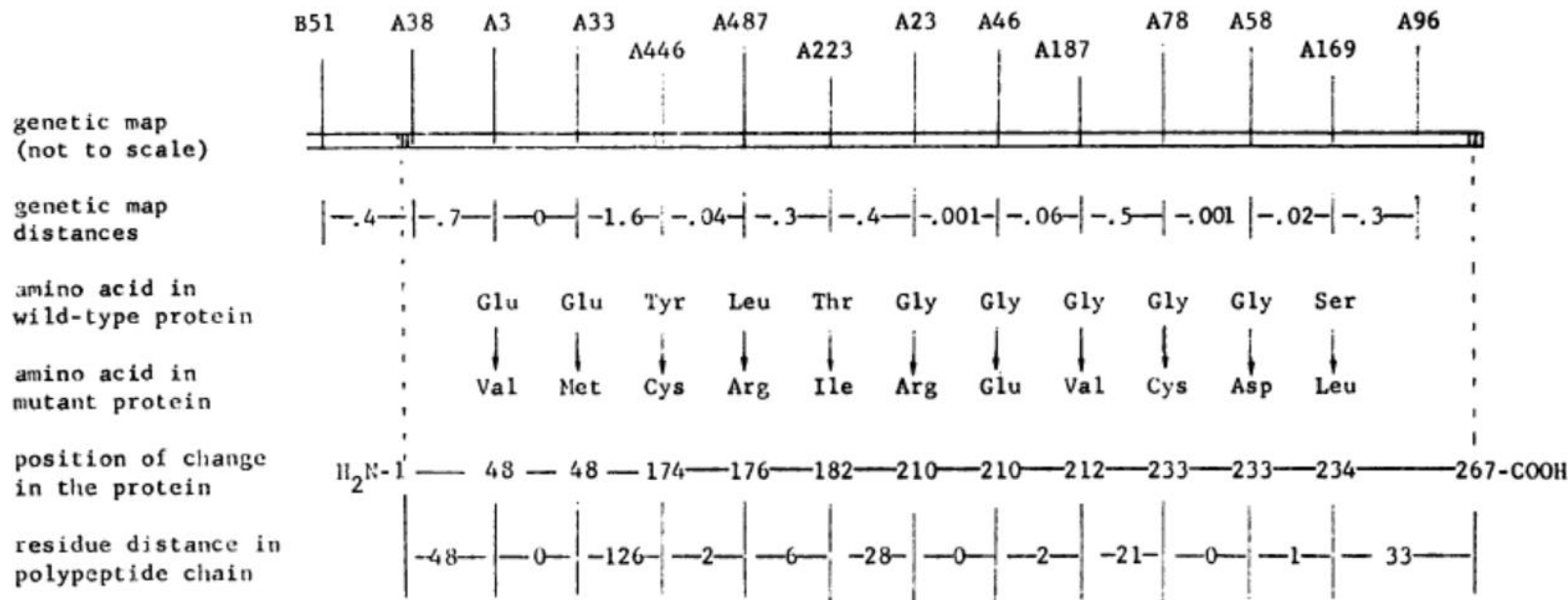


FIG. 2.—Genetic map of the A gene and the corresponding amino acid changes in the A protein. The positions of these changes in the amino acid sequence are also indicated. Mutants A3 and A33, and their amino acid replacements, will be described in detail elsewhere.¹³

Jak z DNA odkodowywana jest informacja?

Marshall Warren Nirenberg

Heinrich Matthaei



1. Ekstrakt komórkowy E.coli + a.a* - białka *
2. Ekstrakt komórkowy E.coli + czas + potem a.a* - X
3. Ekstrakt komórkowy E.coli + czas + potem a.a* + RNA E.coli - białka *

RNA programuje syntezę białka

Badanie znaczenia kodu genetycznego

Heinrich Matthaei

Ekstrakt komórkowy E.coli + czas + polyU + 16 a.a* - białka *

	tyrozyna*	fenyloalanina *
polyA	60 cpm	50 cpm
poly C	45 cpm	38 cpm
polyU	70 cpm	38100 cpm

Cpm – counts per minute

WYNIK polyU – fenyloalanina

1961

(see M1, p. 107) ✓

27-Q incub. 5-27-61, 3 a.m. for 60' at 36°, 10% iCA of 60' short suit.

#	System	Special treatment	Time for 10,240 c.p.	cpm (60' exp.)	cpm 60' exp.	
1	Complex with 4 8' comp. 78 • 3 27' 1530 15' 20' AA - Phe.		640	50.53	202	167
2		25' Phe - C ¹⁴ 10' Nic 2M	640	48.69	>206	>156
3		+ 10 μ Poly-U	570	2.69	3810	3748 26X (23X)
4		+ 100 μ RNAase	540	261.73	39.2	
5		# 0-t.	540	164.12	62.4	
6	Complex like 1/2 but 20' AA - tyr 25' C ¹⁴ tyr		640	113.29	90	
7			640	108.39	>92	36
8		+ 10 μ Poly-U	570	94.81	108	108 52 1.45X
9		+ 100 μ RNAase	540	181.87	56	56 0
10		at 0-t.	540	184.48	55.5	

Kopia strony z zeszytu laboratoryjnego Heinricha Matthaei'sa z opisem warunków eksperymentu z poli(U) wykonanego 27 maja 1961 roku o 3 rano w the National Institutes of Health w Washington DC Eksperyment prowadził do wniosku, że sekwencja UUU koduje fenyloalaninę podczas syntezy białka na rybosomie (udostępnione przez Heinrich Matthaei, Göttingen)

Odyseja 1961: 52 lata kodu genetycznego

NAUKA 3/2011 • 77-88

MARTA M. GABRYELSKA, JAN BARCISZEWSKI

Odyseja 1961: 50 lat kodu genetycznego

HOME » SCIENCE » SCIENCE NEWS

Genes and DNA: meet the first man to read the book of life

Heinrich Matthaei cracked the DNA code - only to be written out of history. Matthew Cobb investigates .



Dynamic duo: Heinrich Matthaei (left) and Marshall Nirenberg worked closely on breaking the DNA code - but the latter enjoyed the limelight. Photo: SCIENCE PHOTO LIBRARY

Print this article

Share 104

Facebook 37

Twitter 67

Email

LinkedIn 0

+1 1

Science News

News » Science »
Health »

In Science News

Badanie znaczenia kodu genetycznego

Marshall Warren Nirenberg

WENDELL MEREDITH STANLEY

Wirusa TMV wyizolowano i oczyszczono w [1930](#)

[1935 Wendell Stanley](#) wyodrębnił i otrzymał go w postaci [krystalicznej](#).

Heinz Frankal-Conrat

Genom wirusa mozaiki tytoniu – to jednoniciowy RNA

Posiadali wiele mutantów wirusa

Próbowali przeprowadzić translację posiadanych mutantów

Badanie znaczenia kodu genetycznego

Marshall Warren Nirenberg

WENDELL MEREDITH STANLEY

Heinz Frankal-Conrat

Genom wirusa mozaiki tytoniu – to jednoniciowy RNA

Posiadali wiele mutantów wirusa

Próbowali przeprowadzić translację posiadanych mutantów

BRAK SUKCESU!!!!

Pojedyncza nić RNA – niekodująca

1961

M.N. Nirenberg i Philip Leder 1964

Wyjaśnili znaczenie trójek nukleotydowych

Poznano znaczenie kodu genetycznego

Sekwencja nukleotydów mRNA może być odczytywana na trzy sposoby w trzech ramkach odczytu

G U C A U G U U U A G C G C A A U C A G G A A G U G U
Val Met Phe Ser Ala Ile Arg Lys Cys

G U C A U G U U U A G C G C A A U C A G G A A G U G U
Ser Cys Leu Ala Gln Ser Gly Ser

G U C A U G U U U A G C G C A A U C A G G A A G U G U
His Val Stop Arg Asn Gln Glu Val

Skąd wiemy, kiedy jedno „słowo” zaczyna się, a kiedy kończy ?

Jak kod jest odczytywany w nienakładający się sposób?

