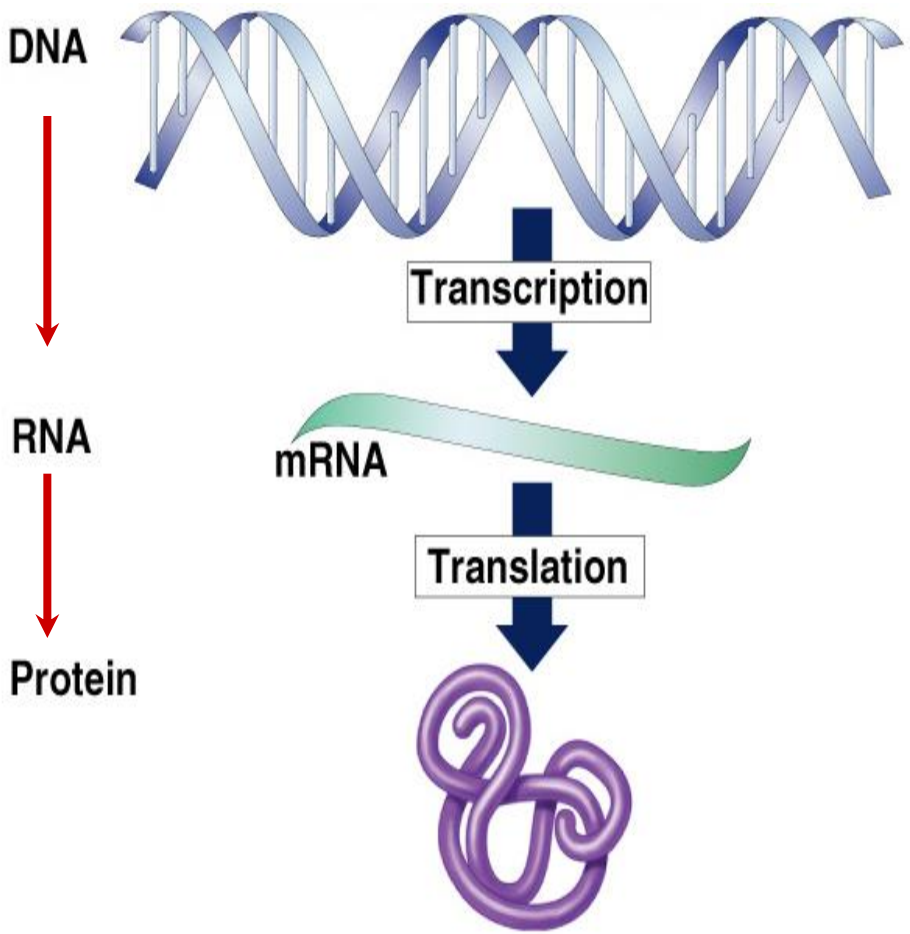

بسم الله الرحمن الرحيم



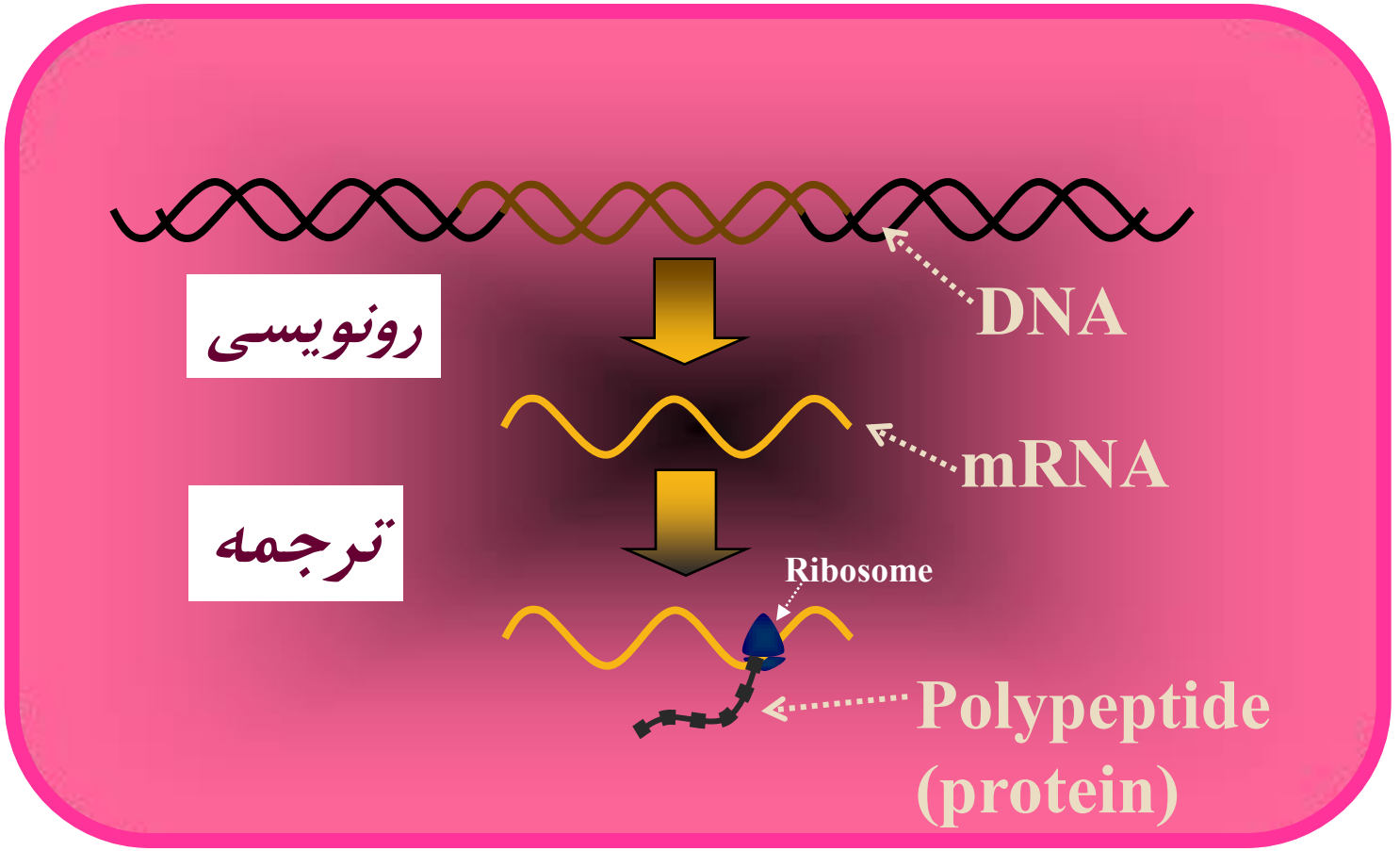
ترجمه mRNA

دکتر آسیه صادقی

دانشکده علوم پزشکی کرمان

گروه بیوشیمی

ترجمه



تبدیل اطلاعات نوکلئوتیدی به اطلاعات اسیدآمینه ای را ترجمه گویند

متابولیسم پروتئین

- سنتز پروتئین (ترجمه mRNA بالغ)
- تغییرات بعد از ترجمه
- هدفمندسازی پروتئین
- تخریب پروتئین

نیازمندیهای سنتز پروتئین

- اطلاعات تعیین کننده تعداد، نوع و ترتیب اسیدهای آمینه
- فرهنگ توارث: بر اساس آن توالی نوکلئوتیدی به توالی اسیدآمینه ای ترجمه می شود
- مترجم یا آداپتور
- کارخانه سنتز پروتئین
- آنزیمها، فاکتورهای پروتئینی، سوبستراها و کوفاکتورها

فرهنگ توارث

فرهنگ توارث

رمز ژنتیکی همگانی (تقریبا)

1st	2nd U		2nd C		2nd A		2nd G	
U	UUU	phe	UCU	ser	UAU	tyr	UGU	cys
	UUC	phe	UCC	ser	UAC	tyr	UGC	cys
	UUA	leu	UCA	ser	UAA	stop	UGA	stop
	UUG	leu	UCG	ser	UAG	stop	UGG	trp
C	CUU	leu	CCU	pro	CAU	his	CGU	arg
	CUC	leu	CCC	pro	CAC	his	CGC	arg
	CUA	leu	CCA	pro	CAA	gln	CGA	arg
	CUG	leu	CCG	pro	CAG	gln	CGG	arg
A	AUU	ile	ACU	thr	AAU	asn	AGU	ser
	AUC	ile	ACC	thr	AAC	asn	AGC	ser
	AUA	ile	ACA	thr	AAA	lys	AGA	arg
	AUG	met	ACG	thr	AAG	lys	AGG	arg
G	GUU	val	GCU	ala	GAU	asp	GGU	gly
	GUC	val	GCC	ala	GAC	asp	GGC	gly
	GUA	val	GCA	ala	GAA	glu	GGA	gly
	GUG	val	GCG	ala	GAG	glu	GGG	gly

الگو: کدونها بر روی mRNA

۱- خوانش mRNA همیشه در جهت ´۵ به ´۳ هست

۲- اطلاعات ترجمه به صورت رمز یا کدن بر روی mRNA می باشد.

۳- از آنجاییکه mRNA از چهار باز A، C، U و G تشکیل شده است تعداد رمزها ۶۴ ($۴^۳$) می باشد.

۴- ۶۱ رمز مختص ۲۰ اسید آمینه می باشد (کدون های معنی) و سه رمز باقیمانده (UAA، UAG و UGA) کدون های توقف (کدون های بی معنی) می باشند.

۵- کدون آغازی AUG می باشد که متیونین را رمز می کند.

رمزها:

سه تایی می باشد

همگانی هستند

مشخص و واضح هستند (عدم ابهام)

همپشانی ندارند(synonym)

دارای ویژگی تحلیل روندگی یا انحطاط (Degenerative) می باشند

لوسین

The degeneracy

- UUA
- UUG
- CUU
- CUC
- CUA
- CUG

موارد استثناء مفهوم رمزهای توارث

کدون	مفهوم معمول	مفهوم غیرمعمول	در داخل
AUA	ایزولوسین	متیونین	میتوکندری
AGA	آرژینین	خاتمه	میتوکندری
AGG	آرژینین	خاتمه	میتوکندری
UGA	خاتمه	تریپتوفان	میتوکندری و مایکوپلاسما
UAA	خاتمه	گلوتامات	برخی مژکداران
UAG	خاتمه	گلوتامات	برخی مژکداران

انحطاط (تعداد تکراری) کدون ها (Degeneracy)، نقش نوکلئوتید سوم

کاهش ویژگی نوکلئوتید سوم کدون را **انحطاط باز سوم** گویند که علت اصلی انحطاط کد ژنتیکی است.

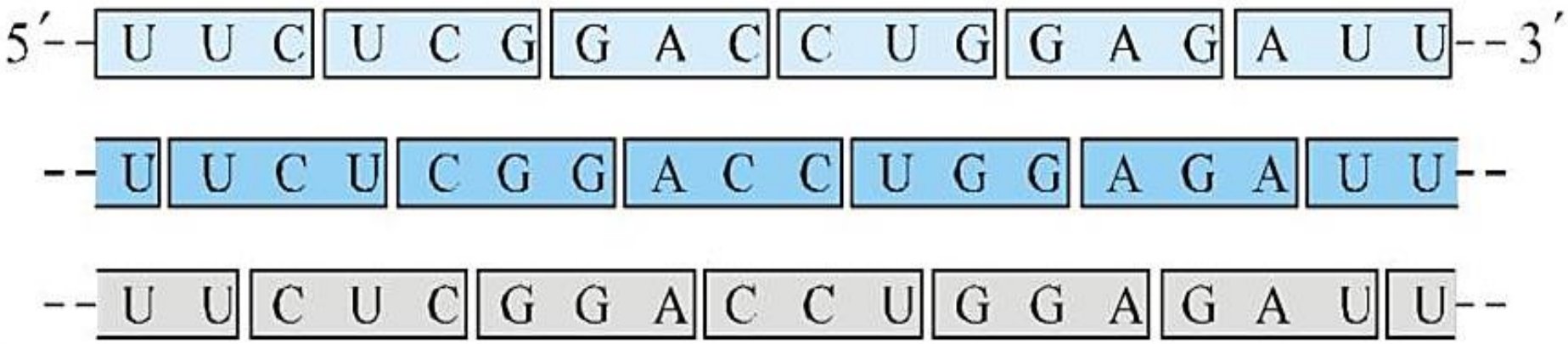
تعداد کدون	اسید آمینه
شش	سرین، لوسین و آرژینین
چهار	گلیسین، آلانین، والین، پرولین و ترئونین
سه	ایزولوسین
دو	گلوتامات، گلوتامین، آسپارتات، آسپاراژین، فنیل‌آلانین، تیروزین، هیستیدین، سیستئین و لیزین
یک	متیونین و تریپتوفان

فرهنگ توارث

رمز ژنتیکی همگانی (تقریبا)

1st	2nd U		2nd C		2nd A		2nd G	
U	UUU	phe	UCU	ser	UAU	tyr	UGU	cys
	UUC	phe	UCC	ser	UAC	tyr	UGC	cys
	UUA	leu	UCA	ser	UAA	stop	UGA	stop
	UUG	leu	UCG	ser	UAG	stop	UGG	trp
C	CUU	leu	CCU	pro	CAU	his	CGU	arg
	CUC	leu	CCC	pro	CAC	his	CGC	arg
	CUA	leu	CCA	pro	CAA	gln	CGA	arg
	CUG	leu	CCG	pro	CAG	gln	CGG	arg
A	AUU	ile	ACU	thr	AAU	asn	AGU	ser
	AUC	ile	ACC	thr	AAC	asn	AGC	ser
	AUA	ile	ACA	thr	AAA	lys	AGA	arg
	AUG	met	ACG	thr	AAG	lys	AGG	arg
G	GUU	val	GCU	ala	GAU	asp	GGU	gly
	GUC	val	GCC	ala	GAC	asp	GGC	gly
	GUA	val	GCA	ala	GAA	glu	GGA	gly
	GUG	val	GCG	ala	GAG	glu	GGG	gly

عدم وجود فاصله و عدم همپوشانی کدون ها



در یک توالی نوکلئوتیدی که کدون های آن غیر همپوشان می باشند **یک** قالب خواندن انتخاب می شود.

