



ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ  
БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ ФАКУЛЬТЕТІ  
МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА КАФЕДРАСЫ

ДӘРІС 10.

ЭУКАРИОТТЫҚ ТРАНСЛЯЦИЯ.

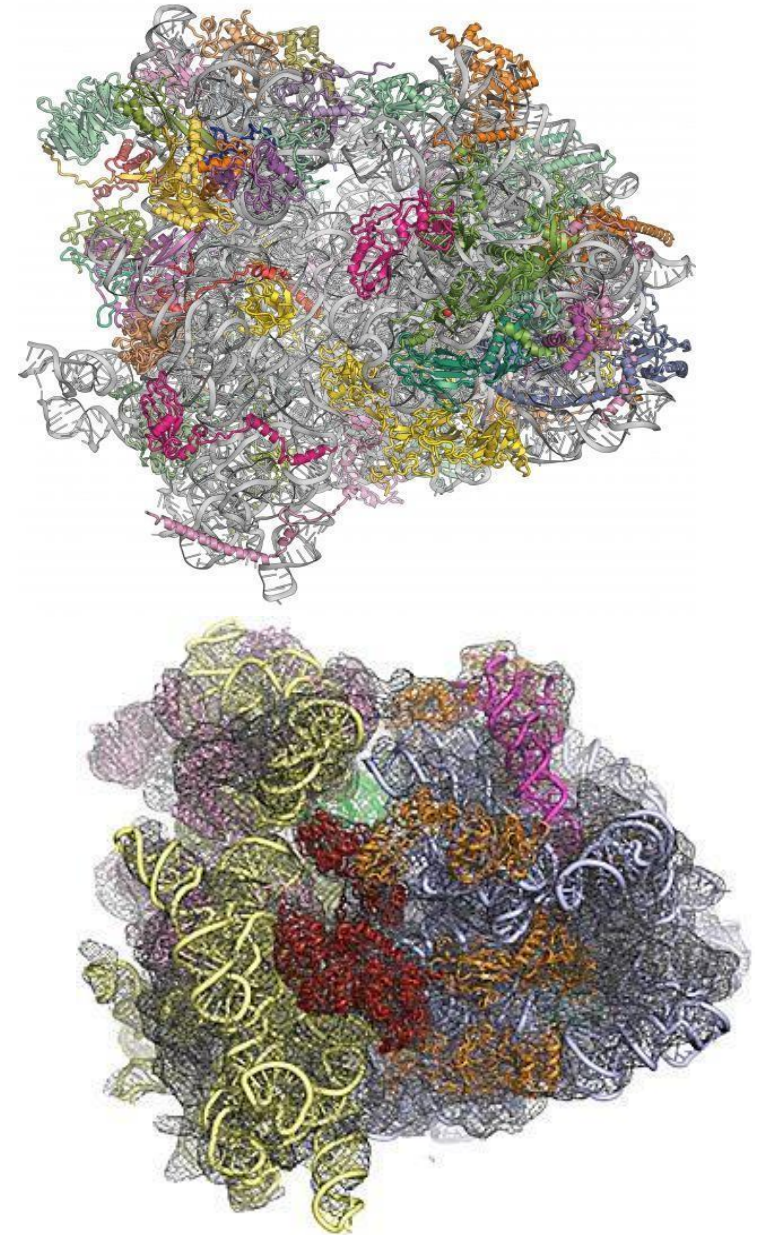
Лектор: PhD, қауымдастырылған  
профессор Тайпақова С.М.

## **Дәріс жоспары:**

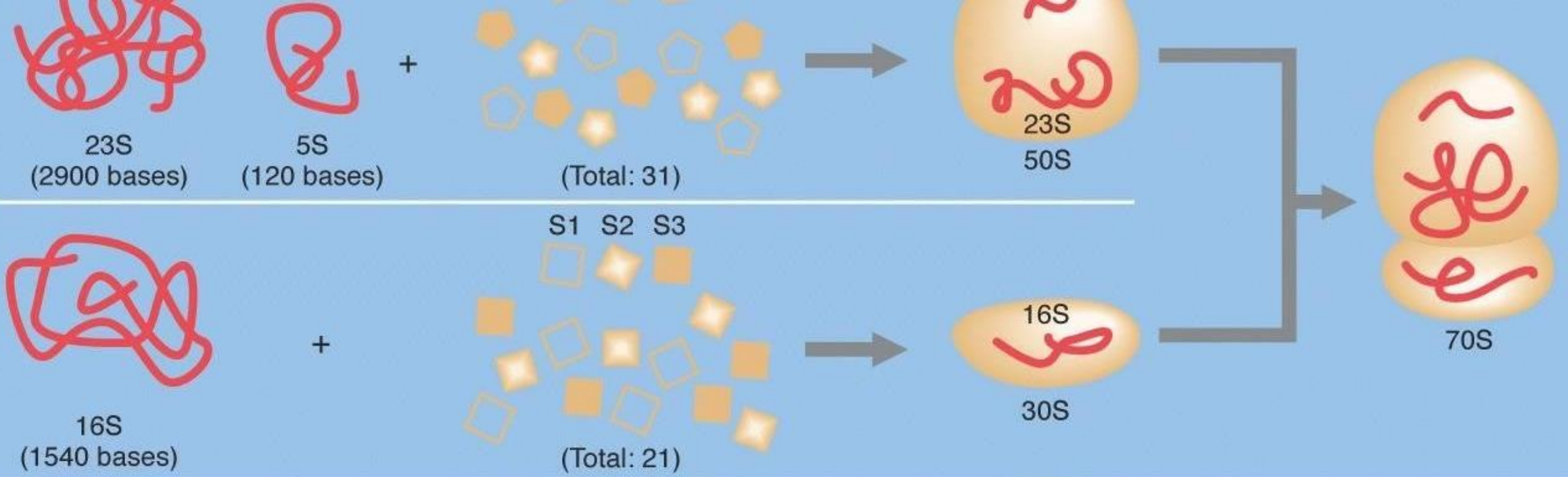
- **Эукариоттық рибосома**
- **Эукариоттарда трансляция кезеңдерінің ерекшелігі**
- **Белок фолдингі**
- **Белок деградациясы**
- **Рибосомалық емес пептидтер**

# Рибосома

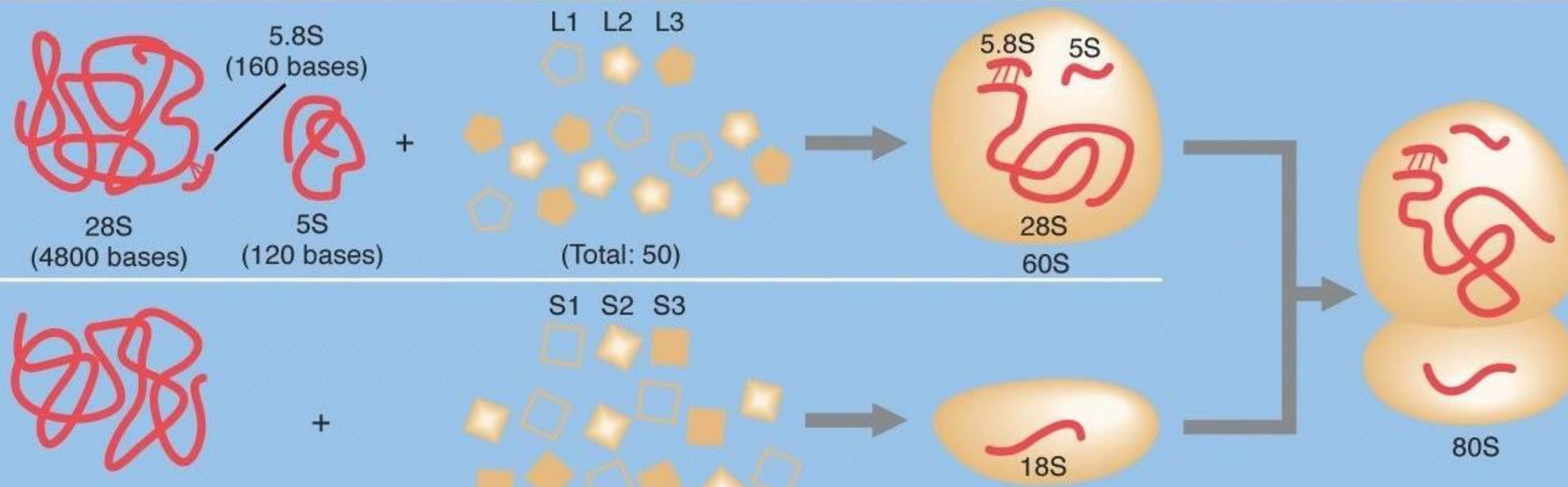
- Эукариоттық рибосомаларға төрт рРНК молекуласы кіреді, оның ішінде 18S, 5,8S және 28S рРНК.
- Олар ядрошықта РНК-полимераза I арқылы жалғыз прекурсор (45S) арқылы синтезделеді, содан кейін ол модификацияланады және кесіледі.
- 5S рРНК геномның басқа бөлігінде РНК-полимераза III арқылы синтезделеді және қосымша модификацияларды қажет етпейді.
- Барлық дерлік рРНК құрылымды сақтау үшін қажет магний тұзы түрінде болады;
- Магний иондары жойылғанда рибосома суббірліктерге диссоциацияланады.
- Эукариоттарда рибосомалардың синтезі ерекше ядроішілік құрылымда – ядрошықта жүреді.



