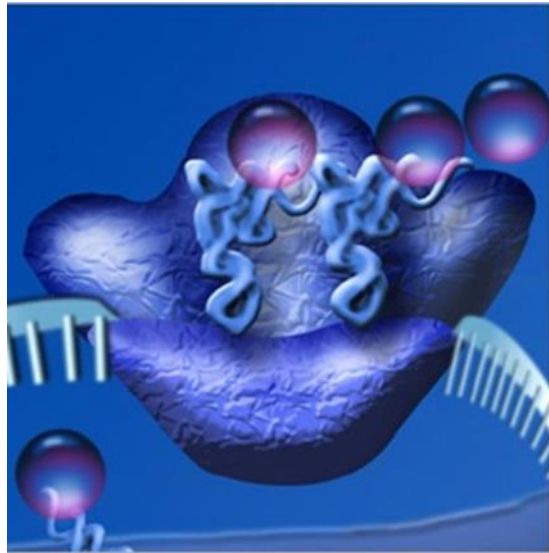
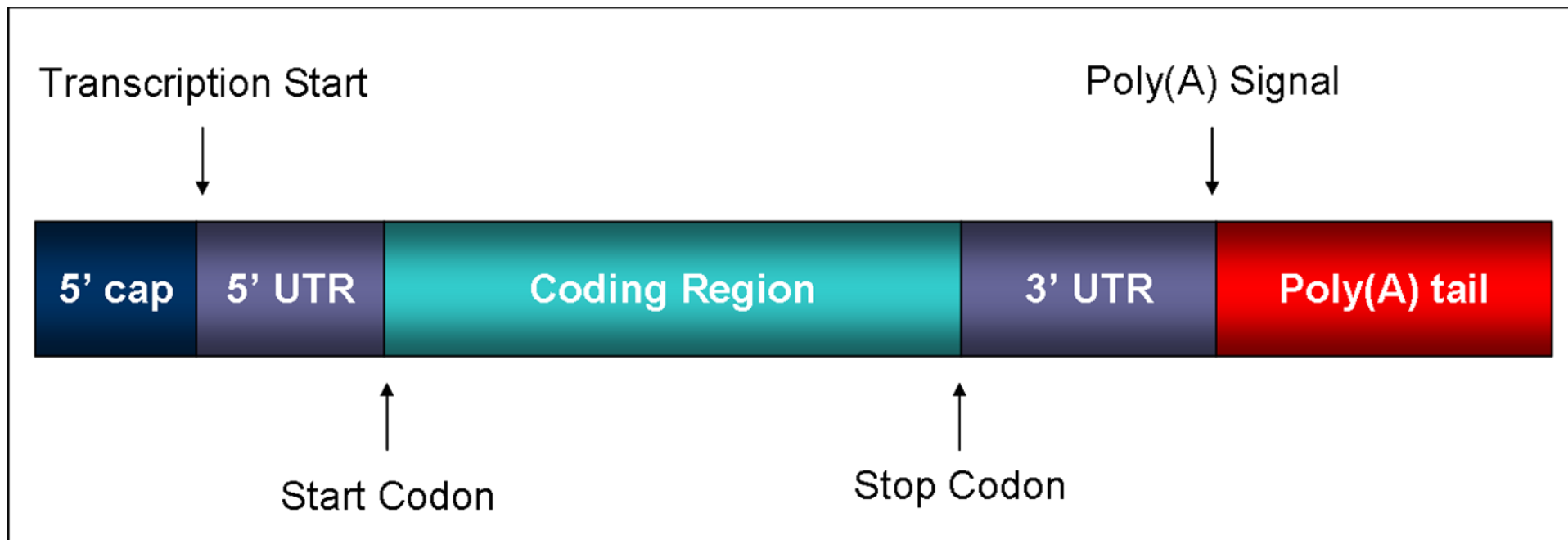


ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ



ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ



Κατά τη μετάφραση η πληροφορία από το mRNA μεταφέρεται στις πρωτεΐνες (coding region)

Η μετάφραση γίνεται στα υπερμοριακά συμπλέγματα τα **ριβοσώματα** που αποτελούνται από πρωτεΐνες και RNA
Δεν μεταφράζονται στο mRNA το 5' καλυμμα, η 5' μη μεταφραζόμενη περιοχή (5' UTR untranslated region), η 3' UTR, και η ουρά πολυ A, που χρειάζονται για την σταθερότητα του, και τη σύνδεσή του στο ριβόσωμα

Γενετικός Κώδικας

Τριπλέτες: σε κάθε τριπλέτα νουκλεοτιδίων αντιστοιχεί ένα αμινοξύ

Συνώνυμες Τριπλέτες: στα περισσότερα αμινοξέα αντιστοιχούν πάνω από μία τριπλέτες. Για αυτό το λόγο λέμε ότι ο γενετικός κώδικας είναι **εκφυλισμένος**

Κωδικόνιο Έναρξης Μετάφρασης: είναι πάντα το AUG που κωδικοποιεί για Met (αυτό το αμινοξύ αφαιρείται κατά την ωρίμανση της πρωτεΐνης)

Κωδικόνια Λήξης Μετάφρασης: είναι τα UAA, UGA, UAG (συνήθως υπάρχουν παραπάνω από 1 στο τέλος της μετάφρασης)



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

- = Κωδικόνιο τερματισμού αλυσίδας (λήξη)
- = Κωδικόνιο έναρξης

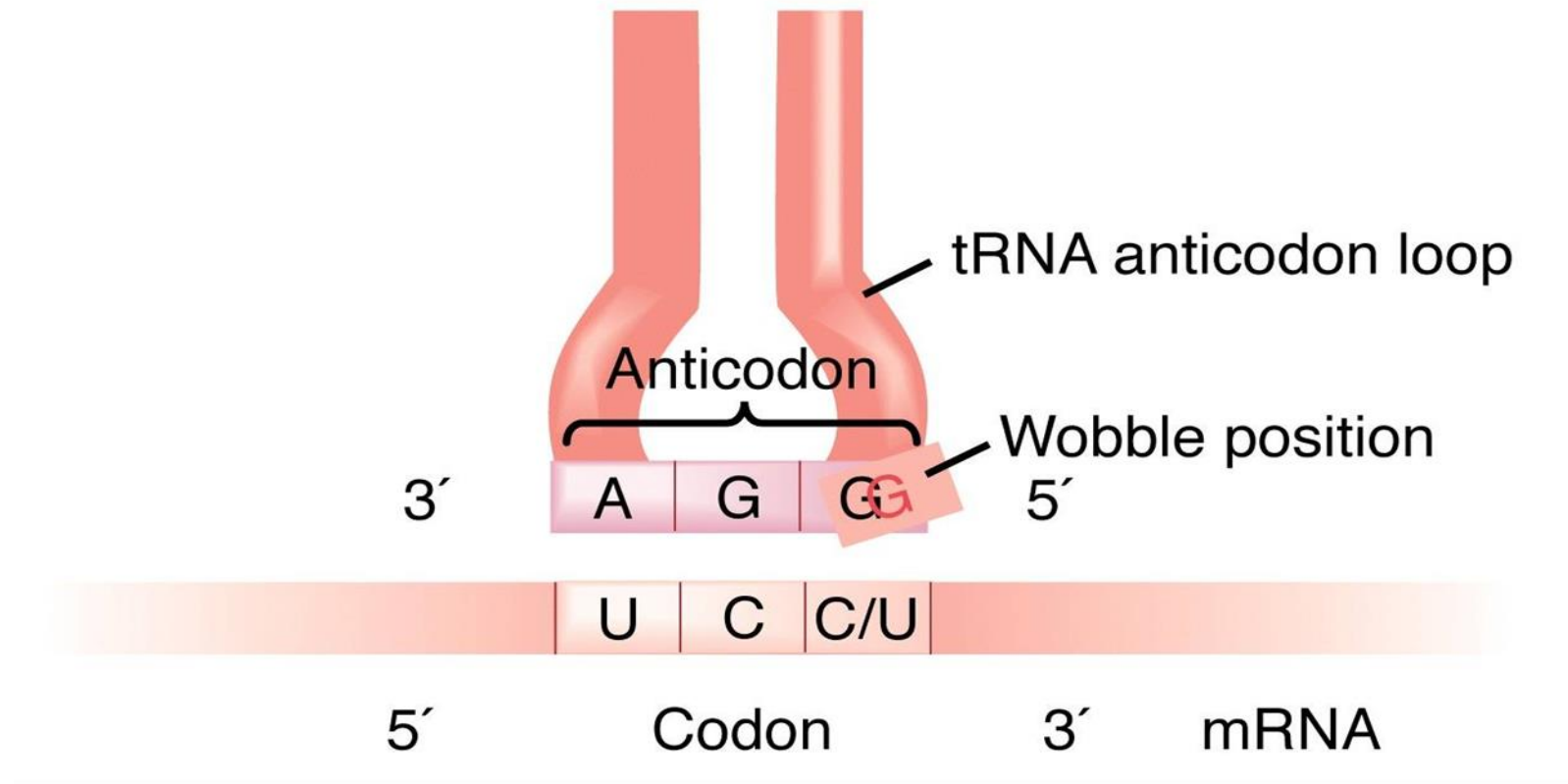
Γενετικός Κώδικας

Οι **Συνώνυμες Τριπλέτες** που αντιστοιχούν στο ίδιο αμινοξύ συνήθως έχουν κοινό το πρώτο και το δεύτερο νουκλεοτίδιο

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

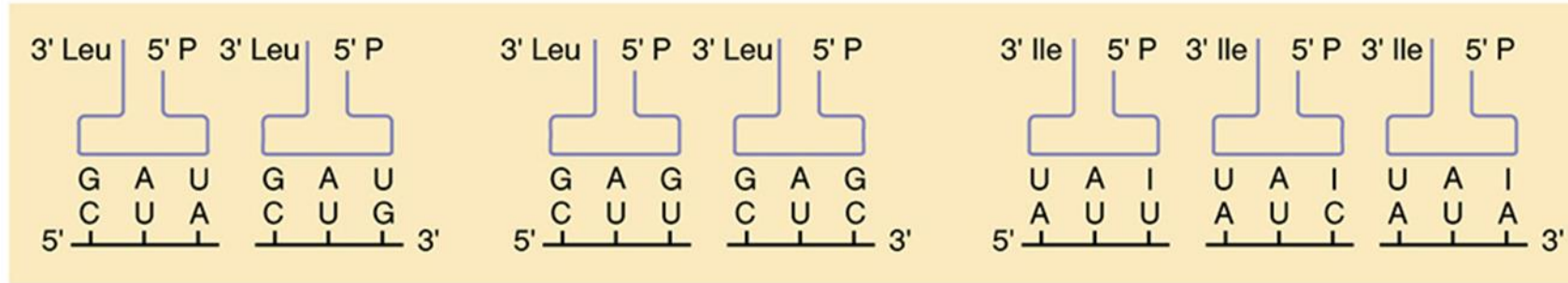
-  = Κωδικόνιο τερματισμού αλυσίδας (λήξη)
-  = Κωδικόνιο έναρξης

Υπόθεση Αστάθειας



- Για κάθε κωδικόνιο στο mRNA υπάρχει το αντίστοιχο κωδικόνιο στο tRNA που λέγεται αντικωδικόνιο
- Με αυτό το αντικωδικόνιο υπάρχει πλήρης συμπληρωματικότητα των δύο πρώτων νουκλεοτιδίων
- Για το τρίτο νουκλεοτίδιο δεν ισχύει απόλυτα ο κανόνας της συμπληρωματικότητας οπότε για παράδειγμα η C ή U του κωδικονίου μπορεί να ζευγαρώνει με G.
- Αυτή είναι η υπόθεση της αστάθειας ή αλλιώς Wobbling effect