الگو: قالب باز خوانش mRNA

یک مولکول mRNA به سه روش متفاوت خوانده می شود (قالب های خواندن)

mRNA 5’--------AUGCAUGCAUGCGGU----------3’

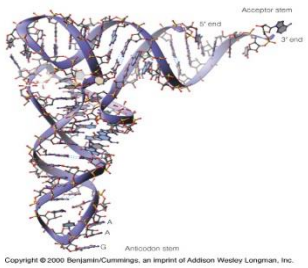
5’--------AUA GAU CCA UGA GGU----------3’ Blocked

5’-------A UAG AUC CAU GAG GU----------3’ Blocked

5’--------AU AGA UCC AUG AGG U----------3’ ORF(Open reading frame)

- فقط یکی از قالب های خواندن صحیح می باشد و پروتئین صحیحی را تولید می کند.
- ترجمه از قالب خواندن صحیح نیاز به انتخاب دارد.

مترجم یا آداپتور: tRNA



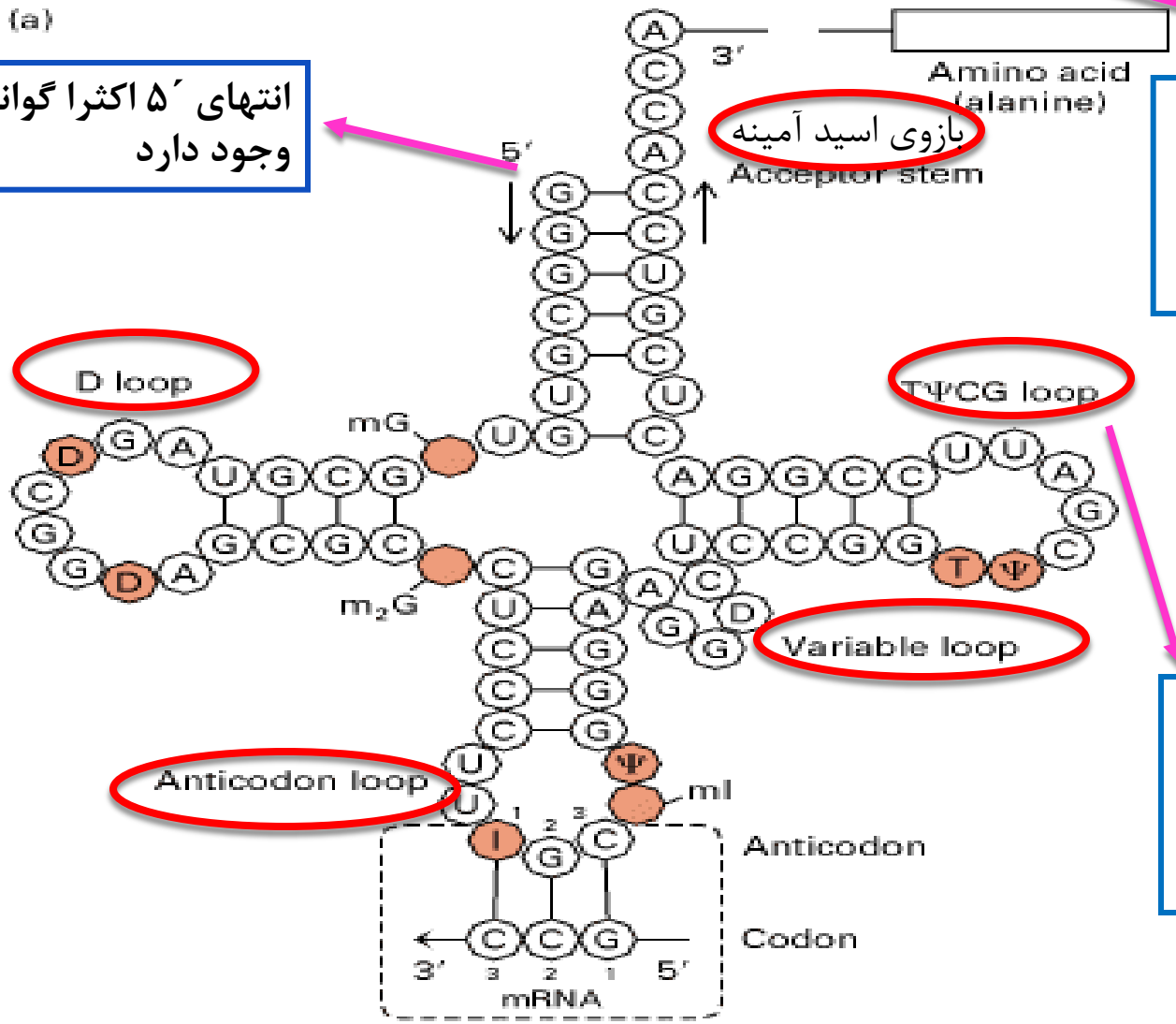
tRNA

- انواع
  - تقریبا ۳۰
- ژنها
  - تکرار شونده
- بازوها
  - DHU
  - Anti codon
  - TΨC
  - Aa
- بارگیری
  - توسط آمینوآسیل- tRNA سنتتاز بارگیری صورت می گیرد
- ساختار
  - سوم
    - Lشکل
  - دوم
    - برگ شبدری
  - اول
- عملکرد
  - حامل اسیدآمینه

نوکلئوتیدهای تغییر یافته در tRNA

- D: دی هیدرو اوریدین
- Ψ: پسودو اوریدین
- T: تیمین
- I: اینوزین

مولکول tRNA
ساختار دوم: برگ شبدری

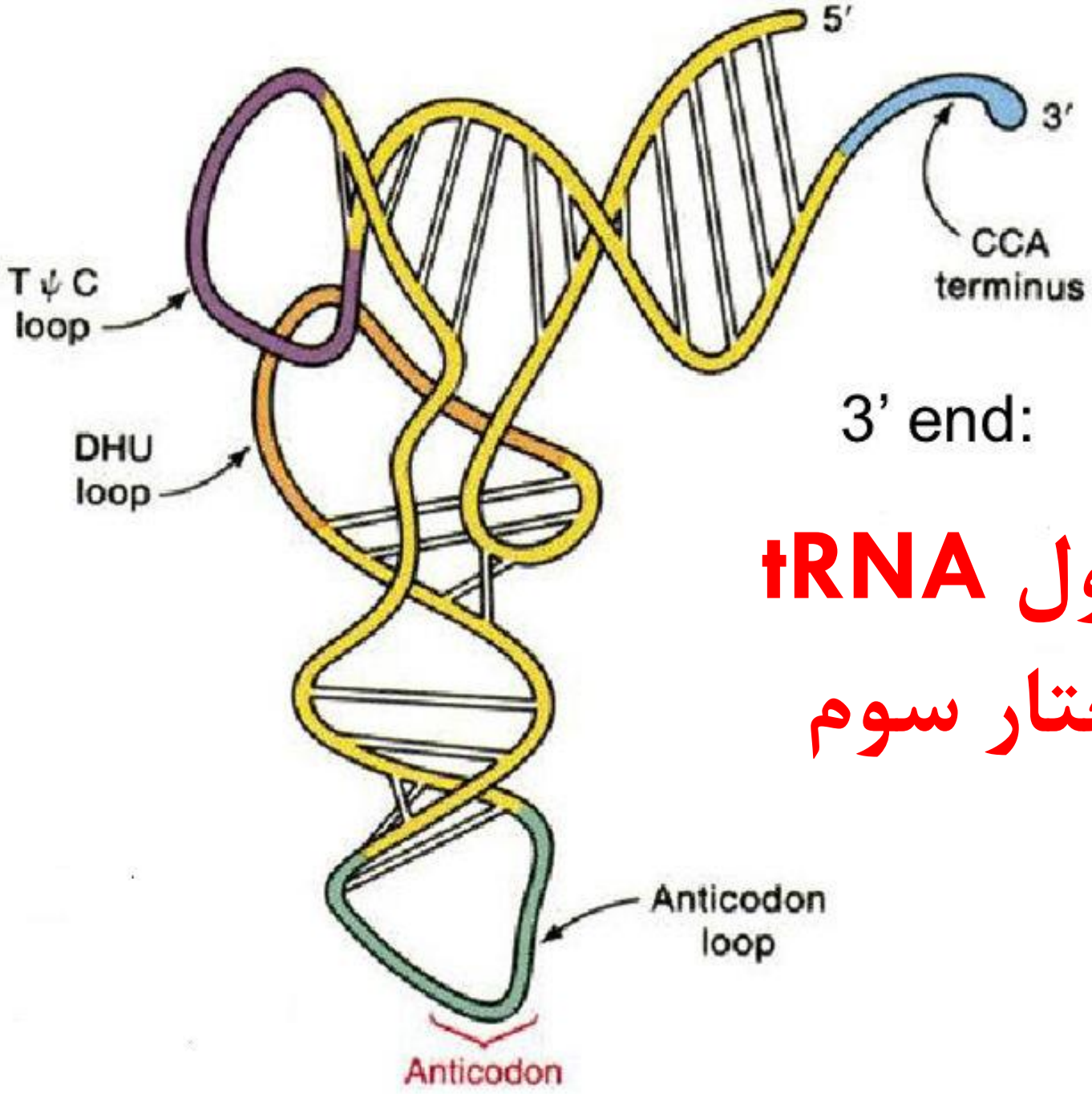


انتهای ´۵ اکثرا گوانین فسفریله وجود دارد

بازوی اسید آمینه

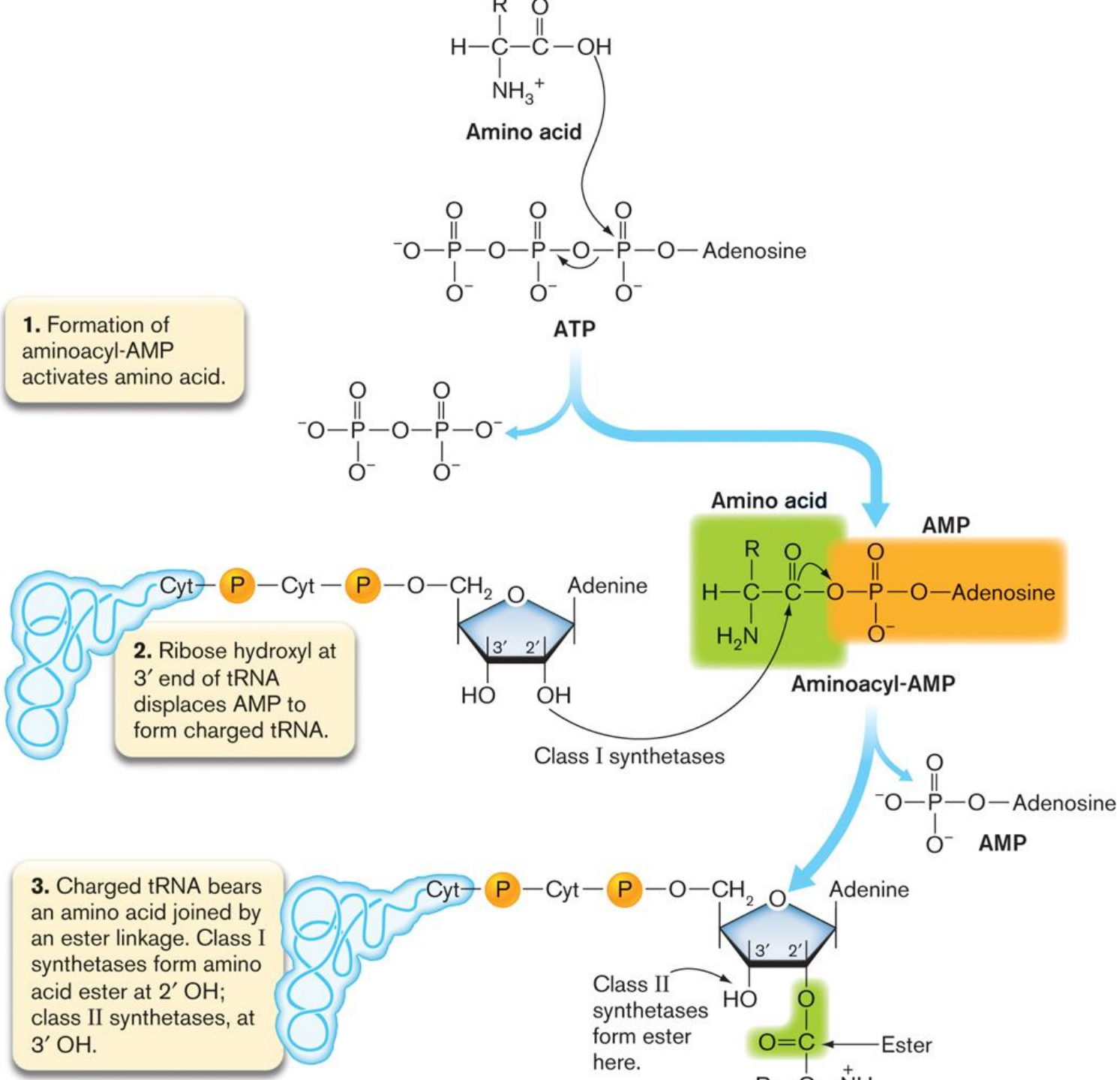
اسیدآمینه از طریق گروه کربوکسیل خود با ´۳ هیدروکسیل آدنیلات پیوند استری می دهد