Prokaryotic



Eukaryotic (mammalian)



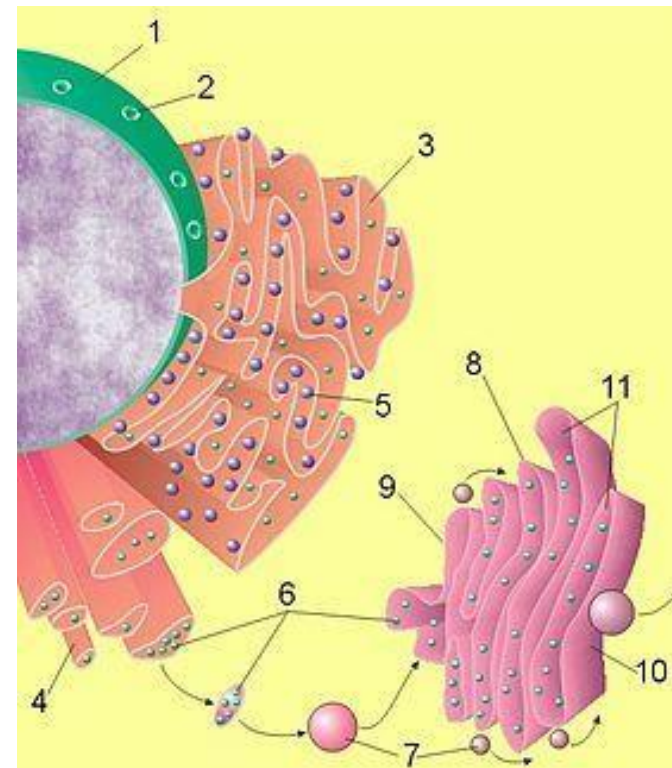
# Рибосома

Эукариоттарда трансляция жасушаның бүкіл цитоплазмасында емес, шартты түрде «трансляциялық бөлімдер» деп аталатын цитоплазманың белгілі бір аймақтарында жүреді деген гипотеза бар:

Секреторлық және мембраналық белоктардың мРНК трансляциясы (жасуша синтездейтін барлық белоктардың 3-15%) түйіршікті эндоплазмалық ретикулуммен байланысқан рибосомаларда жүреді.

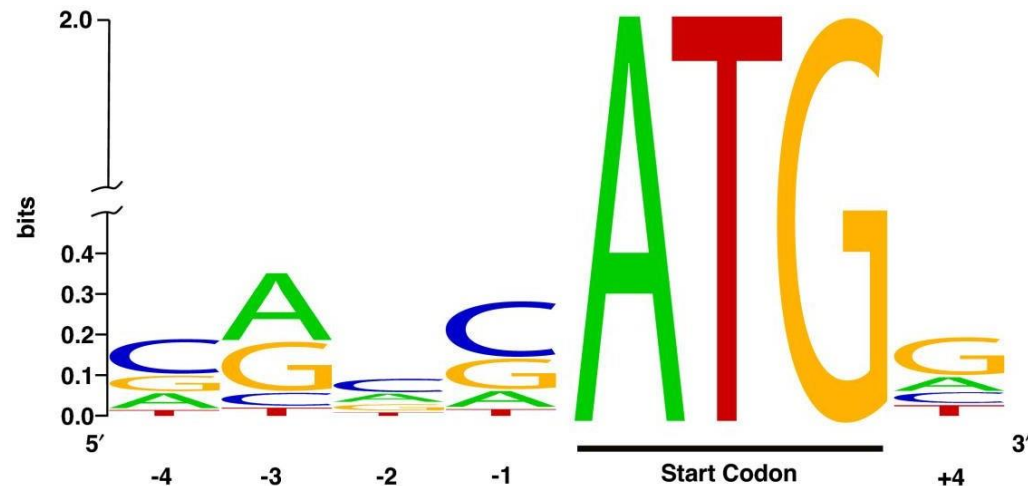
- Классикалық тұрғыда рибосомалардың тағы 35-45% цитоскелетпен байланысады.
- Рибосомалардың қалған 20-40% цитозолда байланыспаған күйде болады.

Трансляцияны компартментизациялау ақуыз биосинтезінің жоғары жылдамдығын және осы процесті реттеудің кең мүмкіндіктерін қамтамасыз етеді.



# Эукариоттарда трансляция инициациясы

- Эукариоттарда трансляцияның старт сайты әдетте AUG айналасындағы нуклеотидтік контекстке байланысты бірінші AUG кодоны болып табылады, бірақ әрқашан емес.
- Эукариоттарда трансляция инициациясында маңызды рөл атқаратын Козак консенсус тізбегі бастапқы кодонның алдындағы төрт-алты нуклеотидті және бастапқы кодоннан кейін бірден бір-екі нуклеотидті қамтиды.
- AUG кодонының оңтайлы нуклеотидтік контексті *in vivo* жағдайында сәйкес мРНК-дан ақуыз синтезінің жоғары деңгейімен корреляцияланады және «күшті» (тиімді трансляциялау) Козак тізбегінің сипаттамасы болып табылады.
- Козак тізбегі прокариоттық Shine-Dalgarno тізбегінен айырмашылығы, рибосомалық байланысу орны (RBS) емес.



# Эукариоттарда трансляция инициациясы

Эукариоттарда рибосома арқылы бастапқы AUG табудың екі негізгі механизмі бар:

## Кэп-тәуелді (сканерлеу)

Сканерлеу механизмінде рибосоманың кіші суббірлігі мРНҚ-ның 5' ұшындағы кэп аймағында орналасады және старт кодон AUG іздеу үшін мРНҚ кодондарын «сканерлей отырып», молекула бойымен қозғалады.

