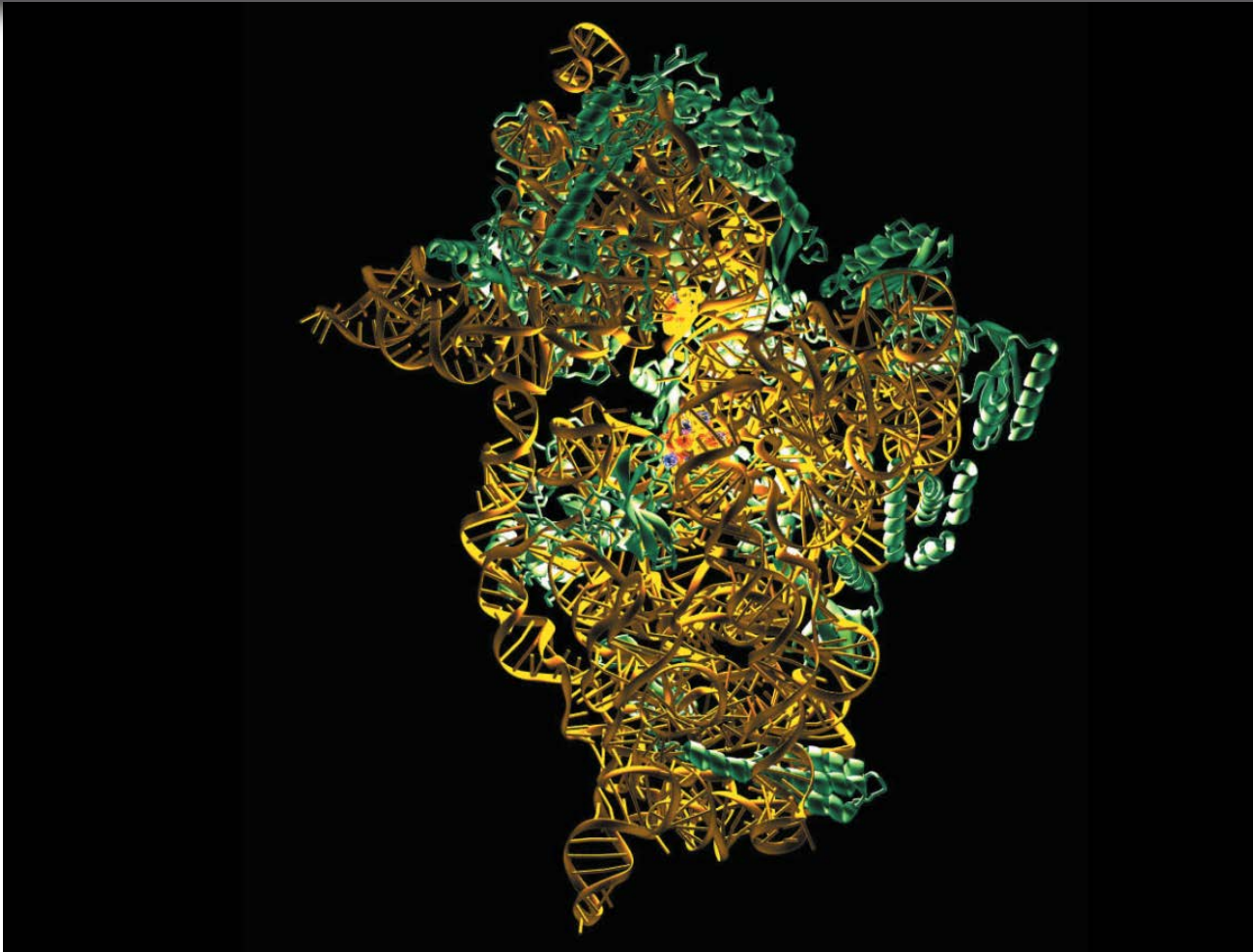


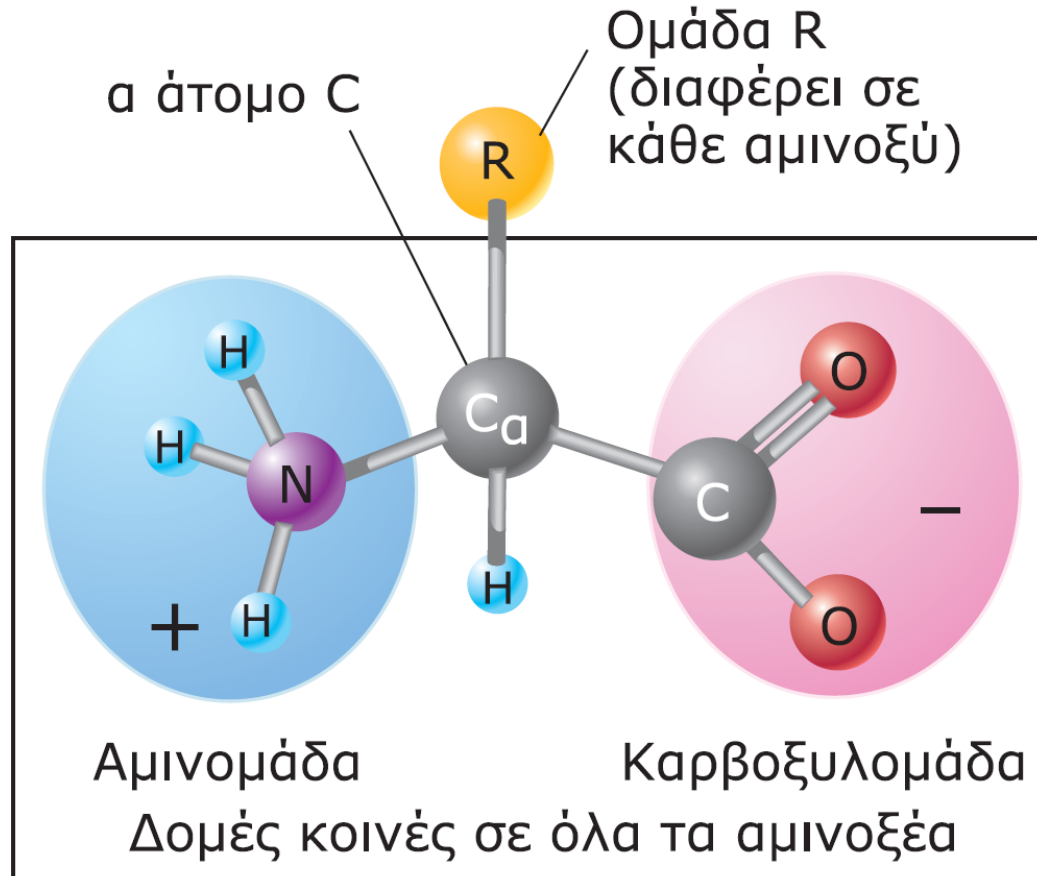
# Κεφάλαιο 14

## Γονιδιακή έκφραση: Μετάφραση



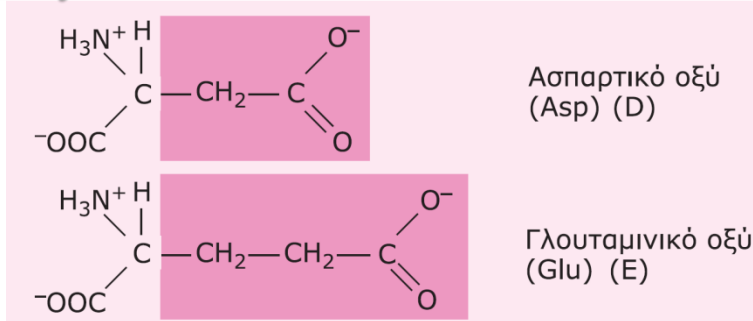
Τρισδιάστατη δομή της ριβοσωμικής υπομονάδας 30S