بازوی TψCG با rRNA زیرواحد بزرگ ریبوزوم تعامل دارد



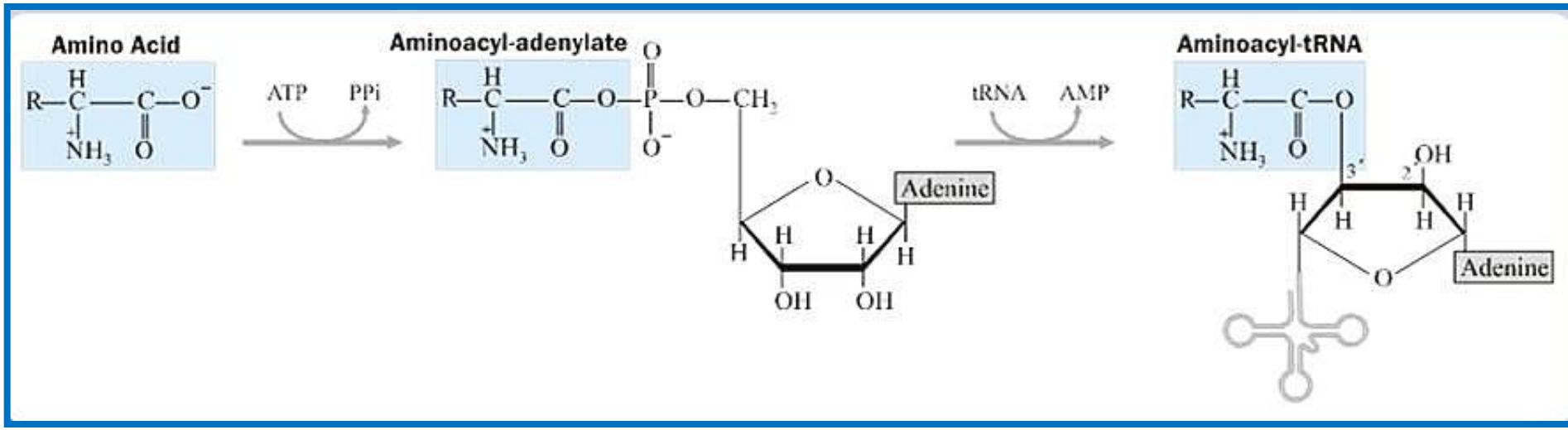
3’ end:

مولکول tRNA
ساختار سوم


Amino acid
Adenosine
ATP
1. Formation of aminoacyl-AMP activates amino acid.
Amino acid
AMP
Cyt
Adenine
2. Ribose hydroxyl at 3′ end of tRNA displaces AMP to form charged tRNA.
Aminoacyl-AMP
Class I synthetases
AMP
3. Charged tRNA bears an amino acid joined by an ester linkage. Class I synthetases form amino acid ester at 2′ OH; class II synthetases, at 3′ OH.
Class II synthetases form ester here.
Ester

شارژ tRNA به کمک آمینوآسیل tRNA سنتتاز اختصاصی

هر سنتتاز مسئول شناسایی یک اسیدآمینه و مولکول یا مولکولهای tRNA مربوط به آن می باشد



برای تولید هر مولکول آمینوآسیل tRNA معادل مصرف دو پیوند پر انرژی نیاز هست

انواع مولکولهای tRNA

- tRNA شارژ شده (آمینوآسیل – tRNA) و tRNA دشارژ
- آسپارتیل – $tRNA^{Asp}$ برای اشاره به tRNA مربوط به آسپارتات که به‌درستی با آن شارژ شده است
- لوسیل – $tRNA^{Val}$ برای اشاره به tRNA مربوط به والین که به اشتباه با لوسین شارژ شده است
- $tRNA_i$ برای اشاره به tRNA شروع

  $tRNA_i^{fMet}$ در باکتری‌ها

  $tRNA_i^{Met}$ در اوکاریوت‌ها

صحت اتصال اسیدآمینه صحیح به tRNA اختصاصی

- در سطح ریبوزوم کنترلی برای ورود اسیدآمینه صحیح انجام نمی گیرد

- **صحت ترجمه بستگی به اتصال صحیح اسیدآمینه به tRNA مربوطه توسط آمینوآسیل-tRNA سنتتاز دارد، کنترل در دو سطح:**
  - **۱- انتخاب اسیدامینه صحیح**
  - **۲- انتخاب tRNA صحیح**

ساختمان و توالی نوکلئوتیدی خاص برای هر tRNA

تمایز اسید آمینه توسط آمینوآسیل-tRNA سنتتازهای مختلف

- **سطح اول: تمایز بر اساس خصوصیات جانبی R**

  اندازه خصوصیات آبگریزی

  بارالکتریکی

  پیوندهای هیدروژنی

  بارالکتریکی

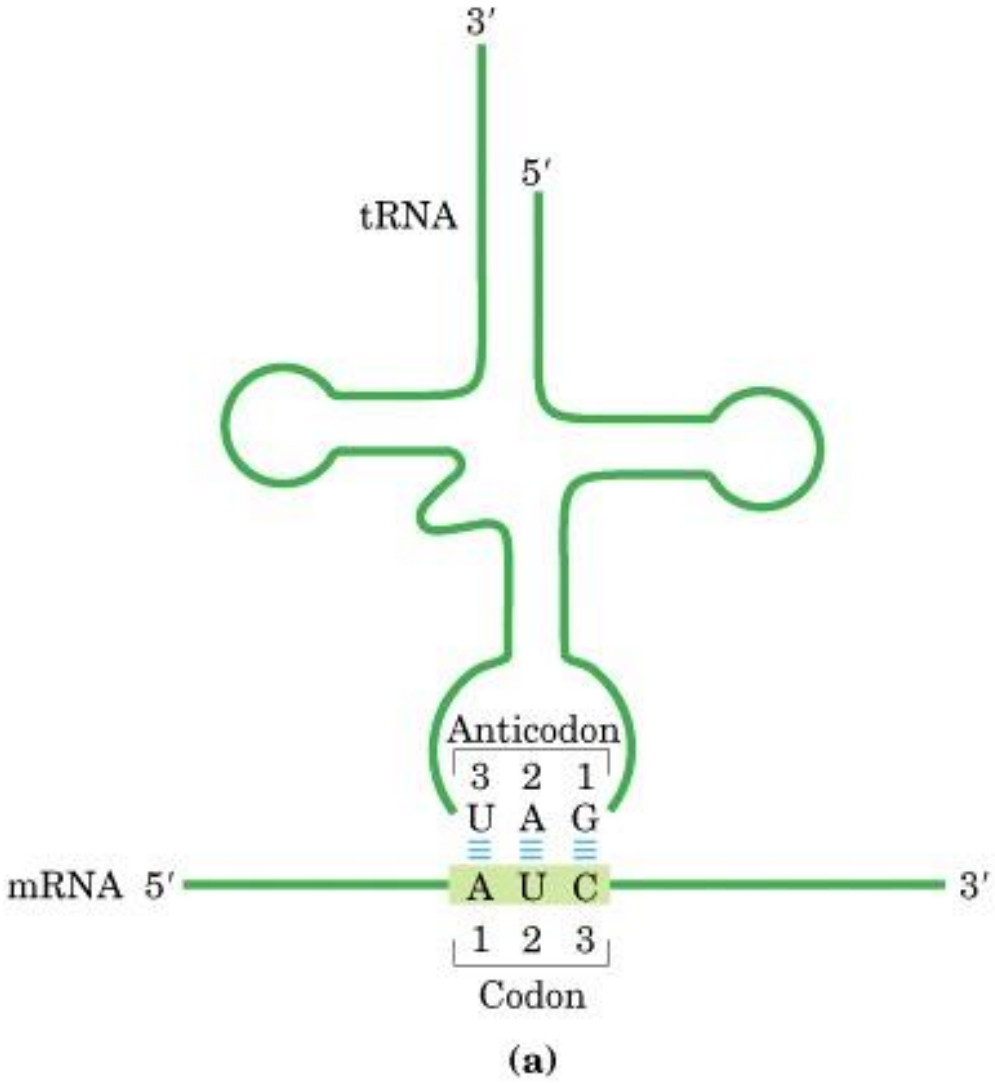
- **سطح دوم: غلط گیری**

  به کمک جایگاههای هیدرولیتیک متفاوت از جایگاههای کاتالیتیک

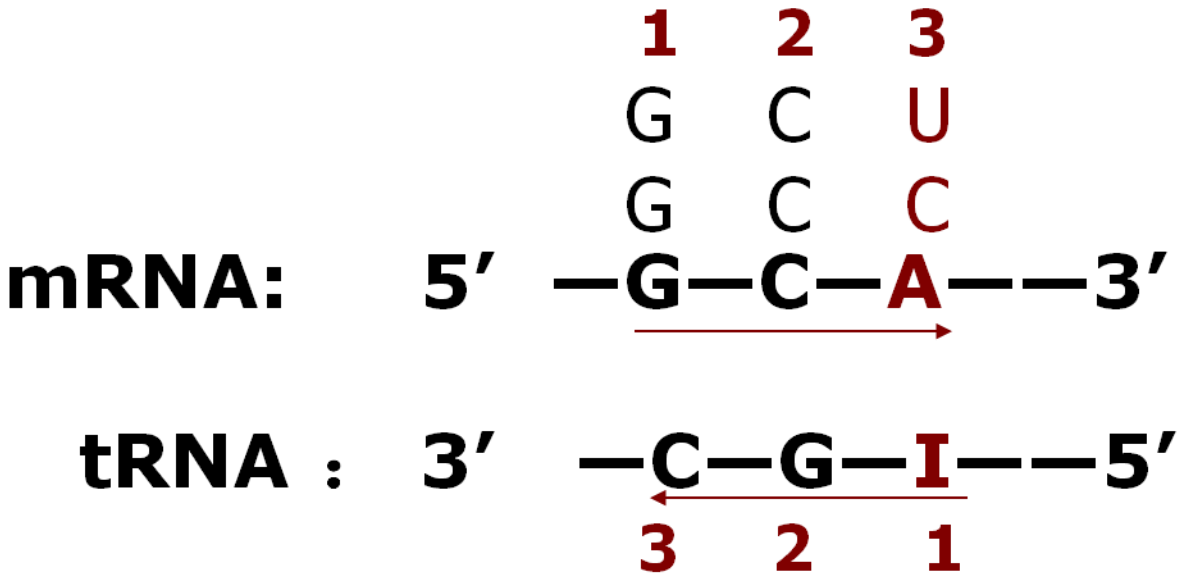
یک مولکول tRNA ممکن است بیش از یک کدون را شناسایی کند

- انحطاط یا degeneracy در کدون ها
- چندین کدون برای یک اسیدآمینه
- عدم نیاز به چند مولکول tRNA برای شناسایی کدون های مربوط به یک اسیدآمینه
- اتصال محکم دو نوکلئوتید اول کدون با آنتی کدون/اتصال سست نوکلئوتید سوم

