

Genetički kod i sinteza proteina

B. Mildner

Genetički kod povezuje nukleinske kiseline i proteine

- Genetički kod povezuje sekvence baza DNA, odnosno njihovih transkripata (RNA) sa sekvencom aminokiselina u proteinima.
- Tri nukleotida, šifra su za jednu aminokiselinu
- Genska šifra je nepreklapajuća
- Genska šifra nema razmaka
- Genska šifra je degenerirana (za većinu aminokiselina postoji nekoliko kodona) – degenerativnost smanjuje efekte mutacija (od 64 moguća kodona 61 kodon kodira aminokiseline, a 3 su stop kodoni koji označavaju završetak translacije)

Genetički kod povezuje nukleinske kiseline i proteine

TABLE 4.4 The genetic code

First position (5' end)	Second Position				Third position (3' end)
	U	C	A	G	
U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr Stop Stop	Cys Cys Stop 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

Note: This table identifies the amino acid encoded by each triplet. For example, the codon 5' AUG 3' on mRNA specifies methionine, whereas CAU specifies histidine. UAA, UAG, and UGA are termination signals. AUG is part of the initiation signal, in addition to coding for internal methionine residues.

Table 4-4
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Genetički kod povezuje nukleinske kiseline i proteine

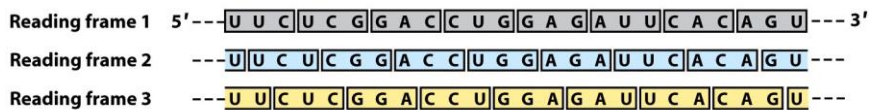


Figure 27-5

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

U tripletnom nepreklapajućem kodu sve mRNA imaju tri potencijalna okvira čitanja. Tripleti, a time i specifičirane aminokiseline se razlikuju u svakom prikazanom okviru čitanja.

Degenerativnost genetičkog koda

TABLE 27-3		Degeneracy of the Genetic Code	
Amino acid	Number of codons	Amino acid	Number of codons
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

Table 27-3
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Za pojedine aminokiseline postoji i po nekoliko različitih kodova.

Genetički kod je gotovo univerzalan

TABLE 4.5 Distinctive codons of human mitochondria

Codon	Standard code	Mitochondrial code
UGA	Stop	Trp
UGG	Trp	Trp
AUA	Ile	Met
AUG	Met	Met
AGA	Arg	Stop
AGG	Arg	Stop

Table 4-5
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Genetički kod mitohondrija se razlikuje budući da mitohondrijska DNA kodira drugačije tRNA nego što to čini DNA genoma.

tRNA molekule sličnog su oblika

Karakteristike tRNA:

1. Jednolančane su molekule izgrađene od 73 – 93 ribonukleotida
2. U trodimenzionalnom prikazu, molekule su u obliku slova L
3. Sadrže mnoge neuobičajene baze (7 – 15 po molekli tRNA)
4. U dvo-dimenzionalnom prikazu tRNA su u obliku djeteline
5. 5'-kraj je fosforiliran i obično je na kraju pG
6. Aktivirana aminokiselina se veže na hidroksilnu skupinu adenozina koji je na 3'CCA kraju u akceptorskoj peteljki. CCA segment je fleksibilan i jednolančan.
7. Antikodon se nalazi u petlji koja je gotovo u središtu sekvence.

tRNA molekule sličnog su oblika

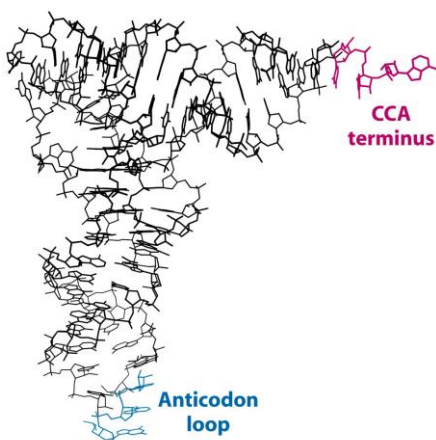


Figure 30-4
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

-tRNA su adaptorske molekule između kodona i aminokiselina.

- za svaku aminokiselinu postoji barem jedna tRNA

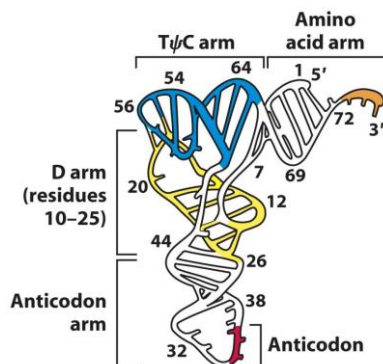


Figure 27-18a
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

tRNA molekule sličnog su oblika

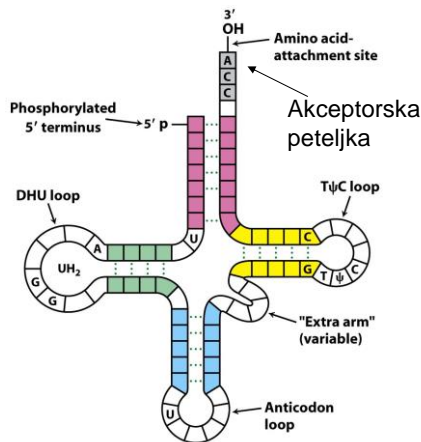
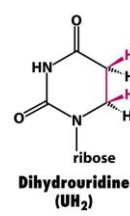
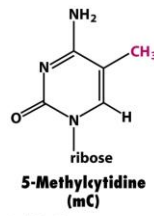
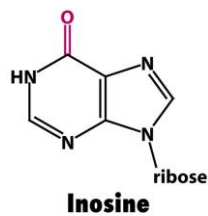


Figure 30-3
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

tRNA molekule sličnog su oblika



- Baze u tRNA su obično metilirane ili dimetilirane. Metilacija onemogućava sparivanje određenih baza, te su te baze u mogućnosti doći u kontakt s drugim komponentama translacijskog sustava.
- Inozini u tRNA nastaju deaminacijom adenozina nakon što je sintetiziran primarni transkript.

Neke tRNA prepoznaju više od jednog kodona

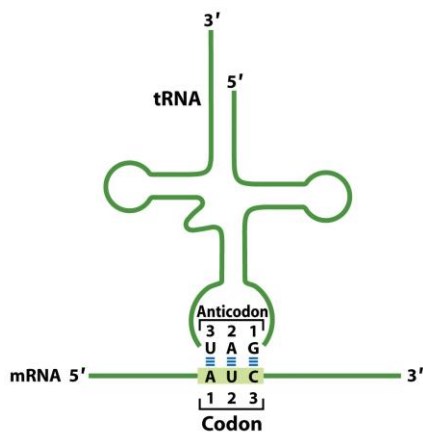


Figure 27-8a
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Koja su pravila koja upravljaju raspoznavanjem kodona pomoću antikodona?