# Γενικευμένος τύπος αμινοξέος

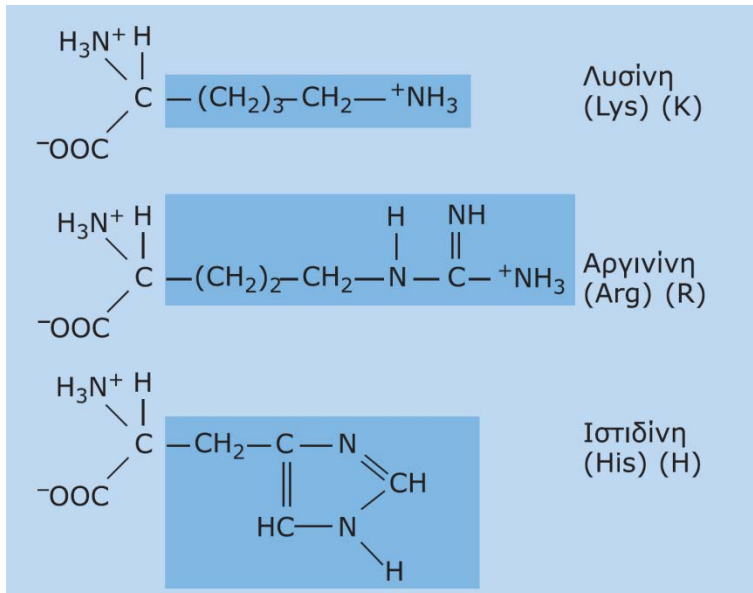


# Οι δομές των 20 αμινοξέων που συναντώνται στη φύση, ταξινομημένες σύμφωνα με το χημικό τους τύπο.

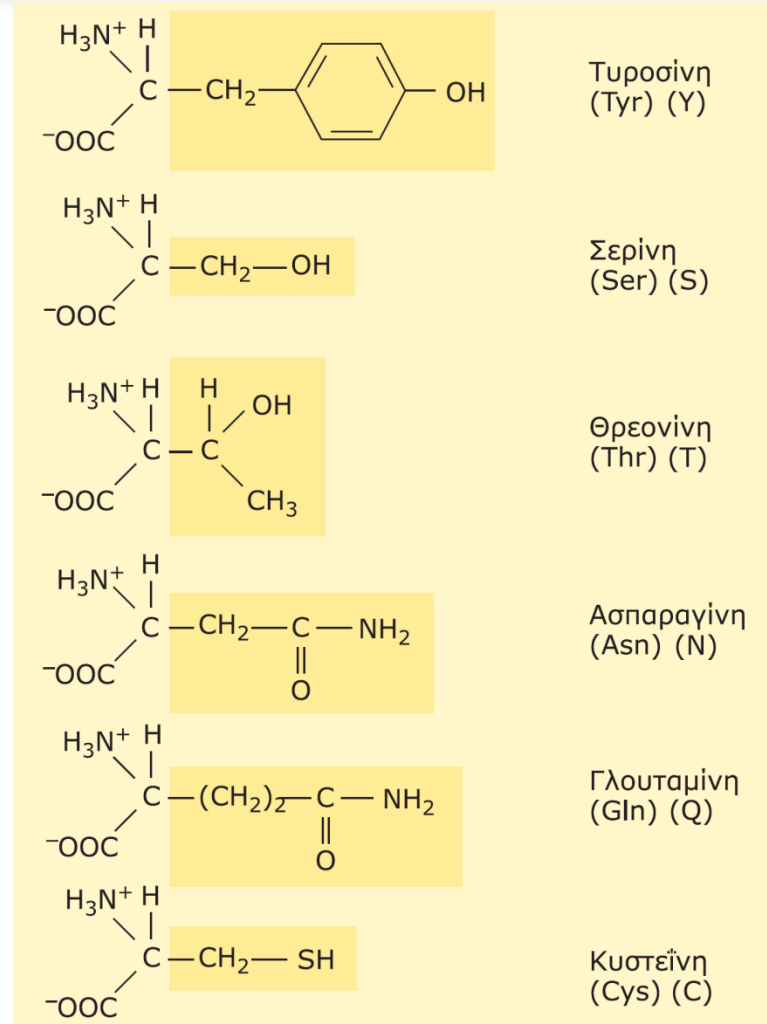
