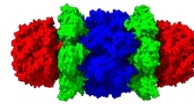


Traducerea mesajului genetic și plierea proteinelor în structurile tridimensionale native

Sinteza proteinelor = traducerea mesajului genetic



Sinteza proteinelor se realizează în cursul procesului de **traducere a** mesajului transcris ca ARNm într-o catenă de aminoacizi, proces ce se realizează în **ribozomi** cu participarea **ARNt**.

ARNt :

- tip specific de ARN codificat de molecula de ADN dar care nu este tradus în aminoacizi
- are rolul de a transporta și poziționa aminoacizi în viitoarea catenă.
- au fost descrise 45 de tipuri diferite de ARNt ce au aceeași formă trilobară dar care diferă unul de celălalt prin:
 - o secvență specifică de trei nucleotide amplasată pe ce-a de-a doua buclă – secvență numită **anticodon**. Fiecare tip de ARNr conține un alt anticodon ce este complementar cu un codon.
 - afinitatea față de aminoacizi – fiecare tip de ARNt are capacitatea de a se cupla cu un aminoacid specific, funcție de anti-codonul de pe cea de-a doua buclă.

Ribozomul:

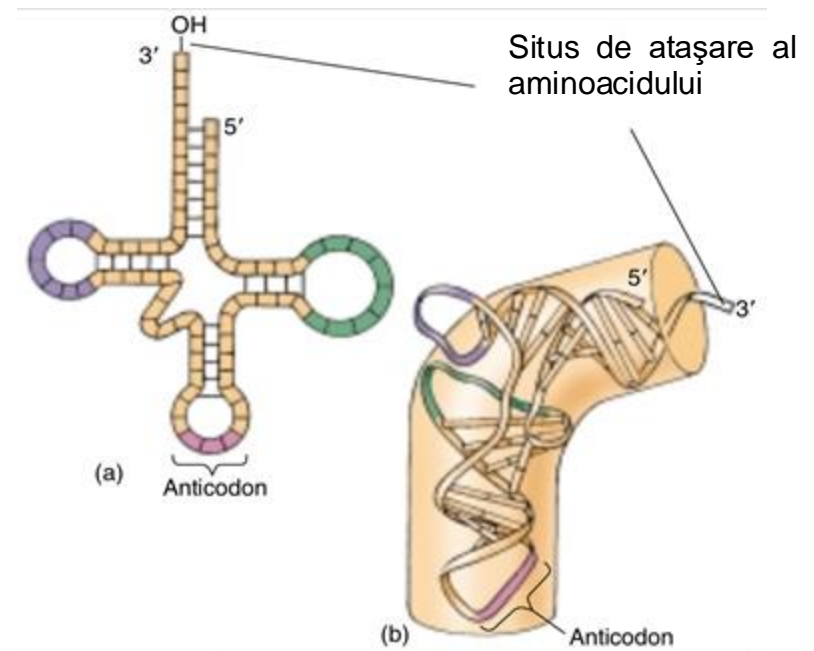
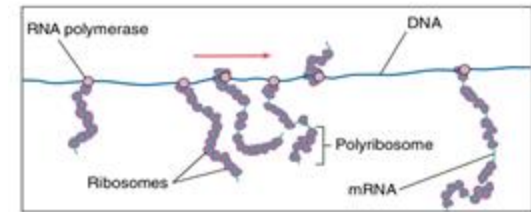
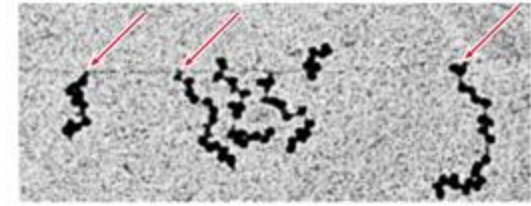
Care este structura ribozomului? Ce conține ribozomul?

La nivelul ribozomului au fost descrise 3 situs-uri funcționale:

Situs P – (peptidil) – are loc formarea legăturii peptidice

Situs A – (aminoacil) – legarea moleculelor de ARNt cu aminoacizi

Situs E – (exit) – situs-ul pe unde ARNt fără aminoacizi părăsește ribozomul



Diverse modele ale ARNt



Ribozomul la procariote vs. eucariote

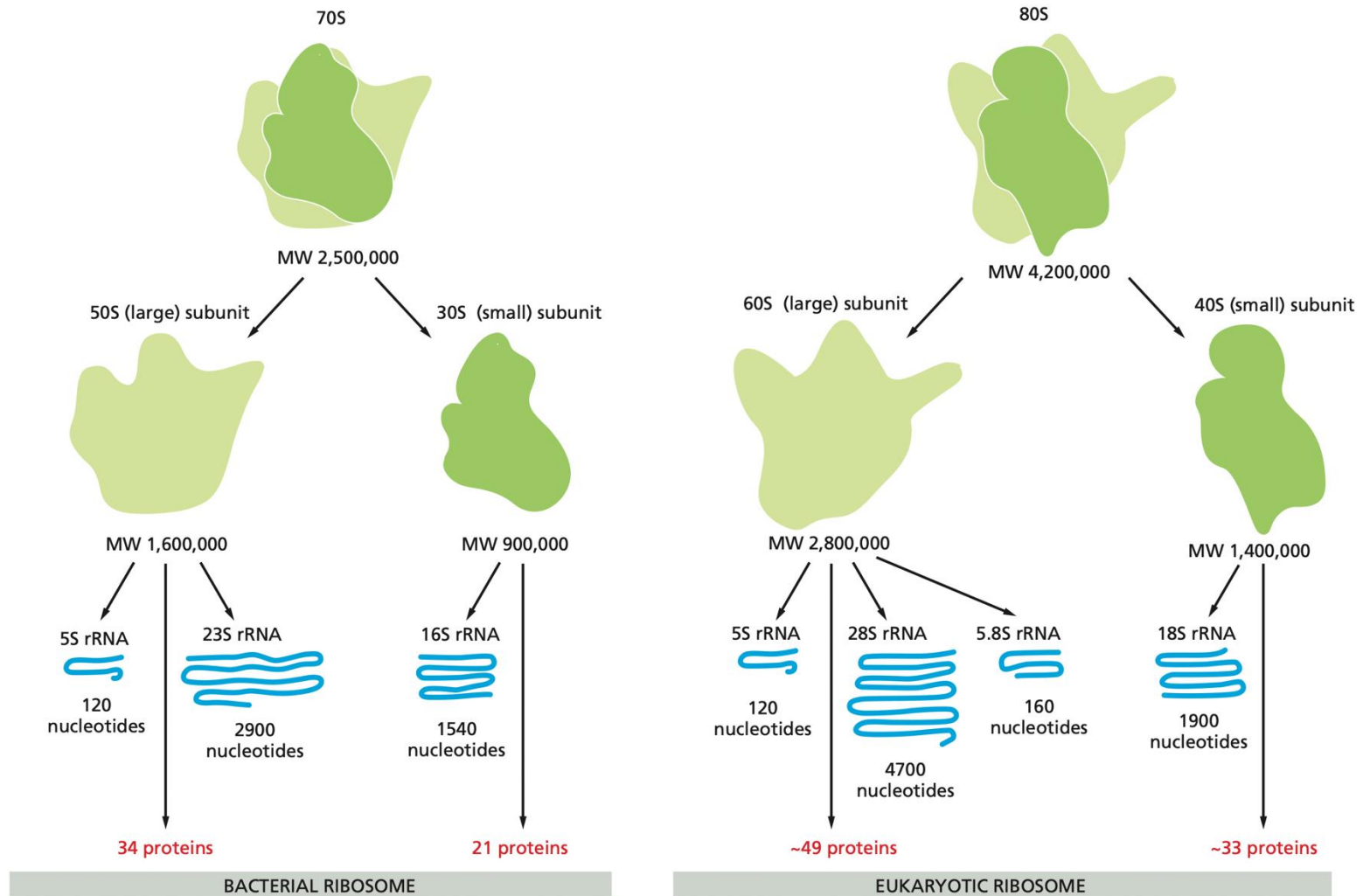
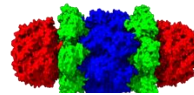
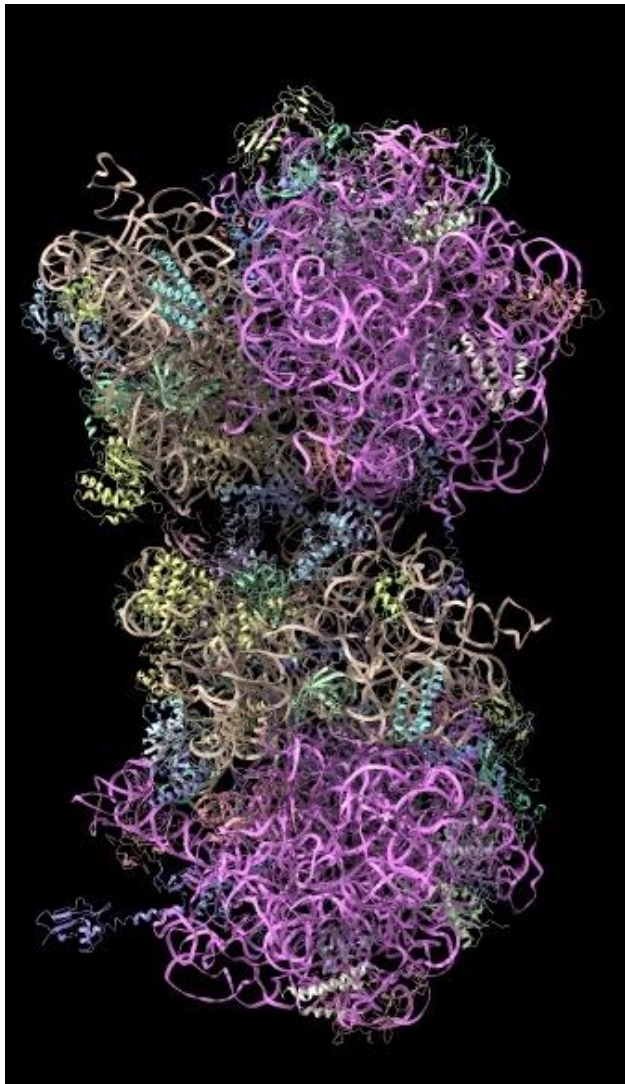
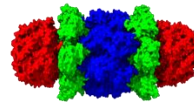
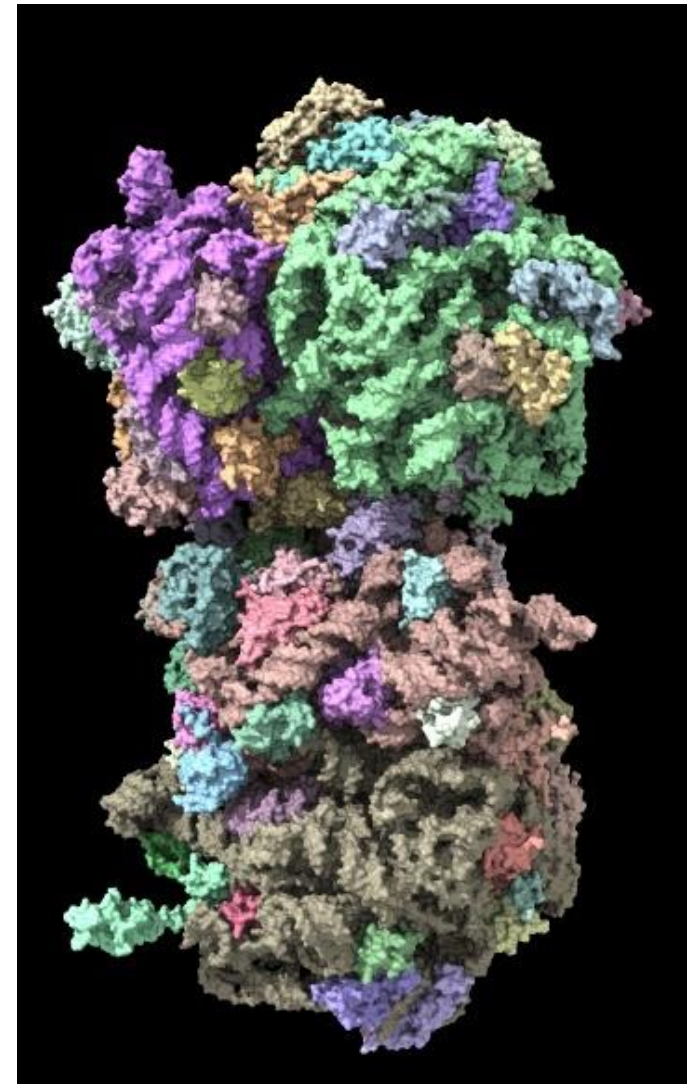


Figure 6-61 A comparison of bacterial and eukaryotic ribosomes. Despite differences in the number and size of their rRNA and protein components, both bacterial and eukaryotic ribosomes have nearly the same structure and they function similarly. Although the 18S and 28S rRNAs of the eukaryotic ribosome contain many nucleotides not present in their bacterial counterparts, these nucleotides are present as multiple insertions that form extra domains and leave the basic structure of the rRNA largely unchanged.