Neke tRNA mogu prepoznavati više od jednog kodona

Npr. arginil-tRNA koja ima antikodon ICG (I = inozin), raspoznaje tri kodona: CGA, CGU i CGC

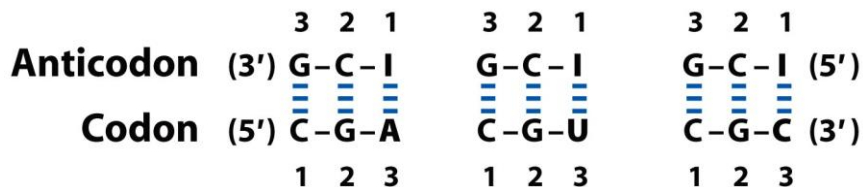
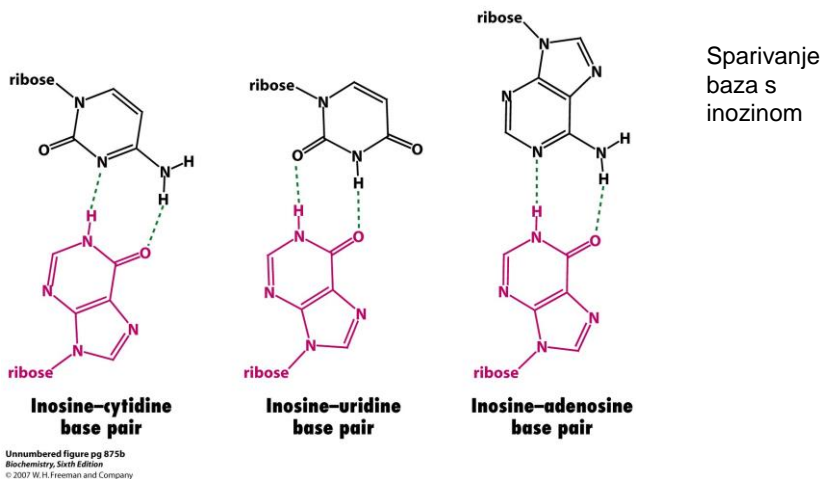


Figure 27-8b
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Neke tRNA prepoznaju više od jednog kodona



Neke tRNA prepoznaju više od jednog kodona

TABLE 27-4	How the Wobble Base of the Anticodon Determines the Number of Codons a tRNA Can Recognize
1. One codon recognized:	
Anticodon	(3') X - Y - C (5')
Codon	(5') X' - Y' - G (3')
2. Two codons recognized:	
Anticodon	(3') X - Y - U (5')
Codon	(5') X' - Y' - A (3')
3. Three codons recognized:	
Anticodon	(3') X - Y - I (5')
Codon	(5') X' - Y' - A (3')

Note: X and Y denote bases complementary to and capable of strong Watson-Crick base pairing with X' and Y', respectively. Wobble bases—in the 3' position of codons and 5' position of anticodons—are shaded in pink.

Table 27-4
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Veća sterička sloboda sparivanja s “kolebljivom” bazom (treća baza kodona, prva baza antikodona) razlog su degenerativnosti genetičkog koda.

Općenito:

Prve se dvije baze standardno sparuju. Kodoni koji se razlikuju u jednoj od prvih baza raspoznaju se s različitim tRNA. Npr. UUA i CUA šifriraju za leucin, ali to raspoznaju dvije različite tRNA.

Prva baza antikodona određuje da li određena tRNA čita jedan, dva ili tri kodona.

Neke tRNA prepoznaju više od jednog kodona

TABLE 30.3 Allowed pairings at the third base of the codon according to the wobble hypothesis

First base of anticodon	Third base of codon
C	G
A	U
U	A or G
G	U or C
I	U, C, or A

Table 30-3
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Za sintezu dugih proteina potrebna je velika točnost

Brzina translacije: 40 aminokiselina/s; točnost $\sim 10^{-4}$

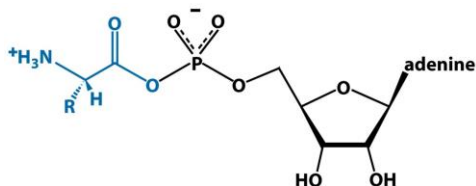
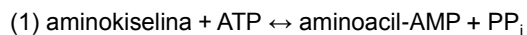
TABLE 30.1 Accuracy of protein synthesis

Frequency of inserting an incorrect amino acid	PROBABILITY OF SYNTHESIZING AN ERROR-FREE PROTEIN		
	NUMBER OF AMINO ACID RESIDUES		
	100	300	1000
10^{-2}	0.366	0.049	0.000
10^{-3}	0.905	0.741	0.368
10^{-4}	0.990	0.970	0.905
10^{-5}	0.999	0.997	0.990

Note: The probability p of forming a protein with no errors depends on n , the number of amino acids, and ϵ , the frequency of insertion of a wrong amino acid: $p = (1 - \epsilon)^n$.

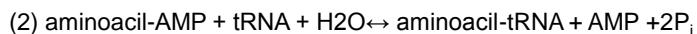
Table 30-1
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Aminokiseline se prvo aktiviraju adenilacijom



Aminoacyl adenylate

Unnumbered figure pg 862
Biochemistry, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company



Aminokiseline se aktiviraju vezanjem na tRNA

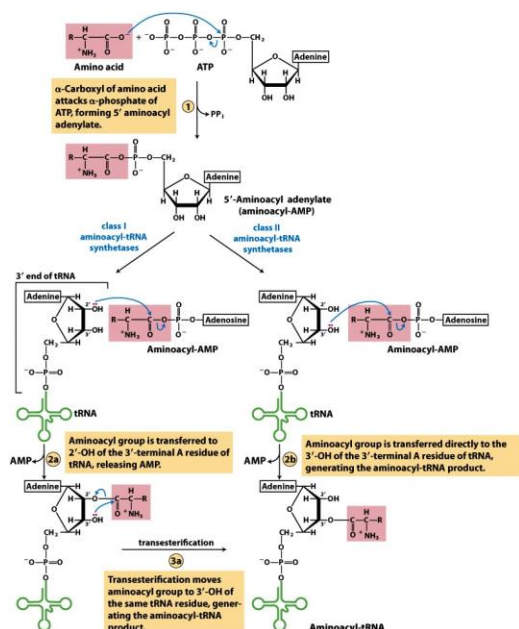


Figure 27-19
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Povezivanje i aktivaciju aminokiselina na tRNA vrše aminoacil-tRNA sintetaze.

Aminokiseline se aktiviraju vezanjem na tRNA

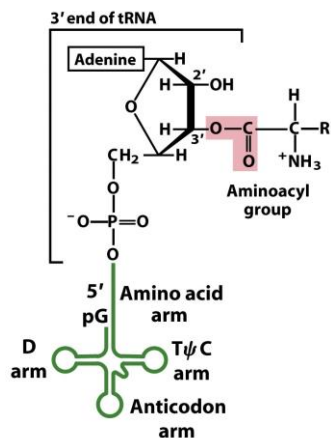
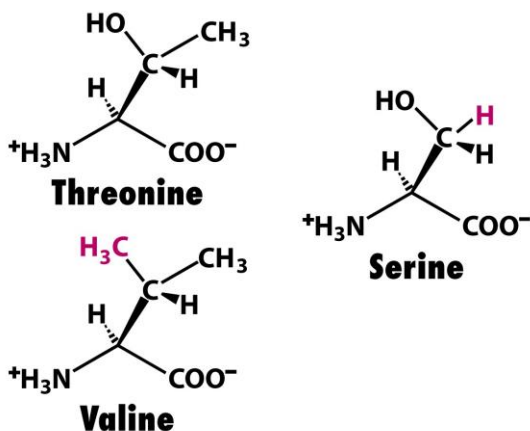


Figure 27-20
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Opća struktura aminoacil-tRNA.