## Кэп-тәуелсіз (ішкі инициация)

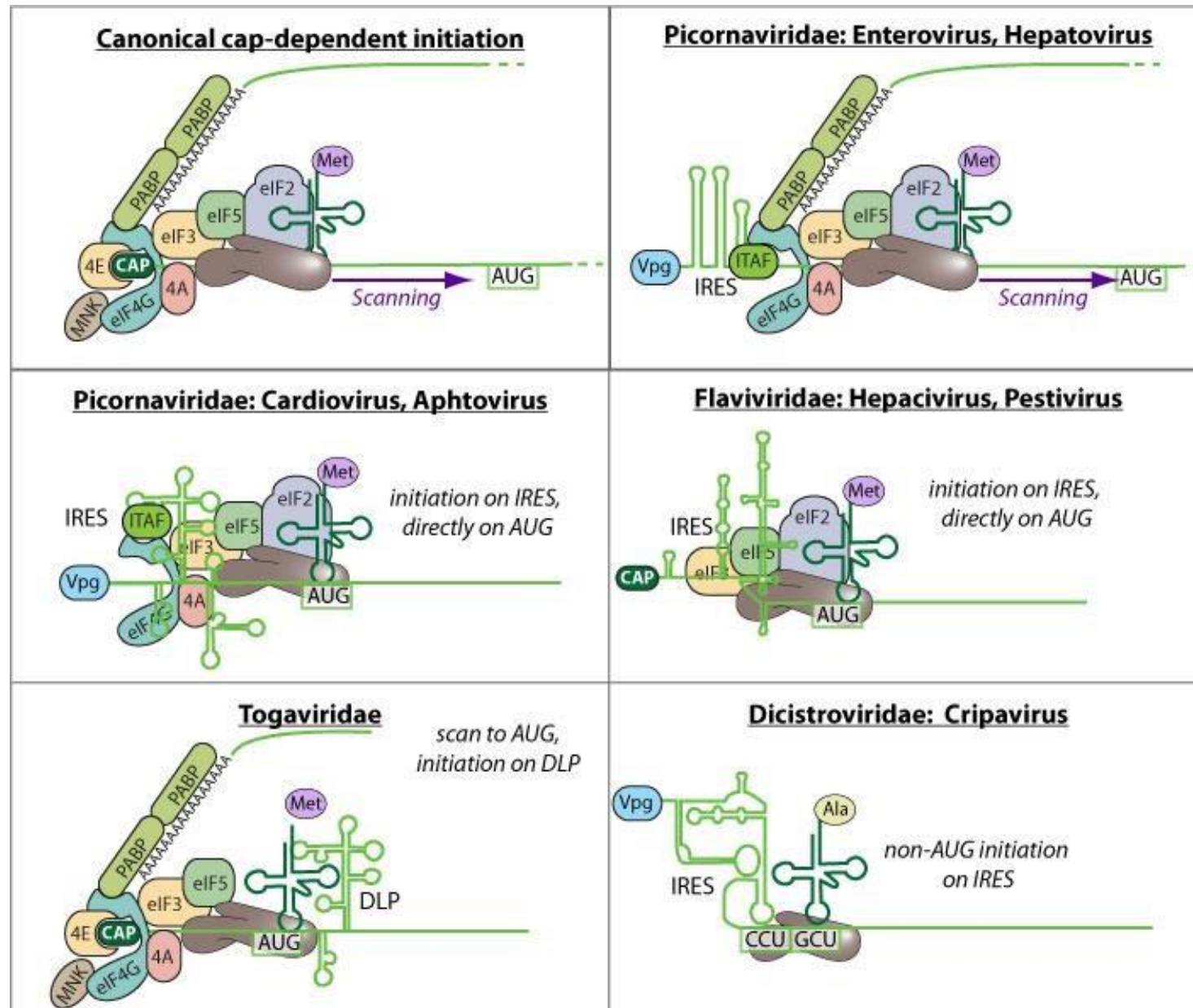
Ішкі инициация механизмі рибосомаларды бастапқы AUG-ге бағыттауға мүмкіндік беретін айқын қайталама құрылымы бар мРНҚ аймағының IRES (Internal Ribosomal Entry Site) элементтері арқылы жүзеге асырылады. • Барлық мРНҚ-ның 10–15% КЭП-тәуелсіз трансляциялауға қабілетті

		<b>IRESite: The database of experimentally verified IRES structures</b>							
<a href="#">Home</a>	<a href="#">Browse</a>	<a href="#">Search</a>	<a href="#">Documentation</a>	<a href="#">Literature</a>	<a href="#">Annotated plasmid flatfiles</a>	<a href="#">Data submission</a>	<a href="#">About</a>	<a href="#">Login</a>	User: guest

The IRESite database presents information about the experimentally studied IRES (Internal Ribosome Entry Site) segments. IRES regions are known to attract eukaryotic ribosomal translation initiation complex and thus promote translation initiation independently of the presence of the commonly utilized 5'-terminal 7mG cap structure. It is not yet clear whether the activity could be attributed to a common sequence or to a common secondary structure present in them. Such IRES regions were found in a broad range of eukaryotic viruses and in some

- Вирус IRES - 44
- клеткалық IRES - 70
- ITAF факторы - 25

# Кәп-тәуелсіз эукариоттық инициация





# Кәп-тәуелсіз эукариоттық инициация

20 жыл ішінде көптеген IRES барлық эукариоттық патшалықтардың өкілдерінен әртүрлі мРНҚ-да табылды, БІРАҚ:

- рибосоманың ішкі орналасануының барлық учаскелерінің жұмыс істеуінің бірыңғай механизмі жоқ
- Барлық IRES үшін ортақ құрылым элементі (бастапқы, қосымша немесе үшінші) жоқ
- Тізбекте байқалатын гомология жоқ

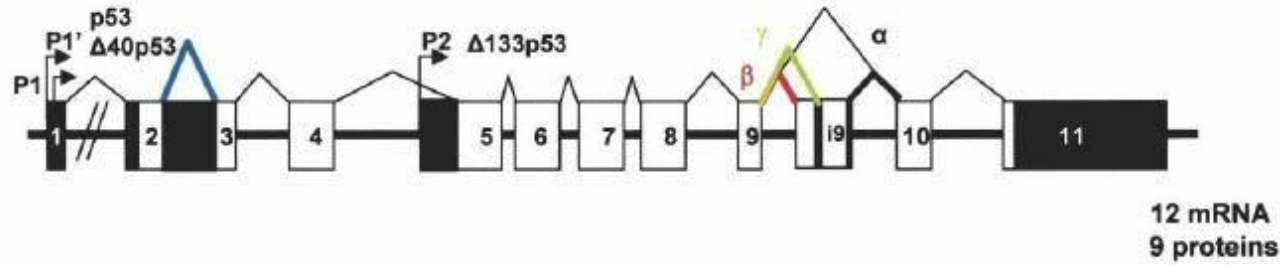
# Кәп-тәуелсіз эукариоттық инициация

IRES : жасушалық стресс жағдайында  
трансляция механизмі

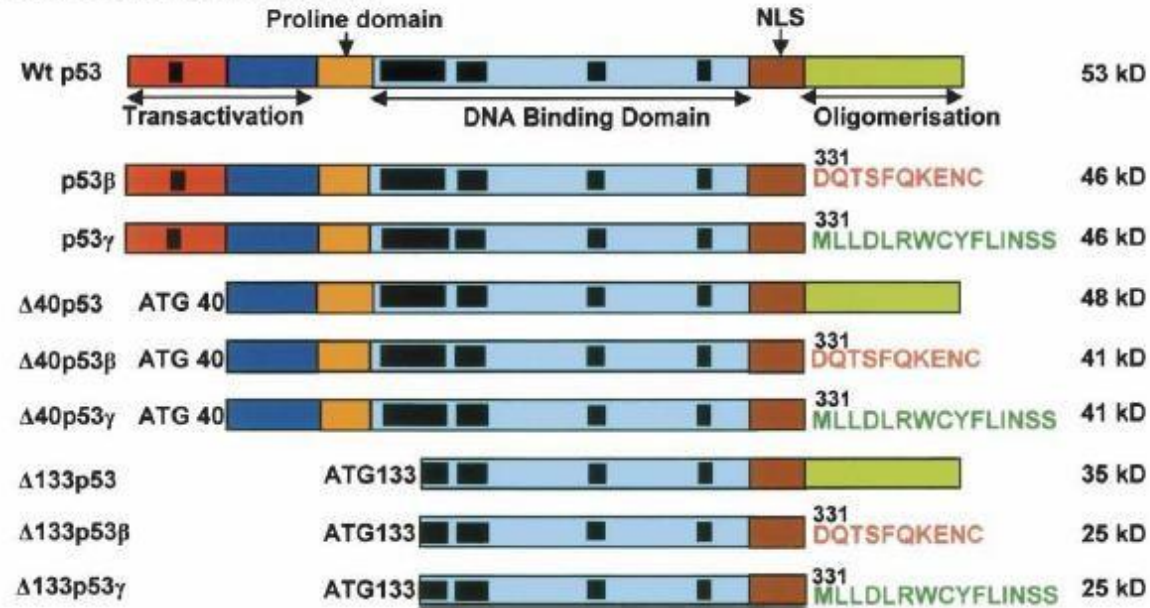
- Жасушалық стресс жасушаның ақуыздық құрамының өзгеруін тудырады және кәп-тәуелді инициацияны мүмкін емес етеді.
- Бұл өзгерістер ішкі инициация механизмін белсендіреді