Alberts; Molecular Biology of the Cell, pg. 341

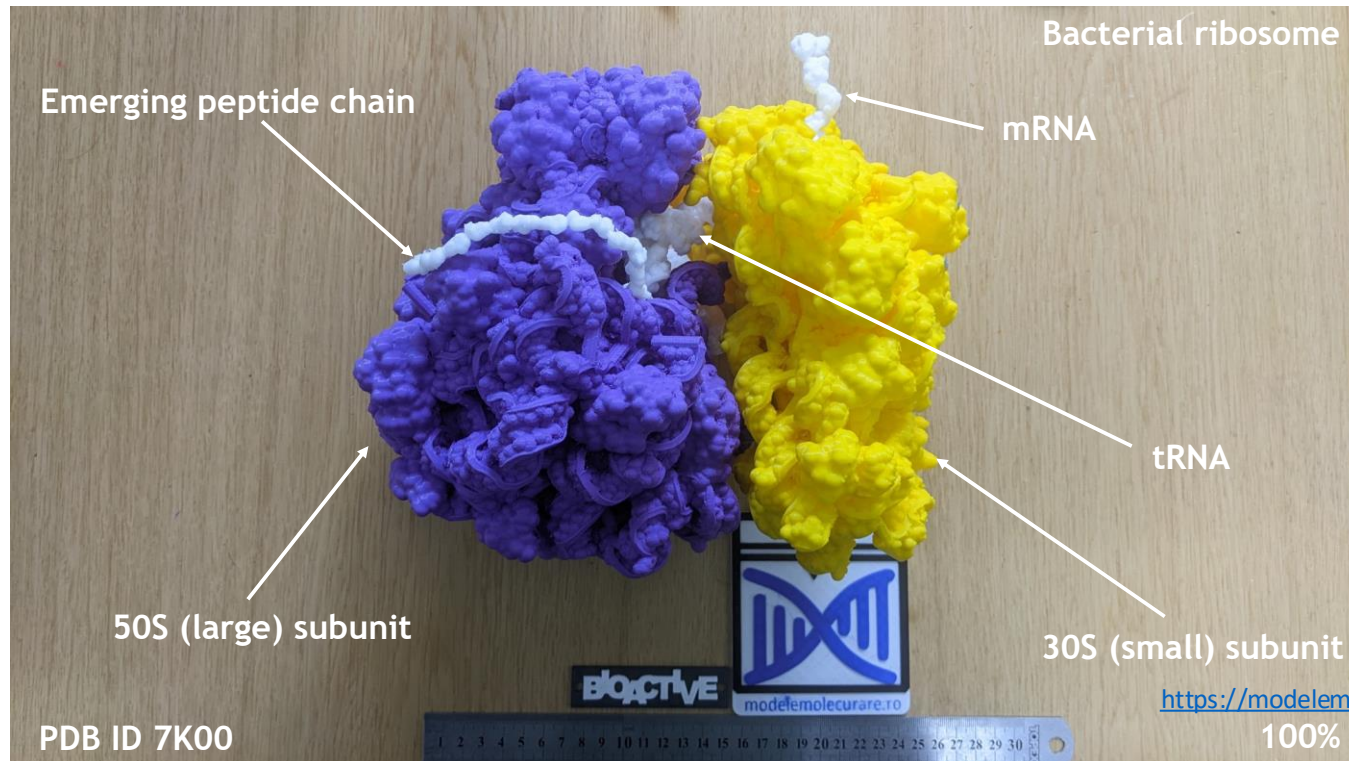
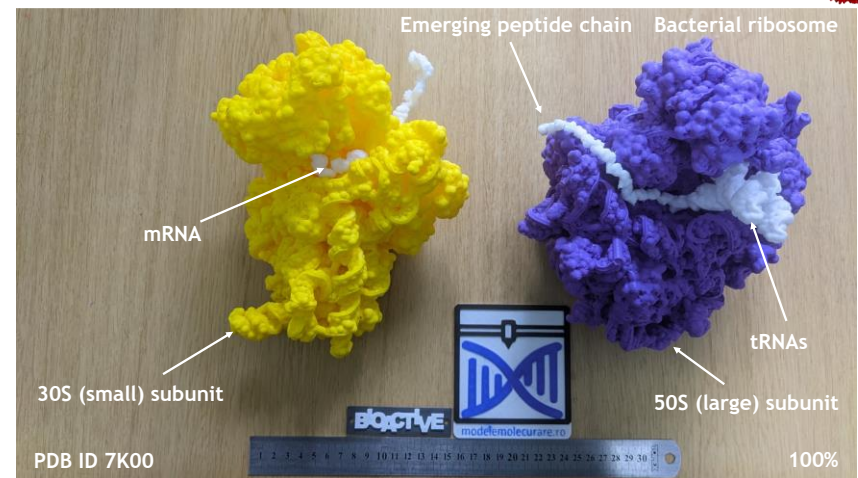
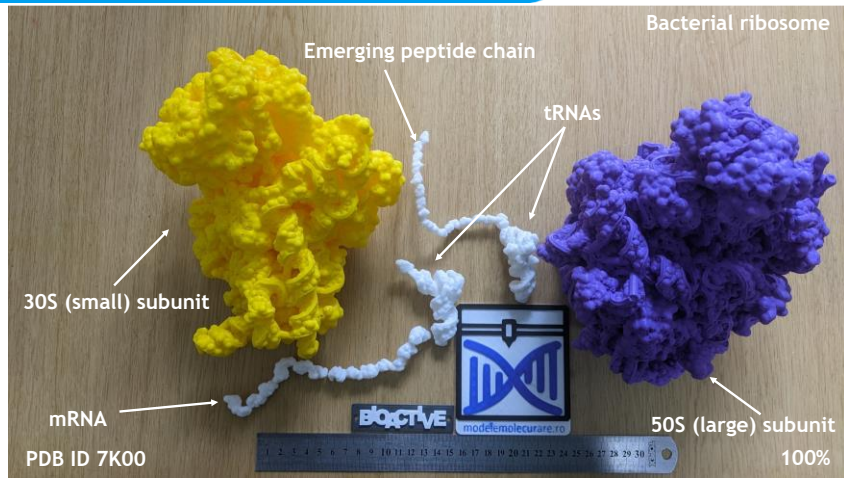
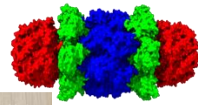


Magenta – ARN
Celelalte culori - Proteine

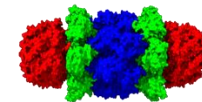


<https://www.rcsb.org/structure/4v5d>

Structura ribozomului



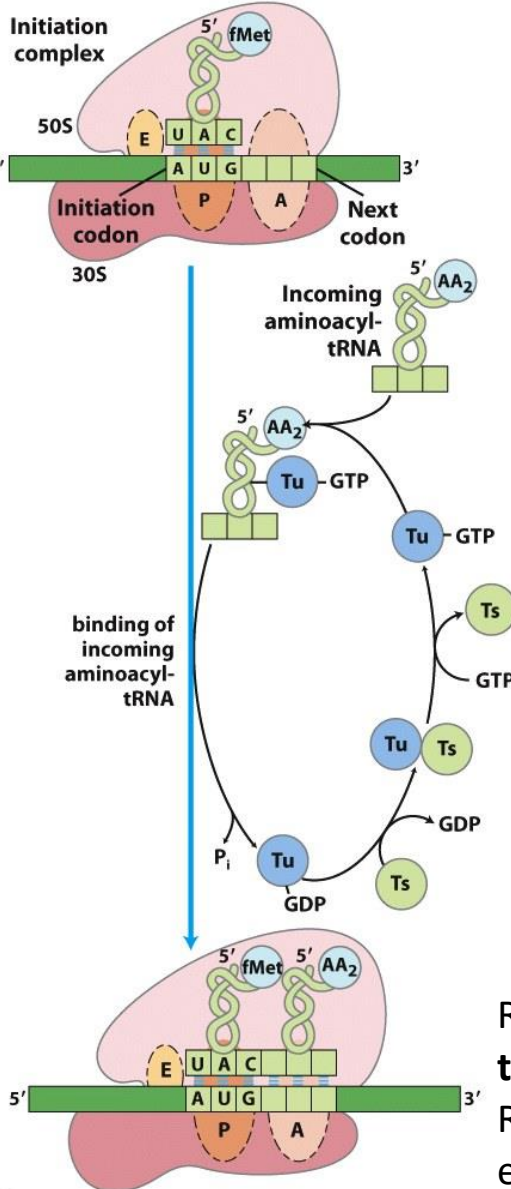
<https://modele-moleculare.ro/ribozomul-bacterian/>



Traducerea informației din ADN/ARNm (limbaj bazat pe nucleotide) în catena polipeptidică (limbaj bazat pe aminoacizi) se realizează după **un set strict de reguli** ce alcătuiesc **codul genetic**. La baza codului genetic stă noțiunea de **codon** - o succesiune de 3 baze azotate (tripletă) din secvența ARNm ce specifică un anumit aminoacid din secvența catenei de aminoacizi.