Aminoacilna skupina je esterificirana na 3' položaju krajnjeg A ostatka tRNA. Esterska veza koja aktivira i povezuje aminokiseline s tRNA je obilježena ljubičastom bojom.

Aktivacija aminokiselina s aminoacil-tRNA sintetazama je vrlo specifična



Unnumbered Figure pg 863b
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Povezivanje tRNA s pripadajućim aminokiselinom vrlo je precizno. Pogreške se događaju jednom u svakih 10⁴ – 10⁵ reakcija.

Aktivacija aminokiselina s aminoacil-tRNA sintetazama je vrlo specifična

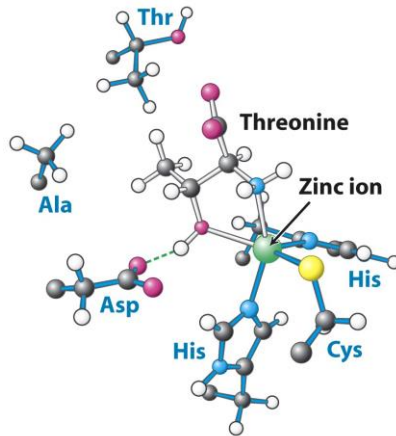


Figure 30-7
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Aktivno mjesto treonil-tRNA sintetaze. Mjesto vezanja sadrži cinkov ion (zeleno) koji koordinira treonin preko amino i hidroksilne skupine, te time razlikuje treonin od strukturno sličnih valina i serina.

Dodatna kontrola pomoću aminoacil-tRNA sintetaza povećava točnost translacije

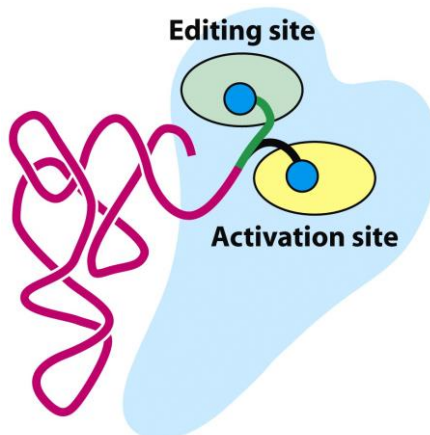


Figure 30-9
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Osim diskriminirajućeg aktivnog mjesta većina aminoacil-tRNA sintetaza imaju i mjesto za editiranje (kontrolu) ispravno vezane aminokiseline.

Sintetaze prepoznaju antikodone i aktivatorsku peteljku tRNA

- Sintetaza prepoznaje tRNA tako što prepoznaje specifične petlje i aktivatorsku peteljku.
- Važno je da aminoacil-tRNA sintetaze ispravno biraju svoje supstrate, jer su to jedine molekule koje “znaju” genetički kod.



Gln-tRNA u kompleksu s
glumamil-tRNA-sintetazom

Figure 27-22a
© Garland Science 2008

Ribosom je ribonukleoproteinska čestica koja je izgrađena od dvije podjedinice

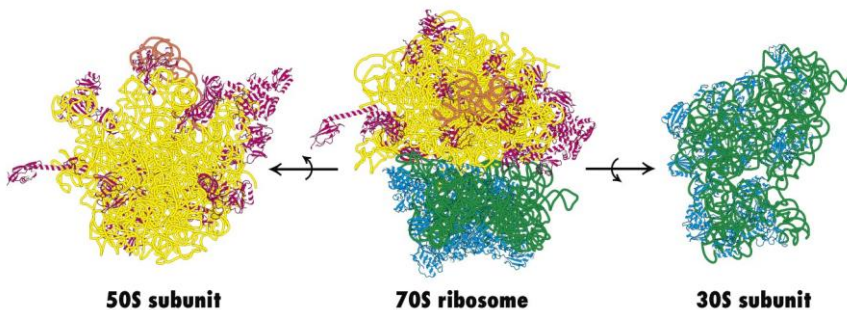


Figure 30-13
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Modeli ribosoma priređeni na osnovu rezultata kristalografskih studija. 23S RNA je žuta, 5S RNA je narančasta, 16S RNA je zelena. Proteini u 50 S podjedinici su crveni, a u 30S podjedinici, plavi.

Malu podjedinicu izgrađuje 21 različitih proteina (S1-S21) i 16S RNA.

Veliku podjedinicu izgrađuje 34 (L1-L34) različita proteina, te 23S i 5S RNA.

Ribosomske RNA imaju ključne uloge u sintezi proteina

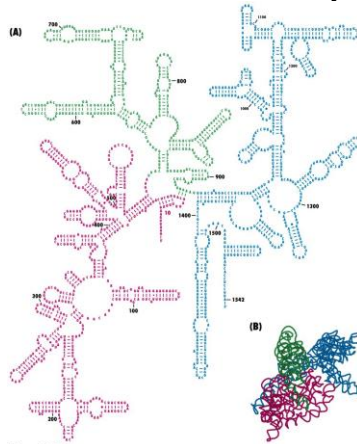


Figure 30-14
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

(A) Prikaz sekundarne strukture 16S RNA; i njezina tercijarna struktura (B)

RNA čini 2/3 mase ribosoma.

Ključna katalitička mjesta ribosoma izgrađuje samo RNA.

mRNA se translacija u 5'→3' smjeru

- Smjer translacije ima ozbiljne konzekvence:

u prokariotima, budući da je smjer transkripcije 5' →3' a i smjer translacije je 5' →3', translacija se može odvijati istovremeno kada i transkripcija.

mnogi ribosomi mogu simultano translirati jednu mRNA

ekspresija gena prokariota – translacija i transkripcija povezane su i vremenski i prostorno.

mRNA se translacija u 5'→3' smjeru

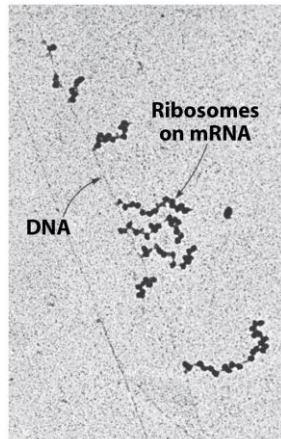
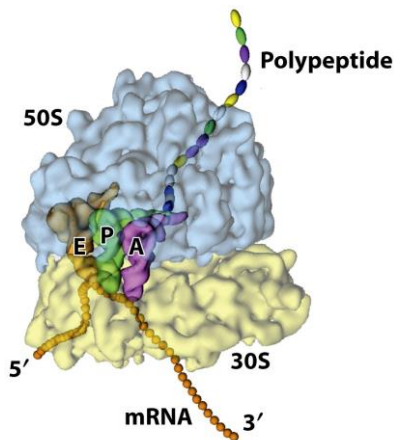


Figure 30-15
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Polisomi. U prokariotima, transkripcijom dijela DNA nastaju mRNA koje odmah transliraju mnogobrojni ribosomi.