# p53 генінің құрылымы және кодтау изоформалары

**A Human p53 gene structure**



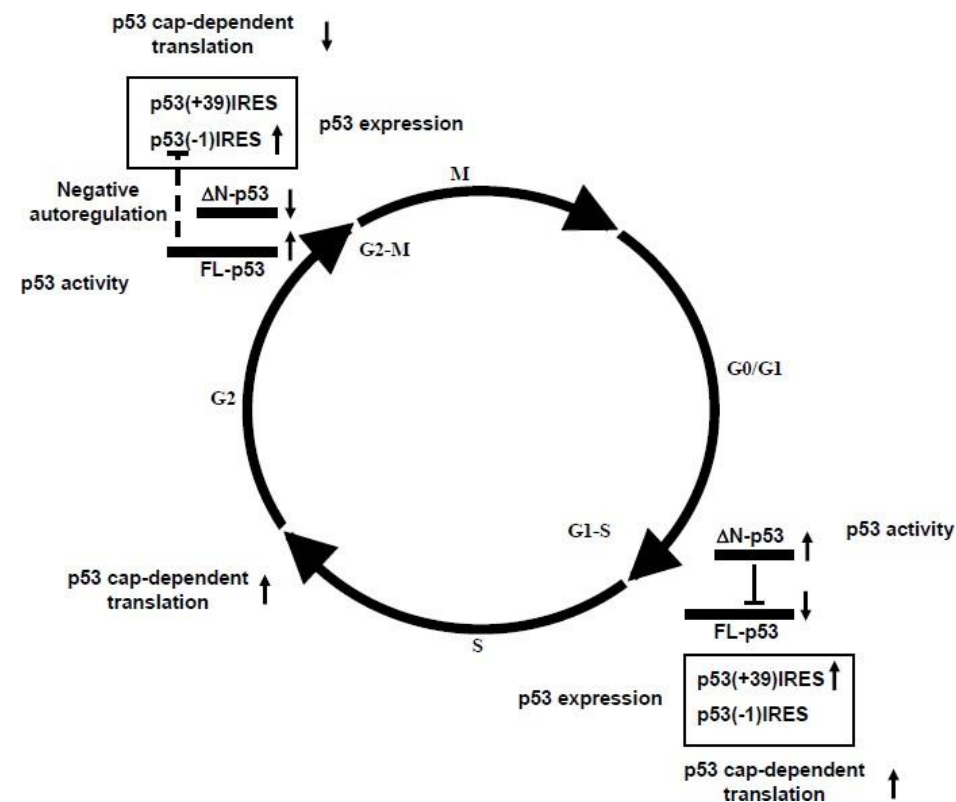
**B Putative p53 protein isoforms**



# Кәп-тәуелсіз эукариоттық инициация

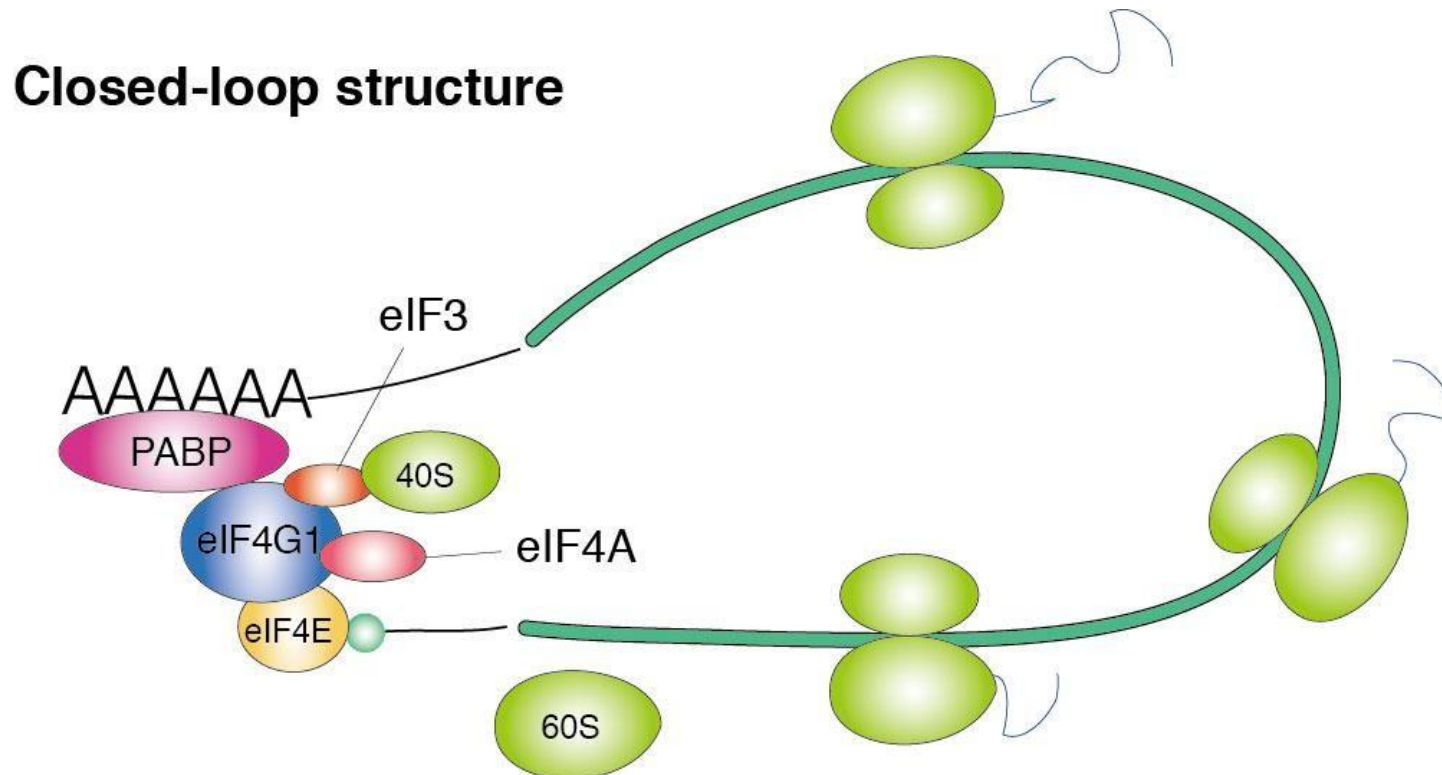
## TP53 мРНҚ-да 2 IRES элементі бар

1. (IRES-1) p53 ұзындығының трансляциясына жауап береді мРНҚ-ның 5' UTR-де орналасқан және G2-M кезінде белсенді.
2. (IRES+39) - p53/47 (40 а.о қысқа) трансляциясына жауап береді және G1-S кезінде белсенді



# Эукариоттарда трансляцияны реинициациялау

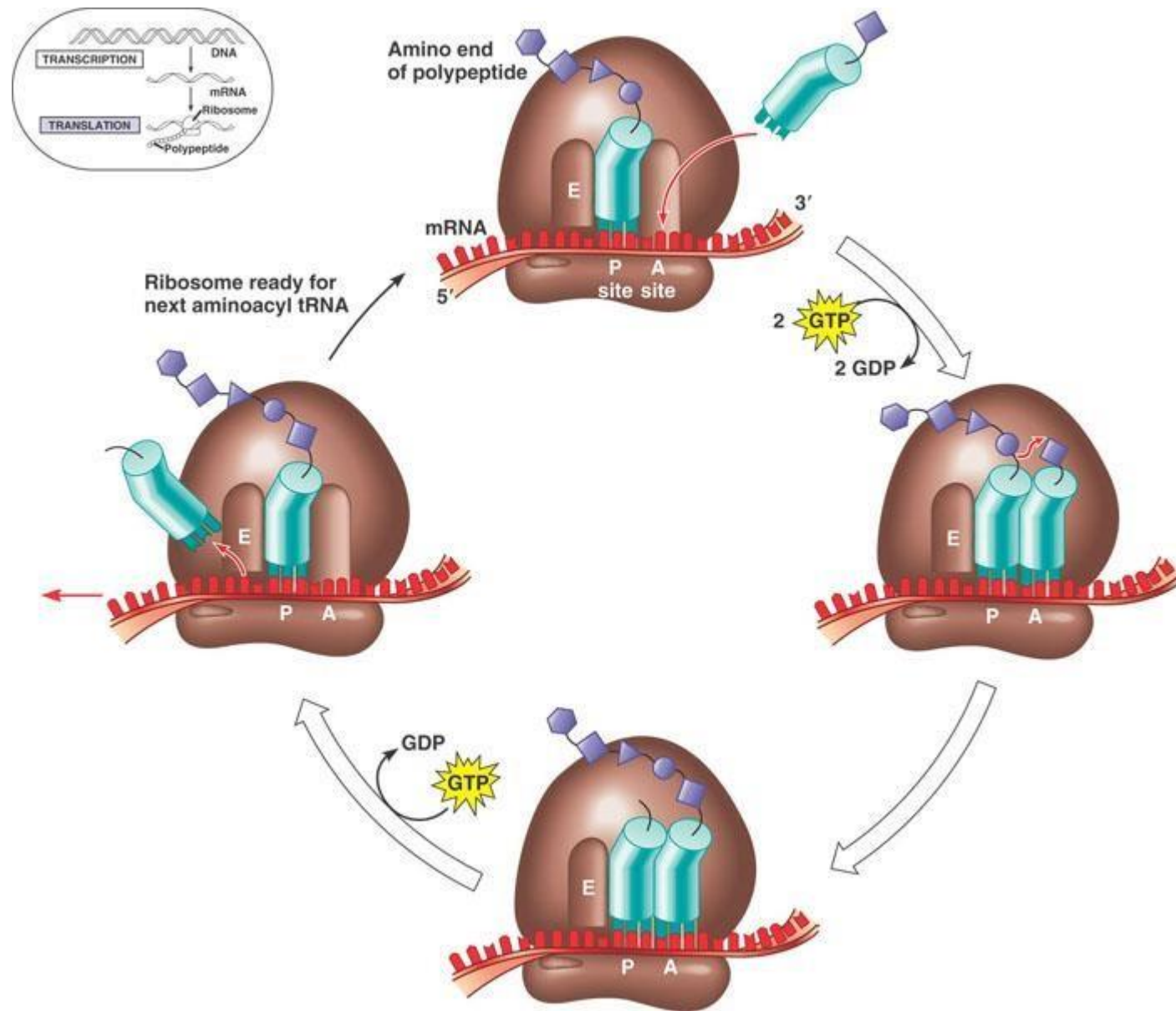
- Эукариоттарда трансляцияны қайта бастау трансляция аяқталғаннан кейін белок факторлары бар рибосома мРНҚ-дан ажырамай, мРНҚ-ның 3' 5' ұшынан секіріп, қайтадан инициацияны бастағанда мүмкін болады.
- Бұл цитоплазмадағы мРНҚ циклденуі, яғни арнайы белоктардың көмегімен старт және стоп кодондарының физикалық жақындауы арқасында мүмкін болады.