64 kodony

61 – kodony kodujące białka

3 – kodony niekodujące (kodony stop, typu nonsens)
UAG, UAA, UGA

20 aminokwasów

ZDEGENEROWANY

Kod genetyczny jest zdegenerowany

jeden aminokwas może być kodowany przez więcej niż jeden kodon. różne kodony (różniące się na ogół tylko trzecim nukleotydem) mogą kodować ten sam aminokwas, tzn. prawie wszystkie aminokwasy mogą być zakodowane na kilka sposobów (dzięki temu część zmian informacji genetycznej w wyniku mutacji nie znajduje swojego odbicia w sekwencji aminokwasów)

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

Figure 6-50 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

	Second Position					
	U	C	A	G		
First Position (5' end)	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } ● UAA } Stop ● UAG }	UGU } Cys UGC } ● UGA } Stop UGG } Trp	Third Position (3' end) U C A G U C A G U C A G U C A G
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	
	A	AUU } Ile AUC } AUA } ● AUG } Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	
<p>● = Chain-terminating codon ● = Initiation codon</p>						
<p>© Elsevier. Pollard et al: Cell Biology 2e - www.studentconsult.com</p>						

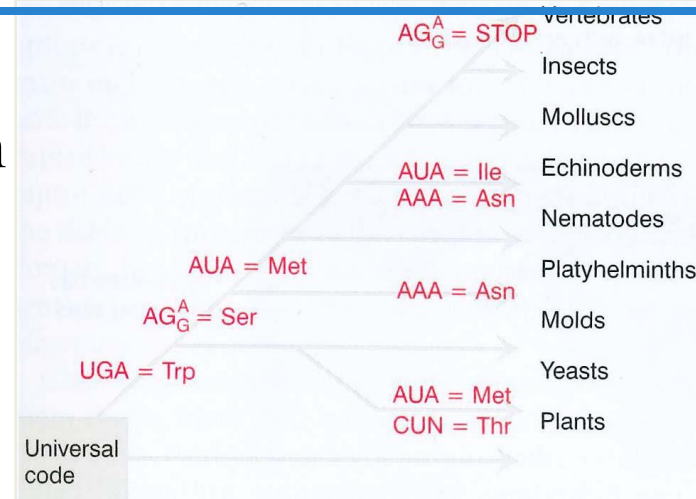
Figure 17-1 THE GENETIC CODE. The location of the nucleotide in first, second, and third position defines the amino acid encrypted by the code.

Kod jest uniwersalny

Uniwersalność kodu genetycznego

Kod genetyczny jest uniwersalny

- znakomita większość organizmów ma ten sam kod genetyczny
- są pewne drobne odstępstwa, głównie w genomie mitochondrialnym

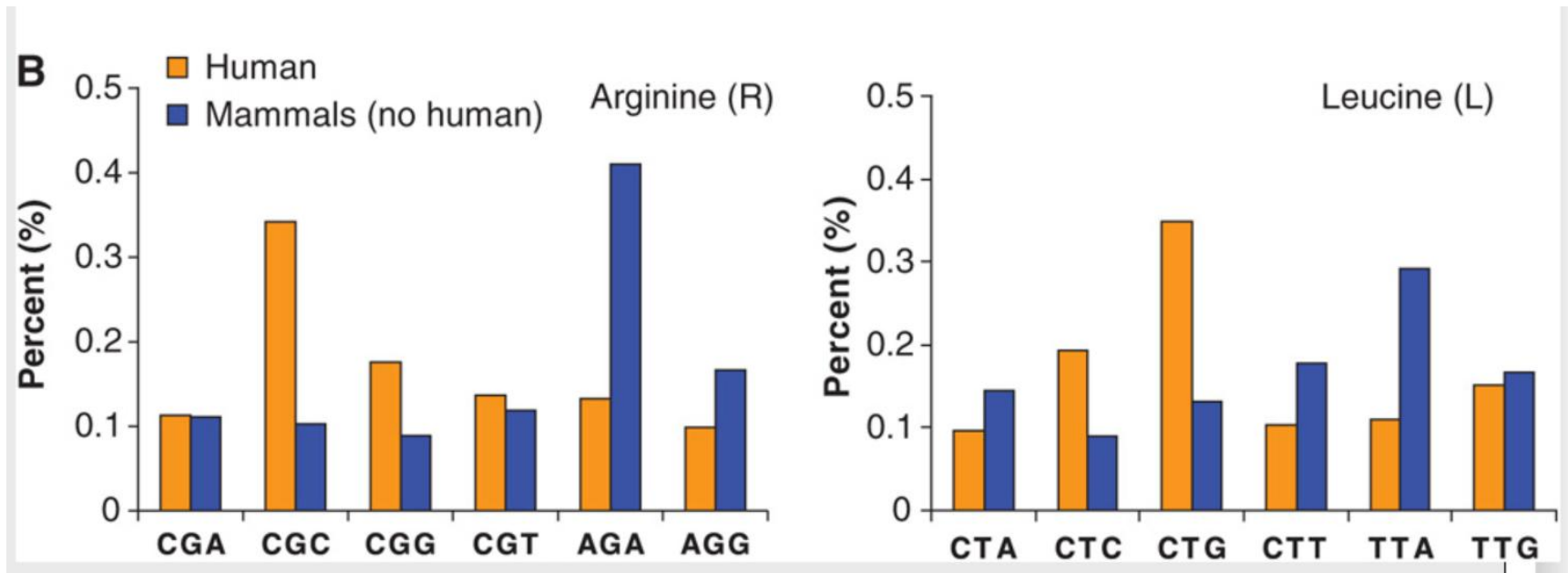


Kodon	Najczęstsze znaczenie	Alternatywne znaczenie	Organellum lub organizm
AGA AGG	Arg	Stop , Ser	Niektóre zwierzęce mitochondria
AUA	Ile	Met	Mitochondria
CGG	Arg	Trp	Roślinne mitochondria
CUN	Leu	Thr	Drożdżowe mitochondria
AUU GUG UUG	Ile Val Leu	Start	Niektóre prokarioty
UAA UAG	Stop	Glu	Niektóre pierwotniaki
UGA	Stop	Trp	Mitochondria, mikoplazmy

Wykorzystanie kodonów

Różne organizmy preferują różne kodony

- znaczenie przy przenoszeniu genów między organizmami
- zastosowanie do odgadywania gdzie są geny



Kod genetyczny

TRÓJKOWY - trzy leżące obok siebie nukleotydy tworzą podstawową jednostkę informacyjną (triplet, inaczej kodon).

BEZPRZECINKOWY – każdy nukleotyd w obrębie sekwencji kodujących wchodzi w skład jakiegoś kodonu, więc pomiędzy kodonami nie ma zasad bez znaczenia dla translacji.

NIEZACHODZĄCY - kodony nie zachodzą na siebie. Każdy nukleotyd wchodzi w skład tylko jednego kodonu, np. w sekwencji "AAGAAA" pierwsze trzy zasady ("AAG") kodują jeden aminokwas, a następny kodon zaczyna się dopiero od 4. zasady, nie wcześniej.

KOLINEARNY - kolejność ułożenia aminokwasów w białku jest wiernym odzwierciedleniem ułożenia odpowiednich kodonów mRNA.

JEDNOZNACZNY - danej trójce nukleotydów w DNA lub RNA odpowiada zawsze tylko jeden aminokwas.

ZDEGENEROWANY - jeden aminokwas może być kodowany przez więcej niż jeden kodon. Różne kodony (różniące się na ogół tylko trzecim nukleotydem) mogą kodować ten sam aminokwas, tzn. prawie wszystkie aminokwasy mogą być zakodowane na kilka sposobów. Dzięki temu część zmian informacji genetycznej w wyniku mutacji nie znajduje swojego odbicia w sekwencji aminokwasów.

UNIWERSALNY - powyższe zasady są przestrzegane dość dokładnie przez układy biosyntezy białek u wszystkich organizmów, jakkolwiek zdarzają się niewielkie odstępstwa od tej reguły.

Białka odgrywają kluczową rolę w większości procesów zachodzących w komórce, Wykonują niezliczoną liczbę zadań, a informacja o sekwencji białek zakodowana jest

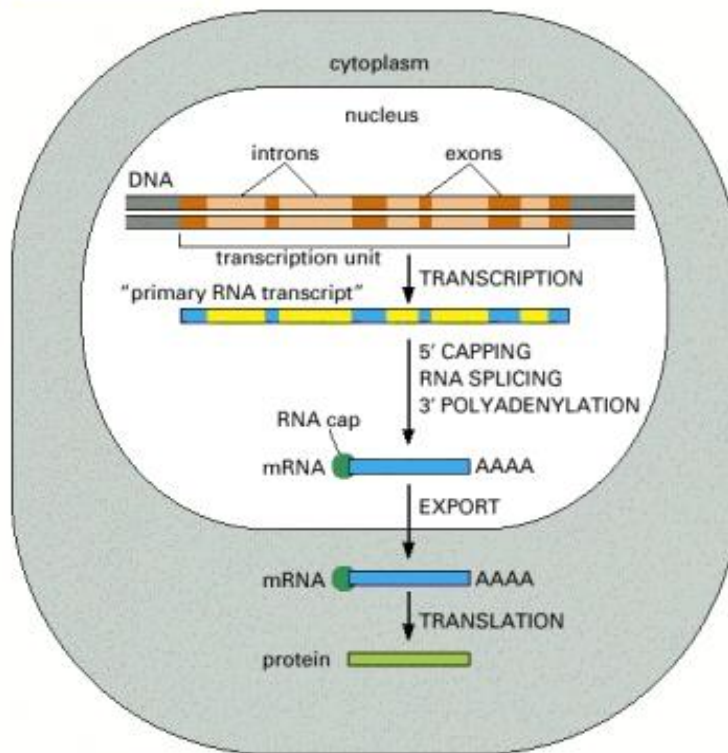
Co wiemy na temat ekspresji białek?