Υπόθεση Αστάθειας



U → A

U → G

G → C

G → U

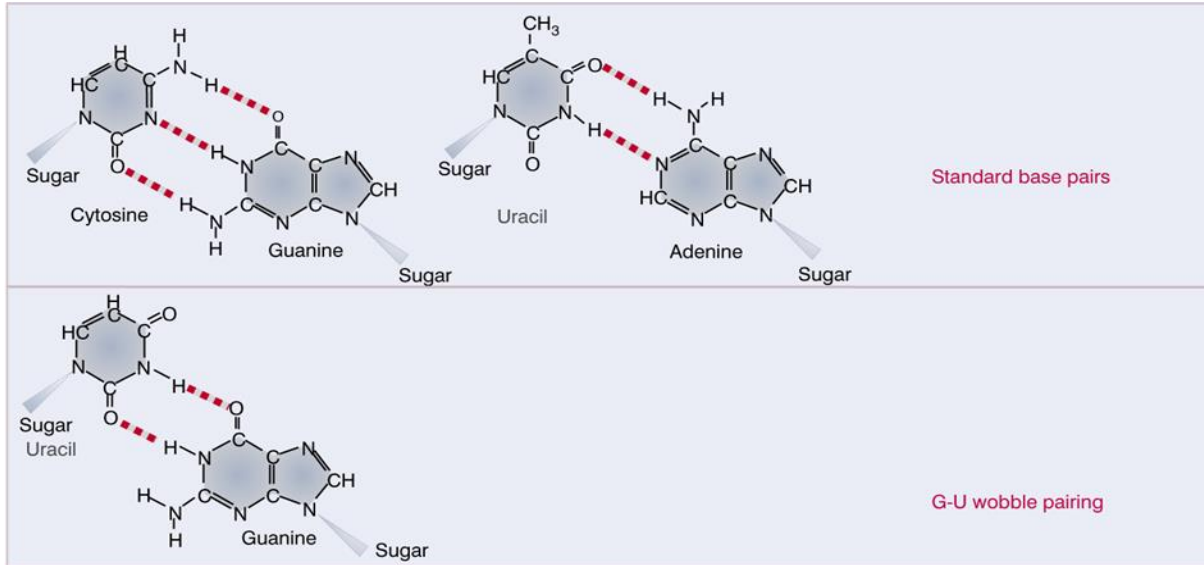
I → U

I → C

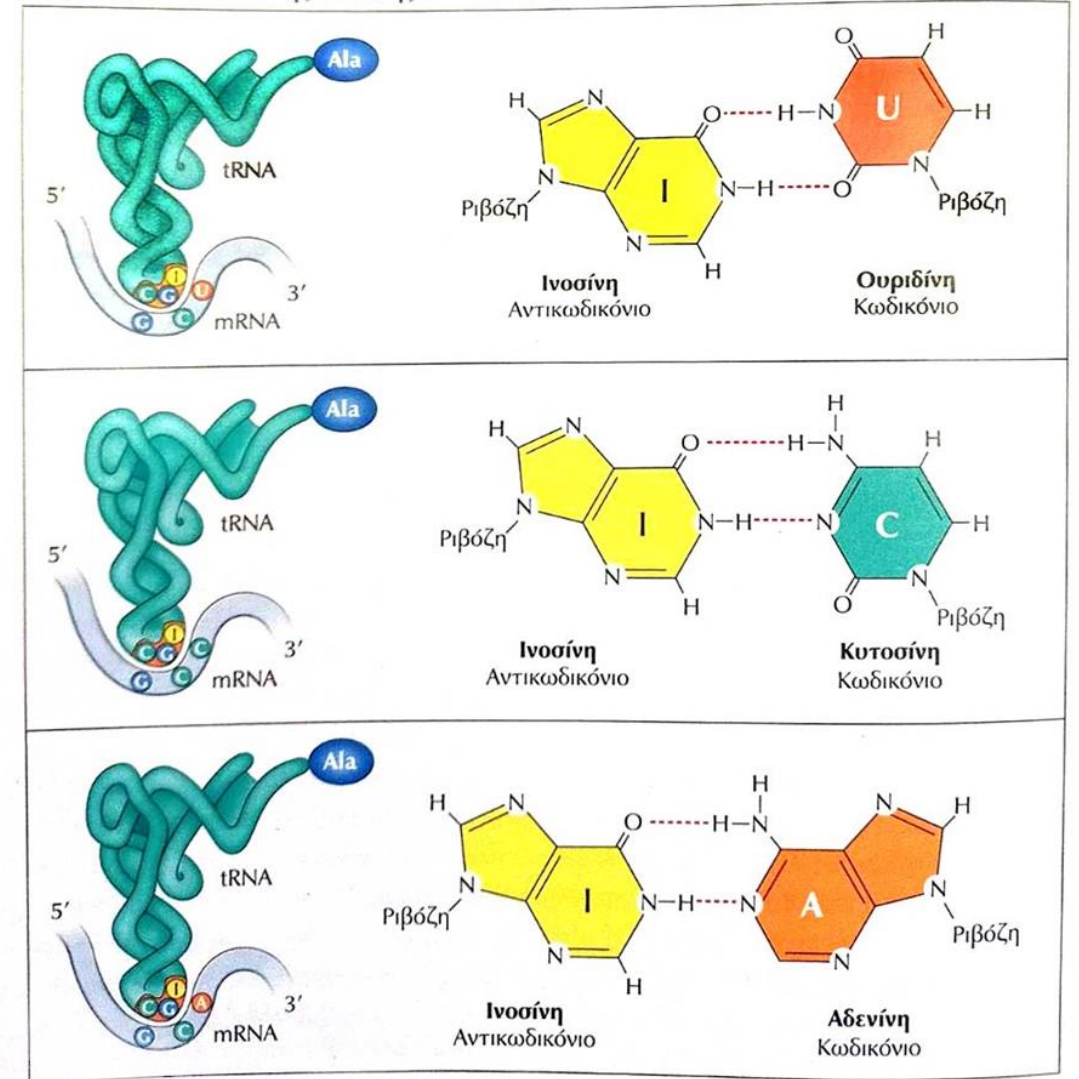
I → A

Αναλυτικότερα η U μπορεί να ζευγαρώνει με A και G (πουρίνες) και η G με C και U (πυριμιδίνες). Όμως το tRNA μπορεί να υποστεί editing (χημικές τροποποιήσεις) και να περιέχει διαφορετικές βάσεις από τις 4 γνωστές όπως τη I (ινοσίνη) που μπορεί να ζευγαρώσει και με τις πυριμιδίνες U, C αλλά και με πουρίνη A.

Υπόθεση Αστάθειας



Ζευγάρωμα του tRNA της αλανίνης



Εδώ βλέπουμε σχηματικά αυτά που αναφέρθηκαν παραπάνω.

Η τρίτη θέση (και σπάνια και η δεύτερη) του κωδικονίου λόγω της αστάθειας επιτρέπει μη φυσιολογικά ζευγαρώματα και γι' αυτό το λόγο μπορεί ο γενετικός κώδικας να είναι εκφυλισμένος

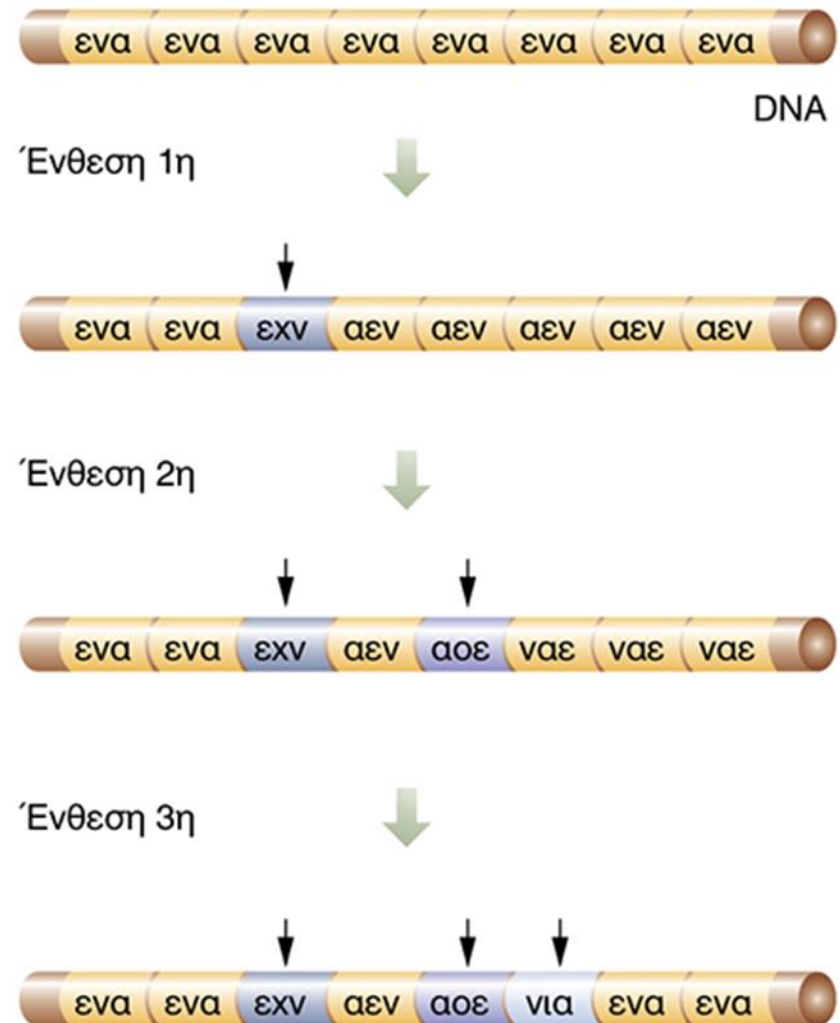
Ανάγνωση Πλαισίου



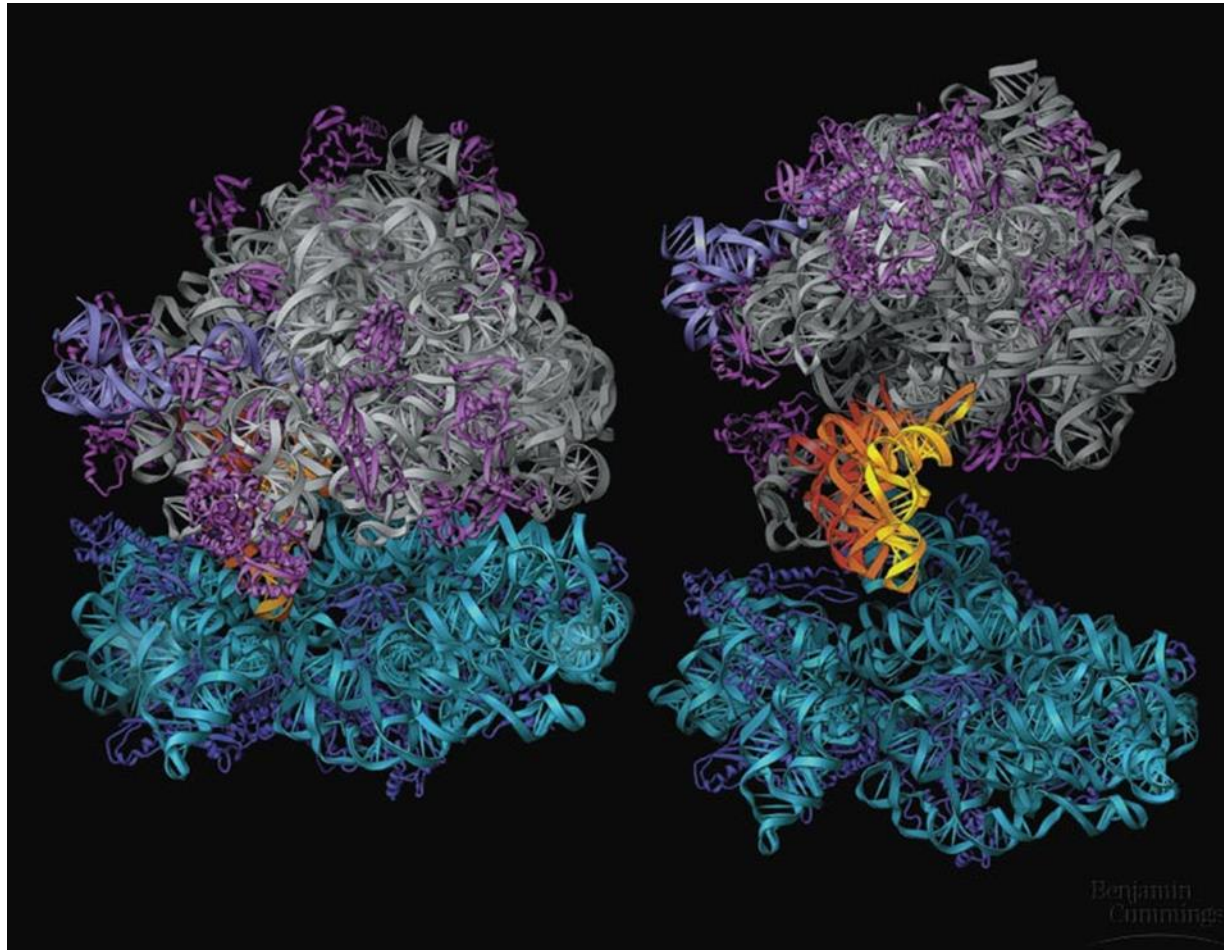
- ❖ Ο Γενετικός Κώδικας διαβάζεται πάντα 5' προς 3'
- ❖ Δεν υπάρχουν κενά μεταξύ των τριπλετών, όλα τα νουκλεοτίδια μεταφράζονται
- ❖ Δεν υπάρχουν επικαλυπτόμενες τριπλέτες, κάθε νουκλεοτίδιο διαβάζεται μόνο μια φορά

Μεταλλαγή Ανάγνωσης Πλαισίου

- ❖ Στο διπλανό σχήμα βλέπουμε την αλλαγή του πλαισίου ανάγνωσης όταν μπαίνει ένα (x), δύο (x και ο) ή τρία (x,ο,ι) νουκλεοτίδια.
- ❖ Οι μεταλλάξεις ανάγνωσης πλαισίου αλλάζουν ολοκληρωτικά τη δομή της πρωτεΐνης από τη μεταλλαγή και μετά.