# Эукариоттық трансляциялық инициация

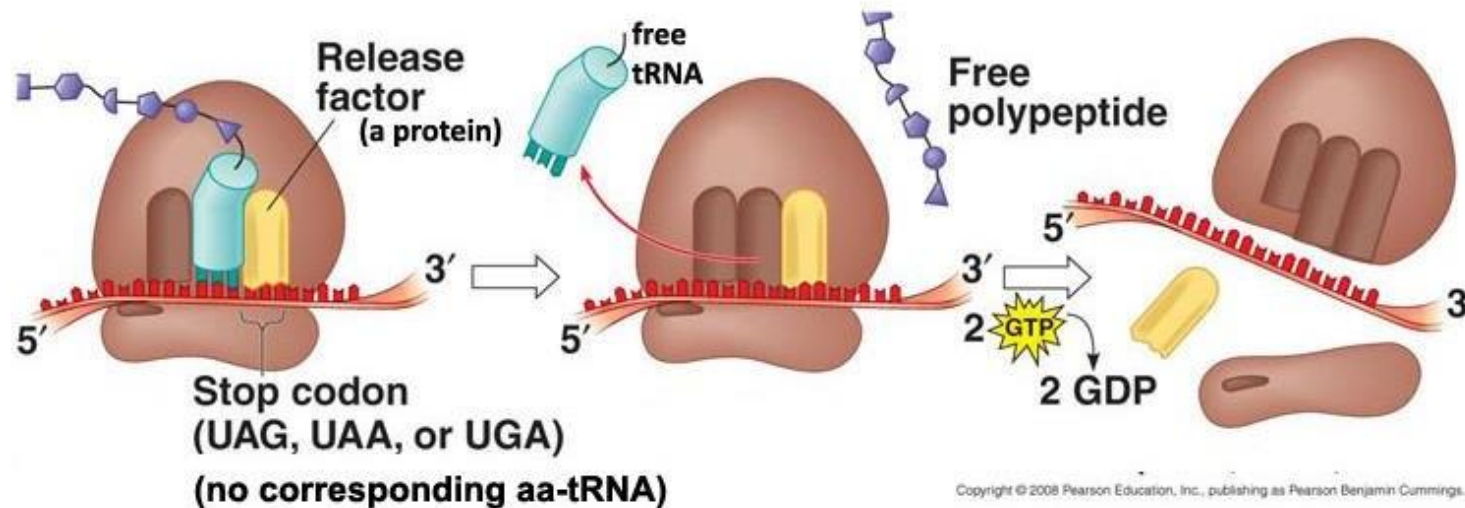
- Көптеген КЭП және поли(А) құйрығы бар эукариоттық мРНҚ-ның трансляциясы кем дегенде 13 жалпы эукариоттық инициация факторын (eIFs) қажет етеді.
- Трансляцияның инициациясы алдыңғы трансляция циклінің терминациясы кезінде рибосоманың диссоциациялануы мен mRNA бастапқы кодонында элонгацияға дайын рибосоманың жиналуы арасындағы оқиғаларды қамтиды.
- Инициация кезінде келесі негізгі оқиғалар орын алады:
  - рибосомалық суббірліктердің диссоциациясы және антиассоциациясы;
  - инициаторлық метионил-тРНҚ (Met-tRNA<sup>iMet</sup>) таңдау;
  - 5' кэпті байланыстыру, поли(А)құйрығын байланыстыру, сканерлеу;
  - дұрыс старт кодонын таңдау;
  - рибосомалық суббірліктердің старт кодондағы байланысы

# Эукариоттық трансляциялық элонгациясы



# Эукариоттардағы трансляциялық терминация

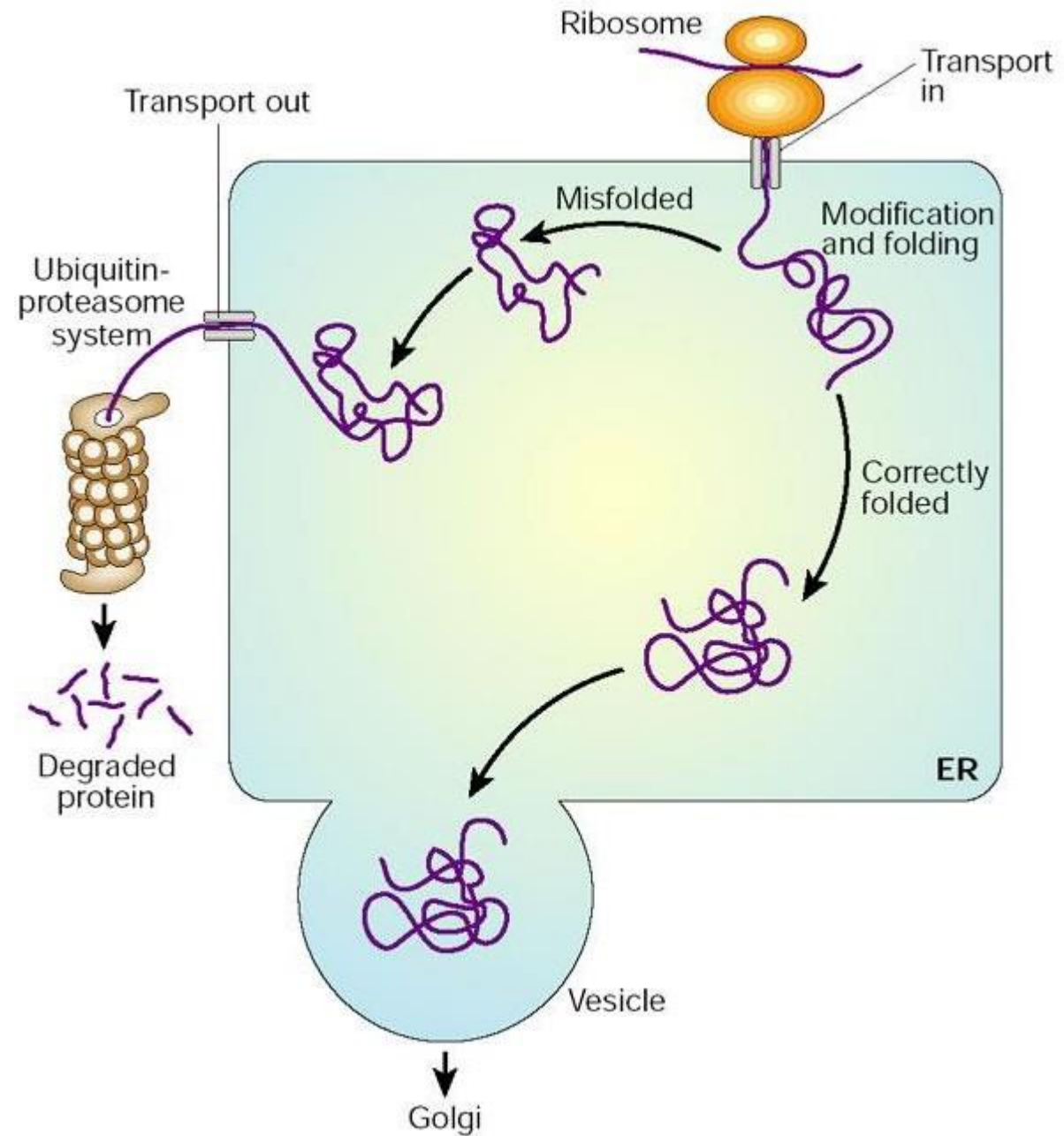
- Эукариоттарда бір ғана трансляцияны терминациялау факторы табылды - eRF, ол барлық үш терминал кодондарын «оқуға» қабілетті.
- Эукариоттардағы трансляцияның аяқталуының тиімділігіне терминациялық кодондар маңындағы нуклеотидтердің тізбегі және синтезделіп жатқан полипептидтік тізбектің C-терминал бөлігінің құрылымы әсер етеді.
- Ашытқыларда пайдалану жиілігіне қарай стоп кодондарды келесі ретпен орналастыруға болады: UAA(53%) > UGA(27%) > UAG(20%).
- Егер ек белсенді экспрессияланған гендерді талдасақ, онда UAA қолдану жиілігі одан да жоғары - 87%.