## Όξινα



## Βασικά

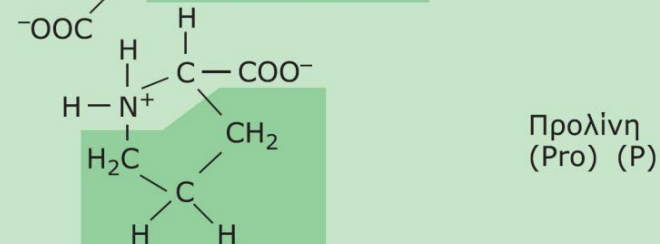
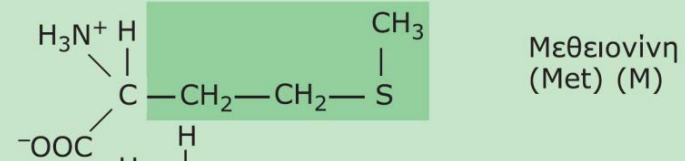
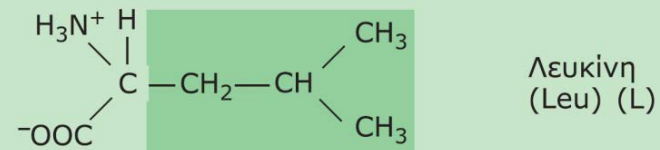
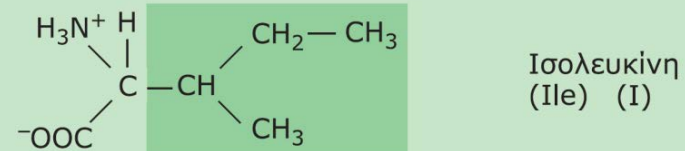
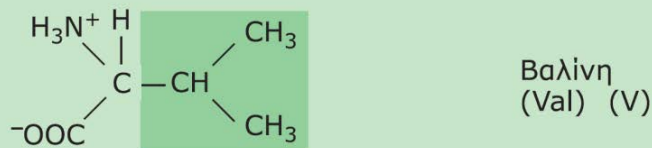
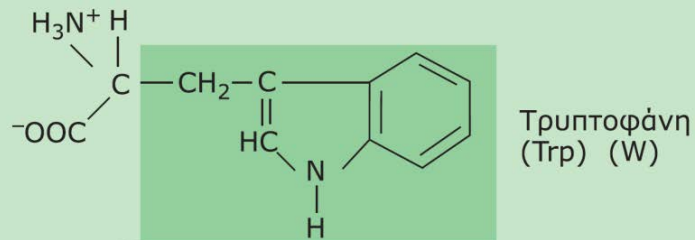