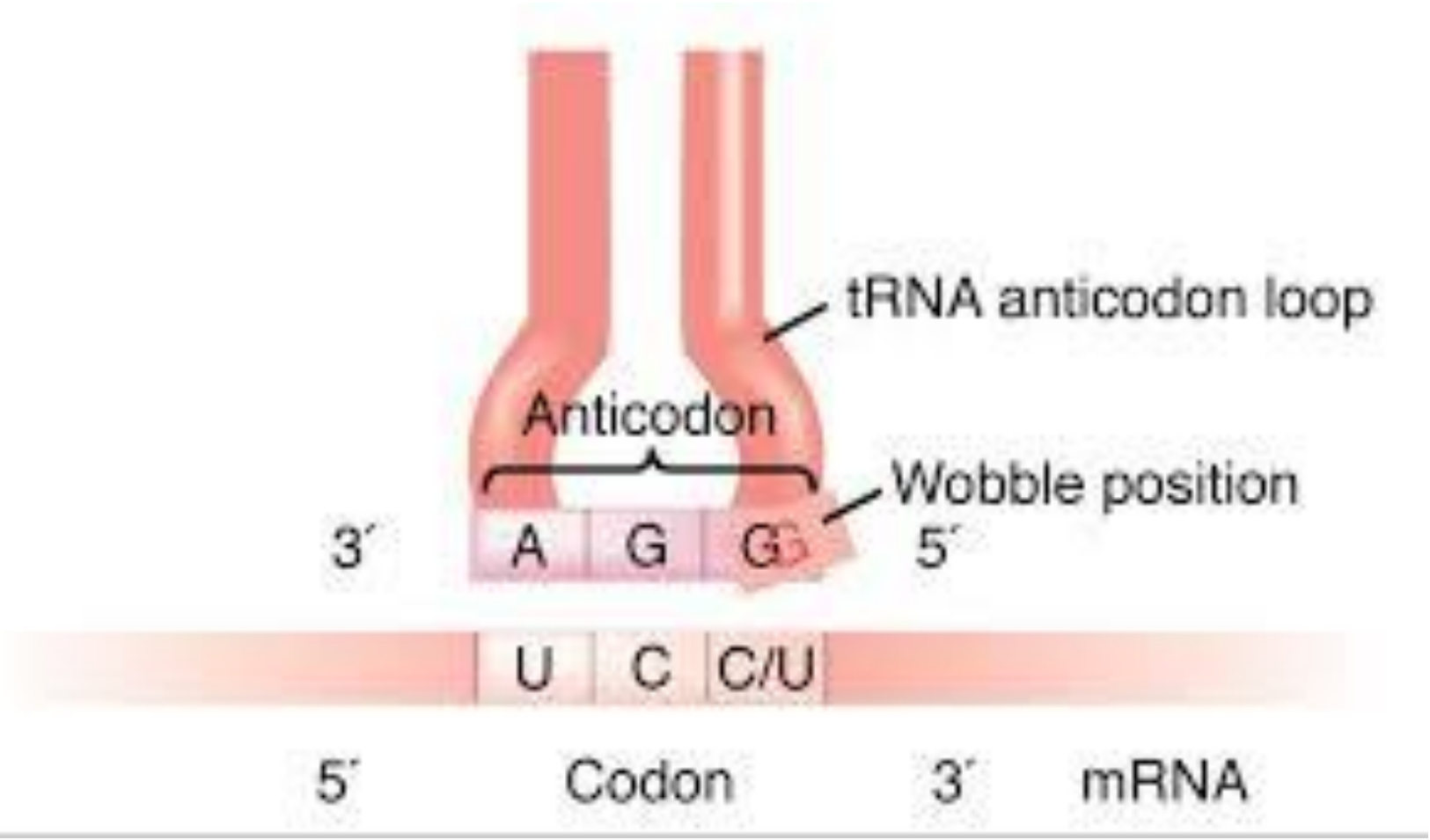
تعامل کدون-آنتی کدون



تعامل کدون و آنتی کدون

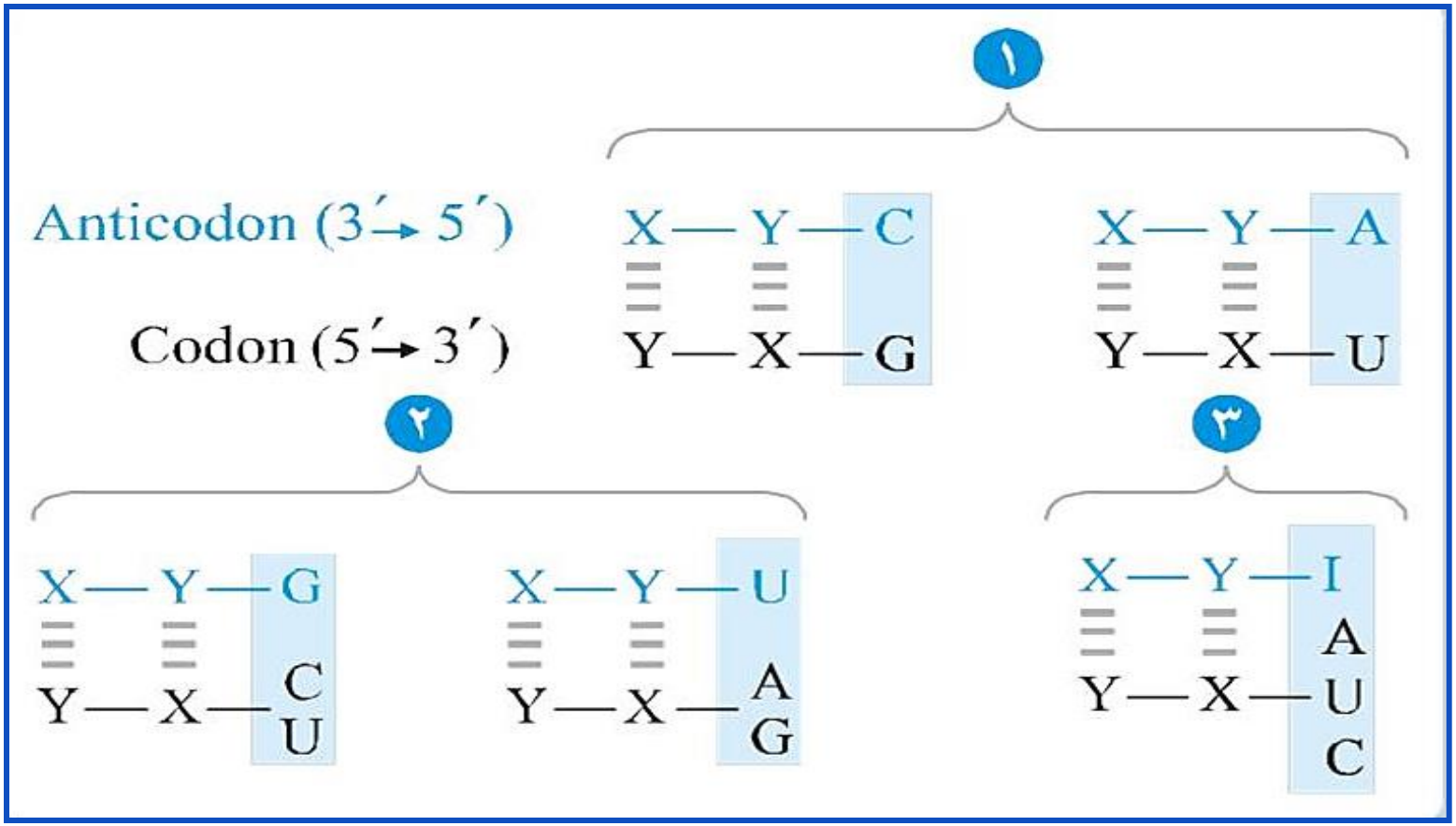


تعامل کدون و آنتی کدون

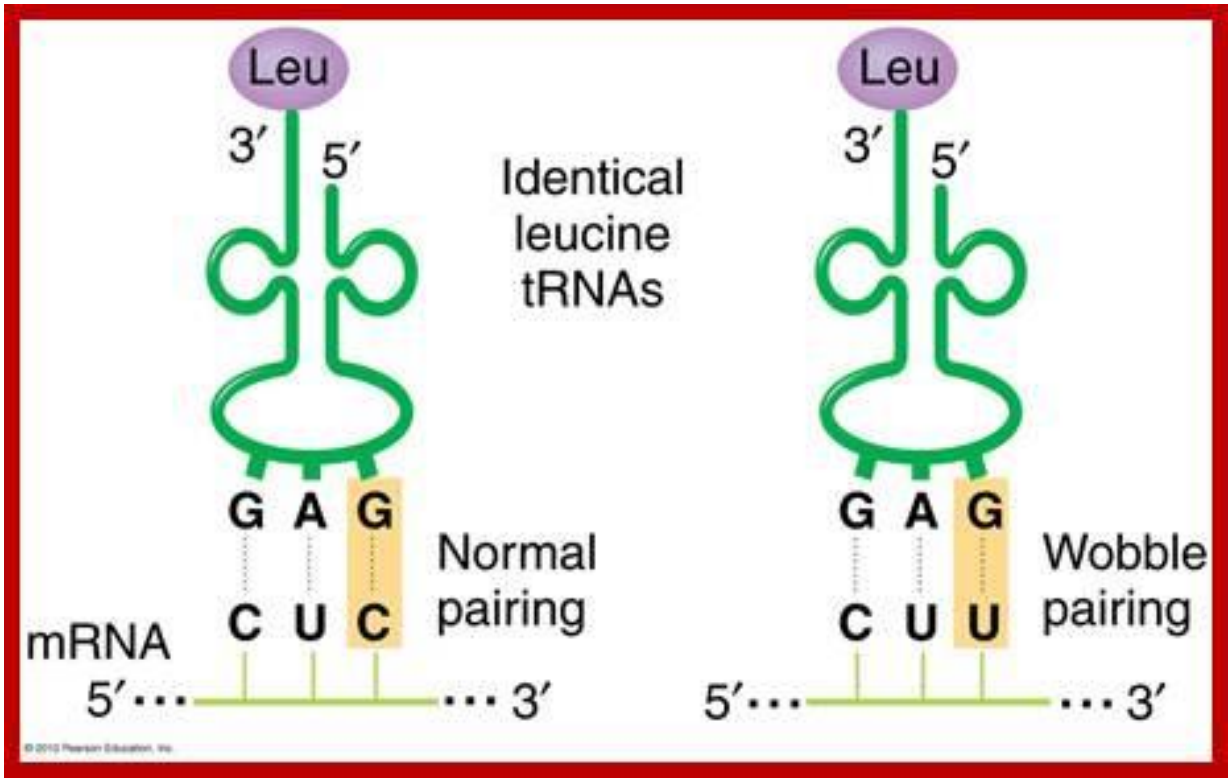


نقش اولین نوکلئوتید آنتی کدون: جایگاه لغزش (Wobble)

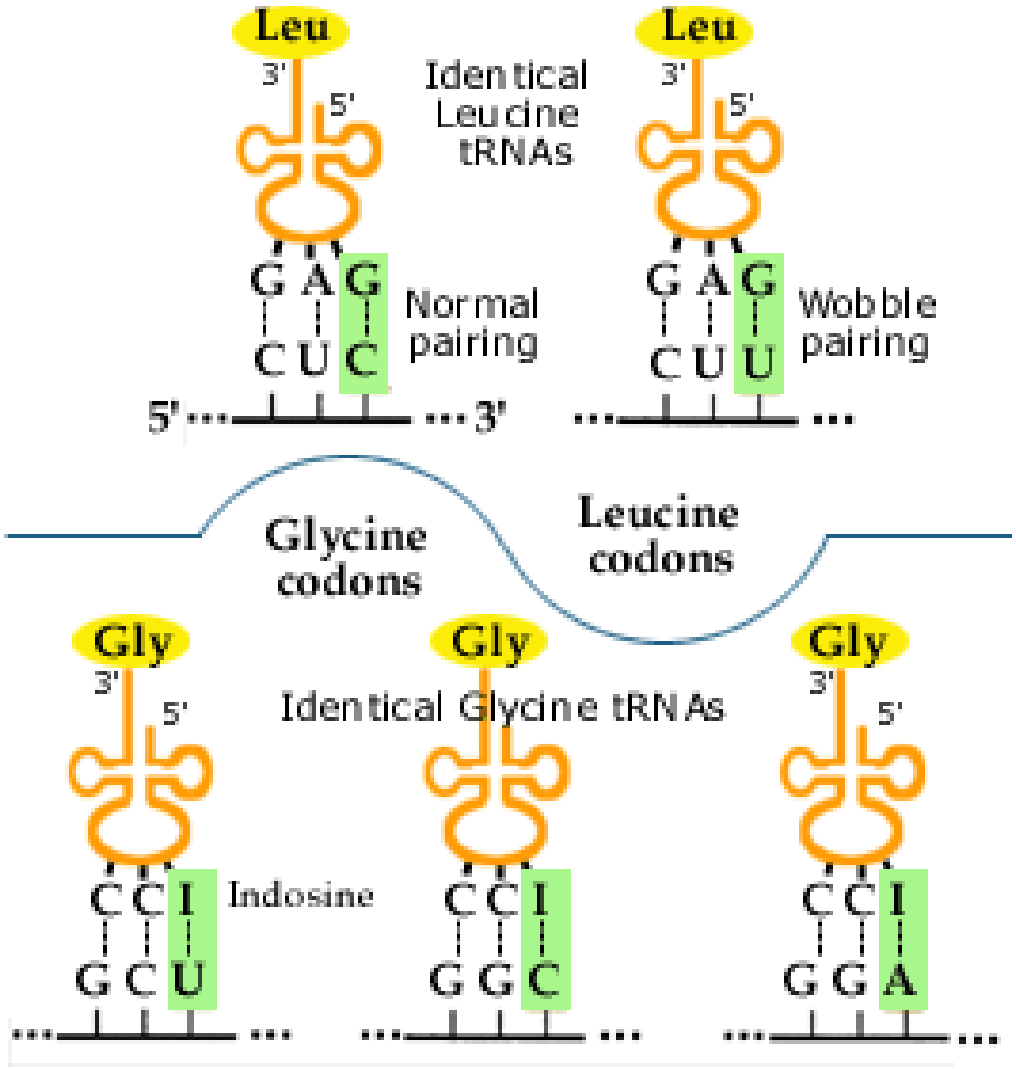
با توجه به **فرضیه لرزان** (wobble hypothesis) تعداد مولکولهای tRNA برای شناسایی ۶۱ کدون معنی به ۳۲ مولکول کاهش می یابد.