Białka są syntetyzowane z mRNA w procesie, który jest konserwowany ewolucyjnie

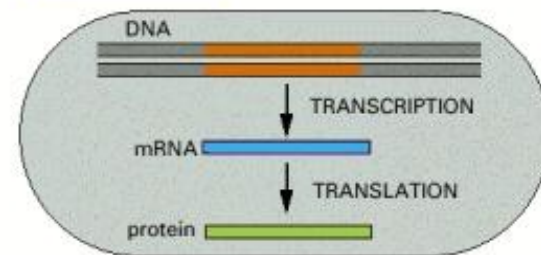
Translacja przeprowadzana jest na Rybosomach, kod zawarty w mRNA odczytywany jest przez cząsteczki tRNA, które transportują amino do miejsca syntezy białek

Translacja w komórce eukariotycznej jest rozdzielona od transkrypcji w przestrzeni i w czasie

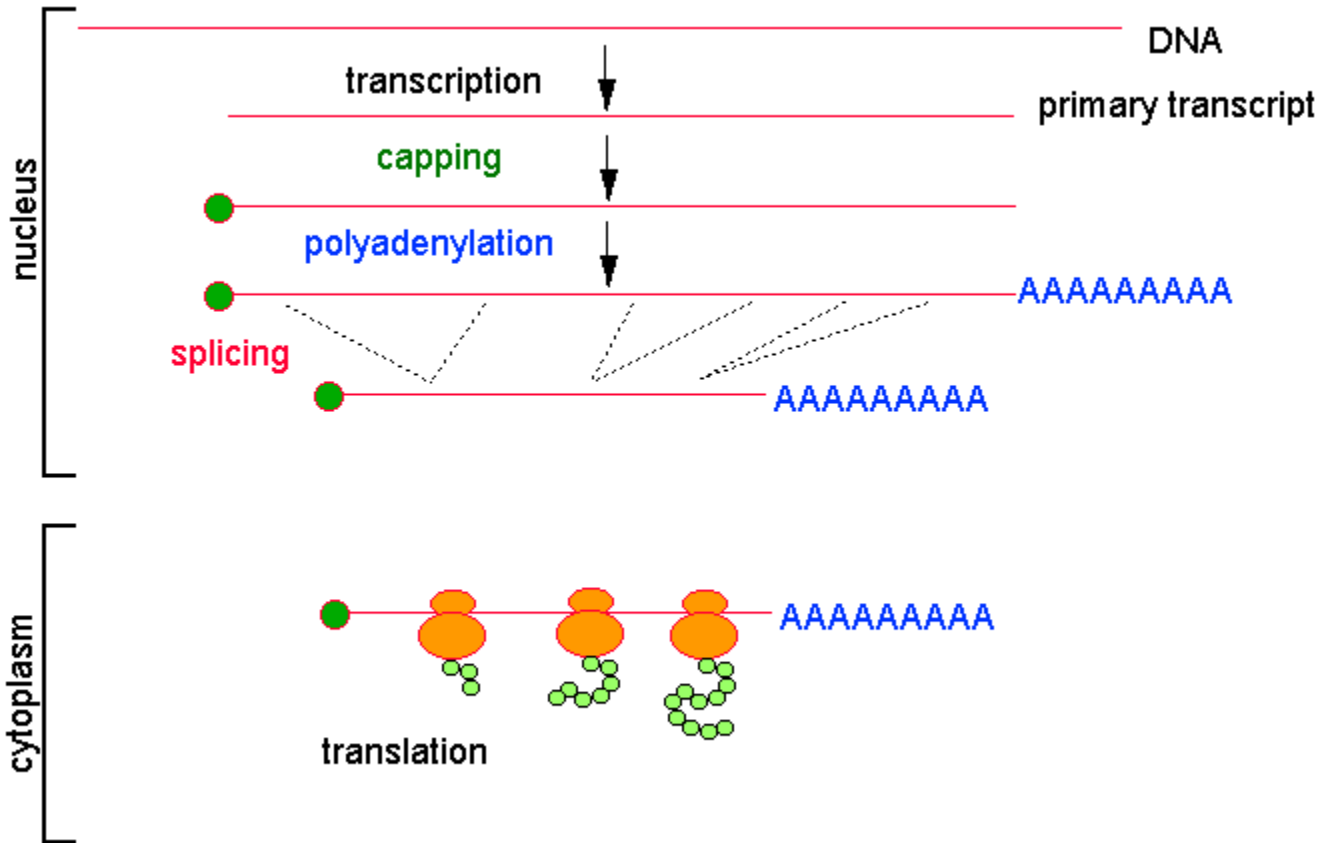
(A) EUCARYOTES



(B) PROCARYOTES



W komórkach eukariotycznych pierwotny transkrypt „dojrzewa” w jądrze komórkowym. Dojrzała cząsteczka mRNA transportowana do cytoplazmy zawiera 5'cap i ogon poly



OD RNA do Białka

- Transferowe RNA (tRNA) są cząsteczkami adaptorowymi, które tłumaczą język nukleotydów na język aminokwasów