## Ουδέτερα, πολικά

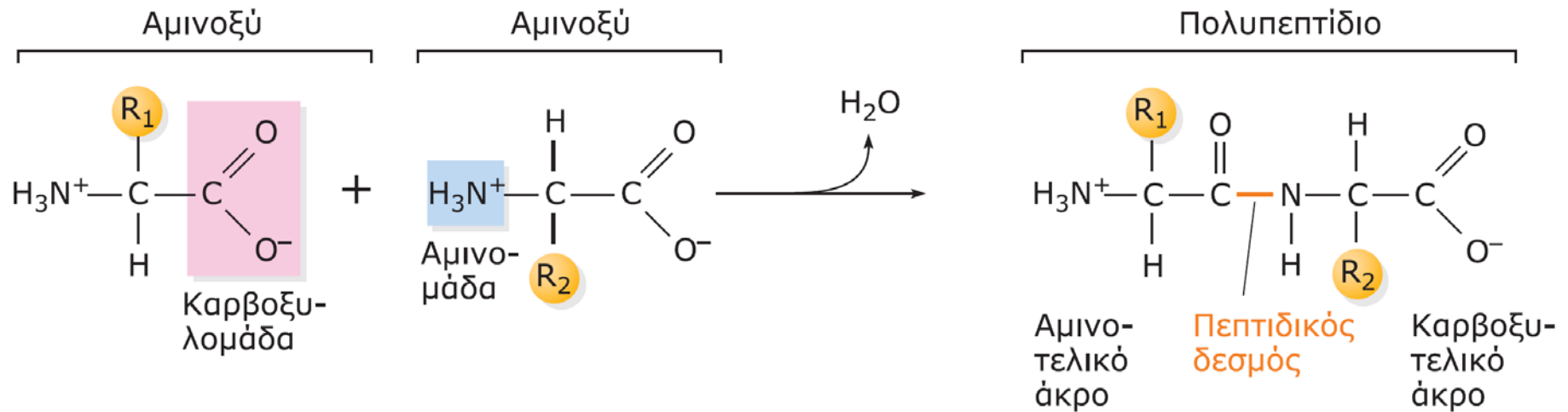


# Οι δομές των 20 αμινοξέων που συναντώνται στη φύση, ταξινομημένες σύμφωνα με το χημικό τους τύπο.

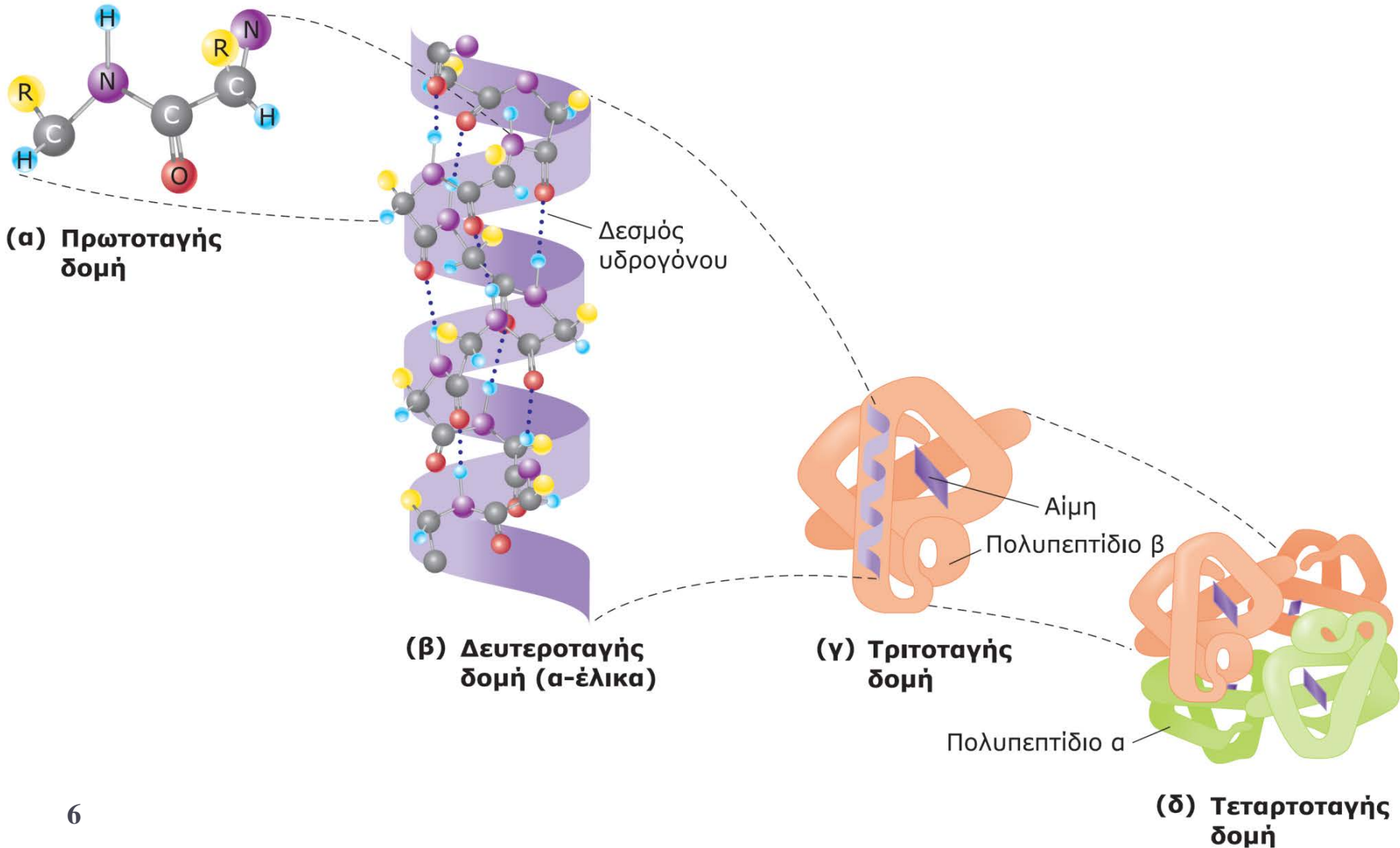
## Ουδέτερα, μη πολικά, υδρόφοβα



# Σχηματισμός πεπτιδικού δεσμού



# Τα τέσσερα επίπεδα οργάνωσης των πρωτεϊνών



# Μετάφραση

- Μετάφραση του mRNA σε πρωτεΐνη
- Υπάρχουν 20 διαφορετικά αμινοξέα στις πρωτεΐνες
- Η νουκλεοτιδική αλληλουχία του mRNA «διαβάζεται» σε ομάδες των τριών νουκλεοτιδίων κατά μήκος της αλυσίδας του mRNA. Κάθε τριπλέτα είναι ένα κωδικόνιο:
  - Κωδικόνιο: **ATG CTT CAT**
  - Αμινοξύ: **MeT Pro His**
- Υπάρχουν  $4^3=64$  διαφορετικά κωδικόνια για 20 αμινοξέα. Περισσότερα από ένα κωδικόνια μπορεί να αντιστοιχούν σε κάθε αμινοξύ (εκφυλισμός του κώδικα).