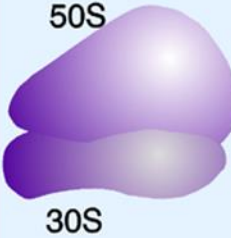
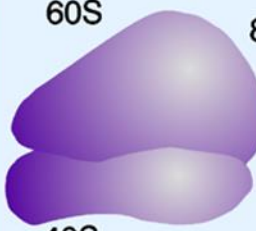


ΡΙΒΟΣΩΜΑ



ΔΟΜΗ ΡΙΒΟΣΩΜΑΤΟΣ

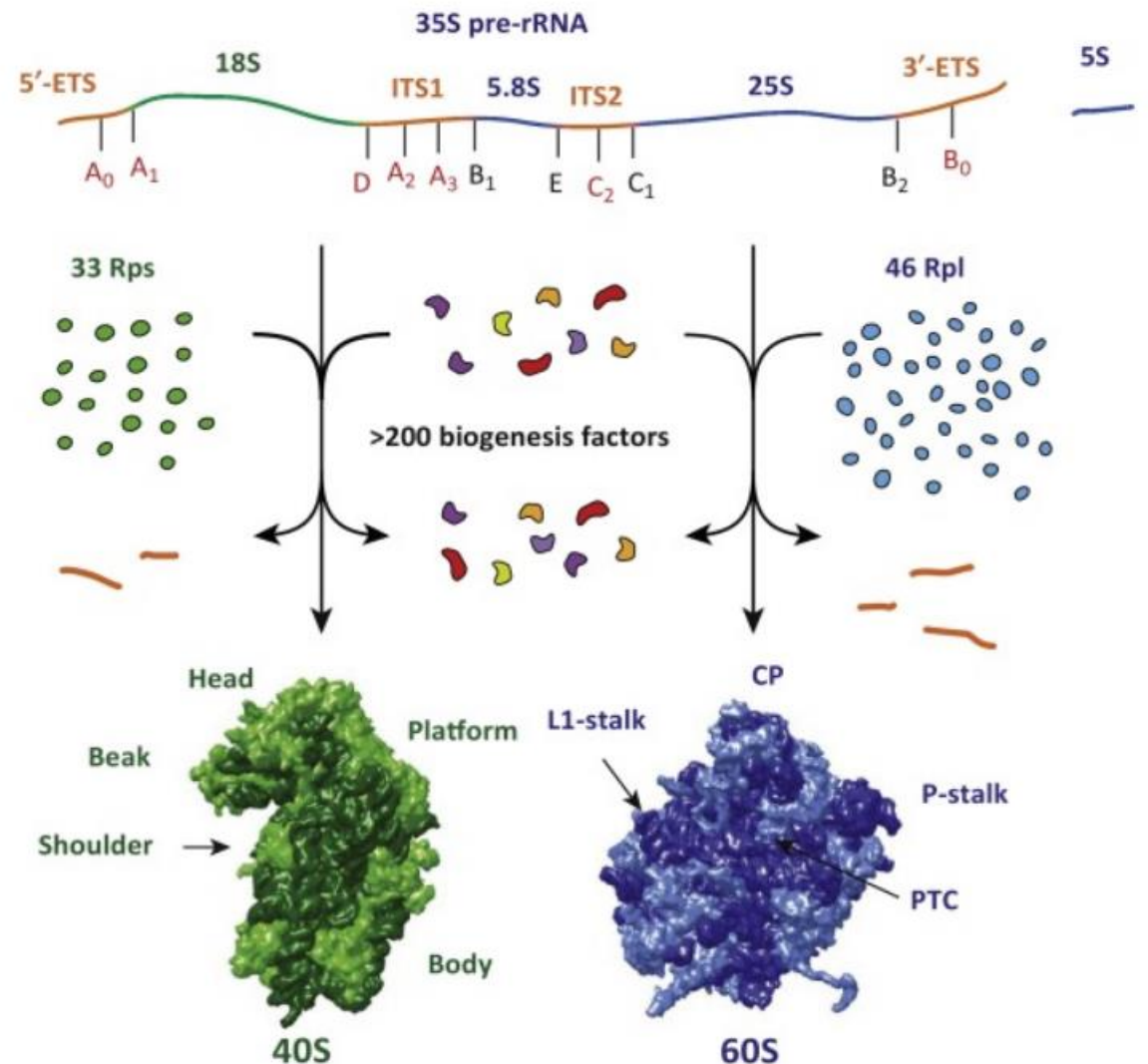
- ❖ Τα ριβοσώματα αποτελούνται από πρωτεΐνες και RNA
- ❖ Κάθε ριβόσωμα αποτελείται από δύο υπομονάδες, μία μεγάλη και μία μικρή.
- ❖ Τα προκαρυωτικά (και τα μιτοχονδριακά) είναι πιο μικρά από τα ευκαρυωτικά και έχουν λιγότερα και αναλογικά μικρότερα rRNA

Ribosomes	rRNAs	Proteins
Bacterial  50S 30S 70S mass: 2.5×10^6 D 66% RNA	23S = 2904 bases 5S = 120 bases 16S = 1542 bases	31 21
Mammalian  60S 40S 80S mass: 4.2×10^6 D 60% RNA	28S = 4718 bases 5.8S = 160 bases 5S = 120 bases 18S = 1874 bases	49 33

ΑΥΤΟΣΥΓΚΡΟΤΗΣΗ ΡΙΒΟΣΩΜΑΤΟΣ

Σύμπλοκα rRNAs και πρωτεϊνών

- ❖ Η συγκρότηση των ριβοσωμάτων γίνεται αυθόρμητα
- ❖ Το rRNA που παράγεται στον **Πυρηνίσκο** δρα ως υπόβαθρο για πρωτεϊνικούς παράγοντες που βοηθούν στη συγκρότηση των πρωτεϊνών σε υπομονάδες
- ❖ Οι υπομονάδες των ριβοσωμάτων (μικρές και μεγάλες) βρίσκονται **και** ελεύθερες στο κυτταρόπλασμα μέχρι την έναρξη της μεταγραφής όπου η μικρή υπομονάδα ενώνεται με το mRNA

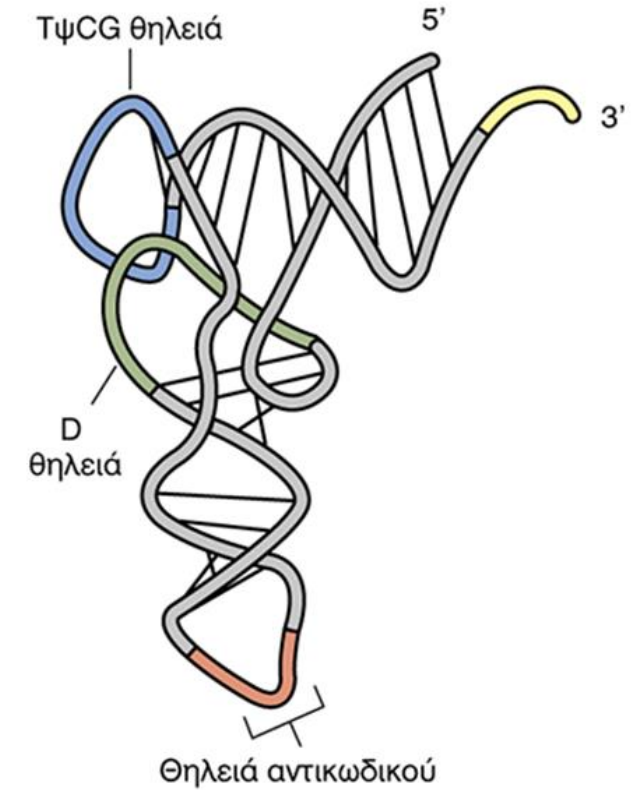
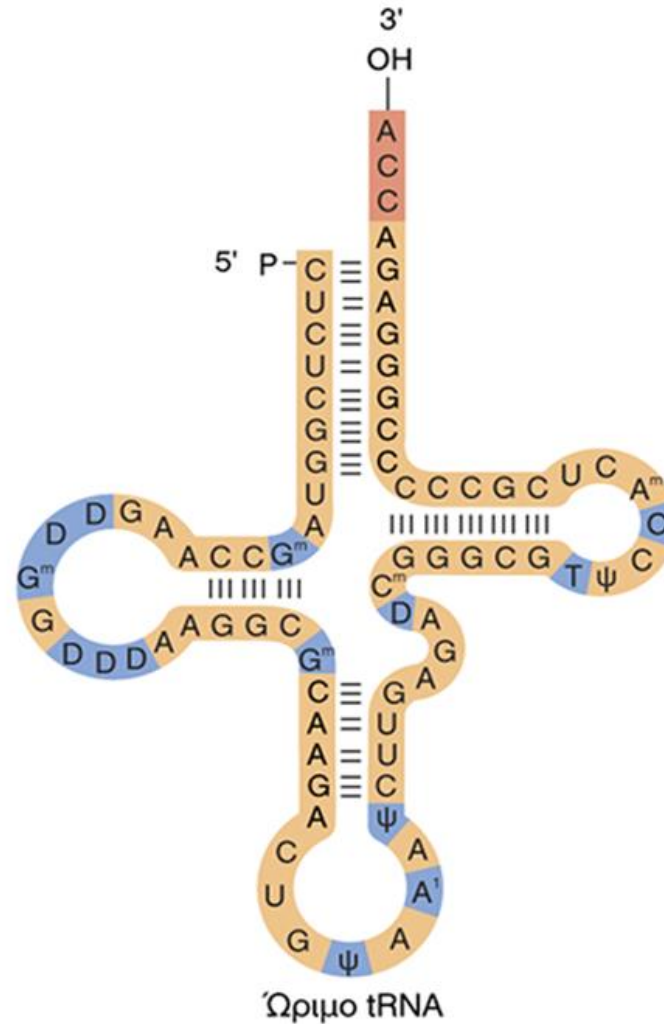


ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

- Ριβοσώματα
- mRNA
- tRNAs
- Αμινοάκυλο-tRNA-συνθετάσες (καταλύουν την σύνδεση των αμινοξέων στο tRNA)
- Πρωτεϊνικοί παράγοντες
- Ενέργεια → ATP, GTP