Prima nucleotidă	A doua nucleotidă								A treia nucleotidă
	U		C		A		G		
U	UUU	(Phe/F)	UCU	(Ser/S) Serină	UAU	(Tyr/Y)	UGU	(Cys/C)	U
	UUC	Fenilalanină	UCC		UAC	Tirozină	UGC	Cisteină	C
	UUA		UCA		UAA	Stop	UGA	Stop	A
	UUG		UCG		UAG	Stop	UGG	(Trp/W) Triptofan	G
C	CUU	(Leu/L) Leucină	CCU	(Pro/P) Prolină	CAU	(His/H)	CGU	(Arg/R) Arginină	U
	CUC		CCC		CAC	Histidină	CGC		C
	CUA		CCA		CAA	(Gln/Q)	CGA		A
	CUG		CCG		CAG	Glutamină	CGG		G
A	AUU	(Ile/I) Izoleucină	ACU	(Thr/T) Treonină	AAU	(Asn/N)	AGU	(Ser/S)	U
	AUC		ACC		AAC	Asparagină	AGC	Serină	C
	AUA		ACA		AAA	(Lys/K)	AGA	(Arg/R)	A
	AUG	(Met/M) Metionină	ACG		AAG	Lizină	AGG	Arginină	G
G	GUU	(Val/V) Valină	GCU	(Ala/A) Alanină	GAU	(Asp/D) Acid aspartic	GGU	(Gly/G) Glicină	U
	GUC		GCC		GAC	(Glu/E) Acid glutamic	GGC		C
	GUA		GCA		GAA	GGA	A		
	GUG		GCG		GAG	GGG	G		

Etapele sintezei proteinelor – Elongarea



2. Elongarea – la complexul de inițiere se atașează subunitatea mare a ribozomului. Codonul adiacent codonului AUG este amplasat în situsul A și poate interacționa cu o moleculă ARNt. Pe baza **complementarității codon (ARNm) – anti-codon (ARNt)** o moleculă de ARNt cu aminoacidul corespunzător se atașează în situs-ul A, aminoacidul fiind adus în apropiere de Met. Între cei doi aminacizi are loc o reacție ce duce la formarea unei legături peptidice.

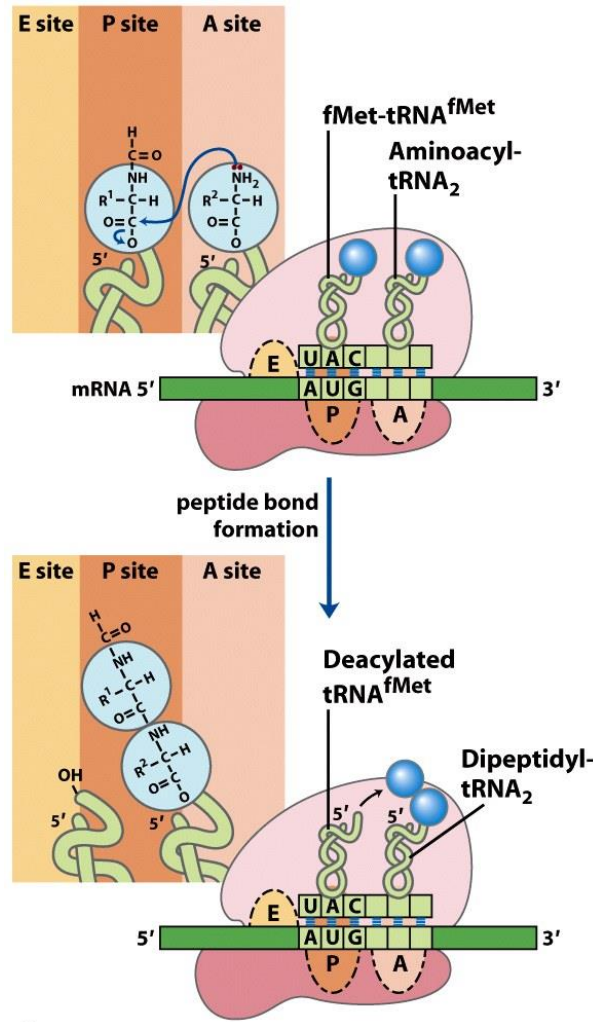


Figure 27-29
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Reacția enzimatică ce duce la formarea unei legături peptidice se numește **peptidil-transferază** și multă vreme a fost considerată ca fiind apanajul unei proteine ribozomale. Reacția este însă **realizată de ARNr 23S**, fiind însă un exemplu de reacții enzimatică esențiale catalizate de molecule de ARN.

Figure 27-28
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company
25.11.2024

Etapele sintezei proteinelor – Translocarea și Terminarea

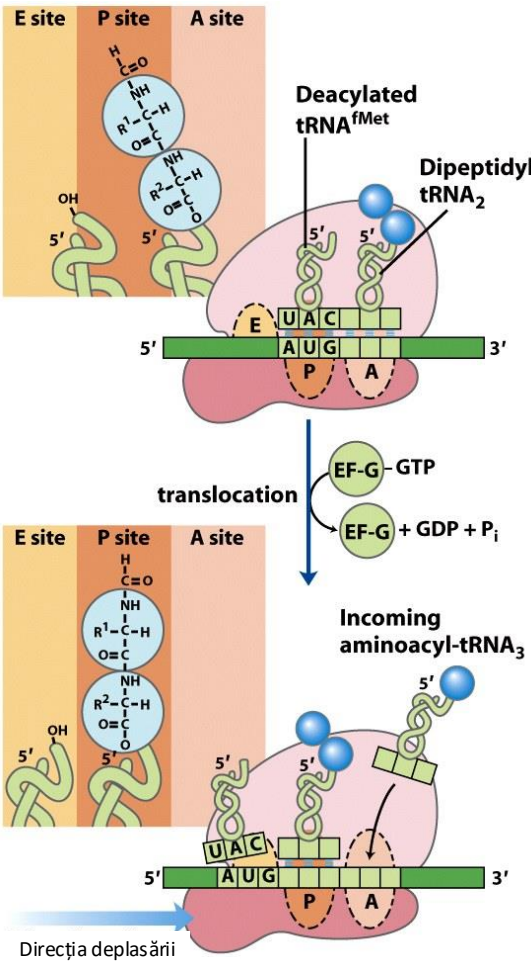


Figure 27-30a
 Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W. H. Freeman and Company

3. Translocarea – ribozomul face un salt de 3 nucleotide în direcția 5' → 3' pe molecula de ARNm, ceea ce amplasează ARNt^{fMet} în situs-ul E și al doilea ARNt în situsul P, iar **situs-ul A devine din nou liber**. ARNt^{fMet} din situs-ul E părăsește ribozomul și un al treilea ARNt cu aminoacidul corespunzător se atasează în situsul A. Catena are 2 aminoacizi, al treilea urmând a fi încorporat printr-o nouă etapă de elongare.