نقش اولین نوکلئوتید آنتی کدون: جایگاه لغزش (Wobble)

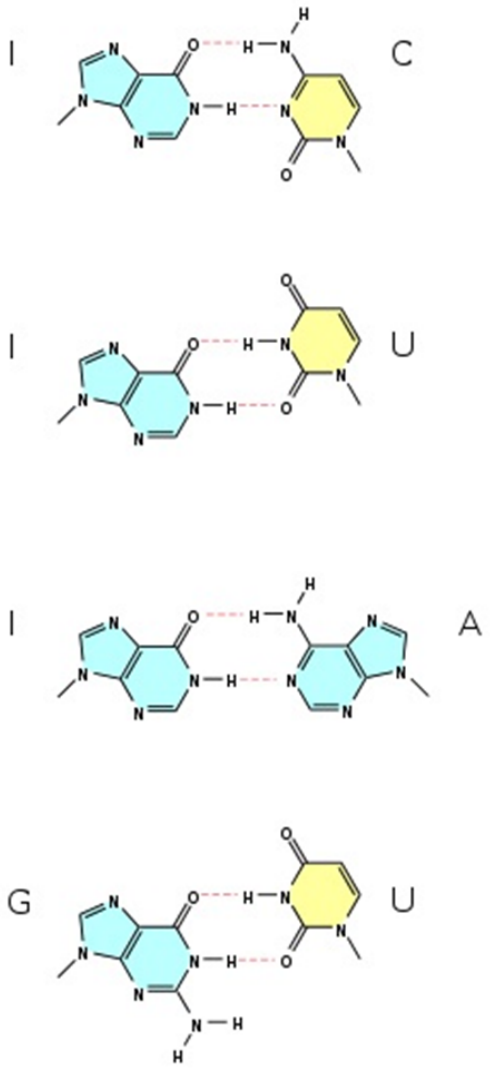


تعامل کدون و آنتی کدون



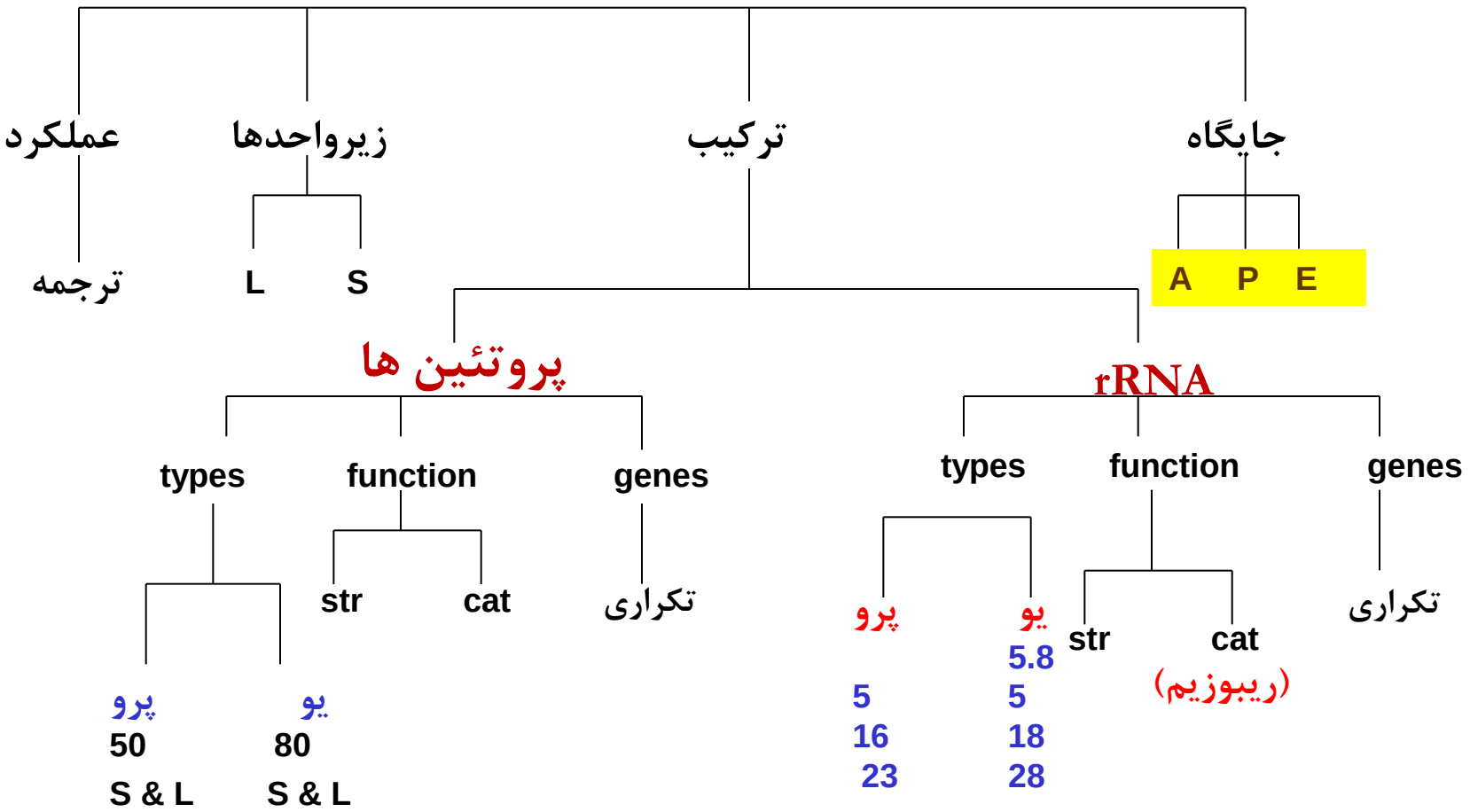
تعامل کدون و آنتی کدون

5’base on anticodon	3’base on codon
A	U
C	G
G	U
	C
U	A
	G
I	U
	C
	A



کارخانه سنتز پروتئین: ریبوزوم

۳- ریبوزوم

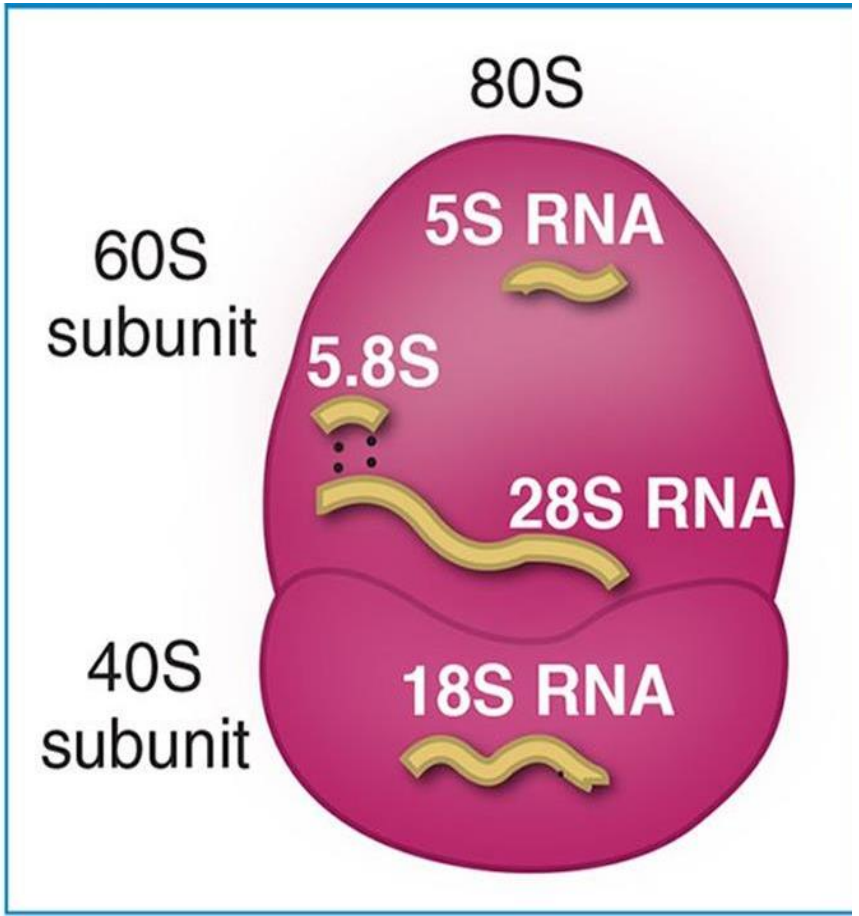


Str: structural

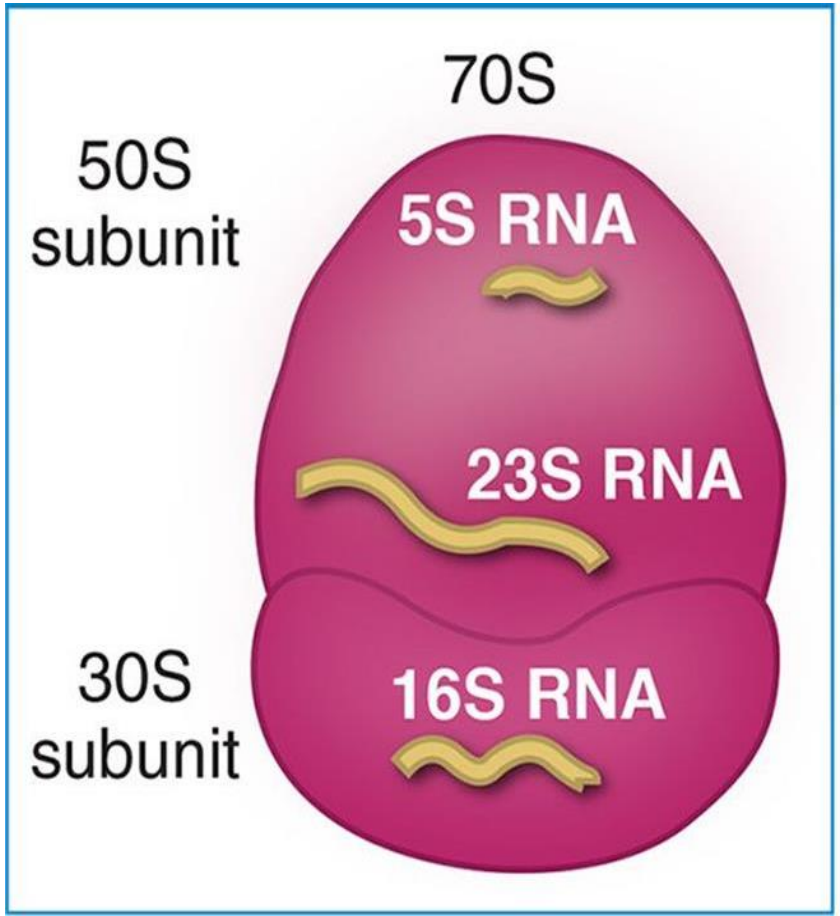
Cat: catalytic

ریبوزوم: زیرواحدها، ساختار، جایگاه و انواع

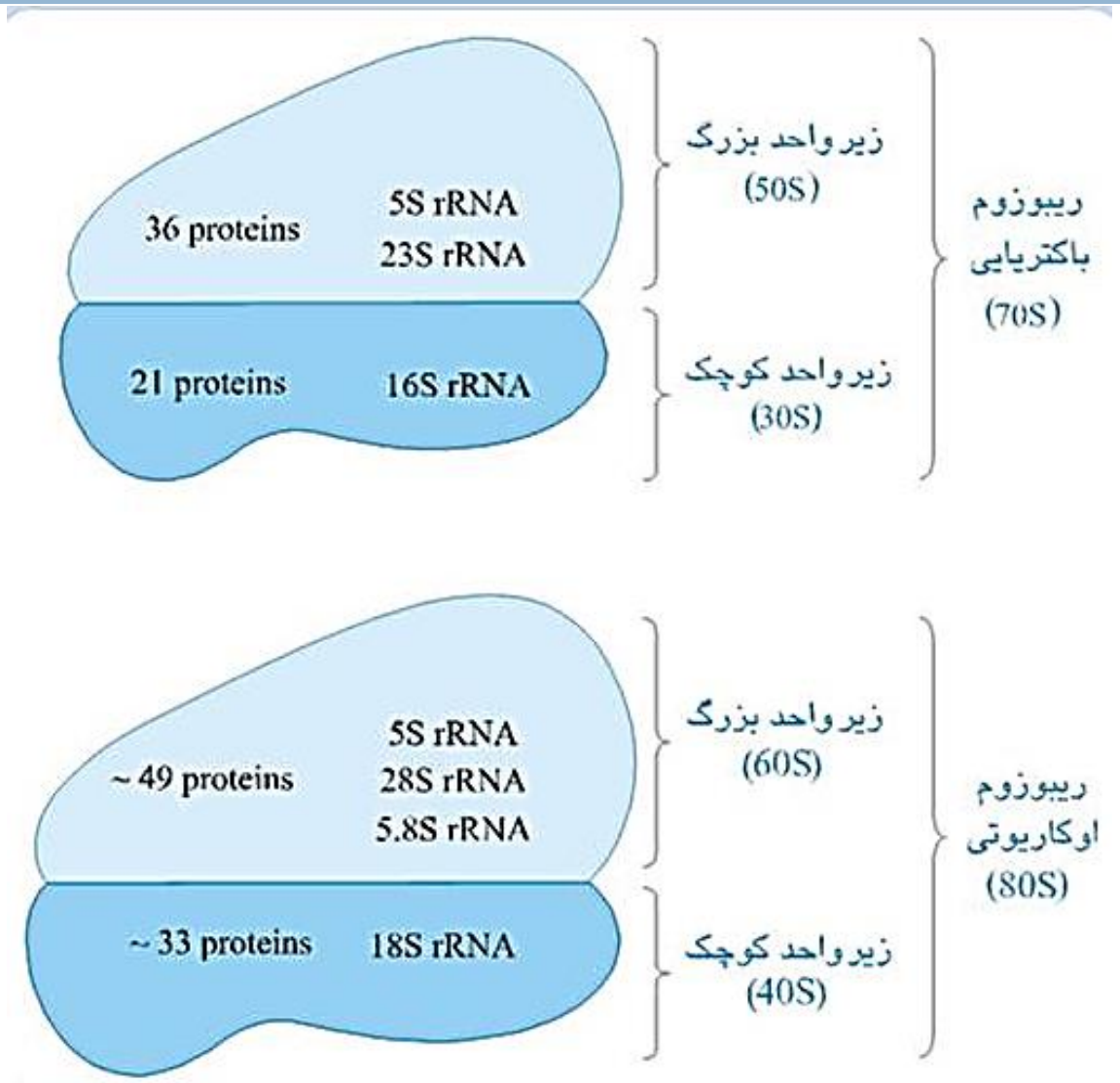
ریبوزوم در یوکاریوتها



ریبوزوم در پروکاریوتها

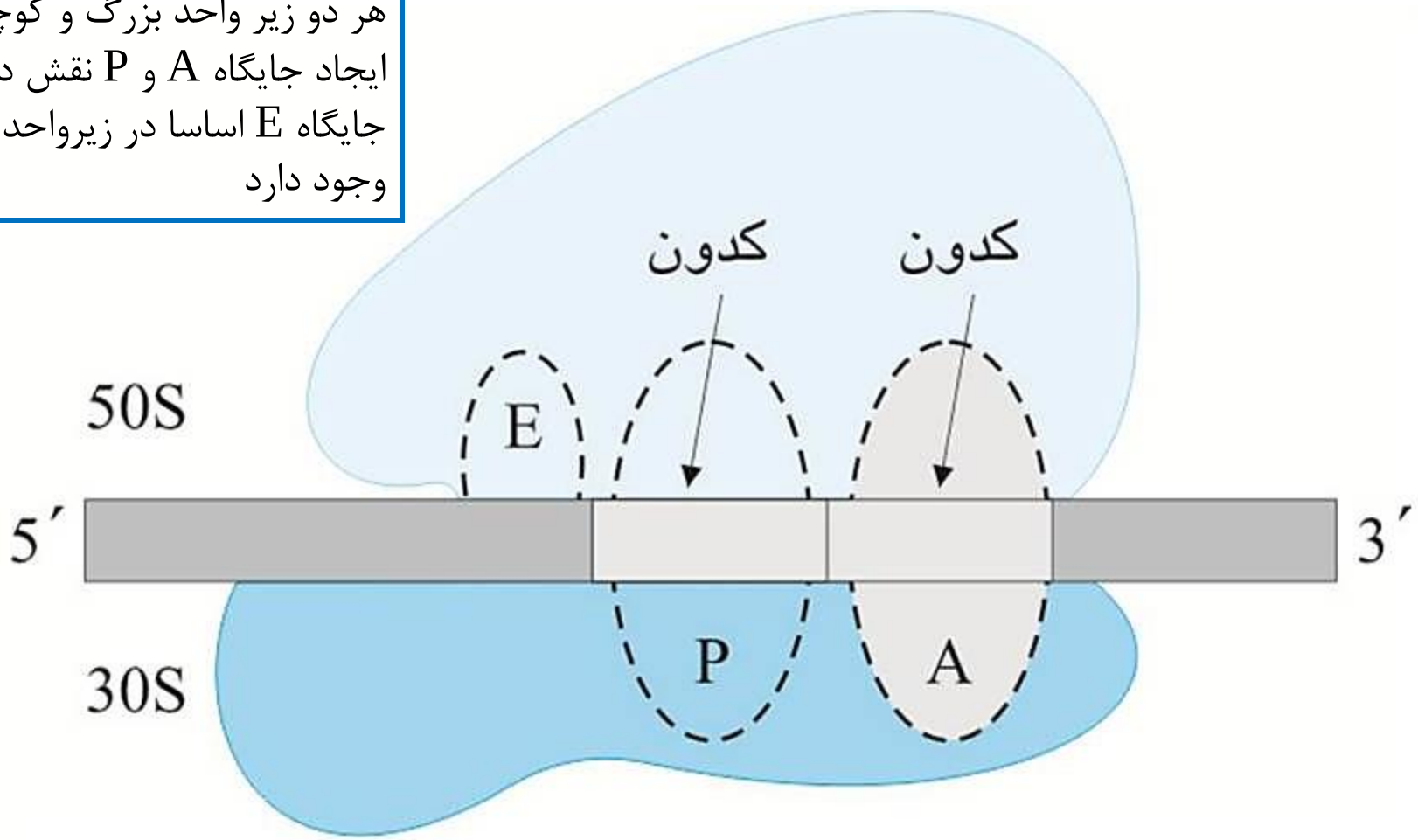


ریبوزوم: زیرواحدها، ساختار، جایگاه و انواع



جایگاههای ریبوزومی

هر دو زیر واحد بزرگ و کوچک در ایجاد جایگاه A و P نقش داردند **اما** جایگاه E اساسا در زیرواحد بزرگ وجود دارد



آنزیمها

۱- آمینوآسیل tRNA سنتاز tRNA

اتصال بین اسیدآمینه و tRNA

۲- پپتیدیل ترانسفراز (ریبوزیم)

تشکیل پیوند پپتیدی

۳- پپتیدیل ترانس لوکاز

جابجایی پپتید از جایگاه A به جایگاه P

سنتز پروتئین در پروکاریوتها

مراحل سنتز پروتئین

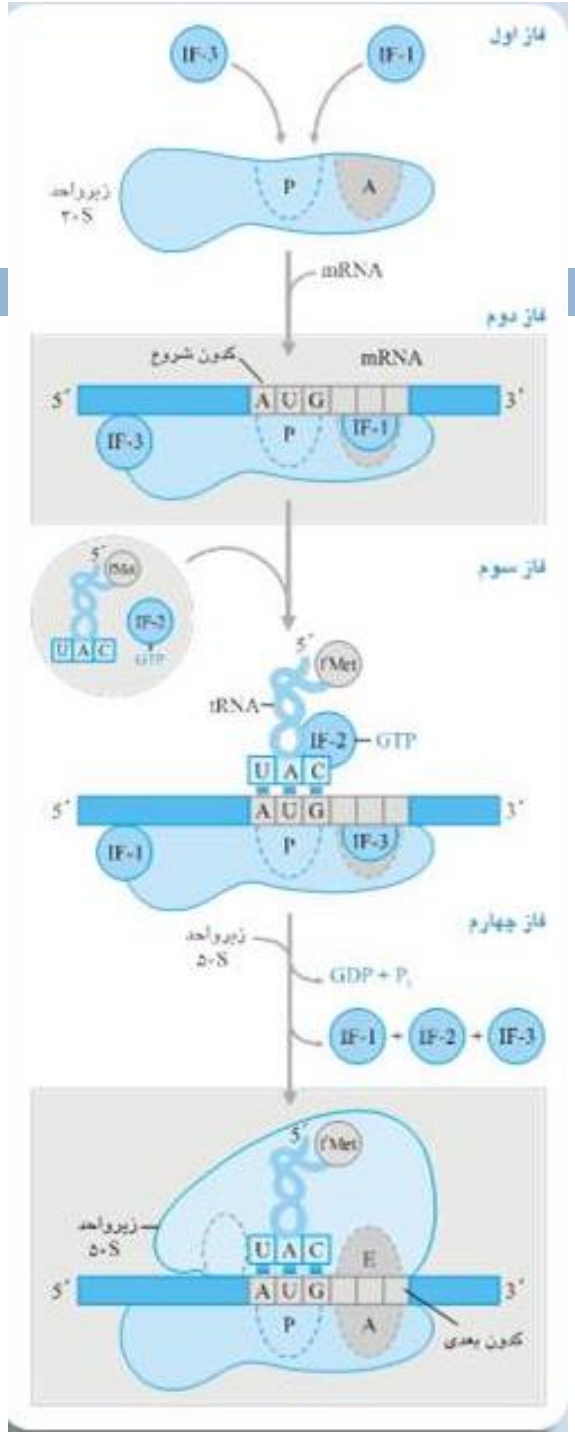
- مرحله شروع