Mehanizam sinteze proteina

Sinteza proteina dešifrira (prevodi, translacija) se informacija pohranjena u mRNA



Chapter 30 Opener part 2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Sinteza proteina zahtjeva mnogo energije i to je složeni proces koji se odvija u tri faze: **inicijaciji, elongaciji i terminaciji.**

U elongaciji, kodoni se očitavaju u 5'→3' smjeru, a protein se sintetizira od svog amino prema karboksilnom kraju.

Kada se na mRNA očita stop kodon, specijalni proteini hidroliziraju polipeptid s posljednje tRNA te se polipeptid oslobađa, a također se razlaže i translacijski sustav.

TABLE 27-5 Components Required for the Five Major Stages of Protein Synthesis in *E. coli*

Stage	Essential components
1. Activation of amino acids	20 amino acids 20 aminoacyl-tRNA synthetases 32 or more tRNAs ATP Mg ²⁺
2. Initiation	mRNA N-Formylmethionyl-tRNA ^{Met} Initiation codon in mRNA (AUG) 30S ribosomal subunit 50S ribosomal subunit Initiation factors (IF-1, IF-2, IF-3) GTP Mg ²⁺
3. Elongation	Functional 70S ribosome (initiation complex) Aminoacyl-tRNAs specified by codons Elongation factors (EF-Tu, EF-Ts, EF-G) GTP Mg ²⁺
4. Termination and ribosome recycling	Termination codon in mRNA Release factors (RF-1, RF-2, RF-3, RRF) EF-G IF-3
5. Folding and posttranslational processing	Specific enzymes, cofactors, and other components for removal of initiating residues and signal sequences, additional proteolytic processing, modification of terminal residues, and attachment of acetyl, phosphoryl, methyl, carboxyl, carbohydrate, or prosthetic groups

Table 27-5
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Ribosomi imaju tri vezna mjesta za tRNA koja povezuju 30S i 50S podjedinice

Prvi korak u sintezi proteina je inicijacija. Za taj korak (kao i za elongaciju) potrebna je kooperacija ribosoma, tRNA, mRNA i različitih faktora.

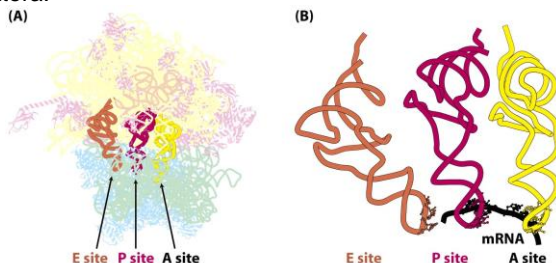


Figure 30-18
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Vezna mjesta za tRNA. (A) 3 su vezna mjesta za tRNA na 70S ribosomu: A (aminoacil); P (peptidil) i E (exit (izlaz)). Svaka je tRNA u kontaktu i s 30S i s 50S podjedinicom. (B) tRNA molekule u A i P mjestima sparuju baze s mRNA, a to se događa na 30S podjedinici ribosoma. Suprotni krajevi tRNA u interakciji su s 50S podjedinicom.

Ribosomi imaju tri vezna mjesta za tRNA koje povezuju 30S i 50S podjedinice

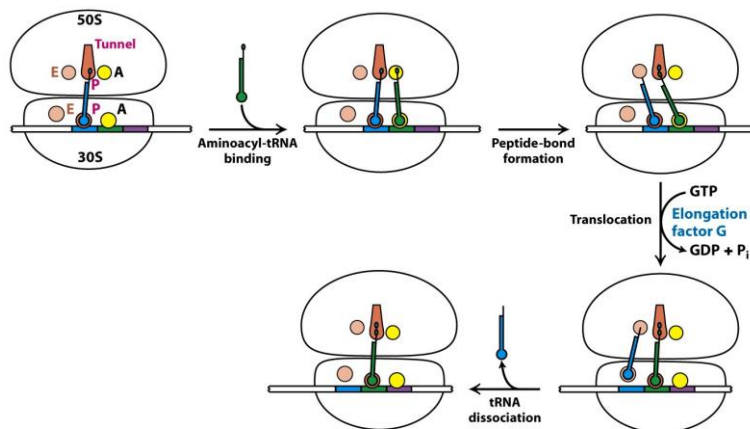


Figure 30-19
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Opća shema sinteze peptida

Signal za start je AUG (ili GUG) ispred kojih je nekoliko nukleotida koji se sparuju s 16S rRNA

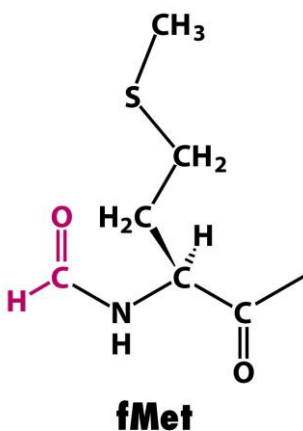
Dvije vrste interakcija određuju start sinteze proteina: (1) sparivanje mRNA s 3'-krajem 16S rRNA (Shine-Dalgarno sekvenca) i (2) sparivanje kodona mRNA s antikodonom na inicijacijskoj tRNA molekuli.

Shine-Dalgarno sekvenca



Figure 30-16
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Sintezu bakterijskih proteina inicira formilmetionin tRNA



Unnumbered figure pg 126
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Sinteza proteina u bakterijama započinje s N-formilmetioninom.

Posebna, inicijacijska tRNA (označava se kao tRNA_f) dovodi formilmetionin do ribosoma kako bi se inicirala sinteza.

tRNA_f razlikuje se od tRNA_m koja dovodi (insertira) metionin unutar sekvence peptida.

Indeks "f" označava da se metionin koji je vezan za tRNA_f može formilirati, dok se metionin vezan za tRNA_m ne može formilirati i ugrađuje se u sekvencu proteina.

Ista aminoacil-tRNA sintetaza povezuje metionin ili za tRNA_f ili za tRNA_m.

Sintezu bakterijskih proteina inicira formilmetionin tRNA

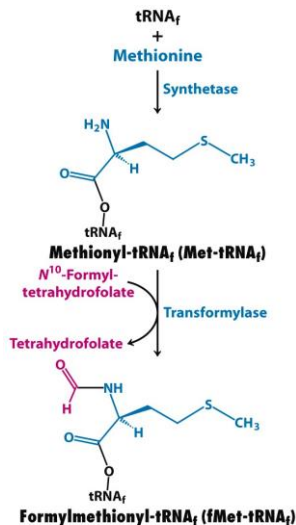


Figure 30-17
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Specifičan enzim, transformilaza, formilira metionin vezan za tRNA_f. Donor formilne skupine je N¹⁰-formiltetrahydrofolat.

Formilacija metionil-tRNA.

Inicijacijska tRNA (tRNA_f) prvo veže metionin a tada se formilna skupina prenosi s N¹⁰-formiltetrahydrofolata na amino skupinu metionina.