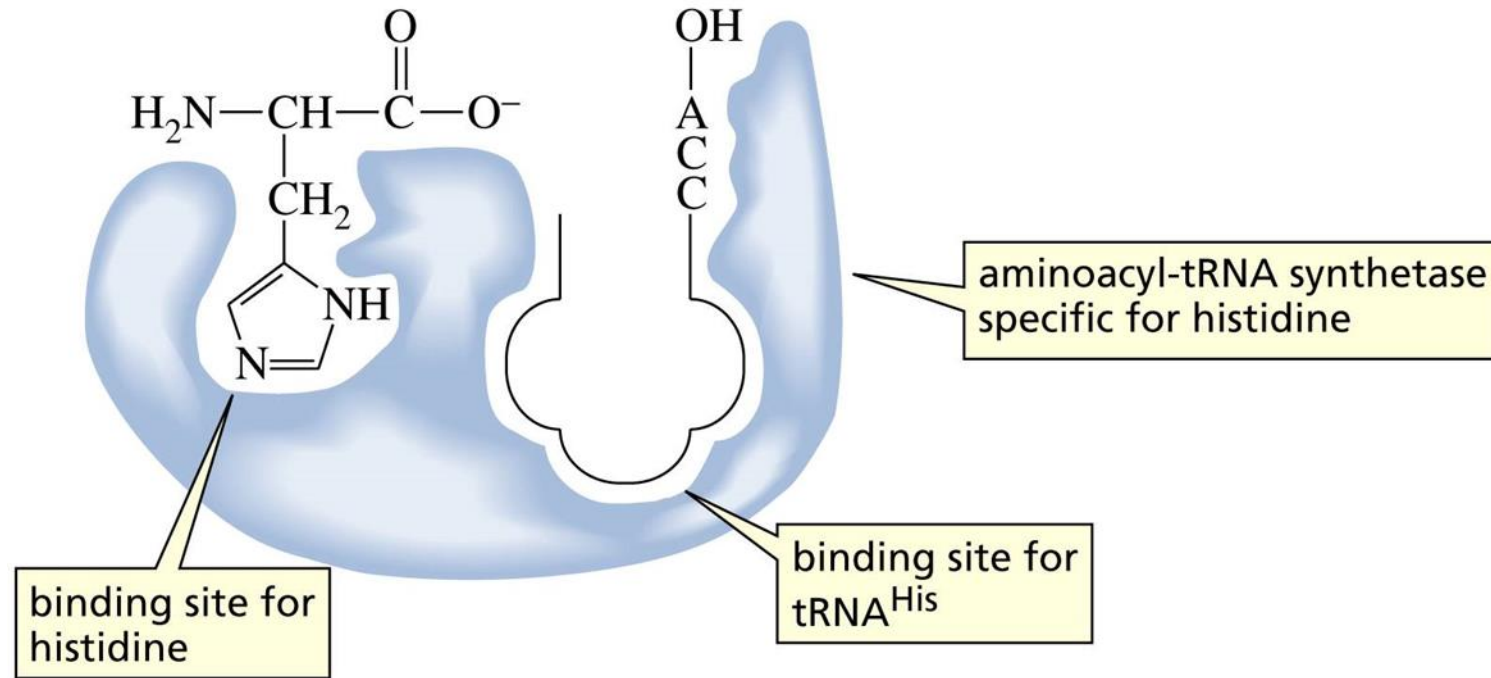
tRNAs

- ❖ Το tRNA έχει στην πραγματικότητα σχήμα Γ
- ❖ Αυτό οφείλεται στους ενδομοριακούς δεσμούς κυρίως δεσμούς υδρογόνου
- ❖ Υπάρχουν νουκλεοτίδια που έχουν υποστεί χημικές τροποποιήσεις
- ❖ Στο 3' άκρο γίνεται η σύνδεση με το αμινοξύ
- ❖ Στο κάτω άκρο του Γ υπάρχει το αντικωδικόνιο που αλληλεπιδρά με το κωδικόνιο του mRNA



Ενεργοποίηση αμινοξέων

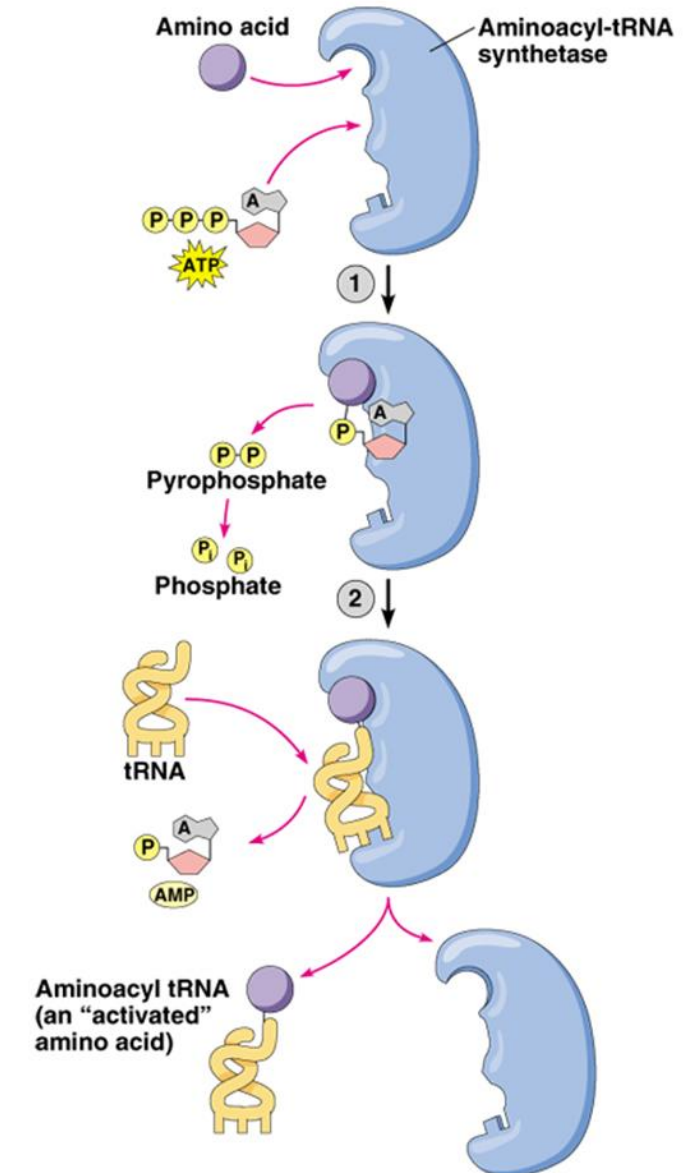
Αμινο-ακυλο-tRNA συνθετάση-Ένα ένζυμο για κάθε αα



- ❖ Το ένζυμο **Αμινο-ακυλο-tRNA συνθετάση** καταλύει την ομοιοπολική σύνδεση του tRNA με το αμινοξύ
- ❖ Έχει δύο θέσεις πρόσδεσης μία για το αμινοξύ και μία για το tRNA
- ❖ Υπάρχει διαφορετικό ένζυμο για κάθε αμινοξύ που συνδέονται όλα τα tRNA που είναι ειδικά για το αμινοξύ (διαφορετικό κωδικόνιο)

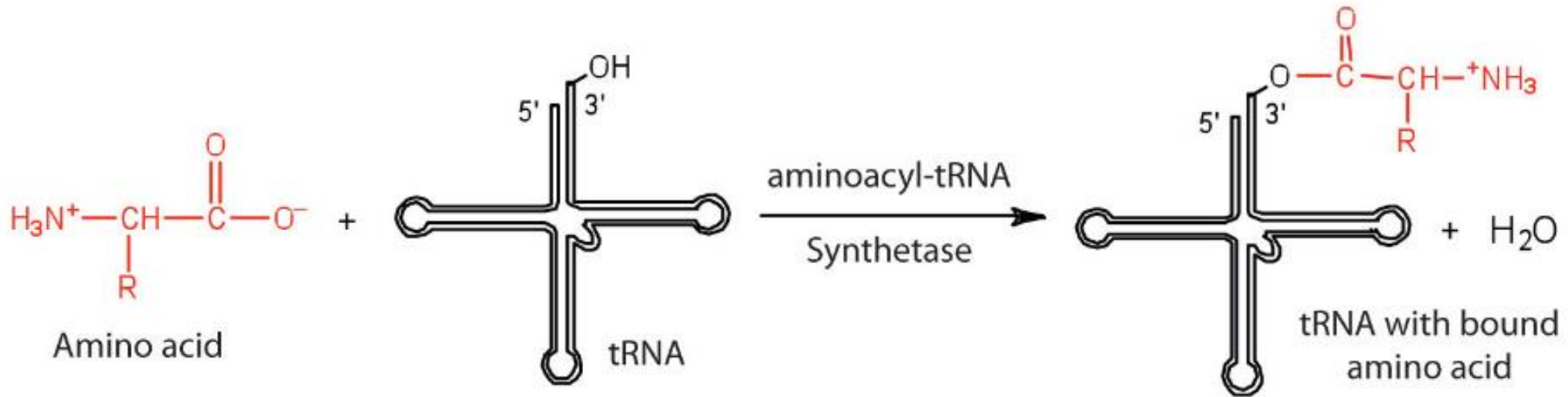
Ενεργοποίηση αμινοξέων

- ❖ Στην αρχή ενώνεται το αμινοξύ στο ένζυμο μαζί με ATP
- ❖ Το ATP μετατρέπεται σε cAMP που ενώνεται με το αμινοξύ και παράγεται πυροφωσφορικό
- ❖ Με την ενέργεια από το πυροφωσφορικό καταλύεται η αντίδραση σύνδεσης με ομοιοπολικό δεσμό του tRNA με το αμινοξύ



Ενεργοποίηση αμινοξέων

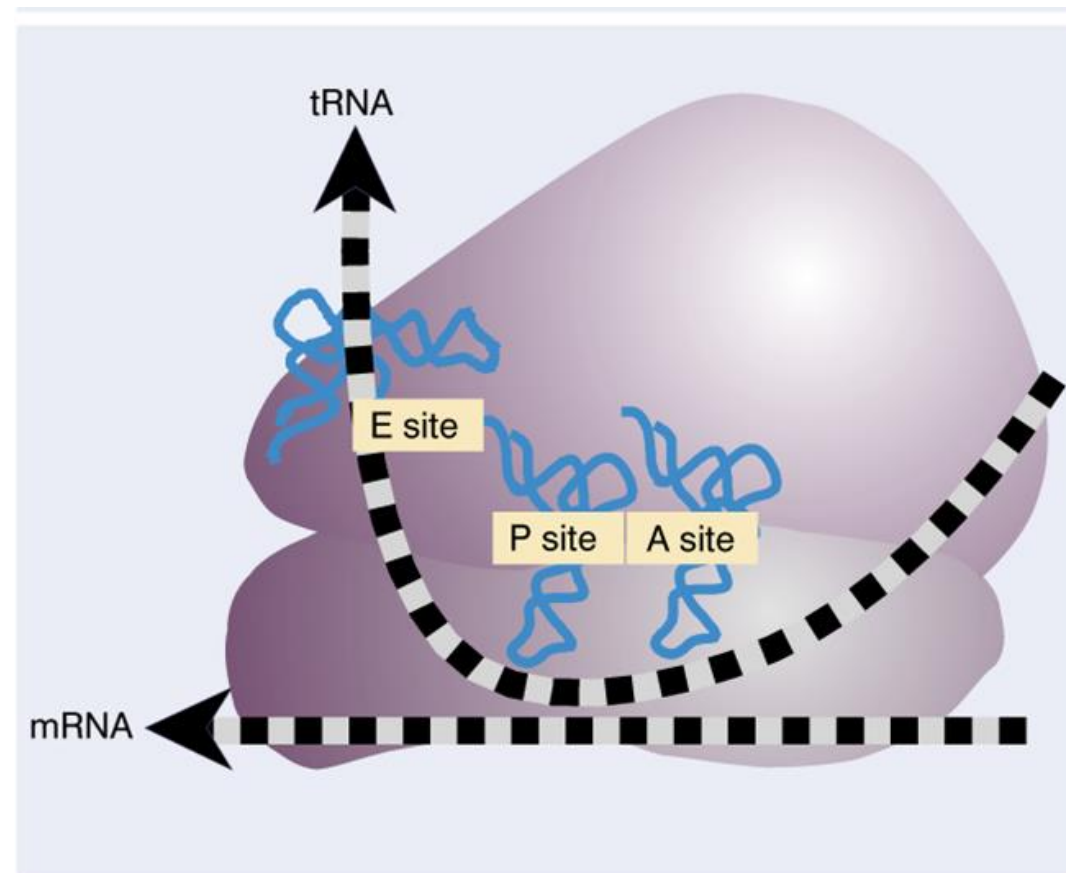
Αμινο-ακυλο-tRNA συνθετάση-Ένα ένζυμο για κάθε αα