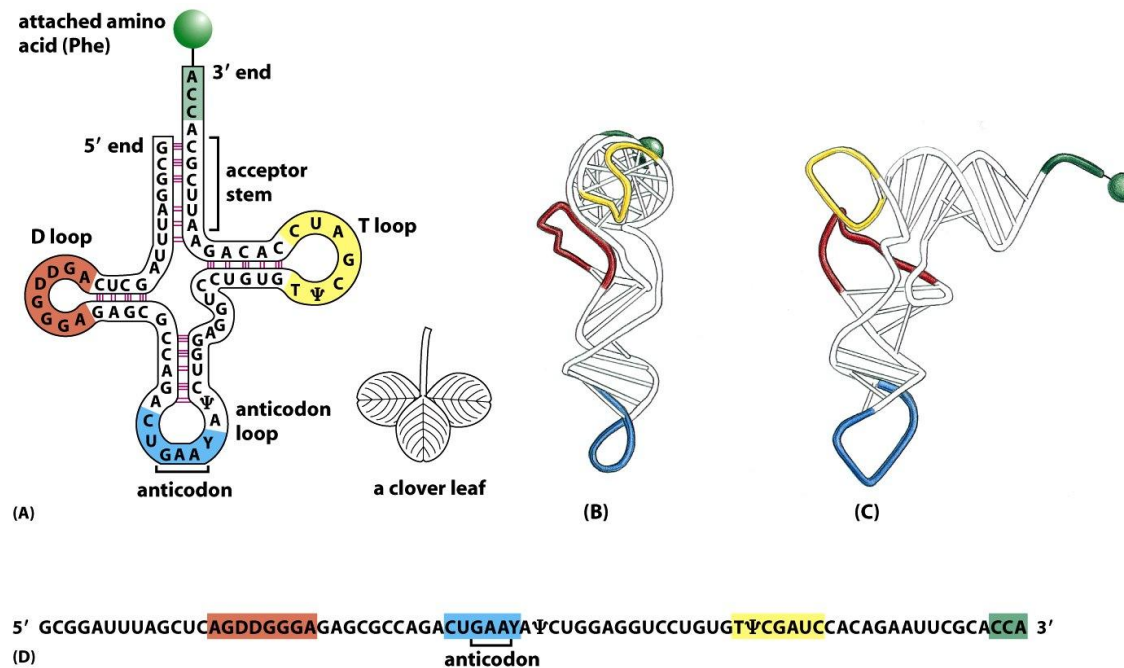
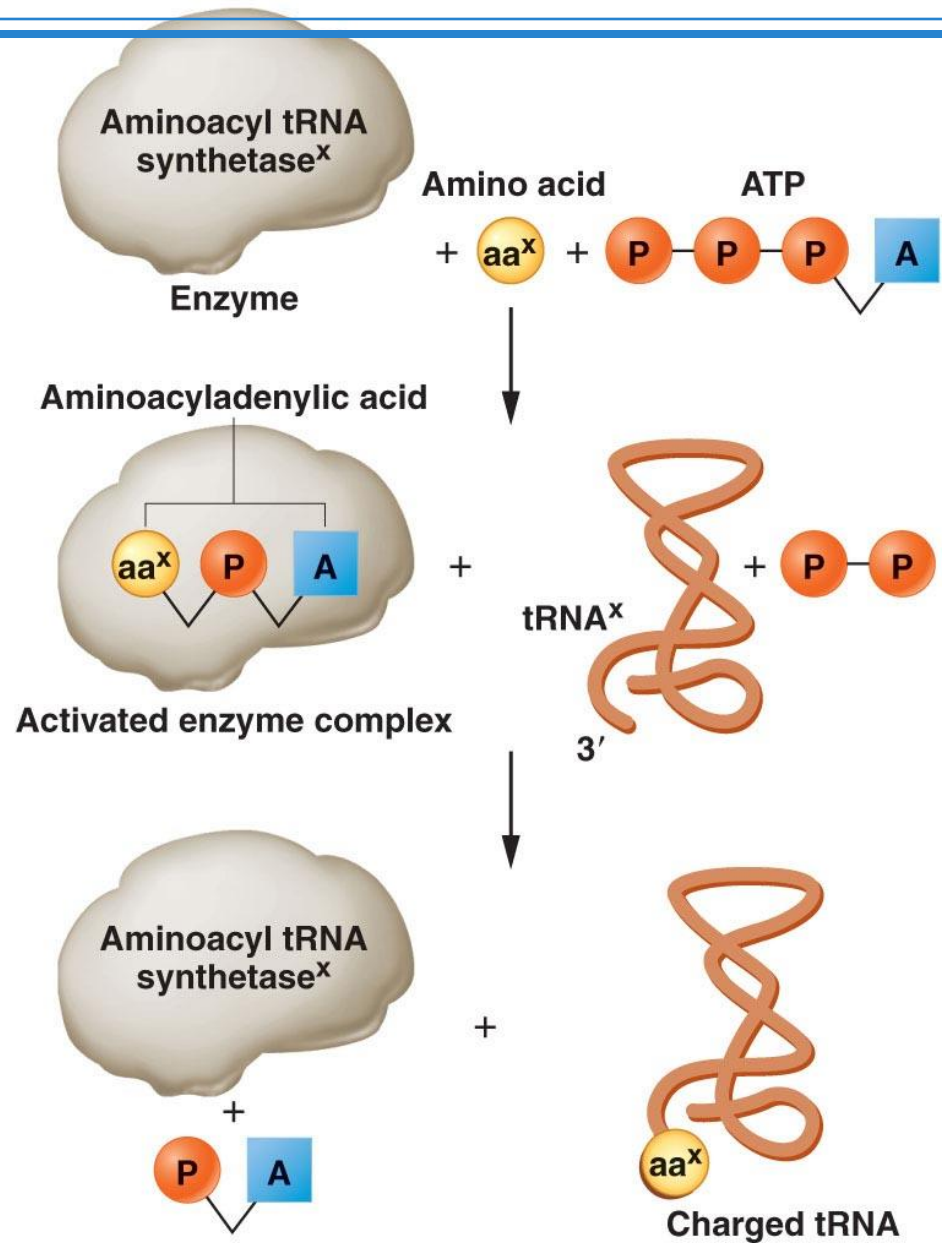
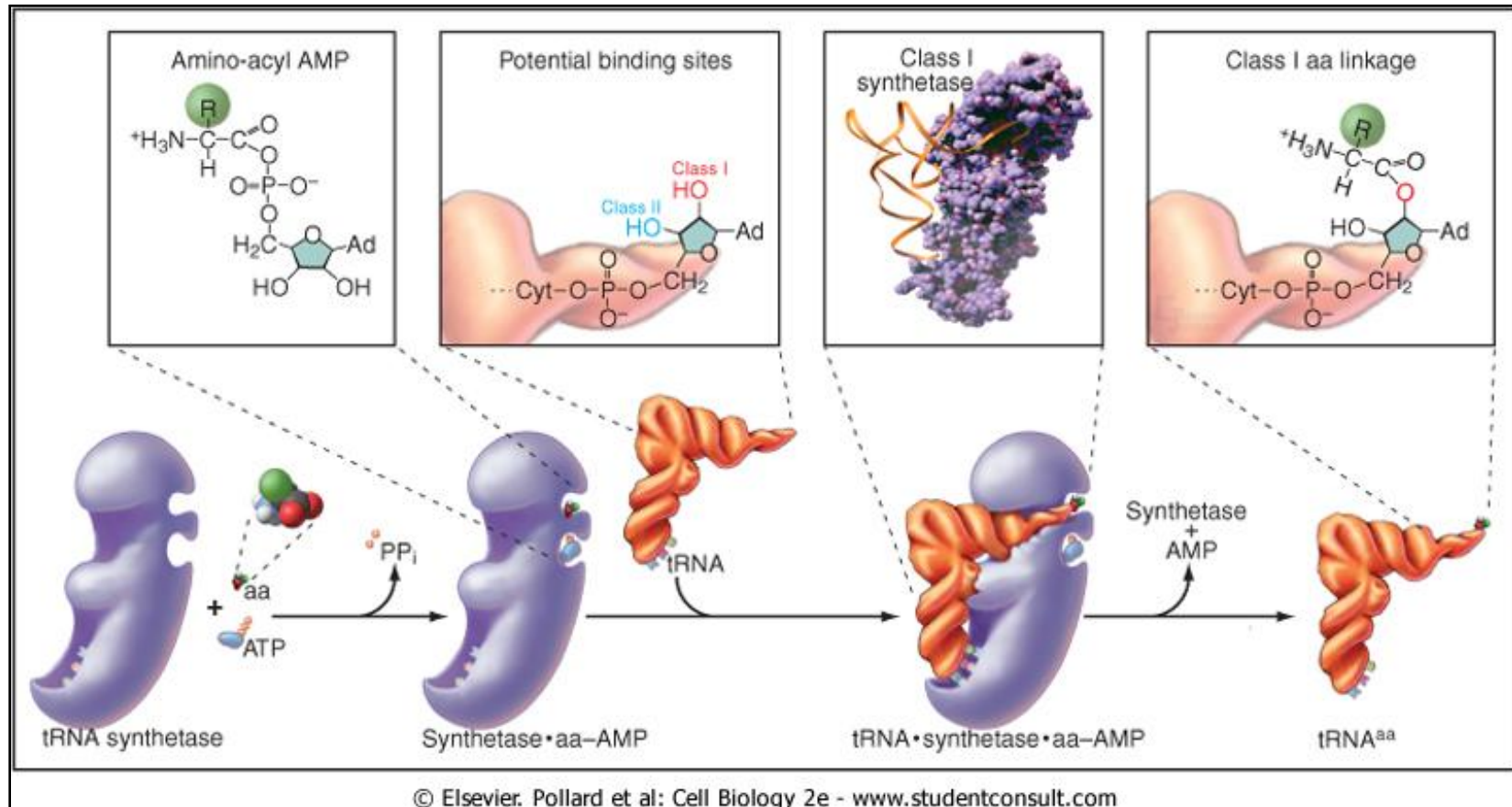