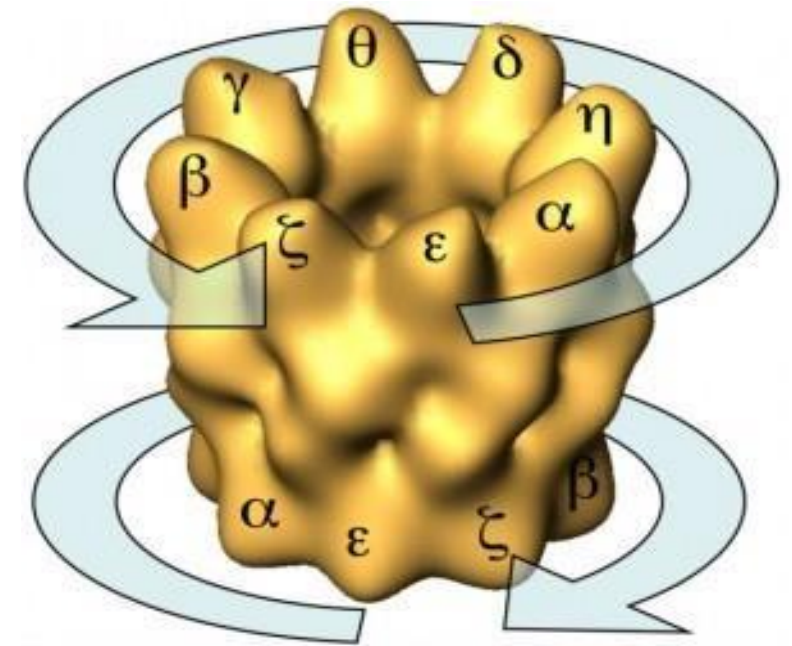
# Белок фолдингі

Белоктың фолдингі (белоктың қатпарлануы, ағылшын тілінен аударғанда) полипептидтік тізбектің бірегей нативті кеңістіктік құрылымға (үшінші реттік құрылым деп аталады) өздігінен қатпарлану процесі.



# Белок фолдингі

- Фолдингке **шаперон ақуыздары** қатысады. Жаңадан синтезделген белоктардың көпшілігі шаперондарсыз қатпарлануы мүмкін
- **Шаперондар** - негізгі қызметі зақымдалған ақуыздардың дұрыс үшінші реттік құрылымын қалпына келтіру, сондай-ақ ақуыз кешендерінің түзілуі және диссоциациялануы болып табылатын белоктар класы.
- Көптеген шаперондар жылу соққысының ақуыздары болып табылады, яғни экспрессиясы температураның жоғарылауына немесе басқа жасушалық стресске жауап ретінде басталатын белоктар.



- Жылу соққы ақуыздары - Hsp (heat shock protein).
- Жылу белок фолдингіне қатты әсер етеді, ал кейбір шаперондар белоктардың қате фолдингінен болатын потенциалды зиянды түзетуге қатысады.
- Басқа шаперондар рибосомадан енді «ажыратылған» сәтте жаңадан синтезделген белоктардың фолдингіне қатысады.

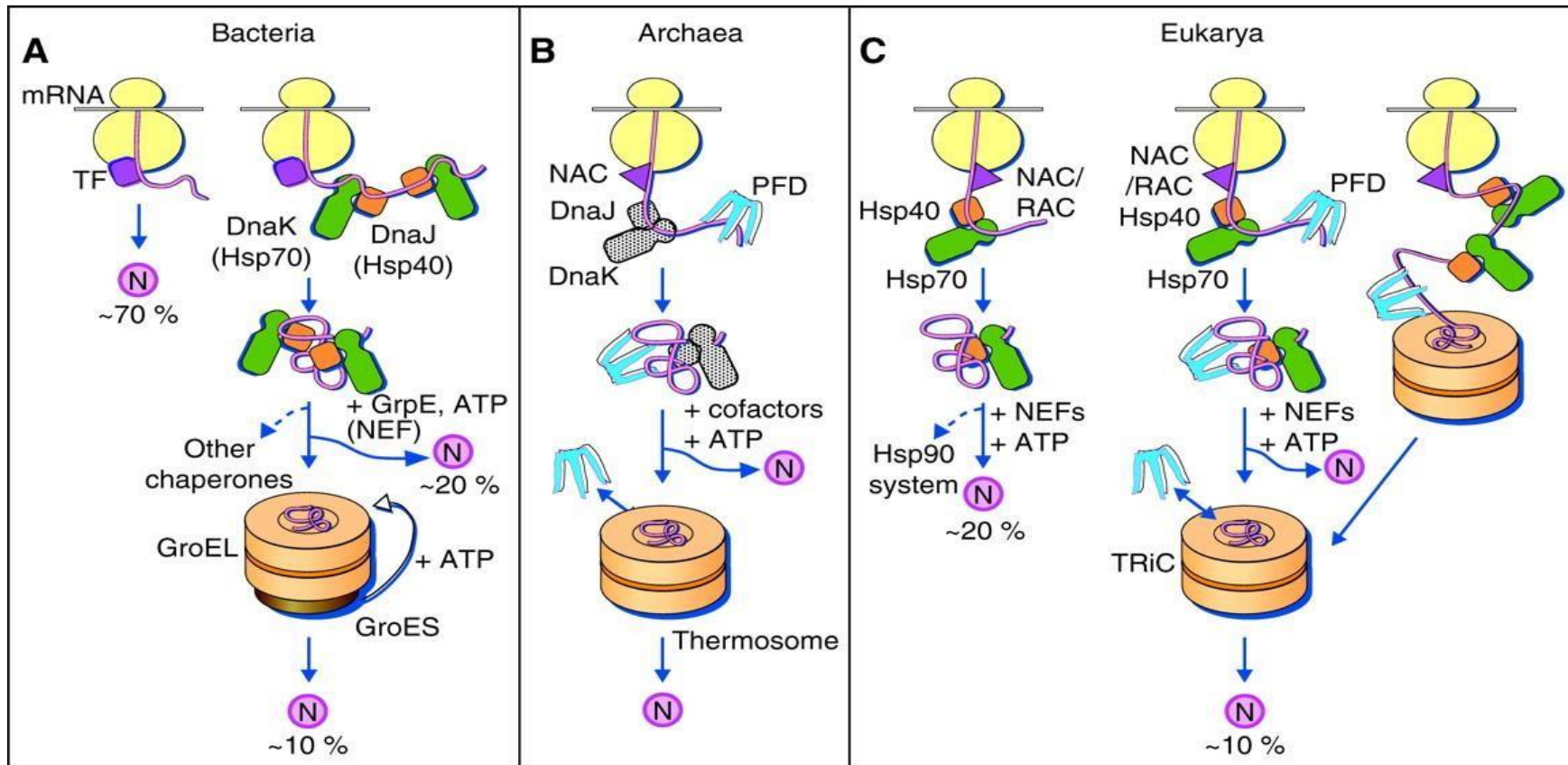
# Белок фолдингі

- Белоктардың фолдингі эндоплазмалық ретикулумда жүреді
- Оның құрамында шаперондар мен фолдингке қажетті ферменттер бар.
- Сондай-ақ белок фолдингі кезінде дисульфидті байланыстың түзілуін жеңілдететін бірегей тотығу потенциалы бар.
- Эндоплазмалық ретикулумнан дұрыс бүктелген белоктар арнайы тағайындалған жерге жіберіледі.
- Қате бүктелген ақуыздар эндоплазмалық ретикулуммен байланысты деградацияға ұшырайды



# Белок фолдингі

- Hsp70 жасушалық белок фолдингі мен рефолдингіде эукариоттардағы шаперондар ішінде басты рөл атқарады.
- Олардың жұмысы үшін белоктардың екінші класының - Hsp40 болуы шарт.
- Шаперониндер — шаперондармен «жұптасып» жұмыс істейтін белоктар – полипептидтік тізбектің дұрыс қатпарлануын қамтамасыз етеді, өзінің ішкі қуысында рибосомадан жаңа түскен белокты уақытша «оқшаулайды».
- Бактериялық шаперониндер жеке «қақпақпен» «жабылады», ал эукариоттық шаперониндерде «кіріктірілген» «ысырма» болады.