4. Terminarea – etapele de elongare și translocare se repetă, ribozomul deplasându-se de-a lungul moleculei de ARNm până când în situsul A se situează un codon STOP. Pentru acești codoni nu există ARNt cu anticodonii corespunzători astfel încât înaintarea ribozomului este oprită. Prin legarea unor factori de eliberare, complexul ARNm-ribozom se desface și procesul de traducere se finalizează

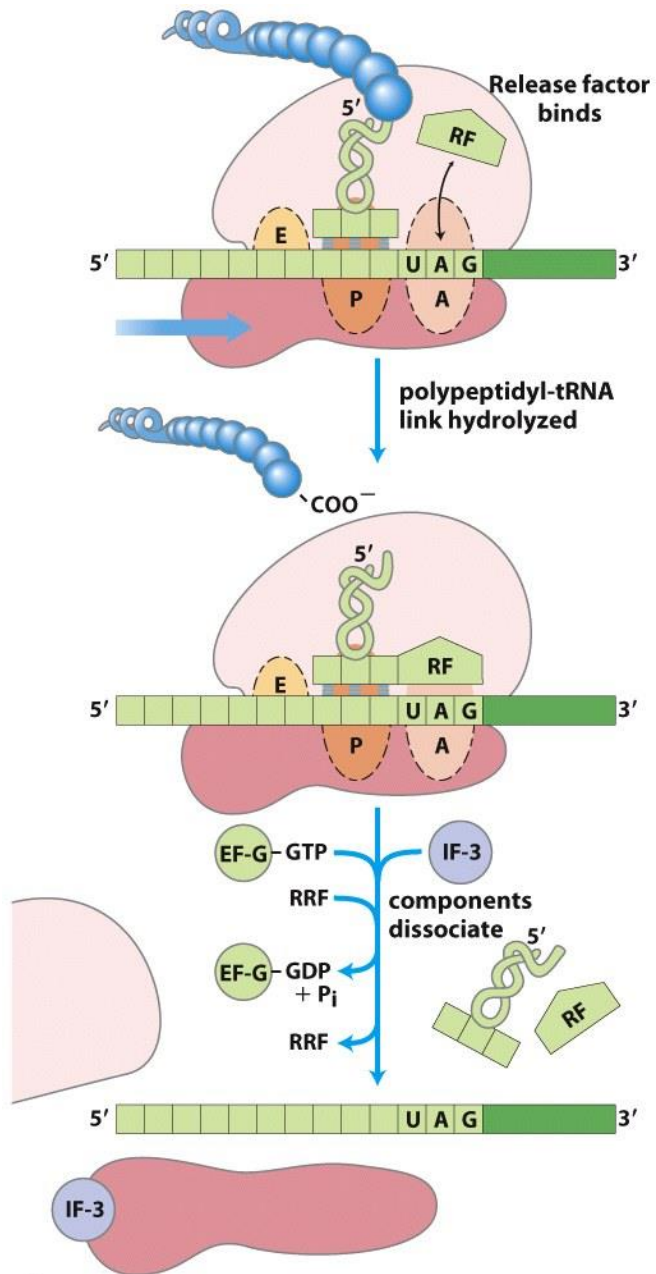
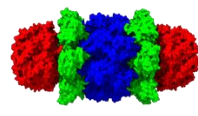
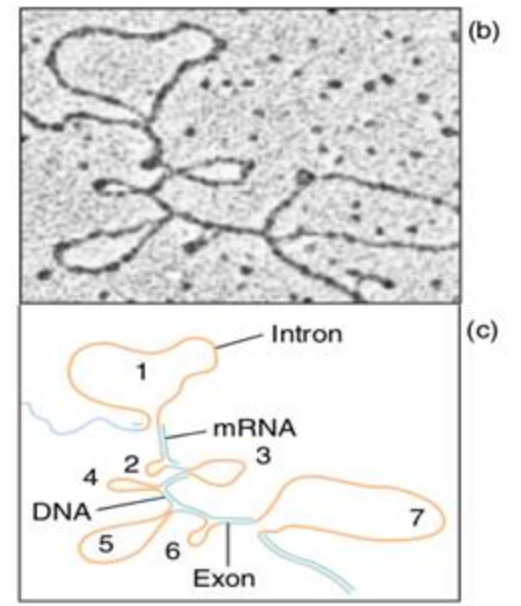
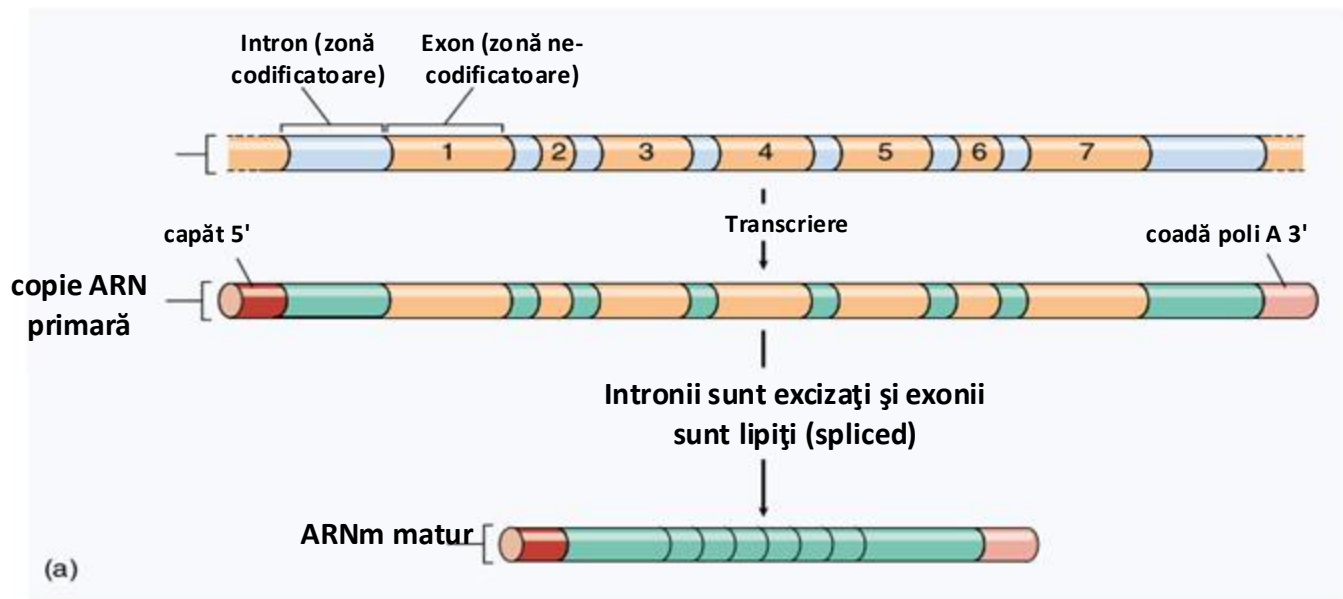


Figure 27-31
 Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W. H. Freeman and Company

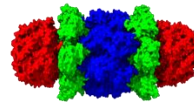
Traducerea mesajului genetic la eucariote



La **eucariote** procesul de traducere a informației genetice este similar cu cel de la procariote, însă intervine o etapă suplimentară de **procesare și asamblare a ARNm (splicing)**.