Figure 6-52 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

- Syntetazy aminoacyl-tRNA dołączają specyficznie aminokwasy do tRNA kosztem ATP

- Syntetazy aminoacyl-tRNA dołączają specyficznie aminokwasy do tRNA kosztem ATP

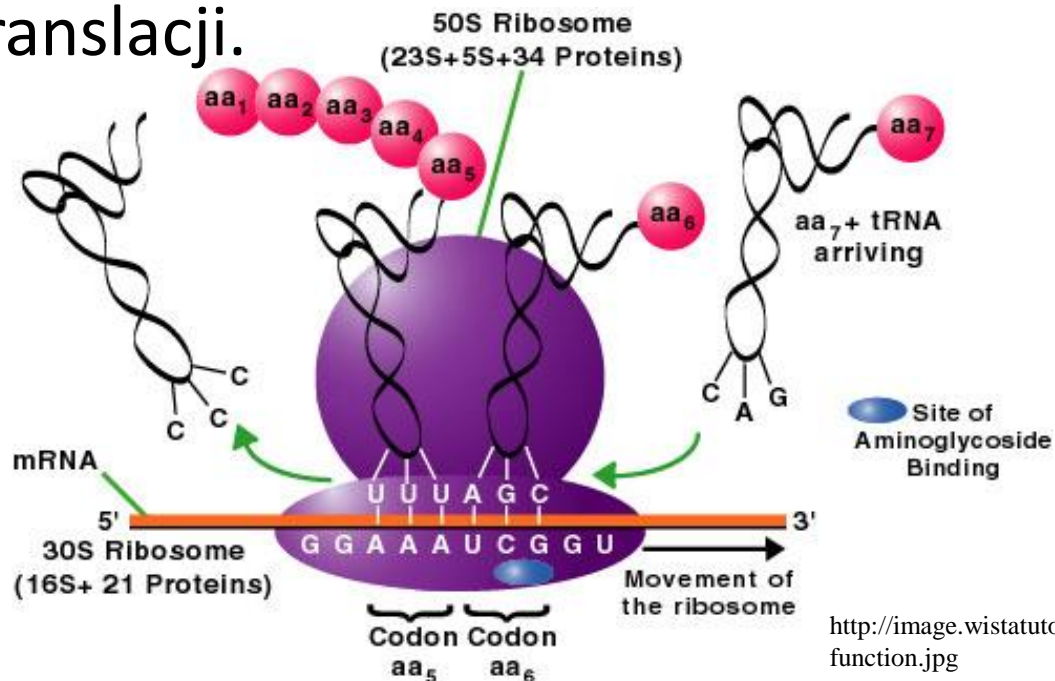




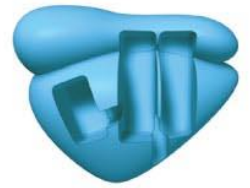
Charging a tRNA with its correct amino acid. tRNA synthetases (shown schematically and as a space-filling atomic model in purple) provide a docking platform for a specific amino acid and its cognate tRNA (shown in orange as a schematic model and as a ribbon model bound to a synthetase). The amino acid is first activated by reaction with ATP. The carboxyl group of the amino acid is coupled to the α -phosphate of AMP with the release of pyrophosphate. The synthetase then transfers the amino acid from the aminoacyl AMP (aa-AMP) to a high-energy ester bond (red disk) with either the 2' (illustrated here) or 3' hydroxyl of the adenine at the 3' end of the tRNA. (PDB file: 1QTQ.)

• RYBOSOMY

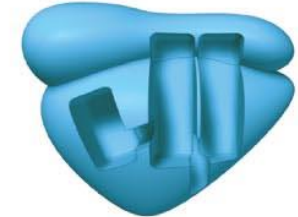
- zbudowane są z białek rybosomalnych i rybosomalnego RNA(rRNA)
- mają dużą i małą podjednostkę
- rola rRNA związana jest z katalizowaniem reakcji translacji.



Prokaryotes
 Monosome 70S (2.5×10^6 Da)



Eukaryotes
 Monosome 80S (4.2×10^6 Da)



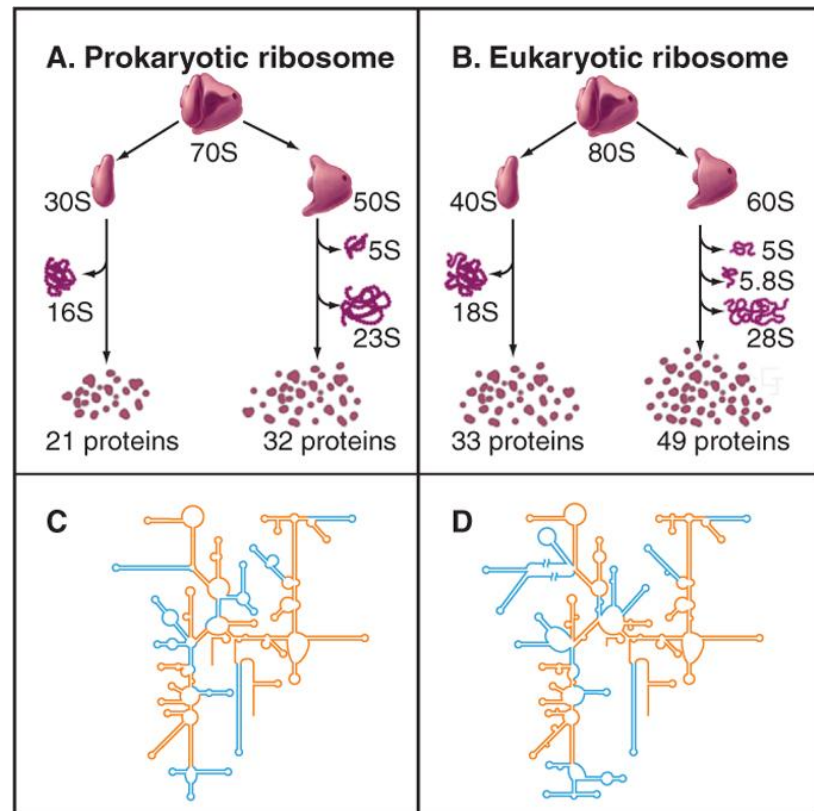
Large subunit		Small subunit		Large subunit		Small subunit	
50S	1.6×10^6 Da	30S	0.9×10^6 Da	60S	2.8×10^6 Da	40S	1.4×10^6 Da
23S rRNA (2904 nucleotides)		16S rRNA (1541 nucleotides)		28S rRNA (4718 nucleotides)		18S rRNA (1874 nucleotides)	
+		+		+		+	
31 proteins		21 proteins		49 proteins		33 proteins	
+				5S rRNA + 5.8S rRNA (120 + 160 nucleotides)			
5S rRNA (120 nucleotides)							

OD RNA do Białka

- Rybosomy katalizują łączenie się aminokwasów w łańcuch polipeptydowy

Dopasowanie kodonu i antykodonu tRNA – mała podjednostka

Kataliza wiązania peptydowego – duża podjednostka



OD RNA do Białka

- Rozpoznanie kodonu przez antykodon (w tRNA) na podstawie łączenie się komplementarnych zasad