# Белок деградациясы



The Nobel Prize in Chemistry 2004  
Aaron Ciechanover, Avram Hershko, Irwin Rose

<b>The Nobel Prize in Chemistry 2004</b>	▼
Nobel Prize Award Ceremony	▼
Aaron Ciechanover	▼
Avram Hershko	▼
Irwin Rose	▼

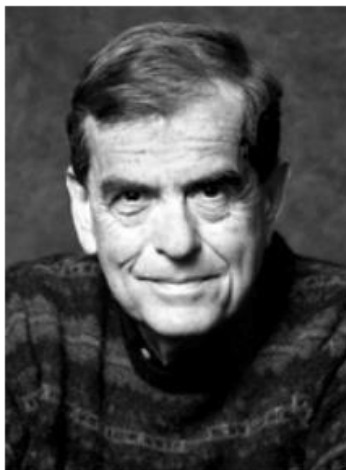


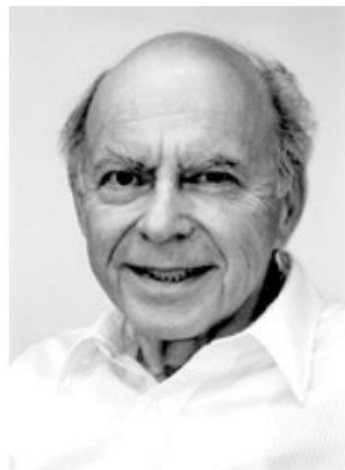
Photo: D. Porges

Aaron Ciechanover



Photo: D. Porges

Avram Hershko



Irwin Rose

The Nobel Prize in Chemistry 2004 was awarded jointly to Aaron Ciechanover, Avram Hershko and Irwin Rose "for the discovery of ubiquitin-mediated protein degradation".

**Белок деградациясы убиквитин-протеасомалық жолмен жүреді**

# Белок деградациясы

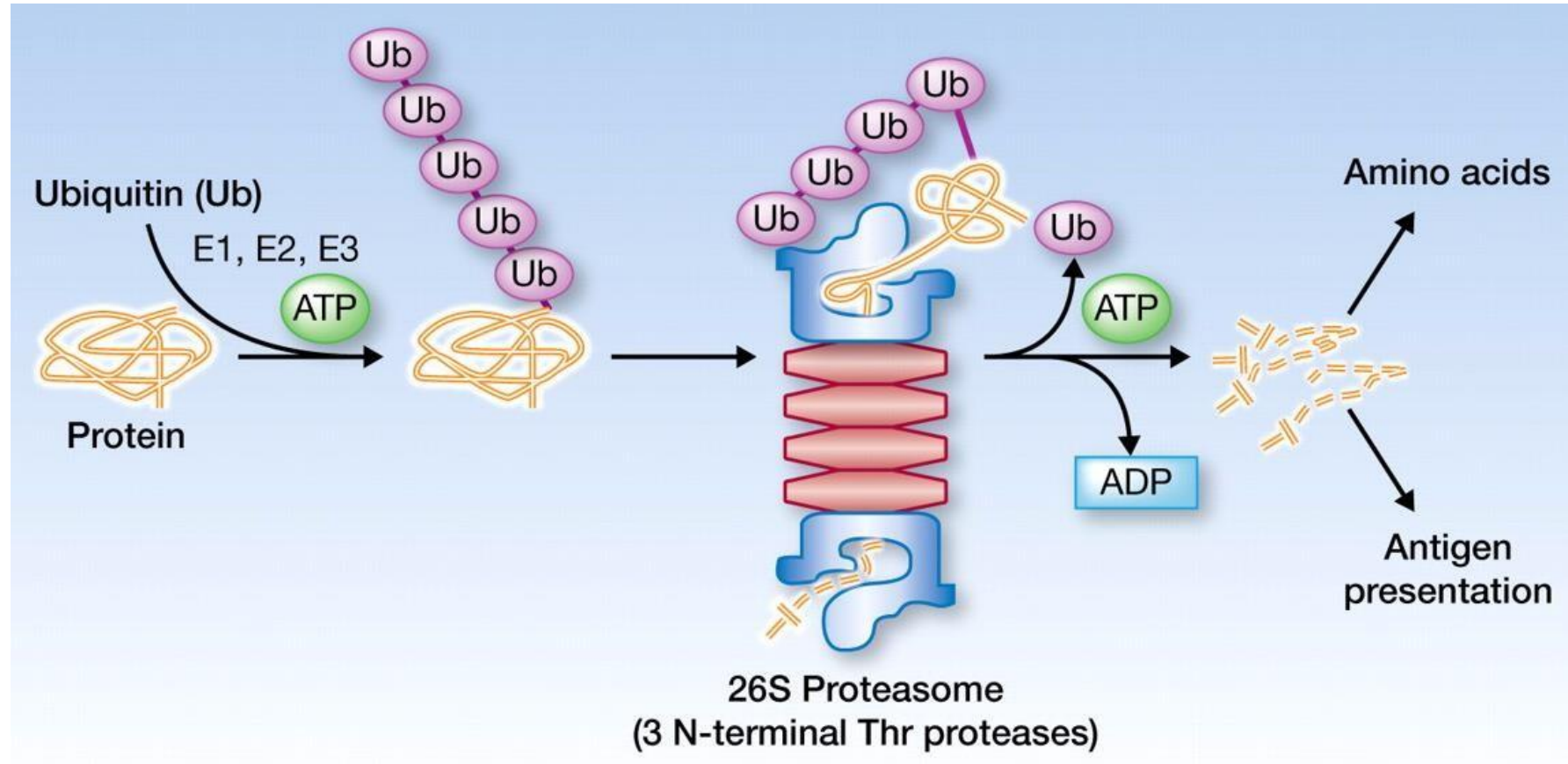
**Убикитин** (ағылш. ubiquitous — барлық жерде) — шағын консервативті ақуыз

**Убикитинация** — мақсатты белоктардың бүйірлік амин топтарына ковалентті байланыс арқылы бір немесе бірнеше убикитин мономерлерінің убикитин-лигаза ферменттері арқылы трансляциядан кейінгі қосылуы.



- Убикитиннің қосылуы ақуыздардың жасушаішілік локализациясы мен қызметіне әсер етеді.
- Ең бірінші ашылым 26S протеасома арқылы мультиубиквиттік тізбектермен белгіленген белоктардың ыдырауы болды.
- Убикитинилдену жүйесі жасушалардың көбеюі, дамуы мен дифференциациясы, стресс пен патогендерге жауап беру және ДНҚ репарациясы сияқты маңызды процестерге қатысады.