- ❖ Το αμινοξύ ενώνεται με την καρβοξυλομάδα το 3' OH του tRNA με εστερικό δεσμό
- ❖ Η αμινομάδα μένει ελεύθερη για να δημιουργήσει τον πεπτιδικό δεσμό κατά την πρωτεϊνοσύνθεση

Θέσεις Δέσμευσης στο Ριβόσωμα

- ❖ Το mRNA συνδέεται στη μικρή υπομονάδα
- ❖ Τρεις θέσεις για tRNA δημιουργούνται από την ένωση της μικρής και της μεγάλης υπομονάδας
- ❖ Στη θέση A (Amino acid) είναι το tRNA δεσμευμένο με αμινοξύ
- ❖ Στη θέση P (Peptide) είναι το tRNA δεσμευμένο με πεπτίδιο
- ❖ Στη θέση E (Exit) είναι το tRNA μόνο του

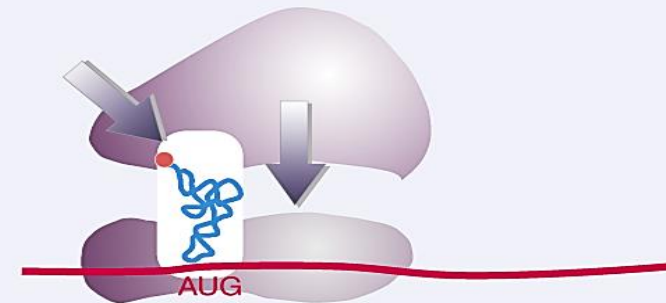


Στάδια Πρωτεϊνοσύνθεσης

- **Έναρξη:** Ενώνεται η μικρή υπομονάδα στο mRNA, προστίθεται το tRNA που μεταφέρει μεθειονίνη, και στην συνέχεια ενώνεται η μεγάλη υπομονάδα
- **Επιμήκυνση:** Έρχονται διαδοχικά tRNA με τα επόμενα αμινοξέα και σχηματίζεται το πεπτίδιο
- **Τερματισμός:** Αποδιοργανώνεται το σύμπλοκο ριβοσώματος mRNA και απομακρύνεται το πεπτίδιο στο κυτταροδιάλυμα
- Σε όλα αυτά τα στάδια συμμετέχουν διάφοροι πρωτεϊνικοί παράγοντες

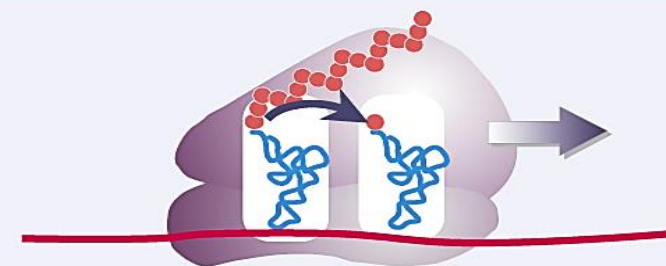
Initiation

30S subunit on mRNA binding site is joined by 50S subunit and aminoacyl-tRNA binds



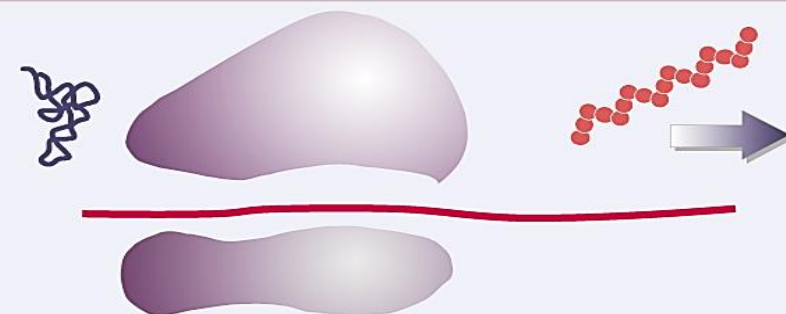
Elongation

Ribosome moves along mRNA and length of protein chain extends by transfer from peptidyl-tRNA to aminoacyl-tRNA



Termination

Polypeptide chain is released from tRNA, and ribosome dissociates from mRNA



Έναρξη Πρωτεϊνοσύνθεσης

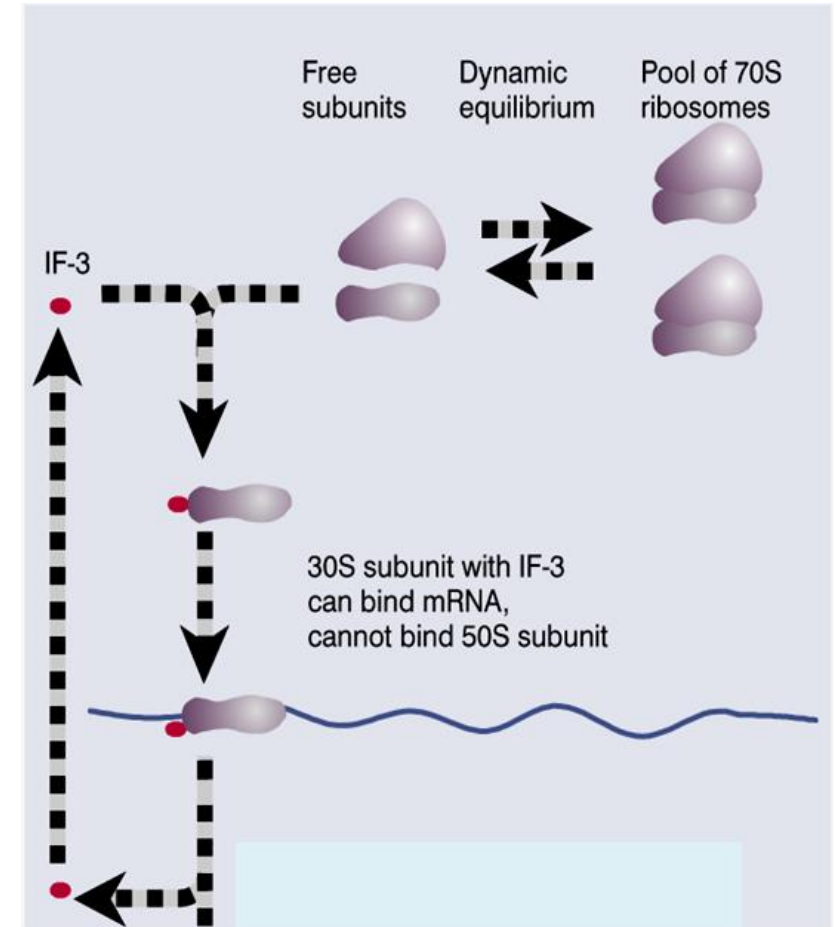
Απαραίτητα συστατικά

- ❖ Μικρή ριβοσωμική υπομονάδα
- ❖ mRNA με το κωδικόνιο AUG
- ❖ tRNA έναρξης (φορμυλομεθειονίνης για τα προκαρυωτικά και μεθειονίνη για τα ευκαριωτικά)
- ❖ Παράγοντες Έναρξης
 - ❖ eIFs (Eukaryotic initiation factors)
 - ❖ IFs (Initiation factors) στους προκαριώτες

Έναρξη Πρωτεϊνοσύνθεσης

Σύνδεση mRNA-Μικρής Υπομονάδας

Στην αρχή Μικρή υπομονάδα συνδέεται
με τον IF-3 προκειμένου να συνδεθεί με
το mRNA

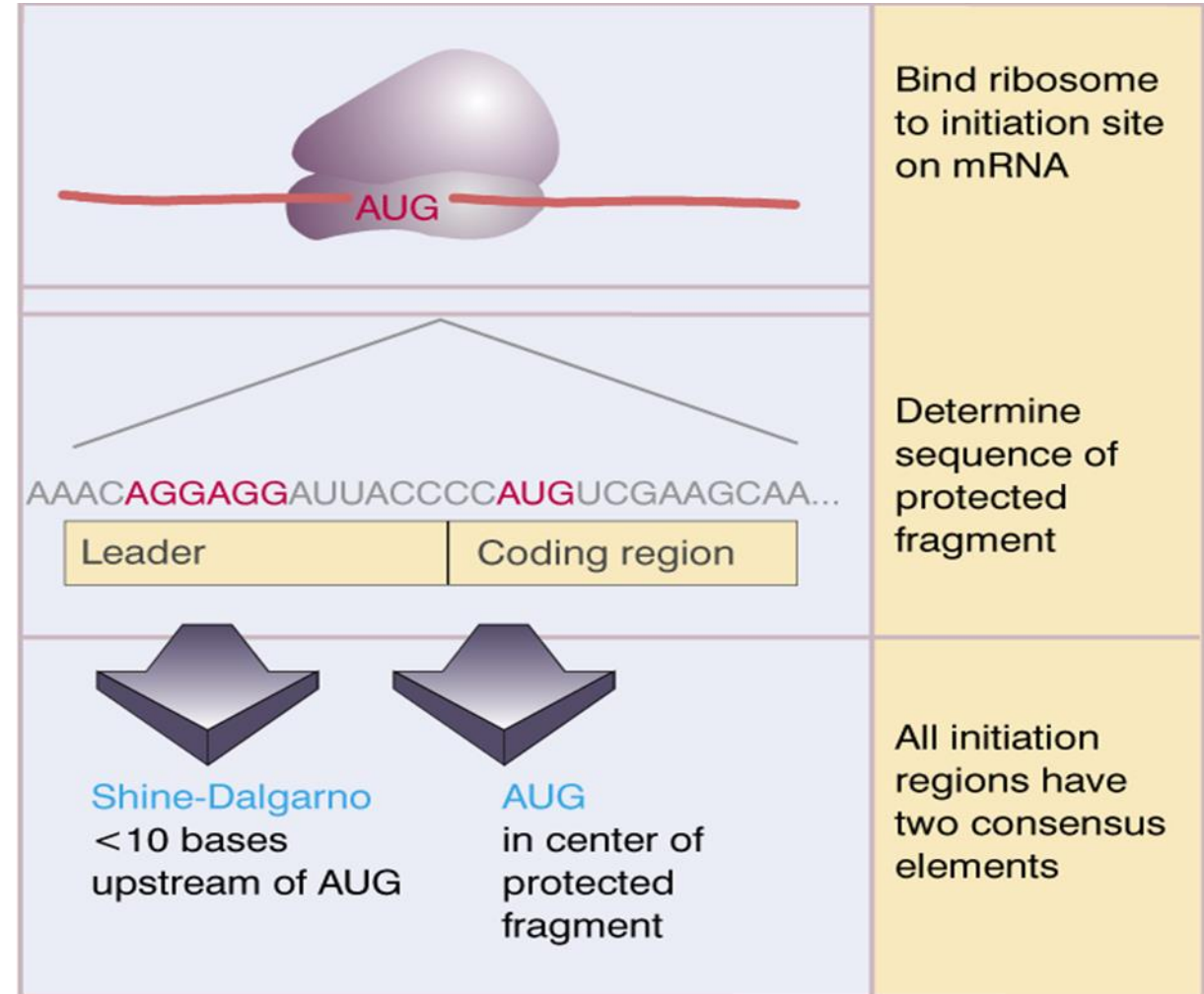


Έναρξη Πρωτεϊνοσύνθεσης

Σύνδεση mRNA-Μικρής Υπομονάδας

Στα βακτήρια, πριν το κωδικόνιο έναρξης (4-7 βάσεις) στο mRNA βρίσκεται μια αλληλουχία πλούσια σε πουρίνες **AGGAGG**, γνωστή ως **αλληλουχία Shine-Dalgarno** και βοηθάει στην ισχυρότερη πρόσδεση mRNA και ριβοσώματος, ώστε το AUG να βρίσκεται στο κέντρο της μικρής υπομονάδας