# Ο γενετικός κώδικας

		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



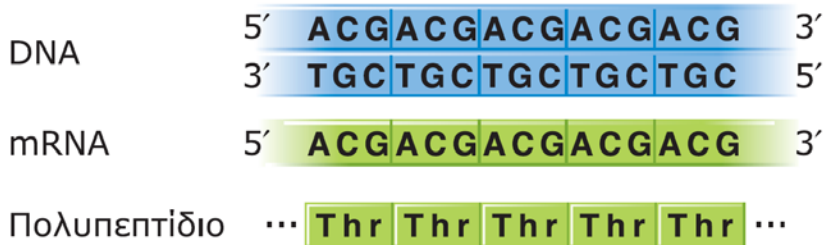
# Εκφυλισμός του κώδικα

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

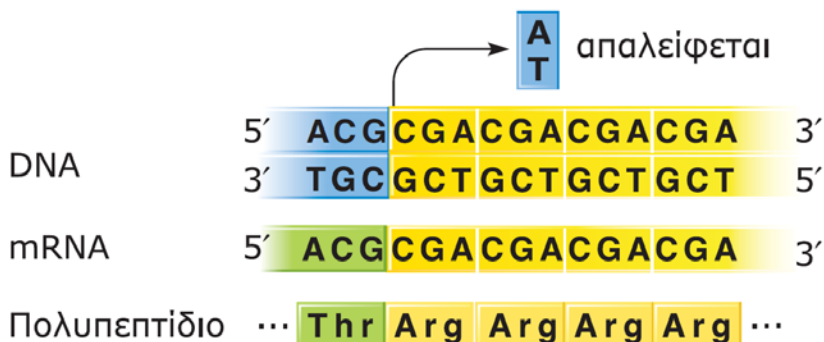
# Αναγνωστικό πλαίσιο



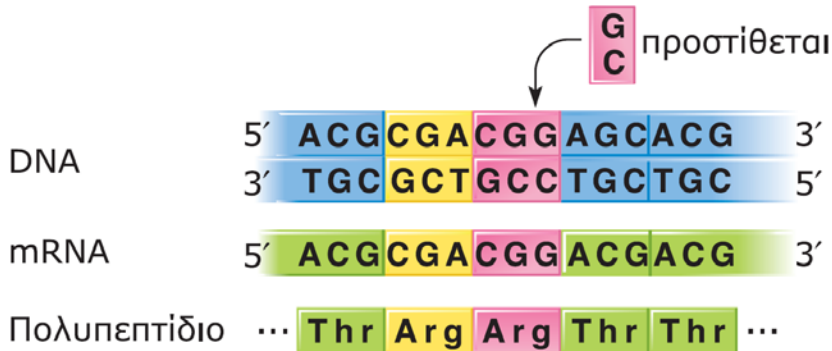
### α) Άγριος τύπος



### β) Μεταλλαγή μετατόπισης αναγνωστικού πλαισίου λόγω ελλείμματος



### γ) Αντίστροφη μεταλλαγή της μεταλλαγής ελλείμματος μέσω προσθήκης



## Αποκατάσταση του αναγνωστικού πλαισίου

Μεταλλαγή κατά την οποία προστίθεται ένα ζεύγος βάσεων, λίγο μετά από ένα σημείο στο οποίο μέσω μιας προηγούμενης μεταλλαγής είχε αφαιρεθεί ένα ζεύγος βάσεων. (α) Το άγριου τύπου DNA ενός υποθετικού γονιδίου, το αντίστοιχο μετάγραφο mRNA και το πολυπεπτίδιο που κωδικοποιείται. (β) Μια μεταλλαγή που προκαλεί την αφαίρεση ενός ζεύγους βάσεων διαταράσσει το αναγνωστικό πλαίσιο, με αποτέλεσμα να αλλάζει η αμινοξική αλληλουχία του πολυπεπτιδίου. (γ) Μια νέα μεταλλαγή προσθήκης αποκαθιστά το αναγνωστικό πλαίσιο. Έτσι, μόνο λίγα από τα αμινοξέα του πολυπεπτιδίου διαφέρουν από αυτά του άγριου τύπου, με αποτέλεσμα να προκύπτει ένα αντίστροφο μετάλλαγμα.

# Αποκατάσταση του αναγνωστικού πλαισίου

Φυσιολογικό mRNA

AUG ACACAUAACGGCUUCGUAUGGUGUGAA

Αμινοξέα

Met Thr His Asn Gly Phe Val Trp Cys Glu

3 μεταλλαγές +

+ U

+ C

+ A

mRNA

AUG AUC ACA UAC ACG GCA UUCGUAUGGUGUGAA

Αμινοξέα

Met Ile Thr Tyr Thr Ala Phe Val Trp Cys Glu

Λανθασμένα αμινοξέα  
στο πολυπεπτίδιο

Υποθετικό παράδειγμα στο οποίο φαίνεται πως τρεις γειτονικές μεταλλαγές τύπου + (προσθήκης) αποκαθιστούν το αναγνωστικό πλαίσιο, επαναφέροντας τη φυσιολογική (ή σχεδόν φυσιολογική λειτουργία) του γονιδίου. Οι μεταλλαγές φαίνονται εδώ στο επίπεδο του mRNA.

**UUU----phe**

**AAA----lys**

**CCC----pro**

**GGG---- ?**

## Ανάμιξη A – C

CCC----pro

CCA

CAC

Asp

ACC

Glu

CAA

His

ACA

Thr

AAC

AAA----lys



## The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1968

Robert W. Holley, H. Gobind Khorana, Marshall W. Nirenberg

### The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1968

Robert W. Holley

H. Gobind Khorana

Marshall W. Nirenberg



Robert W. Holley



Har Gobind Khorana



Marshall W.  
Nirenberg

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1968 was awarded jointly to Robert W. Holley, Har Gobind Khorana and Marshall W. Nirenberg *"for their interpretation of the genetic code and its function in protein synthesis"*.