- مرحله طویل سازی
- مرحله خاتمه

مرحله شروع

- شامل چهار فاز به کمک فاکتورهای شروع
  - IF1
  - IF2
  - IF3
  - GTP
- توالی شاین دالگارنو

مرحله شروع

- فاز اول: تفکیک ریبوزوم 70S به زیرواحدهای 30S و 50S
  - IF3: مانع بهم پیوستن دو زیرواحد ریبوزوم
  - IF1: مانع اتصال آمینوآسیل-tRNA به جایگاه A
- فاز دوم: اتصال مولکول mRNA به زیرواحد 30S
  - مکمل شدن توالی شاین دالگارنو با با توالی انتهای ۳ مولکول 16SrRNA
- فاز سوم: اتصال مولکول $fMet\text{-}tRNA_i^{fMet}$ به جایگاه P در زیرواحد 30S
  - به کمک IF2 و با مصرف GTP
- فاز چهارم: اتصال زیرواحد 50S


فاز اول
IF-3
IF-1
زیرواحد ۳۰S
P
A
mRNA
فاز دوم
کدون شروع
mRNA
5'
A U G
3'
IF-3
P
IF-1
فاز سوم
5'
fMet
tRNA
IF-2
GTP
U A C
5'
A U G
3'
IF-1
P
IF-3
فاز چهارم
زیرواحد ۵۰S
GDP + Pi
IF-1 + IF-2 + IF-3
5'
fMet
زیرواحد ۵۰S
U A C
E
5'
A U G
3'
P
A
کدون بعدی

چگونه ریبوزوم تشخیص می دهد از کجا شروع کند

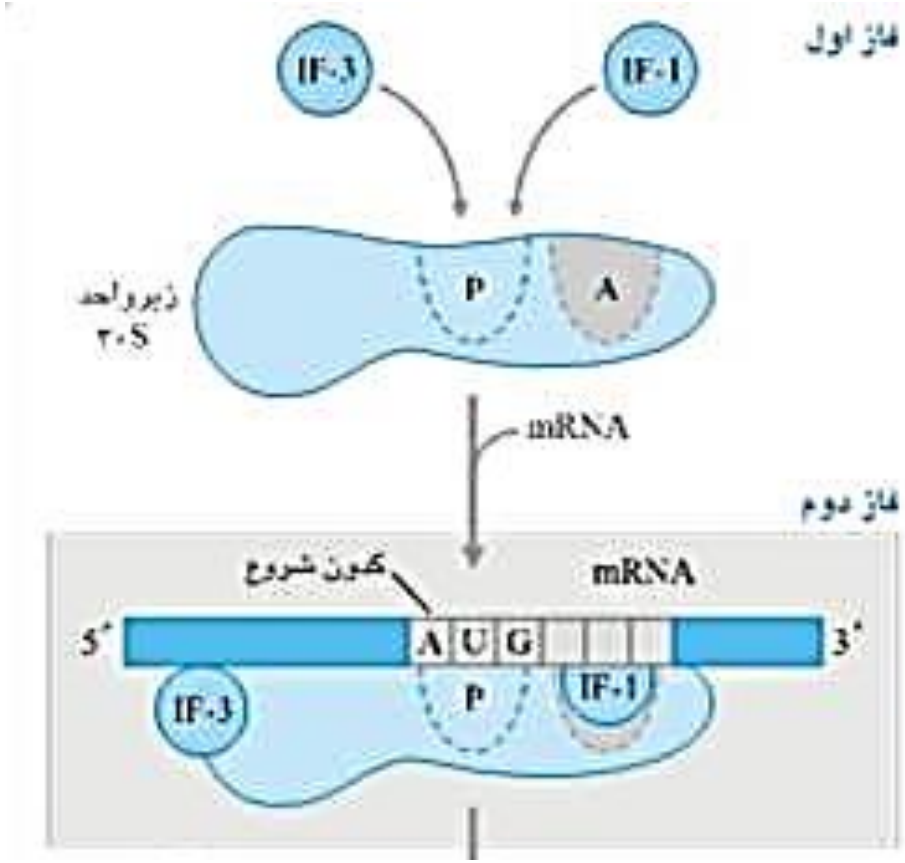
توالی شاین دالگارنو: توالی از ۵-۱۰ نوکلئوتید، غنی از **پورین**، در (فقط) بالادست کدون آغازی، سمت 5′ می باشد. این توالی مکمل توالی پیریمیدینی در ۱۶srRNA ریبوزوم می باشد.