U procesu stvaranja 70S inicijacijskog kompleksa formilmetion-tRNA se prvo veže za P mjesto ribosoma

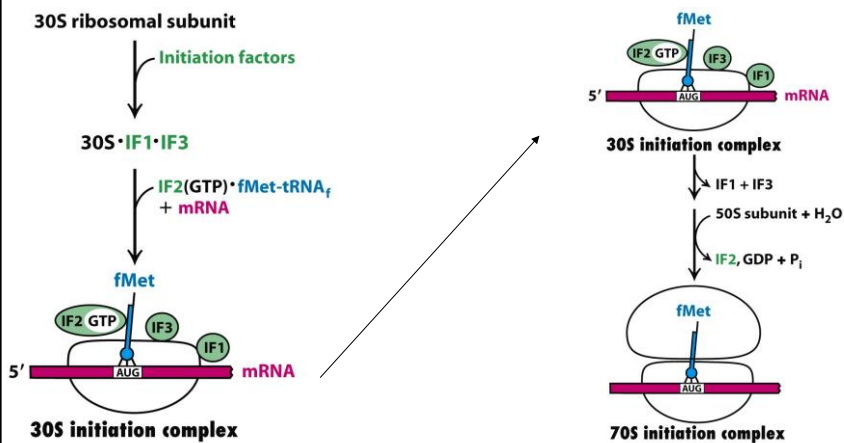


Figure 30-22 part 1
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Figure 30-22 part 2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Inicijacija translacije u prokariotima. Inicijacijski faktori pomažu da se prvo stvori inicijacijski kompleks na 30S podjedinici, a zatim disociraju te omogućavaju nastajanje inicijacijskog kompleksa na 70 S ribosomu.

U procesu stvaranja 70S inicijacijskog kompleksa formilmetion-tRNA se prvo veže za P mjesto ribosoma

- 30S podjedinica prvo stvara kompleks s IF1 i IF3 koji sprječavaju prerano vezanje 50S podjedinice.
- IF2, GTPaza, veže GTP i ta konformacijska promjena omogućava da IF2 veže formilmetionil-tRNA_f. IF2 specifično raspoznaje fMet-tRNA_f.
- IF2-GTP-inicijacijska tRNA povezuje se s mRNA (mRNA koja je ispravno sparena sa Shine-Dalgarno sekvencom 16S rRNA) i sa 30S podjedinicom te nastaje 30S inicijacijski kompleks.
- Kada se 50S podjedinica ribosoma veže, dolazi do hidrolize GTP vezanog za IF2 te ova energija otpušta i ostale inicijacijske faktore. Disocijacija inicijacijskih faktora omogućava nastajanje 70S inicijacijskog kompleksa koji je sada spreman za provođenje elongacije.
- fMet-tRNA vezana je na P mjesto ribosoma, a preostala 2 mjesta A i E su prazna. Vezanje fMet-tRNA za mRNA definira i okvir čitanja čitave mRNA (definira skupine od po tri nukleotida koji su u neprekidnom nizu).

Elongacijski faktori dovode aminoacil-tRNA do ribosoma

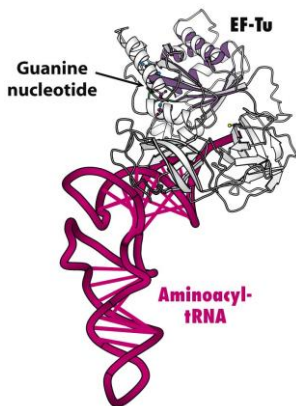
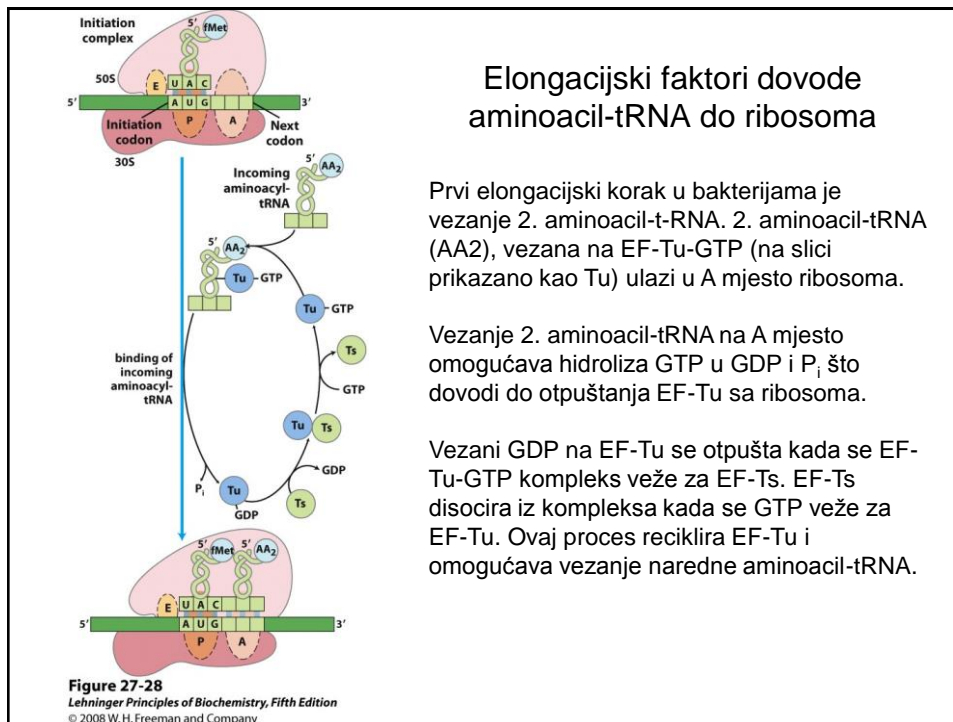


Figure 30-23
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Struktura elongacijskog faktora Tu. GTPazna domena je na amino-kraju EF-Tu. GTPazna domena je slična ostalim G proteinima.

Aminoacil-tRNA iz kompleksa aminoacil-tRNA sintetaze do ribosoma prenose 43 kd proteini – elongacijski faktori Tu – EF-Tu. Elongacijski faktor Tu veže aminoacil-tRNA samo u Tu-GTP obliku. Vezanje EF-Tu za aminoacil-tRNA služi:

- EF-Tu štiti aminoacil-tRNA od hidrolize
- GTP vezan u EF-Tu hidrolizirati će se u GDP samo kada nastane ispravni kompleks između EF-Tu-aminoacil-tRNA i ribosoma (ako antikodon nije ispravno sparen s kodonom hidroliza GTP se ne odvija i aminoacil-tRNA se ne prenosi na ribosom). Hidroliza GTP doprinosi točnosti sinteze proteina.
- nakon što je GTP hidroliziran, EF-Tu ponovno se vraća u GTP oblik pomoću EF-Ts.
- EF-Tu ne reagira s fMet-tRNA_f, te se ova inicijacijska tRNA ne dovodi u A mjesto ribosoma.