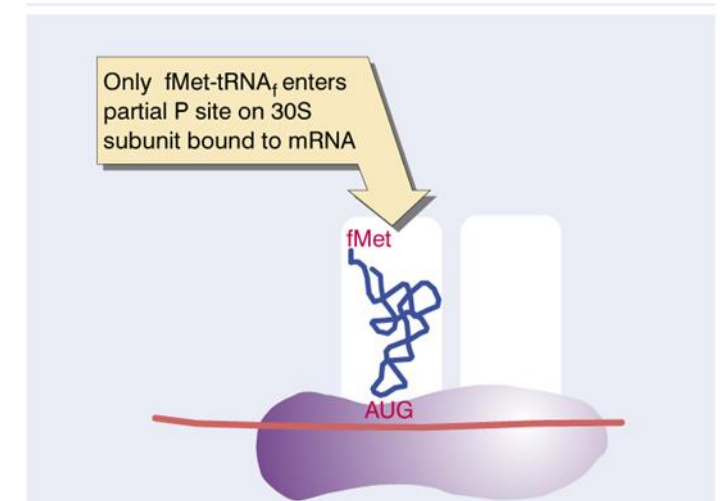
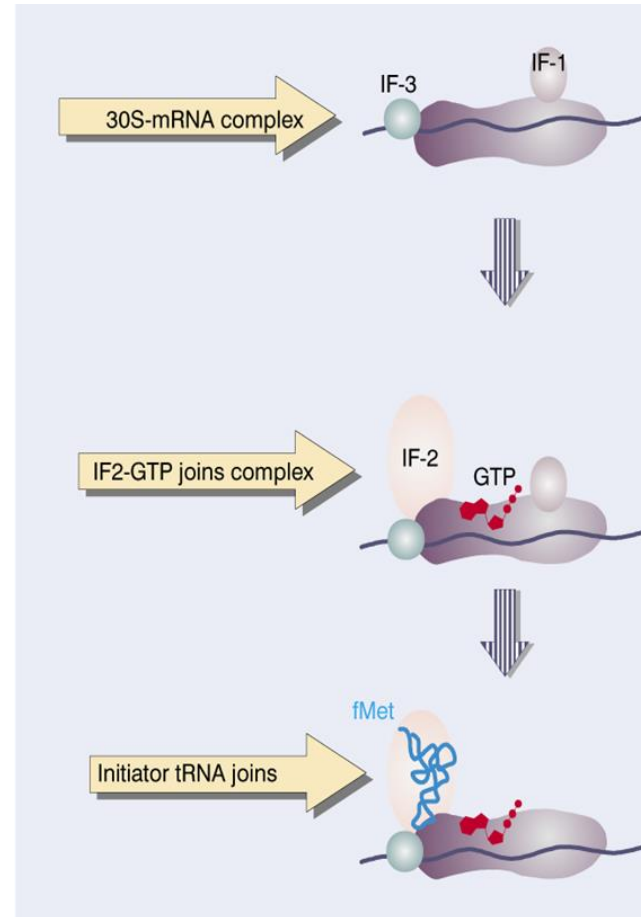
Στα ευκαρυωτικά κύτταρα δεν υπάρχει τέτοια περιοχή και το πρώτο AUG δρα ως κωδικόνιο έναρξης.



Έναρξη Πρωτεϊνοσύνθεσης

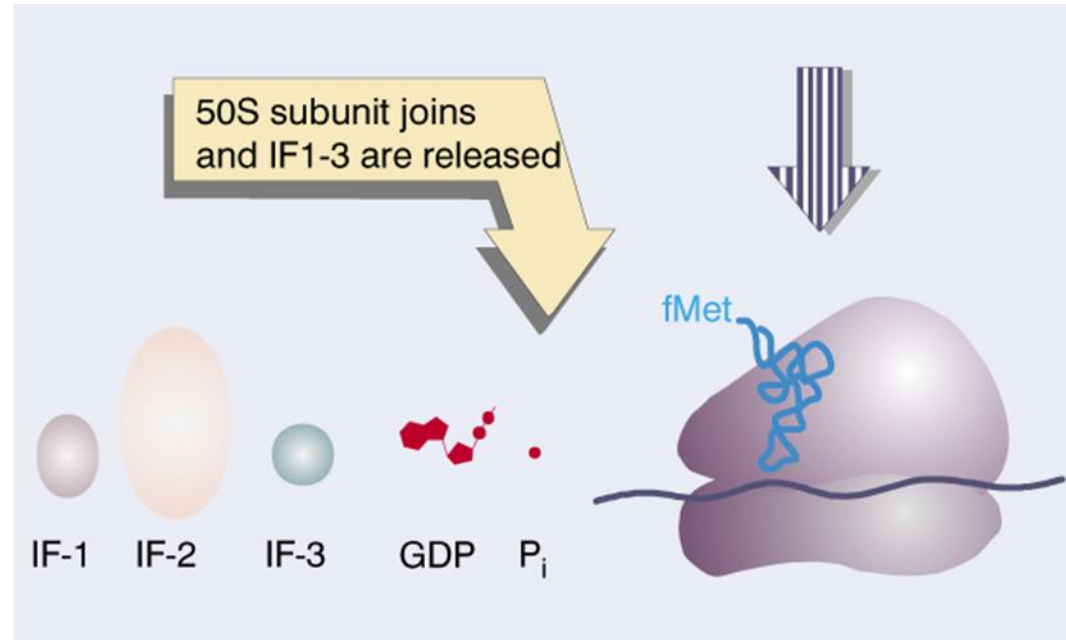
Σύνδεση 1ου αμινοάκυλο-tRNA

- ❖ Μετά τον παράγοντα IF -3 συνδέεται ο **IF-1** και αλλάζει διαμόρφωση η μικρή υπομονάδα για να συνδεθεί ο **IF-2 με GTP** και το **tRNA για την N-φορμυλο-μεθειονίνη**
- ❖ Το **GTP** παρέχει την απαραίτητη ενέργεια για την διαδικασία
- ❖ Το **tRNA για την N-φορμυλο-μεθειονίνη** είναι το μοναδικό που μπορεί να συνδεθεί όταν είναι μόνο η μικρή υπομονάδα



Έναρξη Πρωτεϊνοσύνθεσης

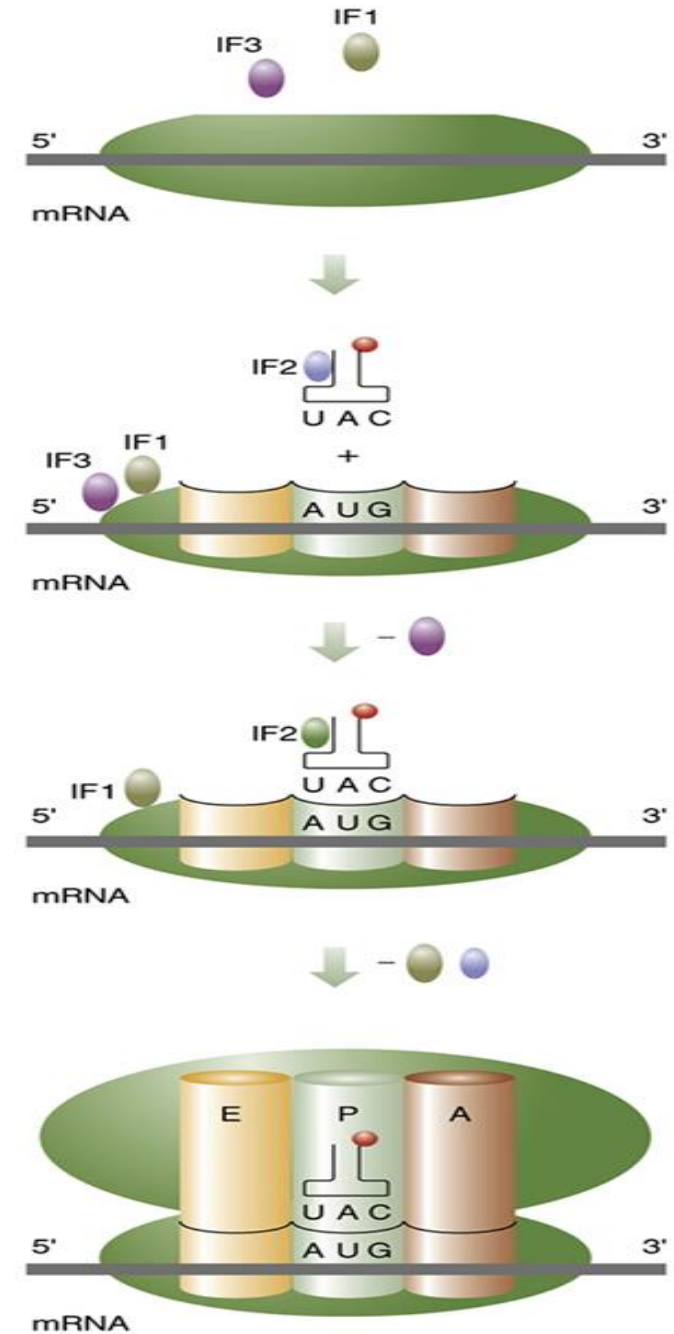
Απελευθέρωση IFs και πρόσδεση Μεγάλης Υπομονάδας



Με τη διάσπαση GTP σε GDP **απελευθερώνονται οι παράγοντες IFs** αλλάζει η διαμόρφωση της μικρής υπομονάδας και **ενώνεται η μεγάλη υπομονάδα**

Έναρξη Πρωτεϊνοσύνθεσης

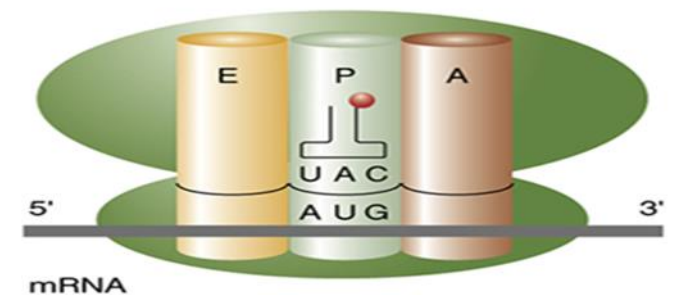
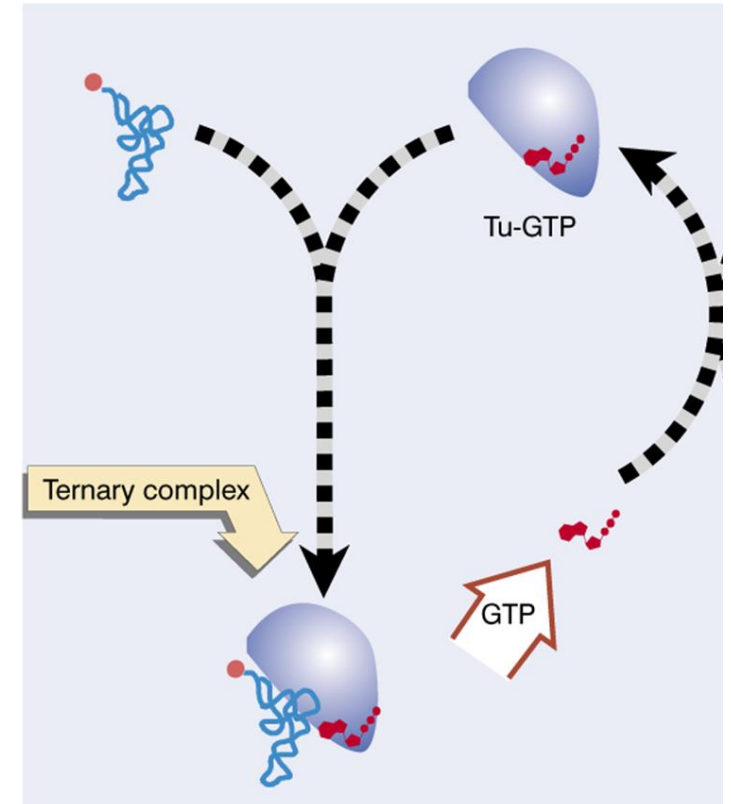
Οπότε με την έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης υπάρχει ένα **tRNA** με αμινοξύ στη θέση **P**