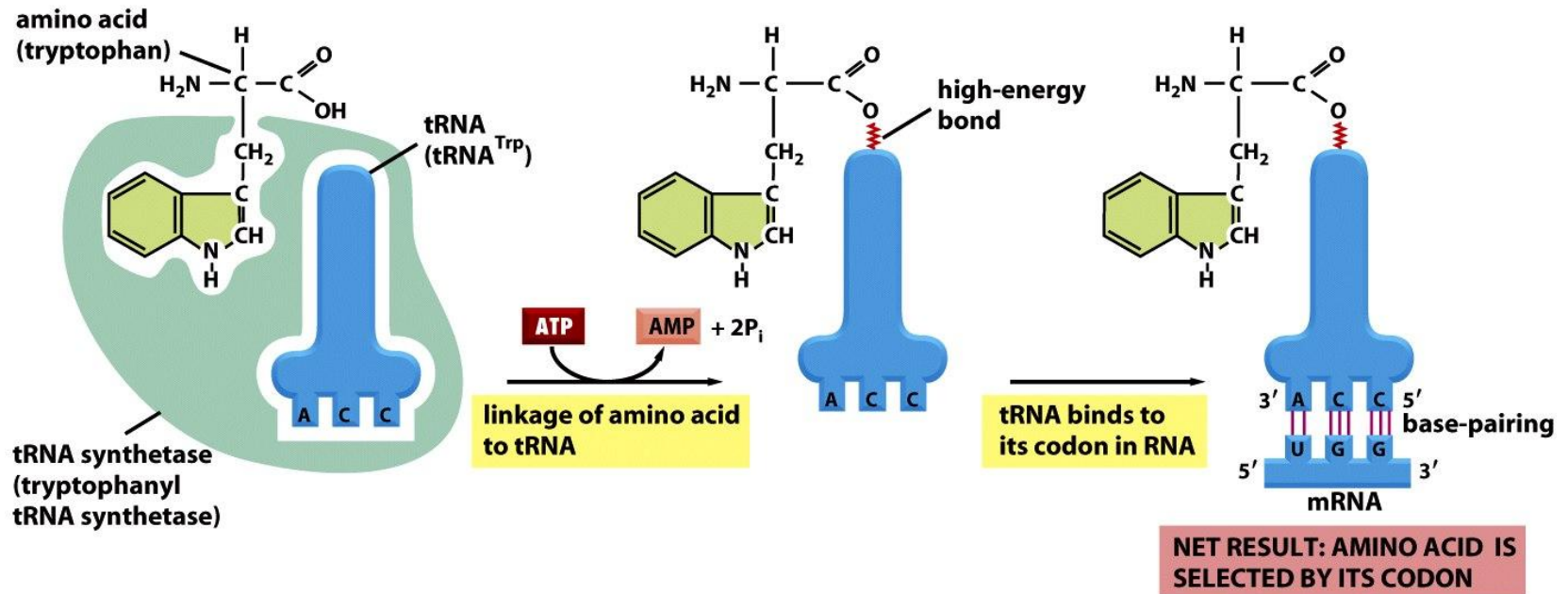


Figure 6-58 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

OD RNA do Białka

- Translacja
- Miejsca:
E – exit
P – peptydylowy
A – akceptorowy

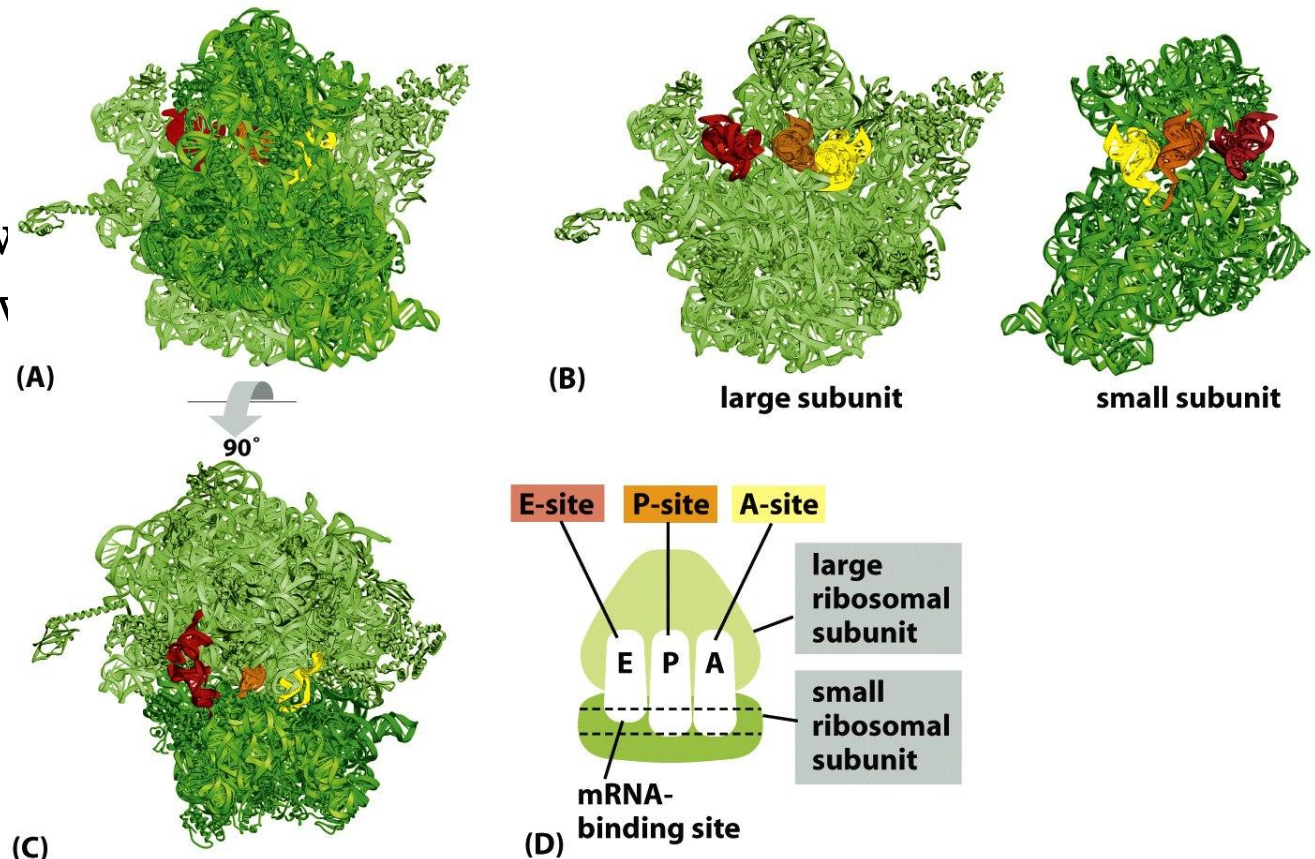
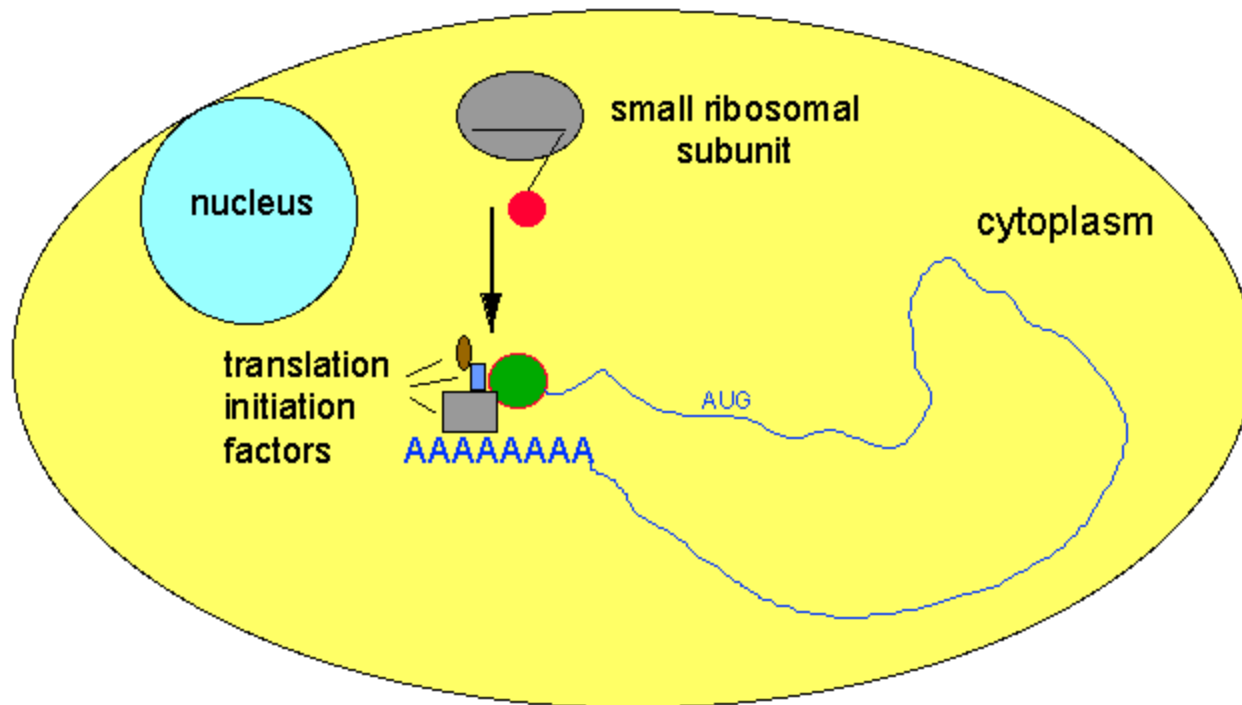


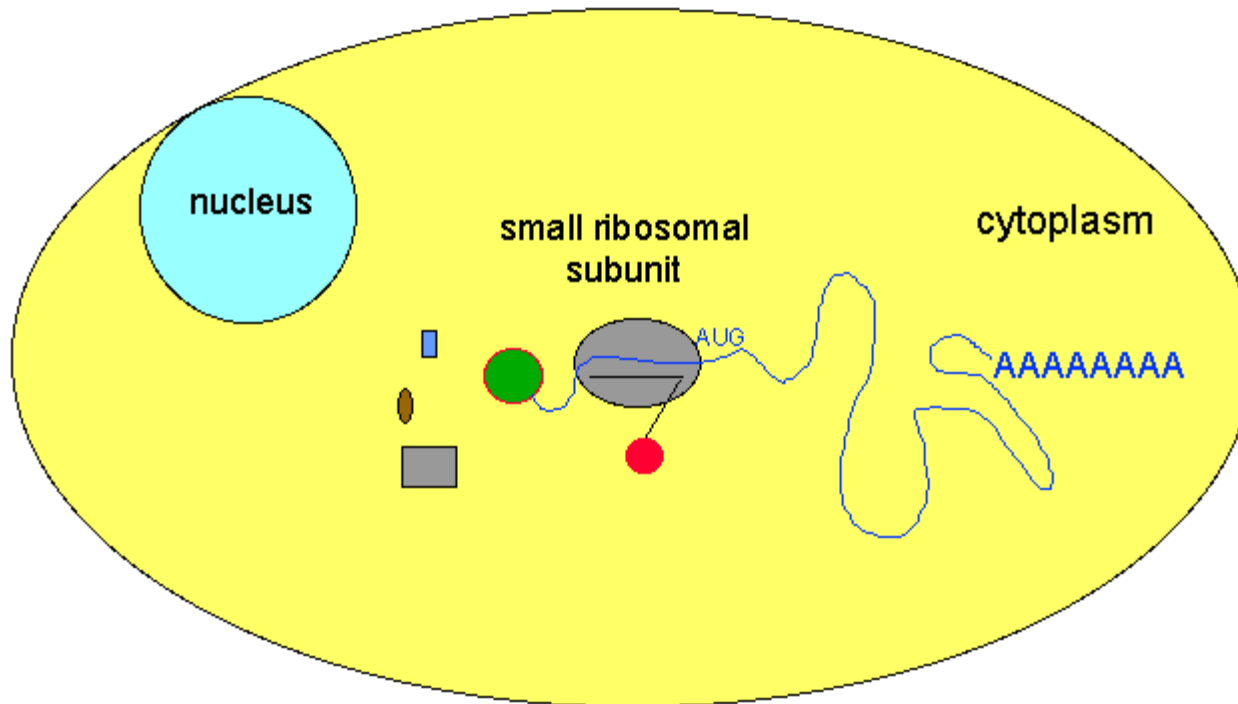
Figure 6-64 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Rybosom jest rybozymbem