Peptidil transferaze kataliziraju sintezu peptidne veze

- Kada su na P i A mjesta vezane aminoacil-tRNA može doći do sinteze peptidne veze
- Formil-metionin, fMet, vezan za inicijacijsku tRNA prenosi se na amino-skupinu 2. aminokiseline koja je vezana u A mjestu.
- Nastanak peptidne veze je termodinamički spontana reakcija koju katalizira peptidil transferaza koja je dio 23S rRNA 50S podjedinice ribosoma
- Katalitičko središte peptidil transferaze je duboko u 50S podjedinici u blizini tunela koji omogućava nascentnom (novo sintetiziranom) peptidu da odlazi s ribosoma

Peptidil transferaze kataliziraju sintezu peptidne veze

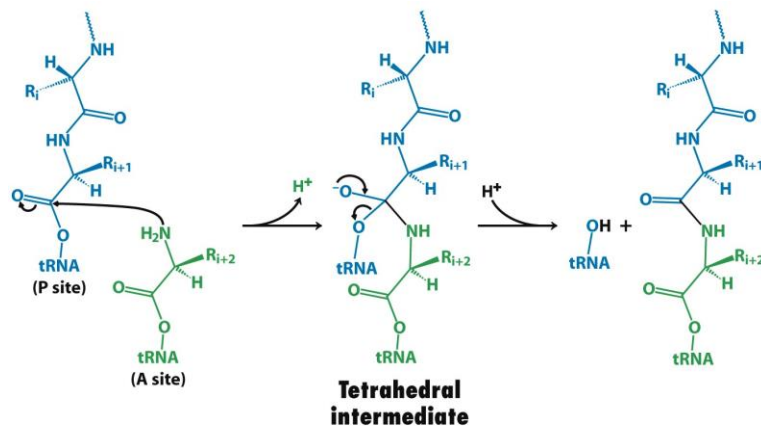


Figure 30-20
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Peptidil transferaze kataliziraju sintezu peptidne veze

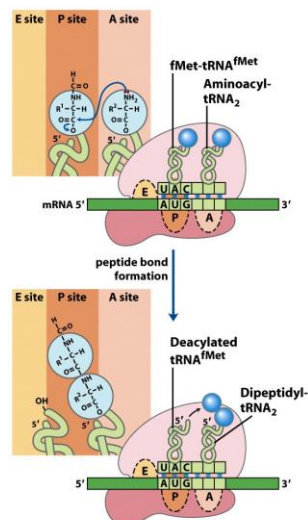


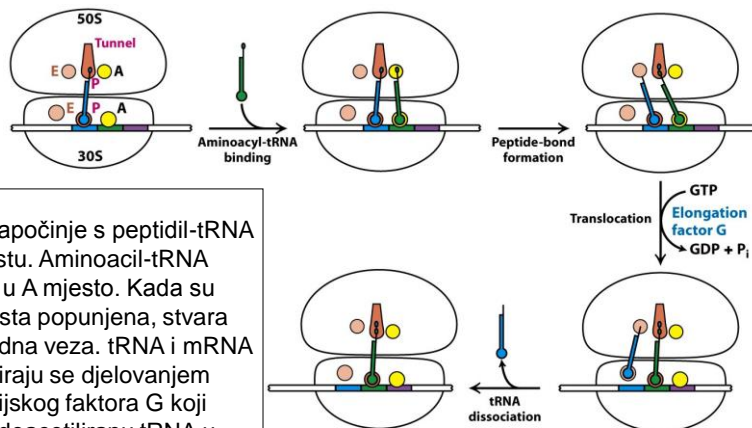
Figure 27-29
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

2. Elongacijski korak je stvaranje prve peptidne veze.

Peptidil-transferaza, ribozim, je dio 23S rRNA. N-formilmetioninska skupina prenosi se na amino skupinu 2. aminoacyl-tRNA, koja je u A mjestu, te nastaje dipeptidil-tRNA.

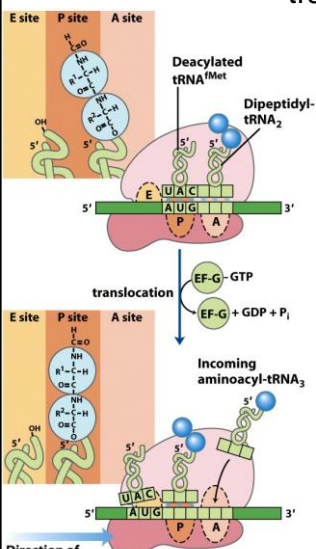
U tom času, obje tRNA vezane za ribosom mijenjaju položaj u 50S podjedinici te se 3'-kraj dipeptidil-tRNA veže u P mjesto, a 3'-kraj inicijacijske tRNA veže se u E mjesto 50S podjedinice.

Nakon sinteze peptidne veze dolazi do GTP ovisne translokacije tRNA i mRNA



Ciklus započinje s peptidil-tRNA u P mjestu. Aminoacil-tRNA se veže u A mjesto. Kada su oba mjesta popunjena, stvara se peptidna veza. tRNA i mRNA translociraju se djelovanjem elongacijskog faktora G koji pomiče deaciliranu tRNA u E mjesto odakle tRNA može disociirati.

Nakon sinteze peptidne veze dolazi do GTP ovisne translokacije tRNA i mRNA



Direction of ribosome movement
Figure 27-30a

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

3. Elongacijski korak.

Ribosom se pomiče za jedan kodon prema 3'-kraju mRNA pomoću energije koju dobiva hidrolizom GTP koji je vezan za EF-G (translokazu). Dipeptidil-tRNA je sada u potpunosti u P mjestu, a A mjesto je prazno i slobodno za nadolazeću (treću) aminoacil-tRNA. Deacilirana (inicijacijska) tRNA disocira s E mjesta, te novi elongacijski ciklus može iznova započeti.

Nakon sinteze peptidne veze dolazi do GTP ovisne translokacije tRNA i mRNA

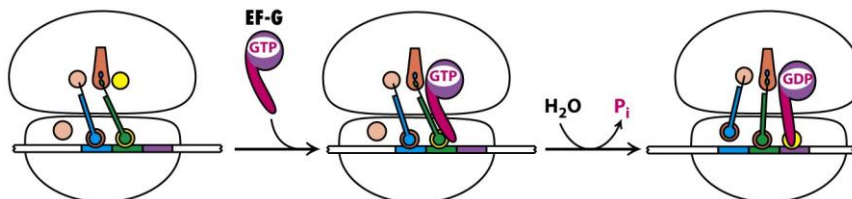


Figure 30-24
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Mehanizam translokacije. U GTP obliku, EF-G se veže na vezno mjesto EF-Tu koje je na 50S podjedinici. Ovim vezanjem dolazi do hidrolize GTP koja omogućava konformacijsku promjenu EF-G. Konformacijska promjena EF-G prisiljava tRNA i mRNA da se pomaknu u ribosomu za duljinu koja je jednaka dužini kodona.

Tijekom ovog procesa peptidni lanac ostaje u P mjestu 50S podjedinice te može ulaziti u "izlazni" kanal ribosoma.