Επιμήκυνση

Δημιουργία Συμπλόκου αμινοάκυλο-tRNA Παράγοντα Επιμήκυνσης

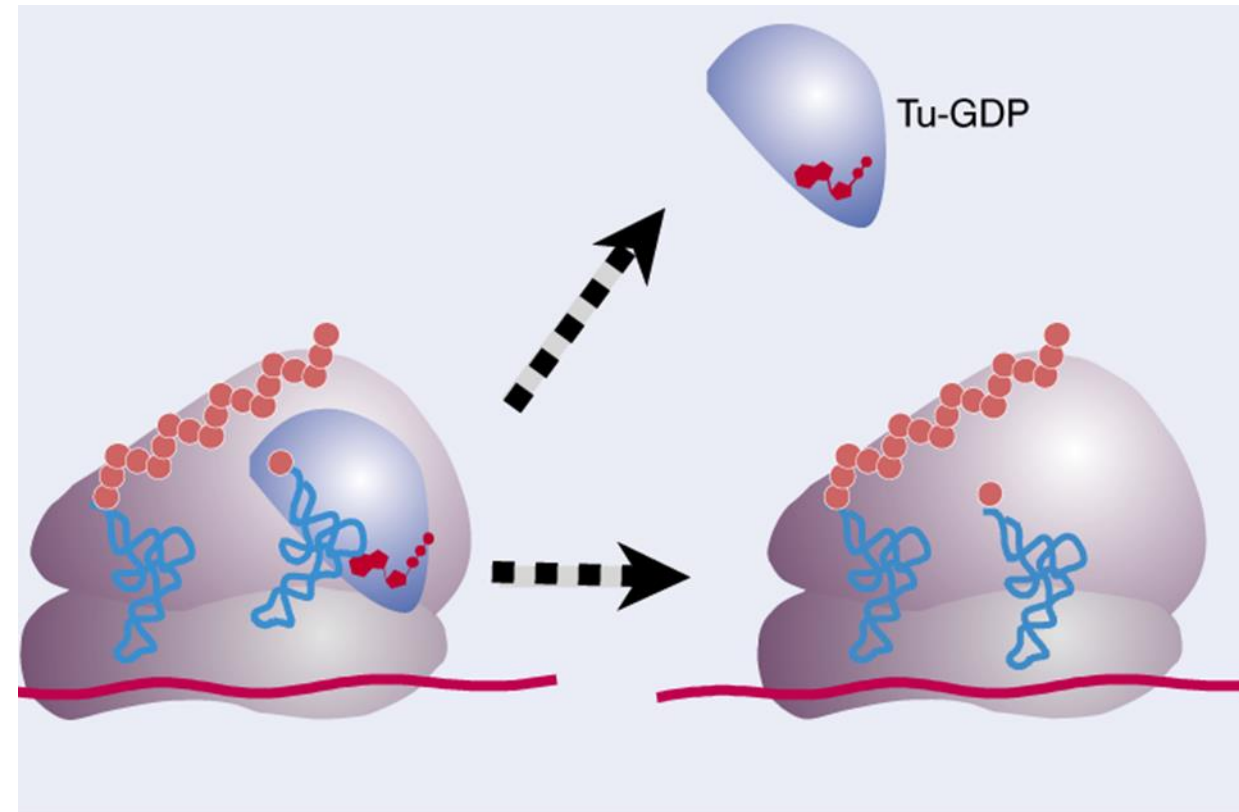
- ❖ Κατά την επιμήκυνση το επόμενο tRNA με το αμινοξύ συνδέεται με το παράγοντα επιμήκυνσης **EF-Tu** (**Elongation factor-Tu**) (**eEF1** στα ευκαρυωτικά) που περιέχει ήδη GTP
- ❖ Στη συνέχεια το σύμπλοκο μπαίνει στη θέση A



Επιμήκυνση

Υδρόλυση GTP – Απελευθέρωση συμπλόκου Tu-GDP

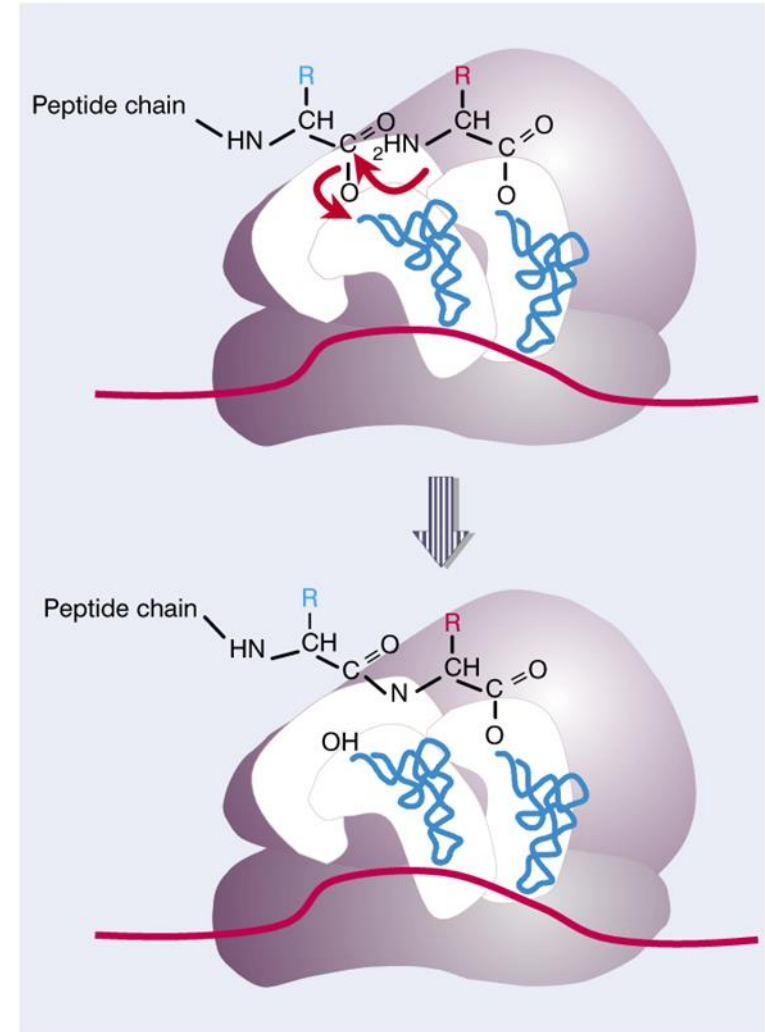
- ❖ Με τη τοποθέτηση του tRNA στη θέση A γίνεται αλληλεπίδραση κωδικονίου-αντικωδικονίου
- ❖ Αν οι δεσμοί υδρογόνου είναι ισχυροί (υπάρχει πλήρης συμπληρωματικότητα) το σύμπλοκο παραμένει το tRNA ευθυγραμμίζεται και ο παράγοντας επιμήκυνσης απομακρύνεται με τη υδρόλυση του GTP
- ❖ Στην αντίθετη περίπτωση οι δεσμοί υδρογόνου είναι ασταθείς και σύμπλοκο με το λάθος tRNA απομακρύνεται



Επιμήκυνση

Δημιουργία Πεπτιδικού Δεσμού

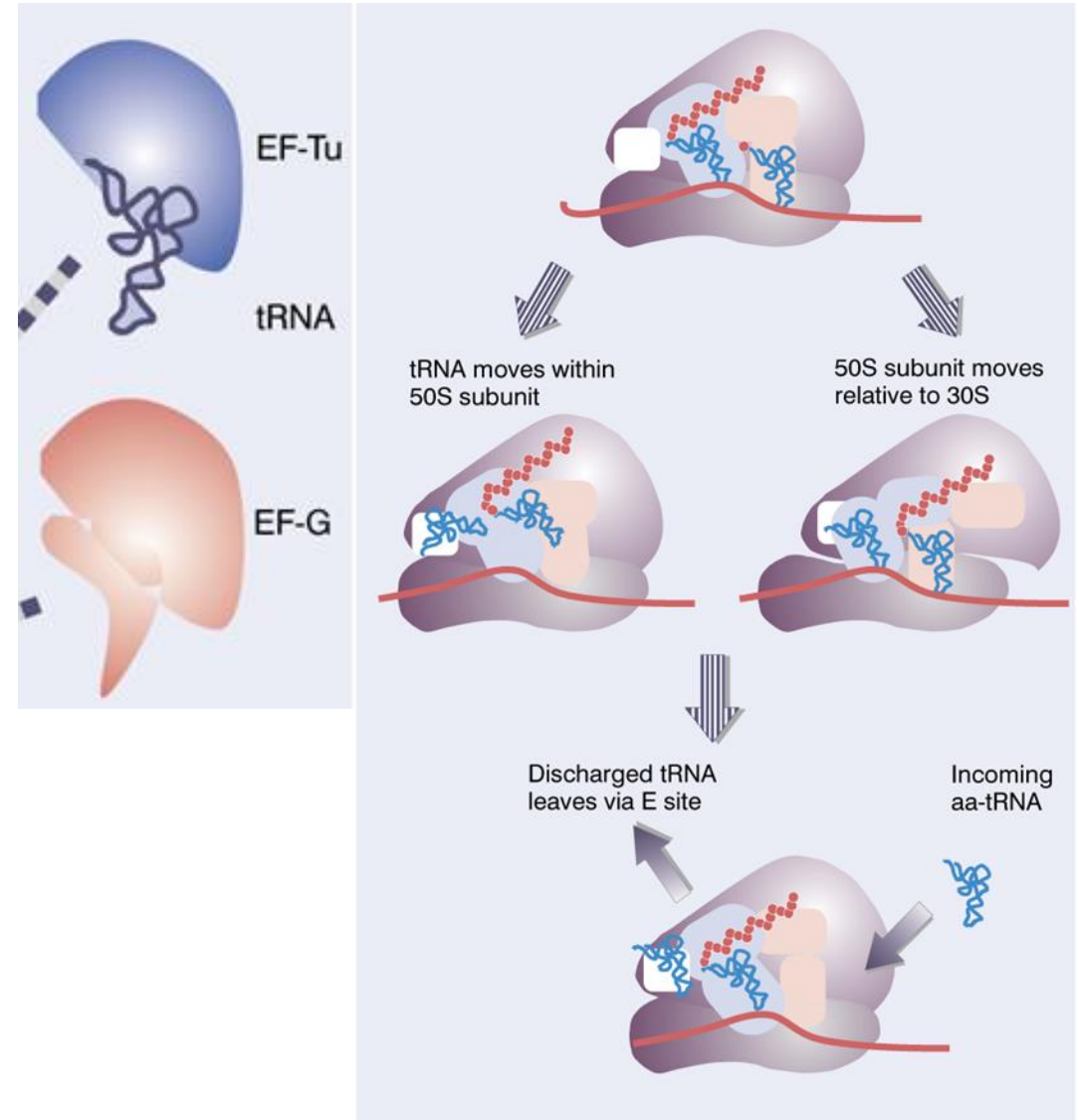
- ❖ Το tRNA είναι τώρα σταθερό στη θέση A και με την ενέργεια από την Υδρόλυση GTP (απομάκρυνση Tu-GDP) δημιουργείται από την **Πεπτιδυλοτρανσφεράση** πεπτιδικός δεσμός μεταξύ της Καρβοξυλομάδας του αα στη θέση P και της Αμινομάδας του αα στη θέση A
- ❖ Η Πεπτιδυλοτρανσφεράση είναι ένας συνδυασμός πρωτεϊνικών παραγόντων με το ριβόσωμα που καταλύει το πεπτιδικό δεσμό
- ❖ Οπότε το αμινοξύ ή το πεπτίδιο μεταφέρεται από την θέση P στο tRNA της A και επιμηκώνεται κατά ένα αα