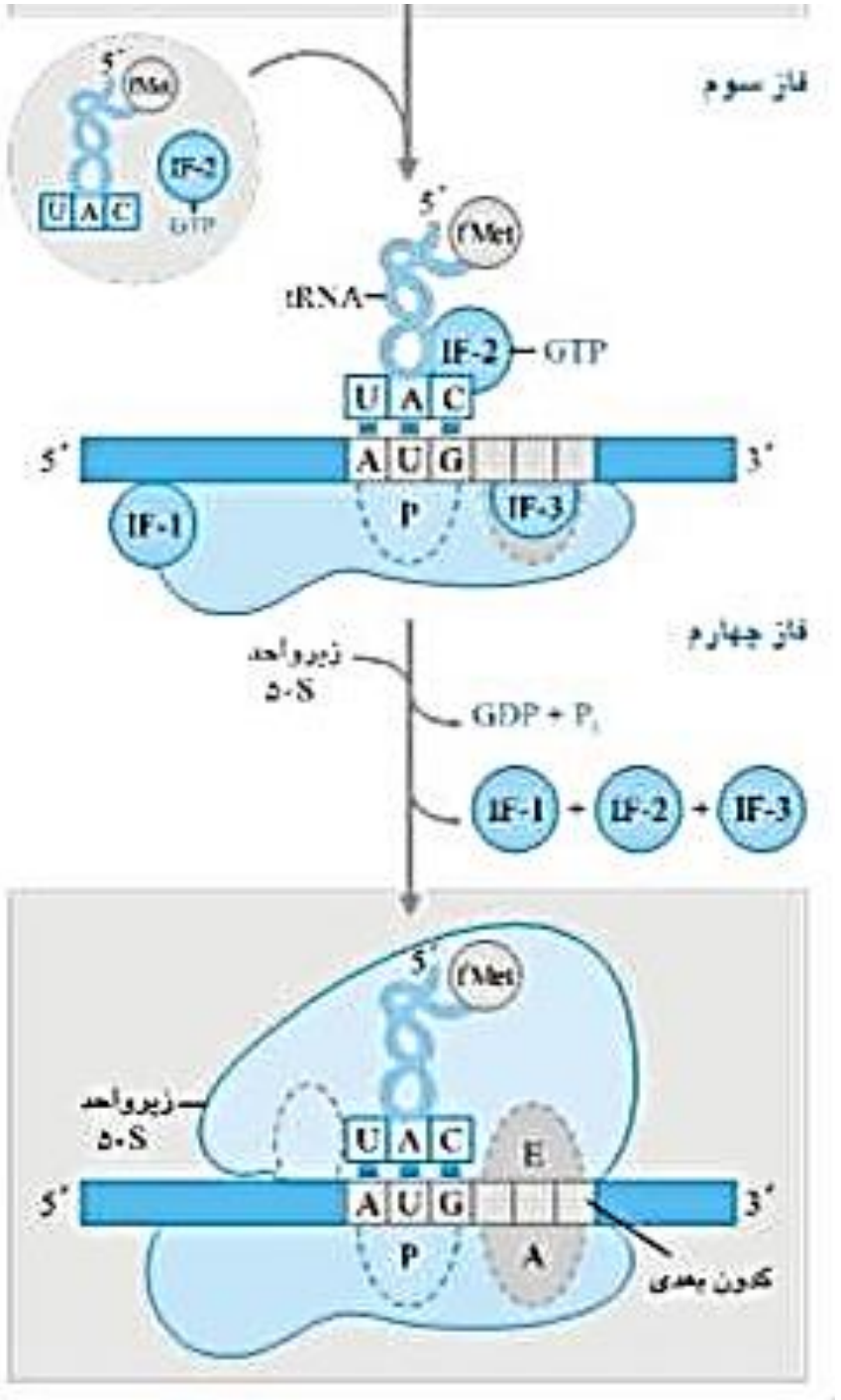
یک توالی شاین دالگارنو برای هر سیسترون وجود دارد.

این توالی در اتصال صحیح ریبوزوم به جایگاه شروع نقش دارد.

تغییرات کوچک در این توالی کارایی ترجمه را کاهش می دهد.

مرحله شروع



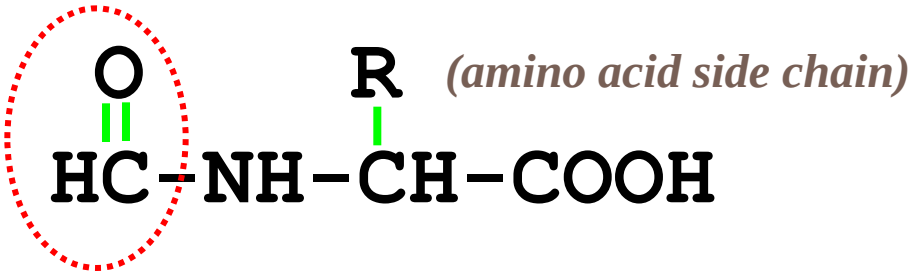


توالی شاین دالگارنو مکمل توالی پیریمیدینی در ۱۶srRNA ریبوزوم می باشد.

تشخیص: توسط توالی شاین دالگارنو، آغاز توسط AUG (کدون آغازی)

رمز آغازی برای شروع سنتز اغلب پروتئین ها AUG می باشد (GUG و UUG فراوانی کمتری دارند.

اولین اسید آمینه (در پروکاریوتها) فرمیل متیونین می باشد که به $tRNA_{fmet}$ متصل می شود.



به طور طبیعی $tRNA_{met}$ فقط AUG را تشخیص می دهد در حالیکه $tRNA_{f\text{-}Met}$ رمزهای AUG، GUG و UUG را شناسایی می کند.

فرمیل متیون فقط در آغاز استفاده می شود.

مرحله طویل سازی

شامل سه فاز:

به کمک

فاکتورهای طویل سازی

- **EF-TU**
- **EF-TS**
- **EF-G (ترانس لوکاز)**

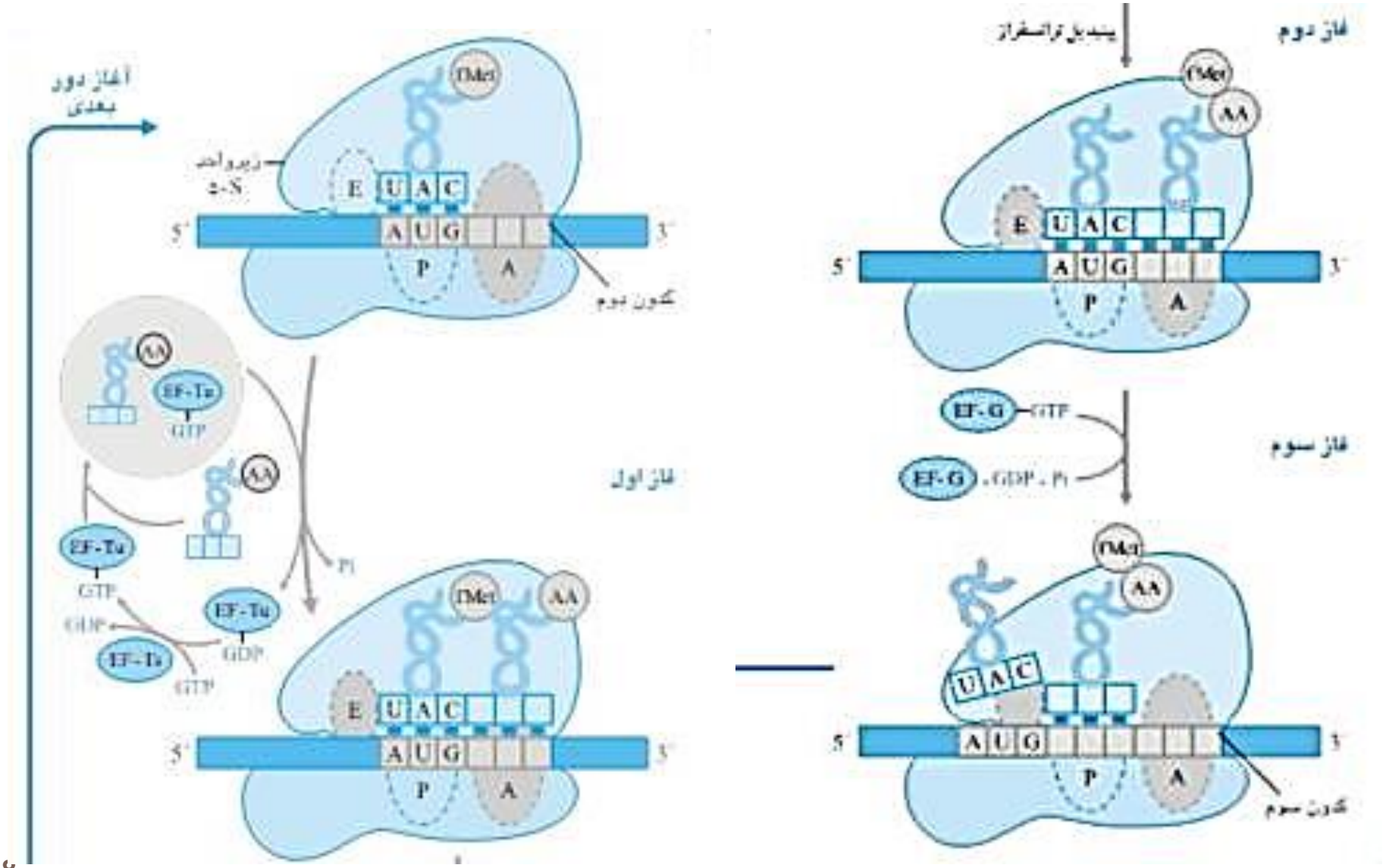
GTP

23rRNA (پپتیدیل ترانسفراز)

مرحله طویل سازی

- **فاز اول: اتصال مولکول آمینوآسیل-tRNA به جایگاه A**
  - EF-Tu: شناسایی و انتقال تمامی مولکولهای tRNA شارژ شده به کمک GTP
  - EF-TS: تعویض GDP با GTP در کمپلکس EF-Tu.GDP
- **فاز دوم: تولید پیوند پپتیدی**
  - توسط پپتیدیل ترانسفراز یا 23rRNA
- **فاز سوم: جابجایی ریبوزوم در طول رشته mRNA**
  - ترانس لوکاز یا EF-G با مصرف GTP

مرحله طویل سازی



مقایسه فعالیت فاکتورهای IF2 و EF-TU

- IF2 در مرحله شروع عمل می کند و EF-TU در مرحله طویل سازی وارد عمل می شود
- IF2 تنها tRNA شروع کننده را شناسایی می کند ولی EF-TU مسئول شناسایی سایر مولکولهای آمینوآسیل-tRNA است
- IF2 مولکول tRNA شروع کننده را به جایگاه P انتقال می دهد در حالیکه EF-Tu مولکولهای آمینو آسیل- tRNAرا به جایگاه A انتقال می دهد
- بعد از تعامل کدون و آنتی کدون و هیدرولیز GTP، فاکتور IF2 به شکل مجزا از ریبوزوم آزاد می گردد و تبدیل آن به شکل کمپلکس دوتایی **IF2-GTP نیازی به فاکتور دیگری ندارد**. در حالیکه آزادسازی EF-Tu به صورت کمپلکس با GDP می باشد که برای جایگزینی آن با GTP نیاز به فاکتور EF-Ts می باشد.