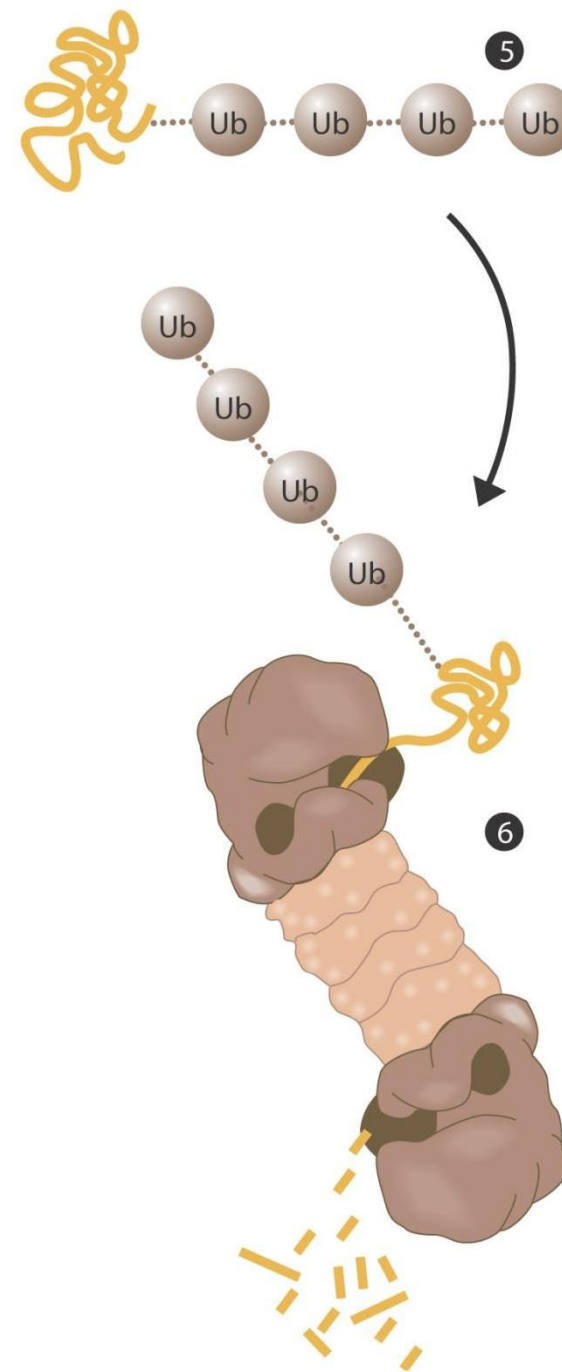
# Белок деградациясы



- Убиквитин лигазаларын (E1, E2, E3) пайдаланып, 4 немесе одан да көп убиквитин молекуласының тізбегі мақсатты ақуыздағы бір немесе бірнеше лизин қалдықтарына бекітіледі.
- Бұл убиквитинленген протеин протеасомаға тасымалданады, онда убиквитин тізбегі жойылады, бұл мақсатты ақуыздың ашылуына (unfold) және протеасоманың ішкі бөлігіне жүктелуіне мүмкіндік береді, онда ол үш треонин протеазалары арқылы ыдырайды.

# Белок деградациясы

- Протеасома (ағылшынша protease – протеиназа және латынша soma – дене) – эукариоттардың, архейлердің және кейбір бактериялардың жасушаларында болатын мультисуббірлікті протеаза.
- Эукариоттарда протеасомалар цитозолда және ядрода болады.
- Протеасомдар седиментация коэффициенттері 20S және 26S болатын жеке бөлшектер ретінде оқшауланған.
- Адам жасушасында шамамен 30 000 протеасома бар. Олар ақуыздарды 7-9 аминқышқылдарынан тұратын пептидтерге бейспецификалық түрде бөледі.

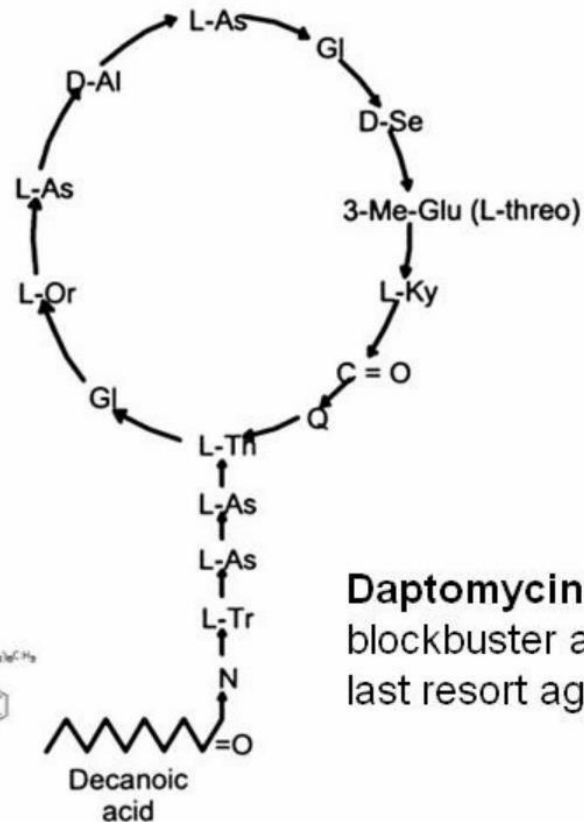




# Пептидтердің рибосомалық емес синтезі

## Cycloproteins

Over 50% of antibacterial and anticancer drugs are derived from natural products (many of them are cyclic and branch-cyclic peptides)



**Daptomycin:**  
blockbuster antibiotic of last resort against MRSA

Рибосомалық емес пептидтер (NRPs) өте тиімді:  
Антибиотиктер  
Иммуносупрессанттар  
Вирусқа қарсы агенттер  
Қатерлі ісікке қарсы агенттер

# Рибосомалық емес пептидтер

Рибосомалық емес пептидтер – микроорганизмдер – бактериялар мен саңырауқұлақтар синтездейтін екіншіреттік пептидті метаболиттер класы. Рибосомалық емес пептидтер комменсальды бактериялары бар жоғары сатыдағы организмдерде де кездеседі.

Рибосомаларда түзілмейтін бірқатар пептидтердің өте ерекше тобы рибосомалық емес пептидтер деп аталады. Рибосомалық емес пептидтер рибосомалық емес пептидтік синтетазалармен синтезделеді, олар рибосомалардан айырмашылығы мРНҚ-ны қажет етпейді. Рибосомалық емес пептидтердің әрбір синтетазасы пептидтің бір түрін ғана синтездей алады. Рибосомалық емес пептидтер көбінесе циклдік немесе тармақталған құрылымдарға ие және құрамында протеиногенді емес амин қышқылдары, соның ішінде келесі модификациялары бар D-амин қышқылдары бар : N-метил және N-формил топтары, гликозилденген, ацилденген, галогенленген немесе гидроксилденген. Аминқышқылдарының циклденуі көбінесе пептидтік қаңқада оксазолиндер мен тиазолиндердің түзілуі арқылы жүзеге асады. Дегидратация сериннің қалдықтарында жүзеге асырылады, нәтижесінде дегидроаланин түзіледі. Рибосомалық емес пептидтер көбінесе тізбекпен байланысқан, циклденген немесе тіпті тармақталған бірдей тізбектердің димерлері немесе тримерлері болып табылады. Рибосомалық емес пептидтер биологиялық белсенділіктің өте кең ауқымы және әртүрлі емдік қасиеттері бар табиғи қосылыстардың өте алуан түрлі отбасы болып табылады. Рибосомалық емес пептидтер көбінесе антибиотиктер, цитостатиктер және иммуносупрессанттар болып табылады және коммерциялық препараттар болып табылады.

# Пептидтердің рибосомалық емес синтезі

Ribosomal peptide synthesis



DNA

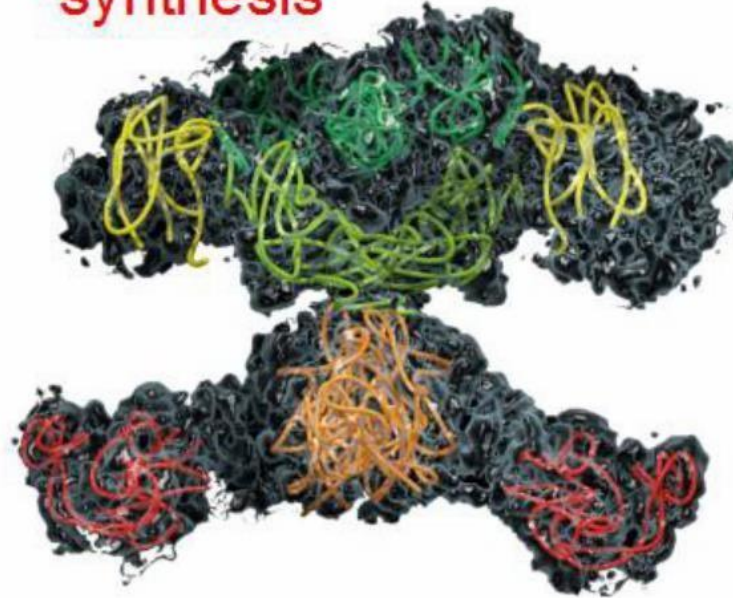


RNA

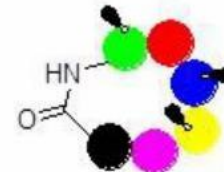


Protein/peptide

Non- Ribosomal peptide synthesis



Modular protein



Complex peptides