Επιμήκυνση

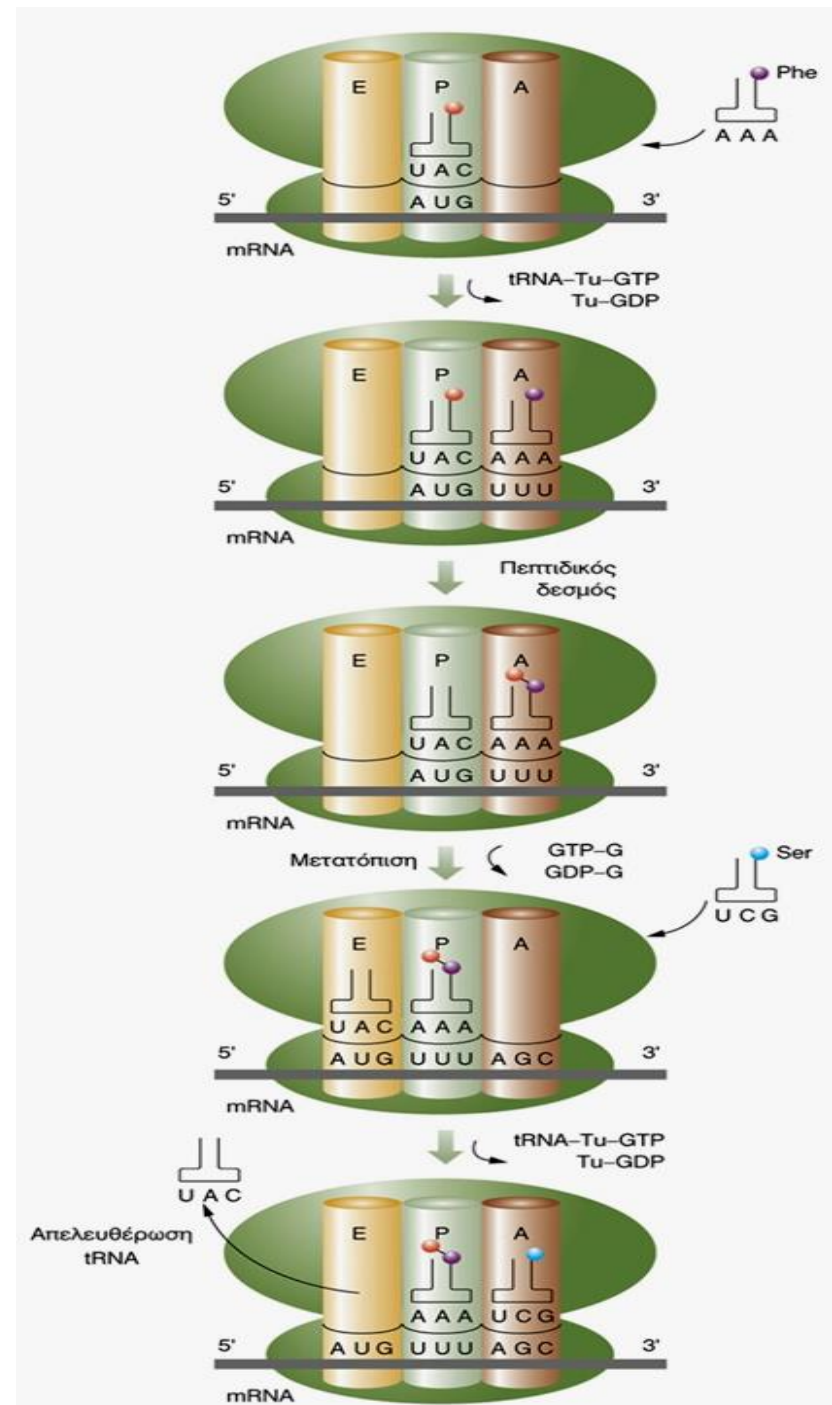
Μετατόπιση ριβοσώματος & Απελευθέρωση tRNA

- ❖ Για την μεταφορά το tRNA με το πεπτίδιο από τη A χρειάζεται ο παράγοντας επιμήκυνσης **EF-G (Elongation factor G)**
- ❖ Ο EF-G σπρώχνει το tRNA με το πεπτίδιο από τη θέση A στη θέση P και αυτό με τη σειρά του σπρώχνει το σκέτο tRNA από την θέση P στη θέση E από όπου φεύγει στο κυτταρόπλασμα.
- ❖ Η Ενέργεια για αυτή τη μετακίνηση προέρχεται από υδρόλυση επιπλέον **GTP** που φέρνει ο EF-G



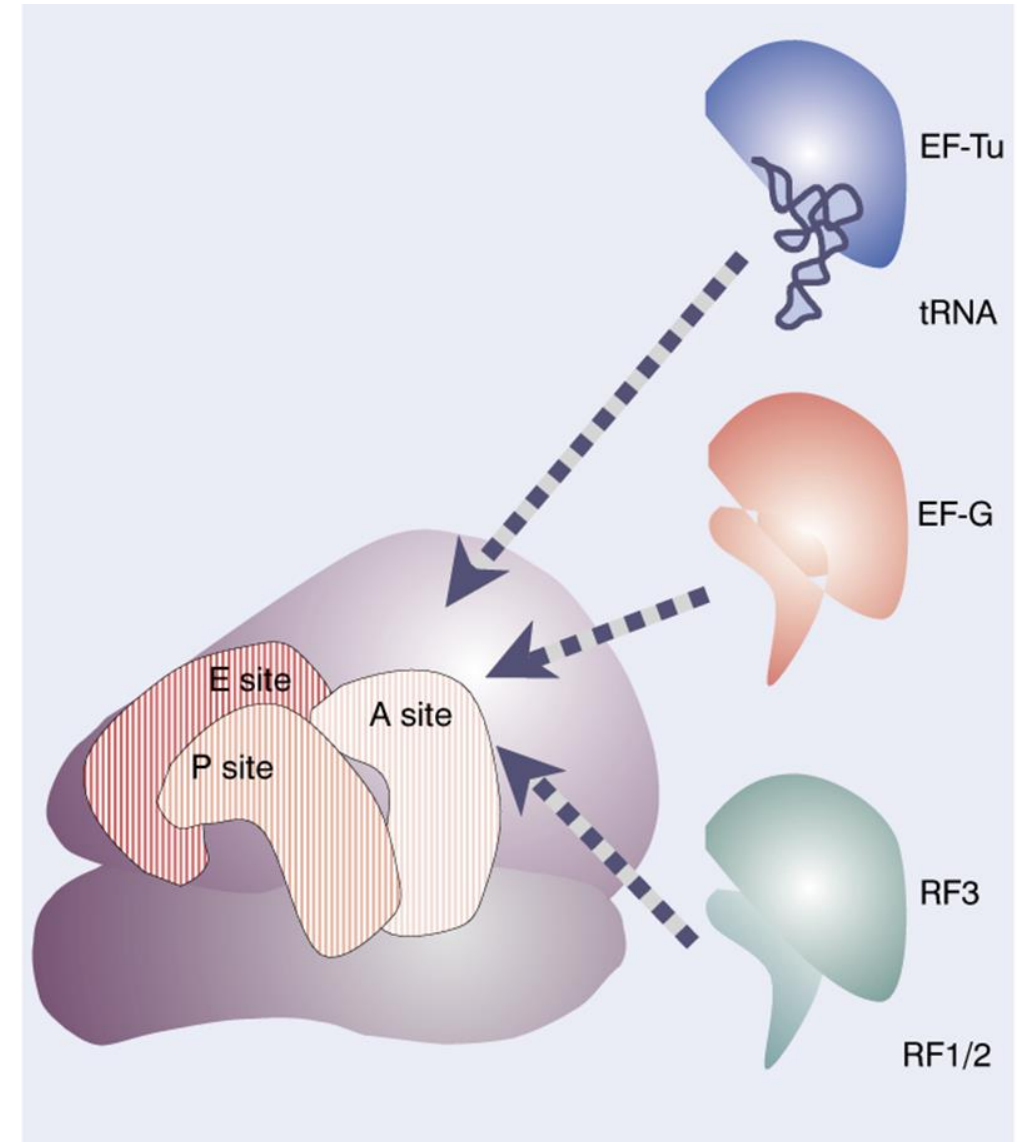
Επιμήκυνση

Συνοπτικά όλη η διαδικασία της επιμήκυνσης απεικονίζεται στο διπλανό σχήμα

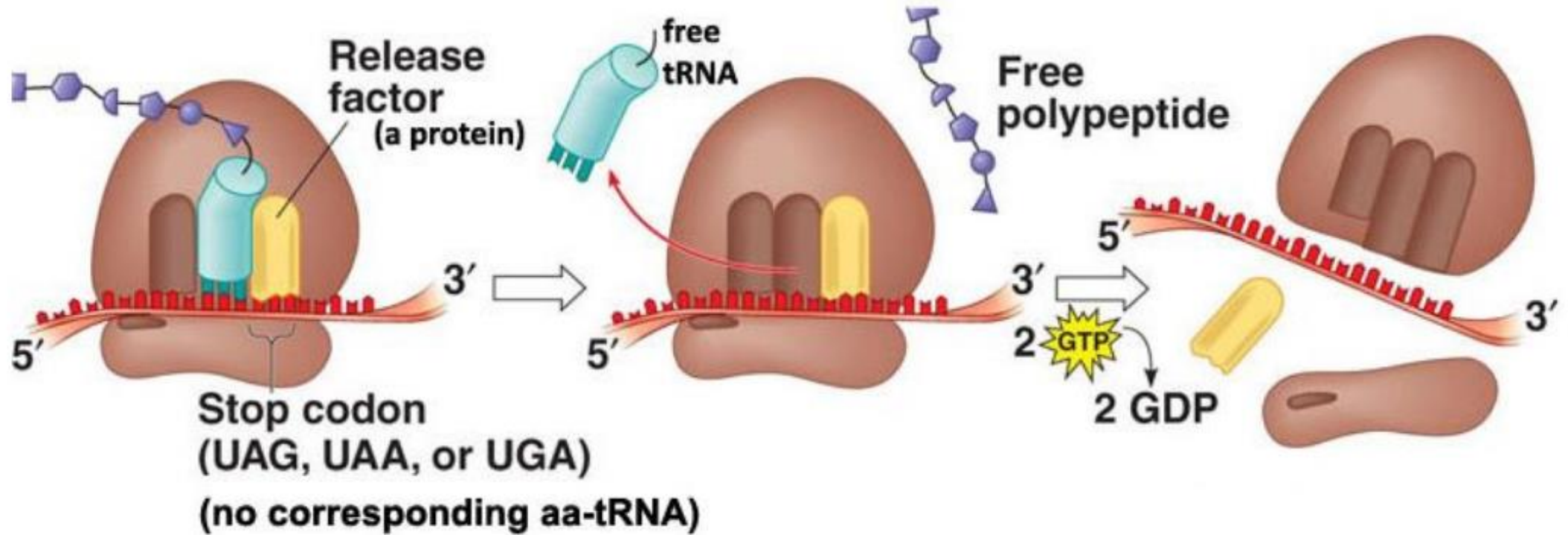


Τερματισμός Πρωτεϊνοσύνθεσης

- ❖ Κατά το τερματισμό γίνεται αναγνώριση του κωδικόνιου τερματισμού (από τους **Παράγοντες Απελευθέρωσης RF1-3 (Release factor)** στους προκαρυώτες και **eRF1-2** στους ευκαρυώτες
- ❖ Μορφή των παραγόντων RF1-3 μοιάζει με τη μορφή του EF-G και του EF-Tu και ταιριάζουν όλα με τη δομή της θέσης A
- ❖ Όταν στη θέση A μπει ο παράγοντας RF στο κωδικόνιο λήξη παραμένει αρκετά ώστε να λήξει η πρωτεϊνοσύνθεση



Τερματισμός Πρωτεϊνοσύνθεσης



Στο τερματισμό γίνεται με προσθήκη ενός μόριου H_2O αντί αμινομάδας στο πεπτίδιο που καταλύεται από τον παράγοντα τερμασμού (RF) και για ενέργεια χρησιμοποιείται υδρόλυση δύο GTP

http://wn.com/The_wonders_of_a_tiny_cell

<http://www.youtube.com/watch?v=lkq9AcBcohA&feature=fvwrel>

<http://pubs.acs.org/cen/science/87/8751sci1.html>

Ενδεικτικές Ερωτήσεις

- ❖ Γιατί λέμε ότι ο γενετικός κώδικας είναι εκφυλισμένος;
- ❖ Ποια είναι η μοριακή βάση της υπόθεσης της αστάθειας;
- ❖ Ποιοι κανόνες διέπουν τον γενετικό κώδικα;
- ❖ Ποια είναι η λειτουργία της Αμινο-ακυλο-tRNA συνθετάσης
- ❖ Ποιες είναι οι φάσεις της μετάφρασης και ποιοι παρόντες συμμετέχουν σε καθεμία από αυτές;
- ❖ Τι είναι η αλληλουχία Shine – Dalgarno;