مرحله خاتمه

به کمک

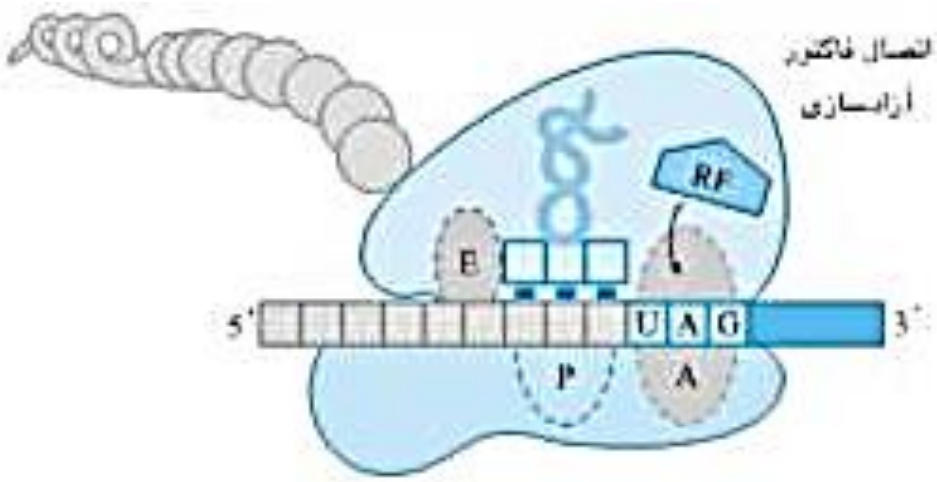
فاکتورهای خاتمه:

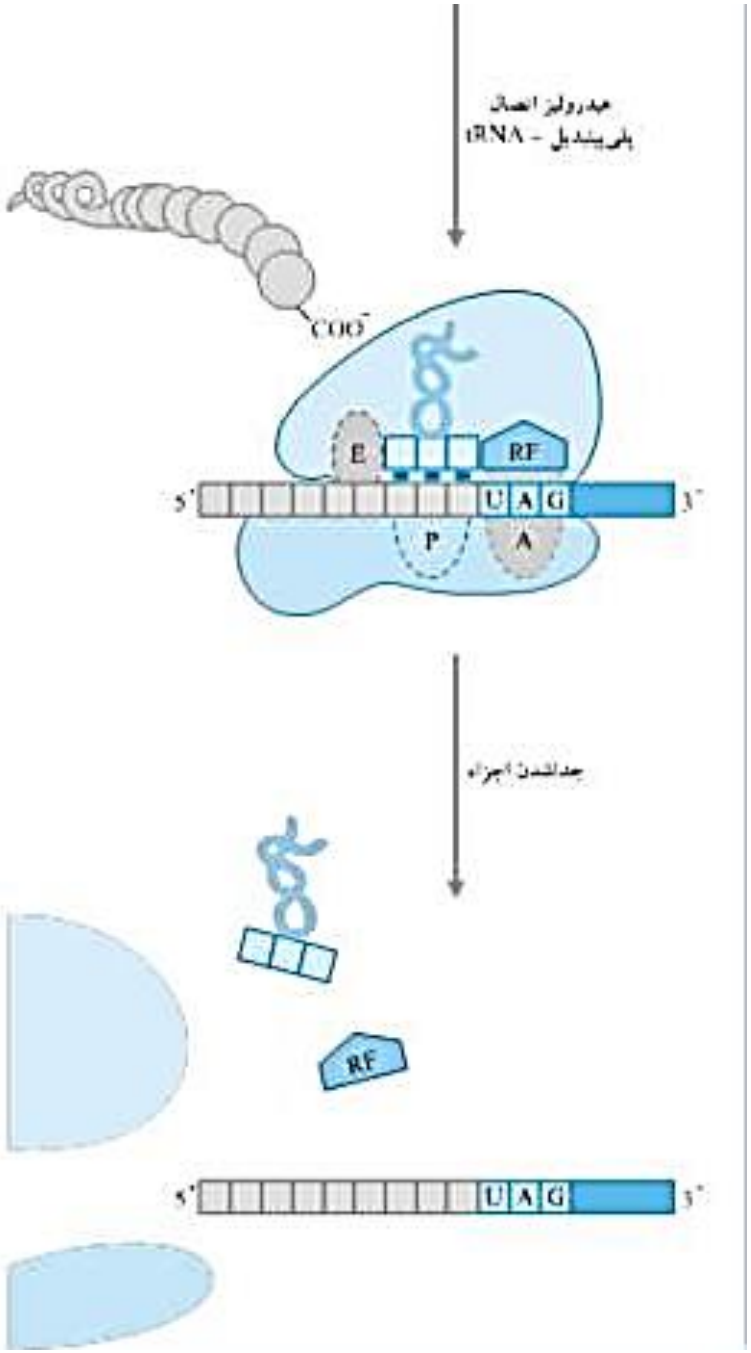
- **RF1 برای UAA و UAG**
- **RF2 برای UAA و UGA**
- **RF3 : با هیدرولیز GTP فرایند آزاد سازی را تسهیل می کند.**

GTP

فاکتور چرخش ریبوزومی: سبب جدایی زیرواحدها می شود

مرحله خاتمه


اتصال فاکتور
آزادسازی
RF
E
5'
U A G
3'
P
A


هیدرولیز اتصال
پلی‌پپتیدیل - tRNA
COO⁻
E
RF
5'
U A G
3'
P
A
جداشدن اجزاء
RF
5'
U A G
3'

سنتز پروتئین در یوکاریوتها

مراحل متفاوت سنتز پروتئین

- تشخیص و آغاز
- طویل سازی
- پایان سنتز و رها شدن زنجیره پروتئینی

تشخیص و آغاز در یوکاریوتها

بیشتر مراحل یکسان هستند اگر چه مرحله آغازین آن پیچیده تر است.

حداقل ۱۱ فاکتور آغازی نیاز هست

توالی شاین دالگارنو در mRNA وجود ندارد

فاکتور اتصالی به کلاهک (CAP) انتهای ´۵ را تشخیص می دهد و با اسکن کردن اولین AUG را پیدا می کند.

tRNA آغازگر ($tRNA_i^{Met}$) اختصاصی می باشد اما فرمیله نیست.

UTRs در دو انتهای mRNA وجود دارد که ترجمه را تنظیم می کند

مرحله شروع

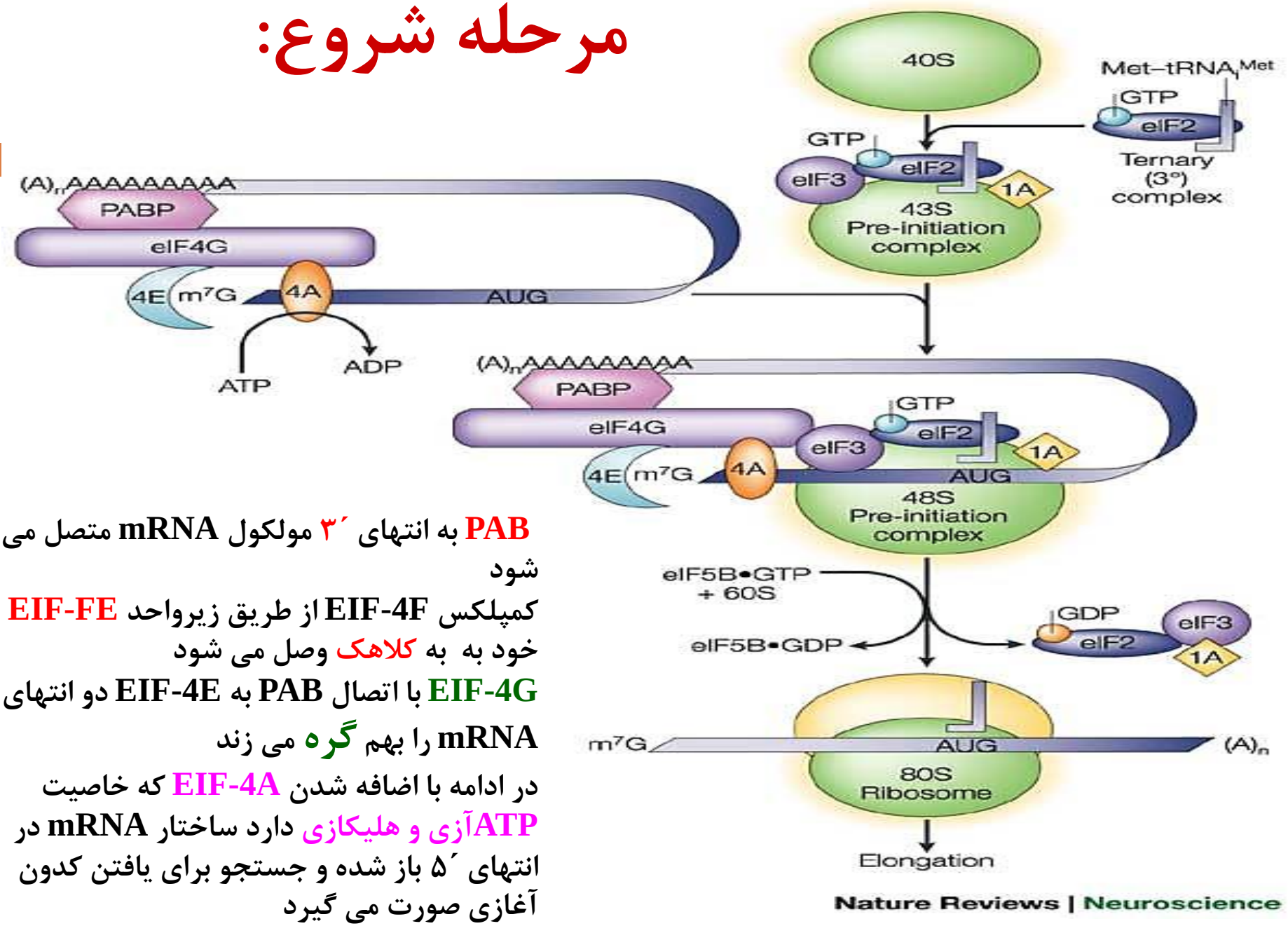
- **فاز اول: جدا شدن زیرواحدهای ریبوزومی:**
  فاکتورهای ضد همبستگی EIF-3 و EIF-6 به ترتیب به زیرواحد 40S و 60S متصل، و از اتصال آنها بهم جلوگیری می کنند.
- **فاز دوم: ایجاد کمپلکس قبل شروع 43s**
  کمپلکس سه تایی GTP.eIF2.Met-tRNAiMet
- **فاز سوم: اتصال mRNA و ایجاد کمپلکس شروع 48S**
  اتصال PAB به انتهای ۳ مولکول mRNA
  اتصال EIF-4E با کلاهک
  گره خوردن این دو بهم با EIF-4G
  کاهش ساختار دوم انتهای ۵ مولکول mRNA توسط EIF-4A
  توالی مشترک کوزاک
- **فاز چهارم: تولید کمپلکس شروع 80S:**

EIF5 با فعالیت GTPآزی خود فاکتورهای شروع را جدا کرده و زیرواحد 60S متصل می شود

فاکتورهای شروع سنتز پروتئین در یوکاریوتها

فاکتور	فعالیت
eIF-1	کمک به فاکتور eIF3
eIF-2	مسئول تحویل tRNA شروع به جایگاه P
eIF-2B	کمک به جایگزینی GDP در eIF-2.GDP با GTP
eIF-3	جدایی زیرواحد 40S از زیرواحد 60S، اتصال به eIF-4G
eIF-4A	ATPase و هلیکاز، اتصال به eIF-4G
eIF-4B	محرک فعالیت های ATPase و هلیکازی eIF-4A
eIF-4E	پروتئین اتصالی کلاهک
eIF-4F	شامل سه زیرواحد eIF-AE، eIF-4G و eIF-4A
eIF-4G	اتصال به eIF-4E، PAB و eIF3
eIF-5	تسهیل جداسازی فاکتورهای شروع از زیرواحدهای 40S با هیدرولیز GTP متصل به eIF-2.GTP، کمک به پیوستن زیواحد 60S
eIF-6	جدایی زیرواحد 60S از زیروادهای 40S
PAB	پروتئین اتصالی پلی A

مرحله شروع:



PAB به انتهای ۳´ مولکول **mRNA** متصل می شود

کمپلکس **EIF-4F** از طریق زیرواحد **EIF-FE** خود به به **کلاهک** وصل می شود

EIF-4G با اتصال **PAB** به **EIF-4E** دو انتهای **mRNA** را بهم **گره** می زند

در ادامه با اضافه شدن **EIF-4A** که خاصیت **ATP**آزی و هلیکازی دارد ساختار **mRNA** در انتهای ۵´ باز شده و جستجو برای یافتن کدون آغازی صورت می گیرد

مرحله طویل سازی

- eEF-1α مشابه EF-Tu
- eEF-1βγ مشابه EF-Ts
- eEF-2 مشابه EF-G
- 28S rRNA مشابه 23S rRNA

مرحله خاتمه

- eRF-1 مشابه RF-1 و RF-2
- eRF-3 مشابه RF-3

سموم و آنتی بیوتیکهایی که فرایند ترجمه را مهار می کنند

آنتی بیوتیکها

استرپتومایسین
کلرامفنیکل
اریترومایسین
پوروماسین
تتراسایکلین

سموم

سم دیفتری
پرتوزیس