Factori proteici implicați în traducerea mesajului genetic



Procariote

Factori de inițiere

IF-1 - previne legarea ARNt de situsul A;

IF-2 - facilitează legarea tRNA^{fMet} de subunitatea ribozomală 30S;

IF-3 - interacționează cu subunitatea ribozomală 30S; previne asocierea prematură cu subunitatea 50S; îmbunătățește specificitatea situsului P pentru tARN^{fMet};

Factori de translocare

EF-Tu (**elongation factor thermo-unstable**) – catalizează legarea aminoacyl-ARNt de ribozom și are nevoie de GTP;

EF-Ts (**elongation factor thermo stable**) – catalizează eliberarea GDP din EF-Tu, ceea ce permite re-activarea EF-Tu;

EF-G – este o translocază cu funcție GTP-azică;

Factori de terminare

RF - interacționează cu codonii STOP și induce o activitate peptidil transferazică, catena nascentă fiind transferată către o moleculă de apă și astfel eliberată

Eucariote

Factori de inițiere

eIF2 – facilitează interacțiunea dintre tRNA^{Met} și 40S ribosomal subunit

eIF2B, eIF3 – primii factori ce interacționează cu subunitatea 40S subunit și facilitează etapele ulterioare;

eIF4A – activitate helixazică ce elimină structurile secundare ale ARN-ului pentru a permite legarea de subunitatea 40S;

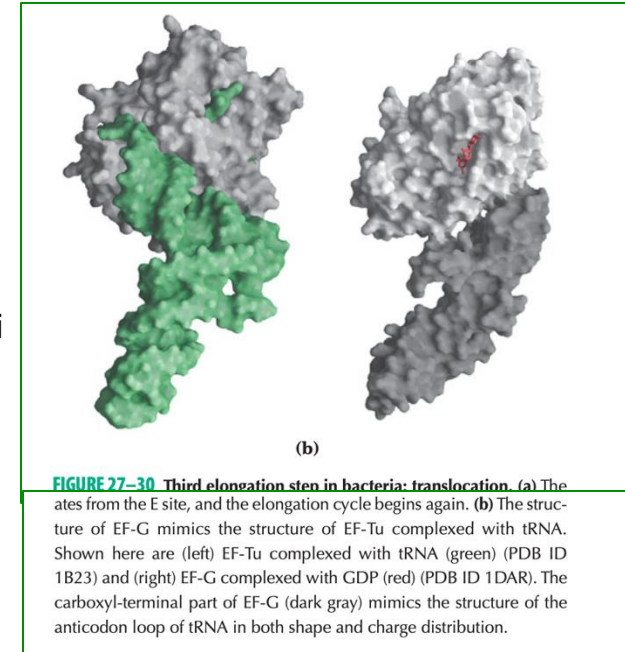
eIF4B – interacționează cu ARNm și facilitează identificarea de către ribozom a primului codon AUG;

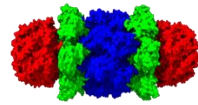
eIF4E – se leagă de capătul 5' cap al ARNm;

eIF4G – interacționează indirect cu coada poliA a ARNm

eIF5 - promovează disocierea unor factori de inițiere de subunitatea 40S, ca mechanism inițiator de activare a asocierii cu subunitatea 60S pentru a forma complexul 80S de inițiere;

eIF6 – facilitează disocierea ribozomului 80S în subunitățile 40S și 60S



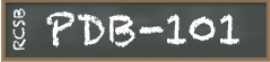


[WEHI movies](#)

Transcription - Central Dogma Part 1 <https://www.youtube.com/watch?v=DA2t5N72mgw>

Translation - Central Dogma Part 2 https://www.youtube.com/watch?v=Wkl_Vbwn14g

Ribosome <https://www.youtube.com/watch?v=morl5e-jBNk>

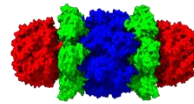


Ribosomal Subunits

<https://pdb101.rcsb.org/motm/10>

<https://pdb101.rcsb.org/motm/121>

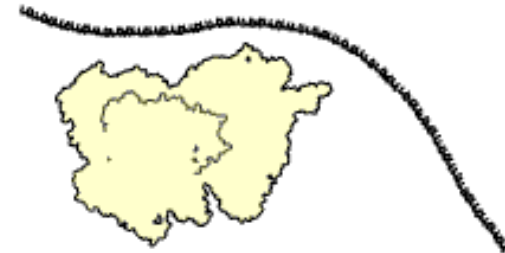




Sinteza lanțului de aminoacizi conform secvenței de baze azotate de pe ARNm este un proces ce necesită energie:

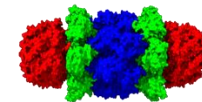
1. pentru fiecare **moleculă de aminoacid-ARNt** se utilizează **2 grupe PO_4** ;
2. dacă în procesul de sinteză este amplasat în situsul A al ribozomului un aminoacid greșit, eliminarea lui necesită liza **unei molecule de ATP**;
3. o moleculă de **GTP este clivată în procesul de inițiere**;
4. o moleculă de **GTP este clivată în procesul de translocare**.

În total, în medie **mai mult de 4 molecule NTP** sunt hidrolizate la NDP pentru a sintetiza **1 legătură peptidică** dintr-o moleculă proteică. Bilantul energetic este de $4 \times 30,5 \text{ kJ/mol} = 122 \text{ kJ/mol}$ **cheltuiți** pentru a sintetiza **o legătură peptidică ce conține 21 kJ/mol**.



Proteinele sunt polimeri ce conțin informație, deci scopul nu este de a sintetiza legături peptidice, ci de a **asambla aminoacizii într-o anumită ordine** și de a **forma legături peptidice între aminoacizi specifici**. Fiecare grupare PO_4 folosită are rol în a asigura inserarea corectă a aminoacizilor în procesul biosintetic și deci fidelitatea procesului de traducere.

Plierea proteinelor în forma nativă

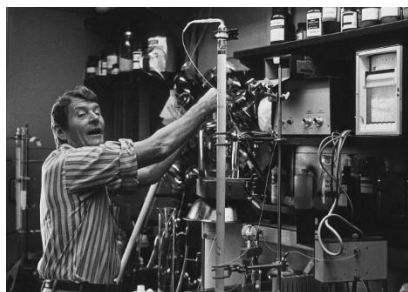


Procesul prin care catena polipeptidică a unei proteine capătă structura spațială tridimensională specifică se numește **pliere**. Structura tridimensională normală a unei proteine în care aceasta își poate îndeplini funcția specifică se numește **structură (formă) nativă**. Orice **alterare a structurii** native a unei proteine va fi însoțită **de o alterare** (mai mare sau mai mică) **a funcției** proteinei respective.