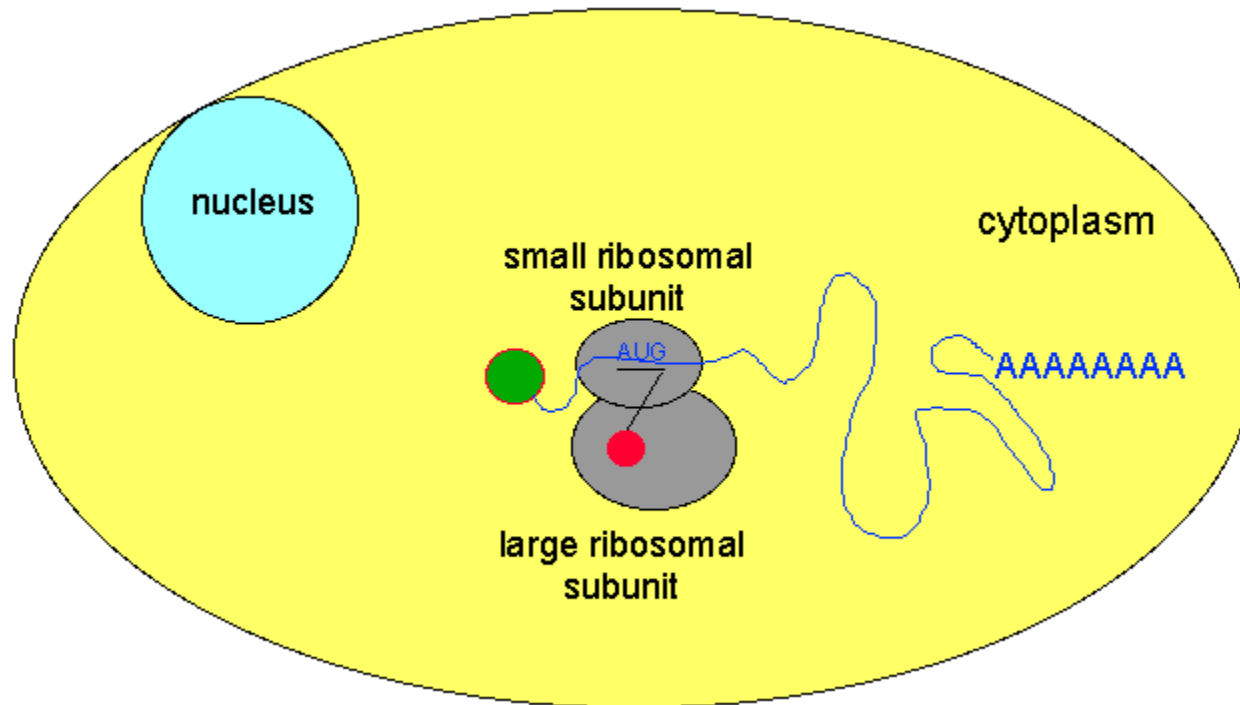
Inicjacja translacji ETAP 1



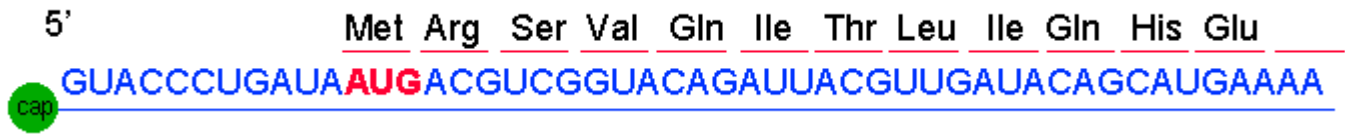
Inicjacja translacji ETAP 2



Inicjacja translacji ETAP 2



U eukariontów pierwszy kodon AUG wyznacza ramkę



OD RNA do Białka

- Translacja

E – exit

P – peptydylowe

A – akceptorowe

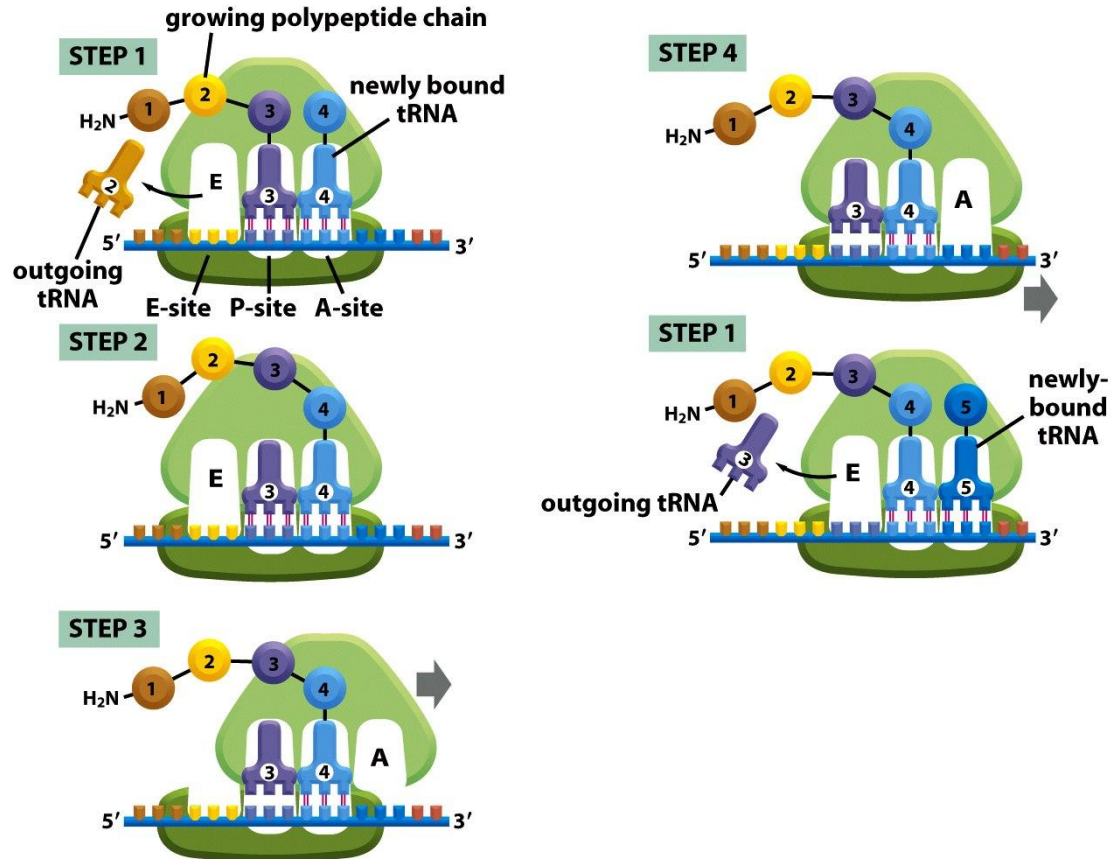
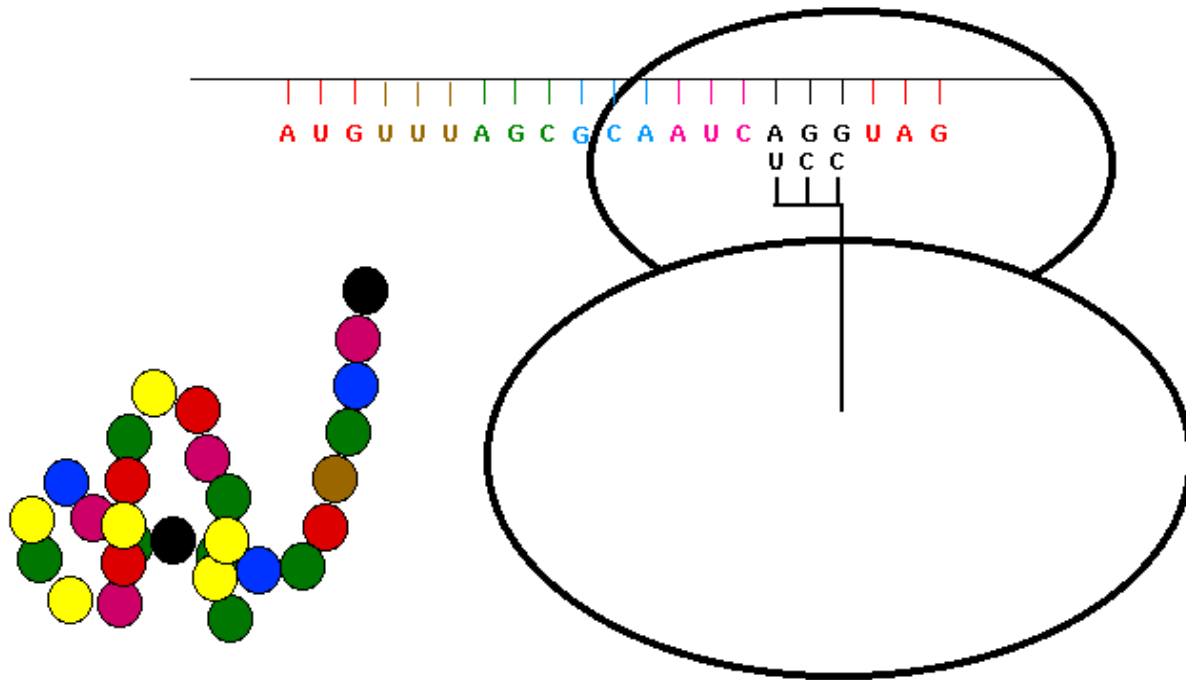