Nakon sinteze peptidne veze dolazi do GTP ovisne translokacije tRNA i mRNA

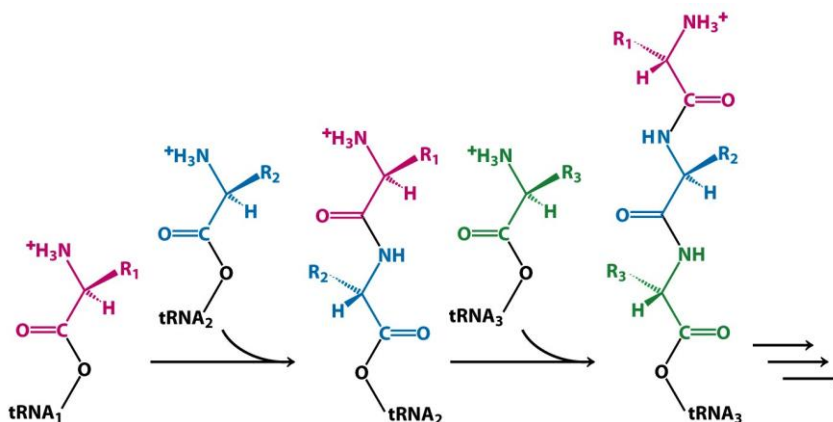


Figure 30-1
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Proteini se sintetiziraju sukcesivnim adicijama aminokiselina na karboksilni kraj peptida.

Sinteza proteina završava pomoću faktora otpuštanja koji prepoznaju stop kodone

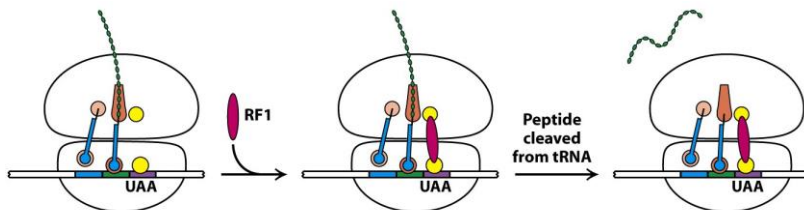


Figure 30-25
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Kako ne postoje tRNA koje prepoznaju stop kodone (UAA, UGA i UAG), stop kodone na mRNA mogu prepoznati “release” faktori (faktori otpuštanja). RF1 prepoznaje UAA ili UAG, a RF2 prepoznaje UAA ili UGA. Treći faktor, koji je GTPaza, RF3 omogućava interakcije RF1 ili RF2 i ribosoma.

RF1 i RF2 po tercijarnoj strukturi sliče tRNA. Kada se vežu za ribosom, peptidi se odmataju i popunjavaju prazninu između stop kodona na mRNA i aktivnog mjesta peptidil transferaze. Točan mehanizam otpuštanja peptida nije poznat ali vjerojatno voda hidrolizira estersku vezu između tRNA i peptidnog lanca što omogućava da se peptid oslobodi.

Sinteza proteina završava pomoću faktora otpuštanja koji prepoznaju stop kodone

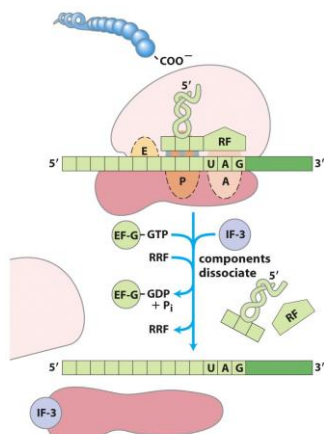


Figure 27-31 part 2
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

tRNA i mRNA ostaju još kratko vrijeme vezane za 70 S ribosom.

Cijeli 70S kompleks disocira se vezanjem EF-GTP i IF-3. U procesu sudjeluje i ribosome release faktor (RRF) koji omogućava hidrolizu EF-GTP.

Kompleks ribosoma, tRNA i mRNA disocira. IF-3 vezan za 30S podjedinicu onemogućava spajanje 30S i 50S podjedinica.

Prokarioti i eukarioti se razlikuju u inicijaciji sinteze proteina

TABLE 27-8 Protein Factors Required for Initiation of Translation in Bacterial and Eukaryotic Cells	
Factor	Function
Bacterial	
IF-1	Prevents premature binding of tRNAs to A site
IF-2	Facilitates binding of fMet-tRNA ^{fMet} to 30S ribosomal subunit
IF-3	Binds to 30S subunit; prevents premature association of 50S subunit; enhances specificity of P site for fMet-tRNA ^{fMet}
Eukaryotic	
eIF2	Facilitates binding of initiating Met-tRNA ^{Met} to 40S ribosomal subunit
eIF2B, eIF3	First factors to bind 40S subunit; facilitate subsequent steps
eIF4A	RNA helicase activity removes secondary structure in the mRNA to permit binding to 40S subunit; part of the eIF4F complex
eIF4B	Binds to mRNA; facilitates scanning of mRNA to locate the first AUG
eIF4E	Binds to the 5' cap of mRNA; part of the eIF4F complex
eIF4G	Binds to eIF4E and to poly(A) binding protein (PAB); part of the eIF4F complex
eIF5	Promotes dissociation of several other initiation factors from 40S subunit as a prelude to association of 60S subunit to form 80S initiation complex
eIF6	Facilitates dissociation of inactive 80S ribosome into 40S and 60S subunits

Table 27-8
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

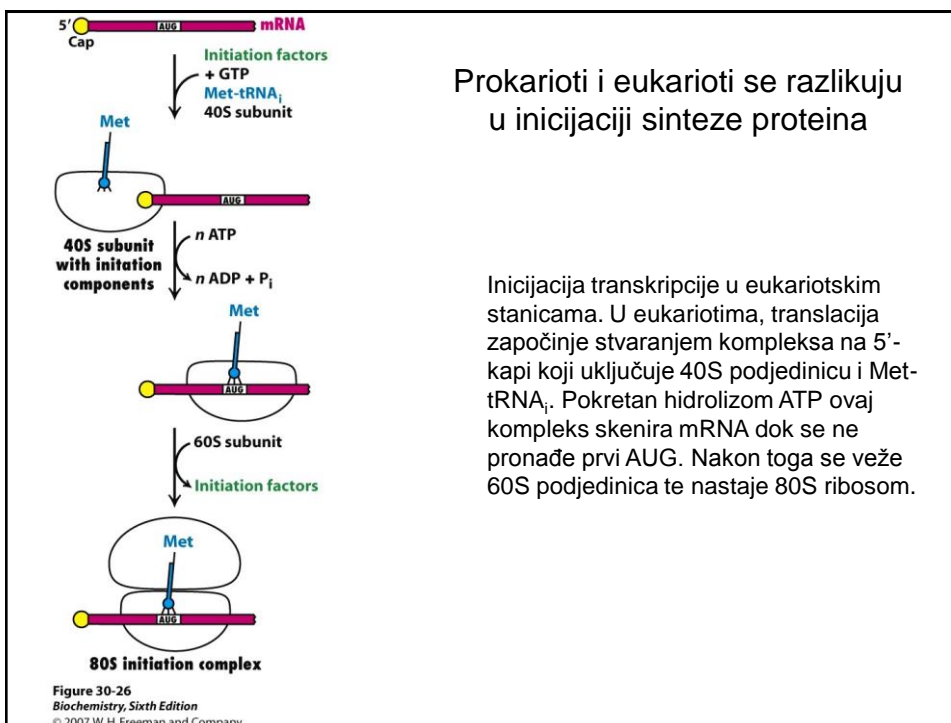
Prokarioti i eukarioti se razlikuju u inicijaciji i provođenju sinteze proteina