Deși mecanismul procesului de pliere a proteinelor în structurile native nu este complet cunoscut, câteva din **principiile implicate în procesul de pliere a proteinelor** ce se respectă în acest proces sunt bine aprofundate teoretic:

1. Principiul lui Anfinsen – proteinele sunt capabile de **auto-asamblare**. Procesul de pliere este unul strict termodinamic prin care catena ne-pliată **trece de la un nivel superior la unul inferior energetic** (proteina nativă)

Structura primară a catenei polipeptice, prin tipul și succesiunea aminoacizilor, este cea care conține toată informația necesară plieri proteinei în forma nativă.

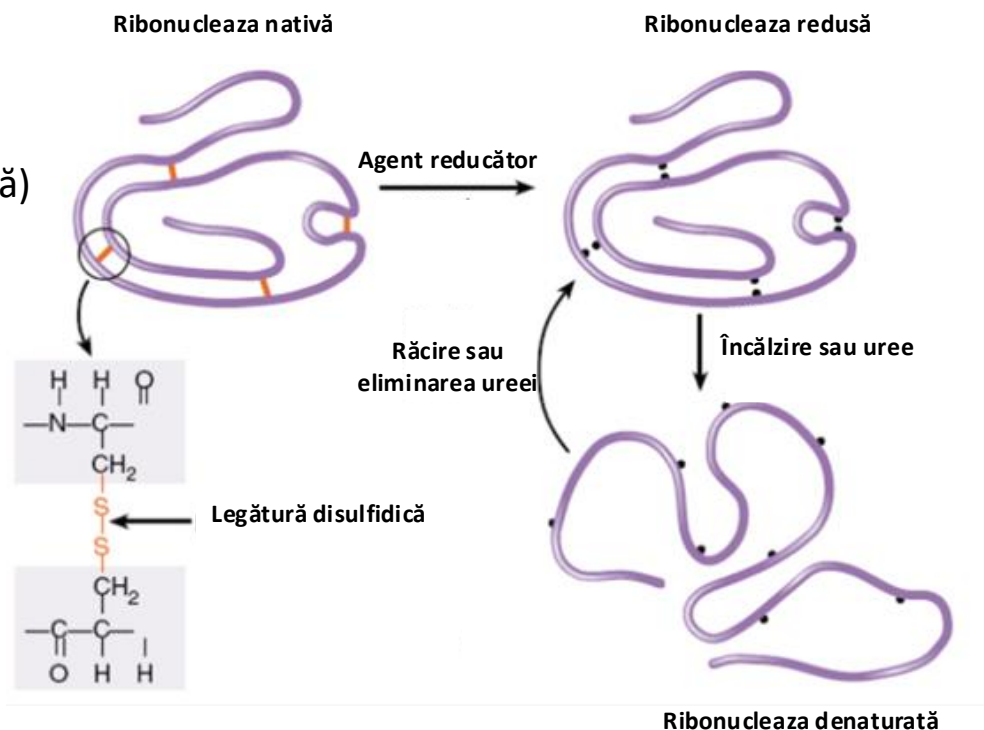


25.11.2024

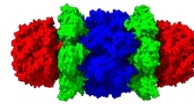
Christian Boehmer Anfinsen Jr. (1916 – 1995)

Premiul Nobel in Chimie in 1972

Biologie Moleculară - Curs 9



Pagina 15 din 18



2. Paradoxul lui Levinthal – timpul necesar pentru ca o peptidă să se plieze aleatoriu în structura nativă respectând strict regulile termodinamicii **este mai lung decât durata de viață a universului**. Majoritatea proteinelor se pliază în fracțiuni de secundă => **paradoxul**

3. Secvențele proteice sunt supuse selecției evolutive. Evoluția a selectat și păstrat doar acele secvențe proteice ce se pliază **rapid, corect și repetabil** în forma nativă. Acest lucru este demonstrat de faptul că o peptidă sintetizată în laborator având o secvență aleatorie nu se pliază niciodată într-o structură ordonată.

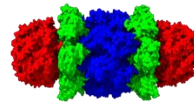
Plierea proteinelor nu este un proces aleatoriu, ci este direcționat prin evoluție.

4. Plierea proteinelor în forma nativă poate fi **asistată** de alte proteine – **chaperoni moleculari**. În cazul proteinelor de peste 100 de aminoacizi, pliarea poate dura un timp mai lung și poate conține etape intermediare în care proteina este parțial pliată. În aceste etape intermediare există pericolul ca proteina parțial pliată să interacționeze cu alte proteine și să formeze **agregate proteice** – aglomerări de proteine în stare denaturată, puțin solubile. Chaperonii moleculari au rolul de a proteja aceste forme parțial pliate și de a le ‘dirija’ către forma nativă.



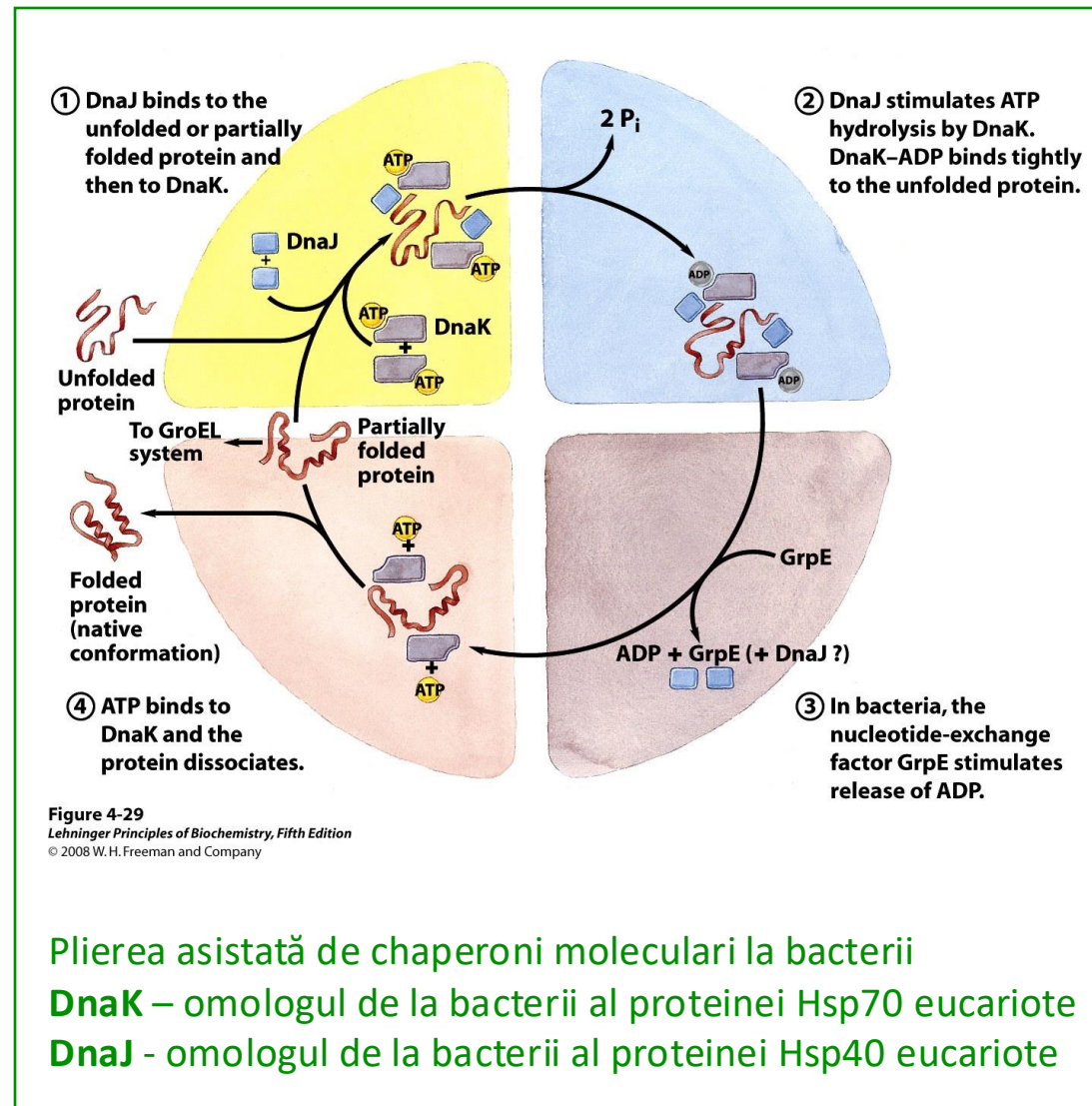
Care este semnificația cuvântului chaperon?