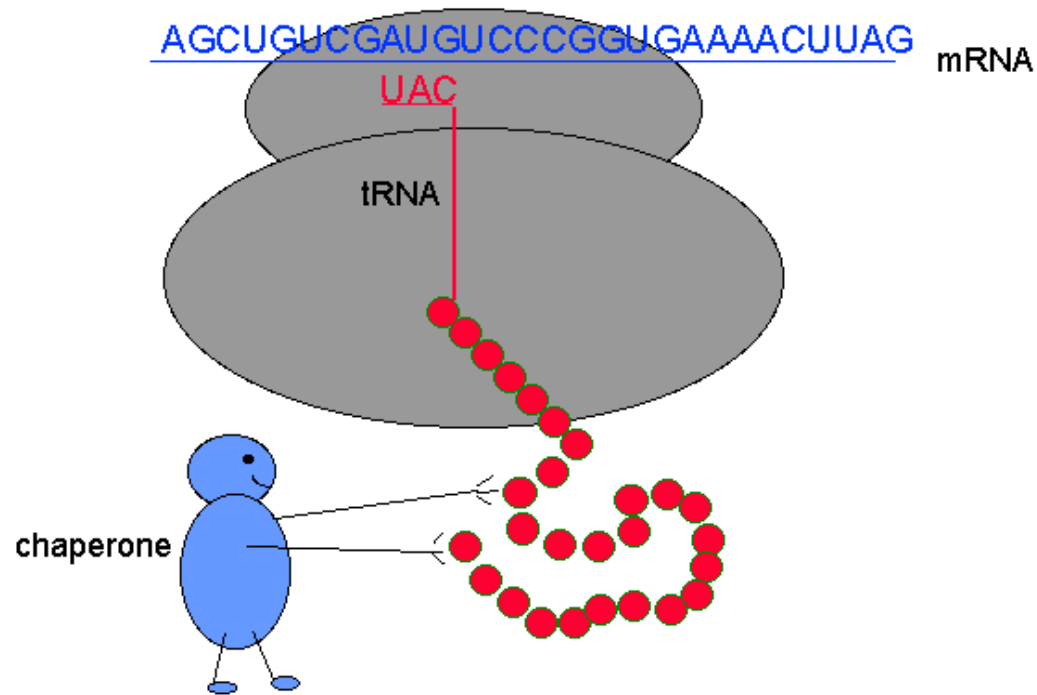
Figure 6-66 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Rybosom jest rybozmem

Terminacija translacije



Białka opiekuńcze



OD RNA do Białka

- **Początek translacji**

Inicjatorowy tRNA-Met rozpoznaje kodon AUG- udział czynników inicjujących
Eukarionty – mała podjednostka ze związany Met-tRNA (w miejscu P) skanuje mRNA w poszukiwaniu kodonu AUG; następnie przyłącza się duża podjednostka

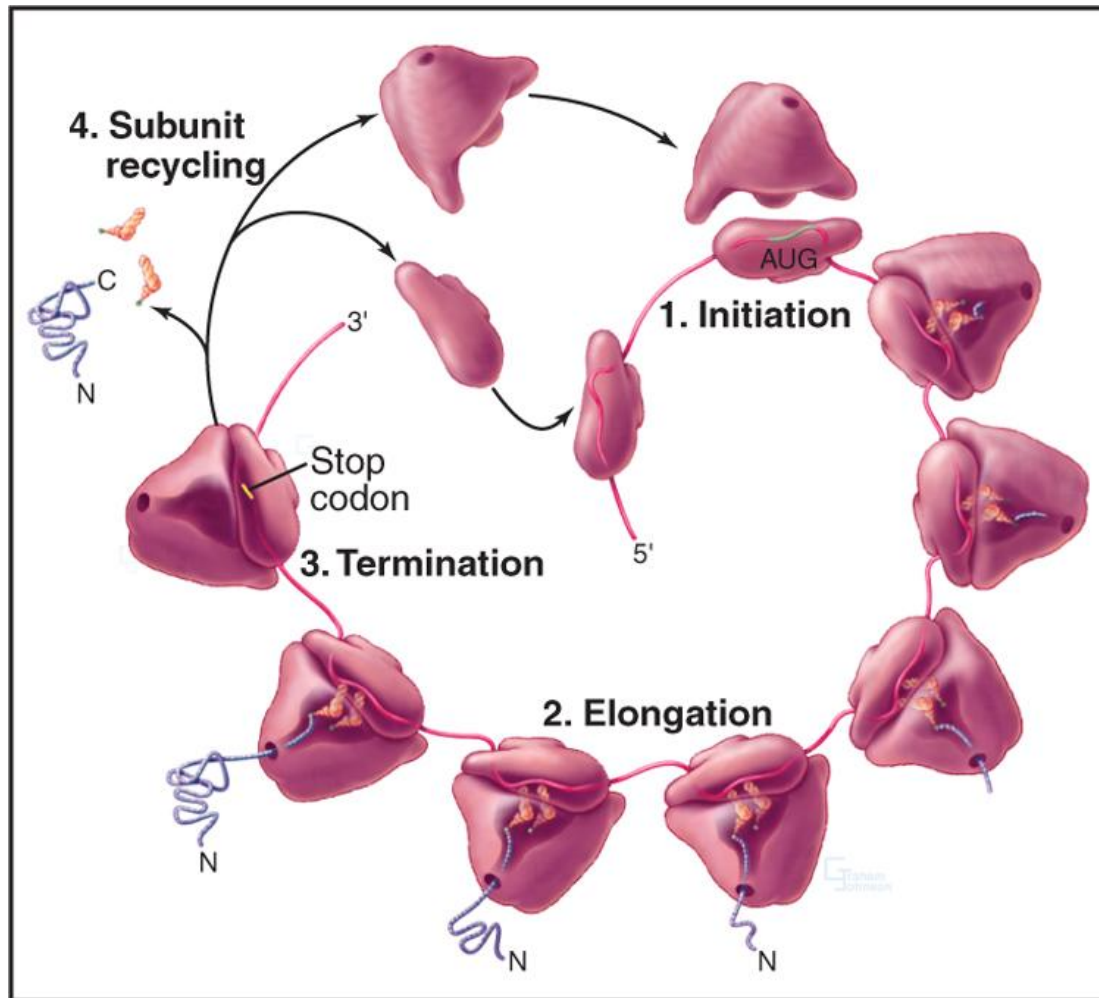
Prokarionty: sekwencja wiązania się rybosomu przed AUG. Wiele miejsc na jednym policistronowym mRNA

- **Koniec Translacji**

Kodony stop nie są rozpoznawane przez tRNA. W miejsce A wchodzi czynnik uwalniający (release factors), wymuszający reakcję przeniesienia łańcucha peptydowego na cząsteczkę wody

OD RNA do Białka

- Translacja



OD RNA do Białka

The Nobel Prize in Chemistry 2009: Venkatraman Ramakrishnan, Thomas A. Steitz and Ada E. Yonath
"for studies of the structure and function of the ribosome".