Sličnosti i razlike:

- **Ribosomi.** Eukariotski ribosomi su veći. Izgrađuju se od 60S i 40S podjedinica, a zreli ribosom je 80S. (Adekvatno, i rRNA su veće)
- **Inicijacijska tRNA.** U eukariota inicijacijska aminokiselina je metionin, a ne fMet, ali postoji specifična inicijacijska tRNA koja se naziva Met-tRNA_i (ili Met-tRNA_f jer se u *in vitro* uvjetima može formilirati)
- **Inicijacija.** Početni kodon u eukariotima je uvijek AUG i eukarioti nemaju Shine-Delgarno sekvencu. AUG kodon koji je najbliži 5'-kraju je startno mjesto. 40S ribosom s vezanom Met-tRNA_i veže se za kapu na 5'-kraju mRNA i traži AUG kodon. Proces kataliziraju helikaze koje se pomiču po mRNA (pomiču se hidrolizirajući ATP). Sparivanje antikodona Met-tRNA_i i AUG, signal je za start. Eukariotske mRNA imaju obično samo jedan AUG kodon, za razliku od prokariota koji mogu imati nekoliko startnih mjesta.

Prokarioti i eukarioti se razlikuju u inicijaciji sinteze proteina

- **Inicijacija** (nastavak). Eukarioti imaju daleko više inicijacijskih faktora koji se označavaju kao eIF. Razlika u inicijaciji djelomično je posljedica različitosti sazrijevanja RNA.
- **Struktura mRNA**. Eukariotska mRNA je cirkularna. eIF4-E, protein koji se veže na kapu mRNA veže se i na poli(A) pomoću još dva dodatna proteina.
- **Elongacija i terminacija**. Eukariotski elongacijski faktori EF1 α i EF1 $\beta\gamma$ pandani su prokariotskim EF-Tu i EF-Ts. Terminaciju u eukariotskim stanicama provodi samo jedan faktor otpuštanja, eRF1. Slično kao i u prokariotima, eIF-3, pandan IF-3, sprječava povezivanje ribosomskih podjedinica ukoliko na njih nije vezan inicijacijski kompleks.



Prokarioti i eukarioti se razlikuju u inicijaciji sinteze proteina

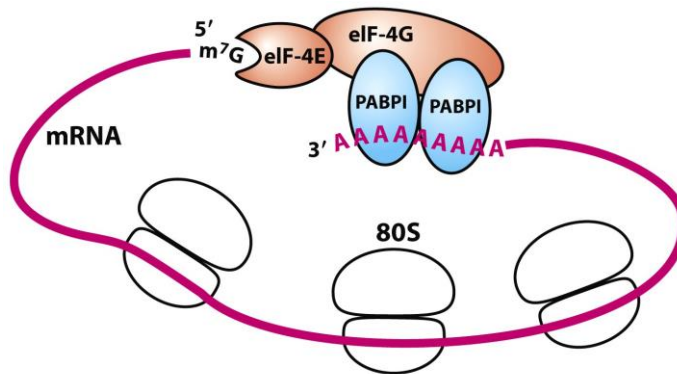


Figure 30-27
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Interakcija proteina omogućava cikularizirati mRNA. (PABPI = poly(A) - binding protein)

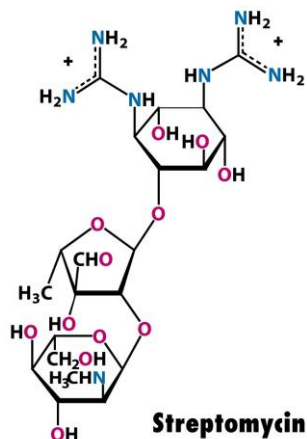
Različite molekule inhibiraju sintezu proteina

TABLE 30.4 Antibiotic inhibitors of protein synthesis

Antibiotic	Action
Streptomycin and other aminoglycosides	Inhibit initiation and cause the misreading of mRNA (prokaryotes)
Tetracycline	Binds to the 30S subunit and inhibits the binding of aminoacyl-tRNAs (prokaryotes)
Chloramphenicol	Inhibits the peptidyl transferase activity of the 50S ribosomal subunit (prokaryotes)
Cycloheximide	Inhibits translocation (eukaryotes)
Erythromycin	Binds to the 50S subunit and inhibits translocation (prokaryotes)
Puromycin	Causes premature chain termination by acting as an analog of aminoacyl-tRNA (prokaryotes and eukaryotes)

Table 30-4
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Različite molekule inhibiraju sintezu proteina



Unnumbered figure pg 884
 Biochemistry, Sixth Edition
 © 2007 W. H. Freeman and Company

Streptomycin, vrlo bazični trisaharid, utječe na vezanje fMet-tRNA na ribosom i time sprječava ispravnu inicijaciju sinteze.

Različite molekule inhibiraju sintezu proteina

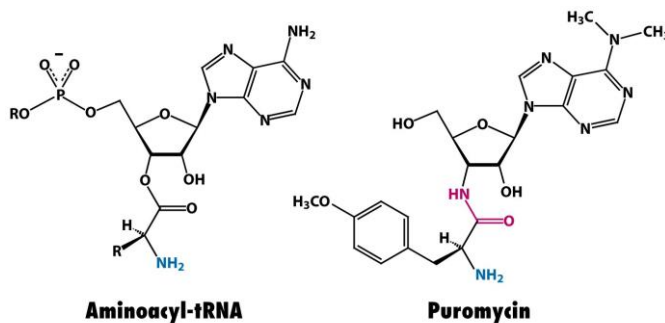


Figure 30-33
 Biochemistry, Sixth Edition
 © 2007 W. H. Freeman and Company

Puromicin sliči aminoacilnom kraju aminoacil-tRNA. Njegova se amino skupina povezuje s karboksilnim krajem rastućeg polipeptida te nastaje adukt koji disocira s ribosoma. Adukt je stabilan jer puromicin ima amidnu, a ne estersku vezu.

Različite molekule inhibiraju sintezu proteina

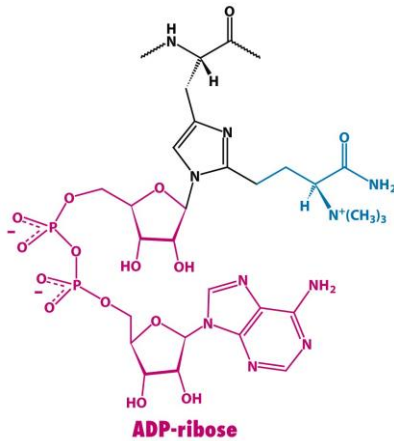


Figure 30-34
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Toksin difterije inhibira sintezu proteina u eukariotima tako što katalizira prijenos ADP riboze s NAD^+ na dityamid, modificirani aminokiselinski ostatak u elongacijskom faktoru 2 (translokazi). Dityamid nastaje posttranslacijskom modifikacijom (plavo) histidina.

ADP ribozilacijom EF2 inhibira se sposobnost EF2 da provodi translokaciju rastućeg polipeptida.