Cum funcționează chaperonii moleculari?

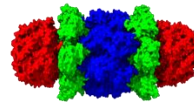


Au fost identificate **două clase** de **chaperoni moleculari**:

1. Proteine din familia Hsp70 – **proteine cu masă moleculară mică (70 kDa) și care sunt abundente când celulele sunt expuse la temperaturi ridicate** (*heat shock proteins*, 70 kDa => **Hsp70**). Proteinele Hsp70 interacționează cu zonele hidrofobe ale polipeptidelor nepliate sau denaturate și preîntâmpină agregarea acestora (**ce legătură are acest lucru cu faptul că sunt exprimate la expunerea la temperaturi înalte?**). Tot Hsp70 opresc de asemenea și plierea acelor proteine ce trebuie să fie translocate prin membrana celulară. Legarea Hsp70 de peptide și apoi desprinderea de acestea este un proces ciclic, ce necesită ATP și prezența unei alte clase de chaperoni moleculari de dimensiuni mai mici – **Hsp40**.



Cum funcționează chaperonii moleculari?



2. Chaperonine – complexe proteice de dimensiuni mari ce intervin în plierea acelor proteine ce nu se pot plia în mod spontan, pe baza legilor termodinamice. Se estimează că în *E. coli*, 10-15% din proteine necesită chaperonine pentru a se plia și procentul crește la 30% în condiții de stres termic.

Cel mai cunoscut sistem de chaperonine este GroEL/GroES de la *E.coli*. Peptidele nepliate se leagă de un buzunar al complexului GroEL ce este mai apoi acoperit de GroES. GroEL suferă o serie de modificări de structură ce sunt alimentate de ATP și prin care peptida este pliată în forma nativă. GroES se desprinde de pe buzunar și eliberează proteina pliată.

Deși nu sunt chaperoni moleculari, un rol important în plierea proteinelor îl au și enzimele **protein-disulfid izomeraze (PDI - protein disulfide isomerase)**. Acestea sunt localizate în retocolul endoplasmic la eucariote și spațiul periplamic la procariote și **catalizează formarea punților disulfurice în timpul plierii proteinelor**

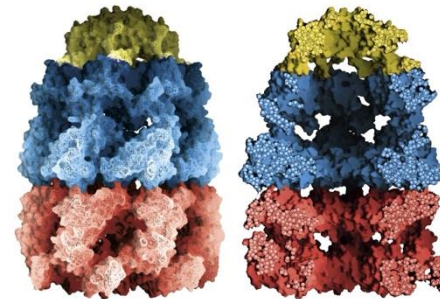
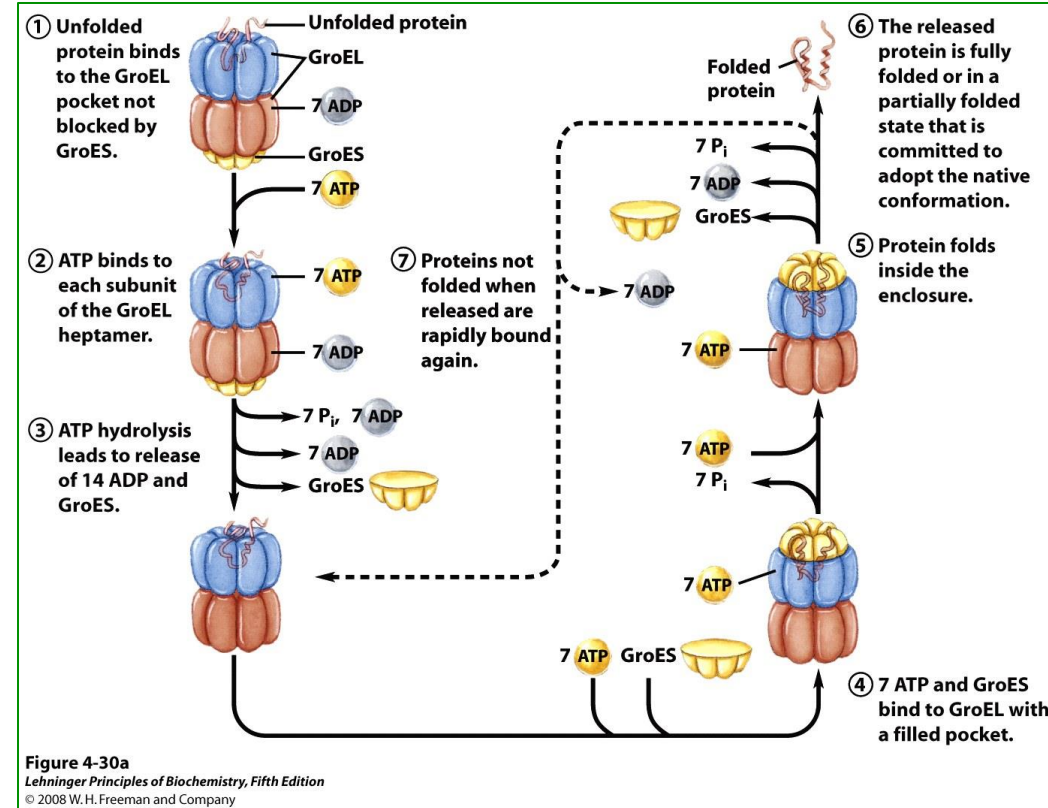
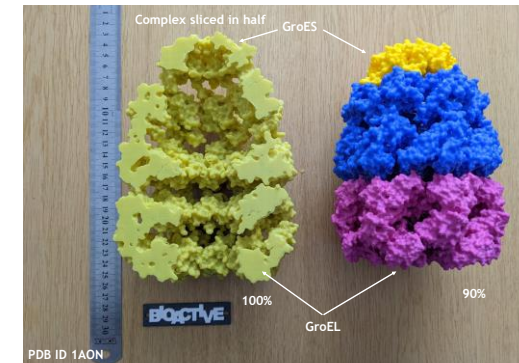


Figure 4-30b
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

<https://pdb101.rcsb.org/motm/32>



PDB ID 1A0N

<https://modele-moleculare.ro/complexul-groel-groes/>