ΠΕ

		Δεύτερο γράμμα				
		U	C	A	G	
U	U	UUU Phe (F)	UCU Ser (S)	UAU Tyr (Y)	UGU Cys (C)	U
		UUA Leu (L)	UCC Ser (S)	UAC Tyr (Y)	UGC Cys (C)	C
		UUG Leu (L)	UCA Ser (S)	UAA Λήξη	UGA Λήξη	A
			UCG	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	CCG	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	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	GCG	GAG Glu (E)	GGG Gly (G)	G

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

## Ο γενετικός κώδικας.

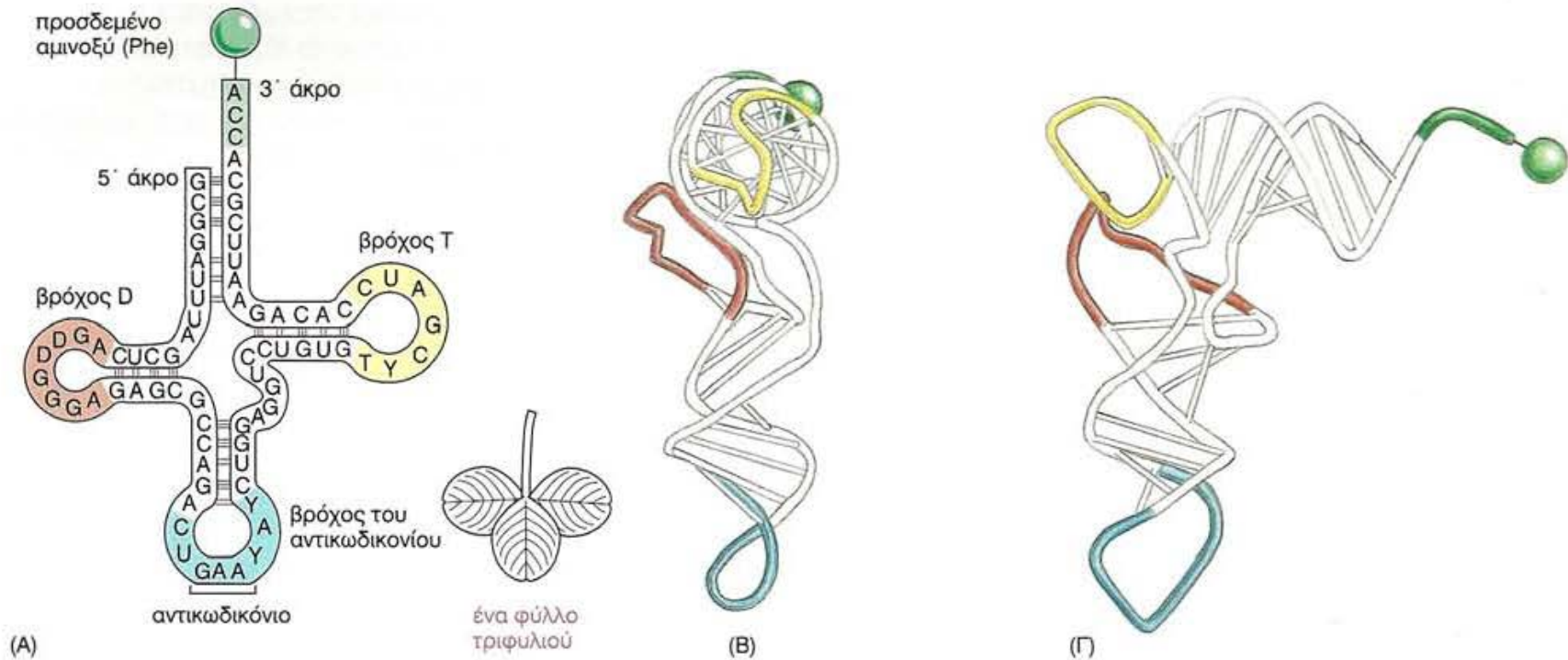
Από τα 64 κωδικόνια, τα 61 κωδικοποιούν ένα από τα 20 αμινοξέα. Τα άλλα 3 είναι κωδικόνια τερματισμού αλυσίδας και δεν καθορίζουν κάποιο αμινοξύ. Το AUG (κωδικοποιεί τη μεθειονίνη) είναι το κωδικόνιο έναρξης, δηλαδή αυτό από το οποίο ξεκινά η πρωτεϊνοσύνθεση.



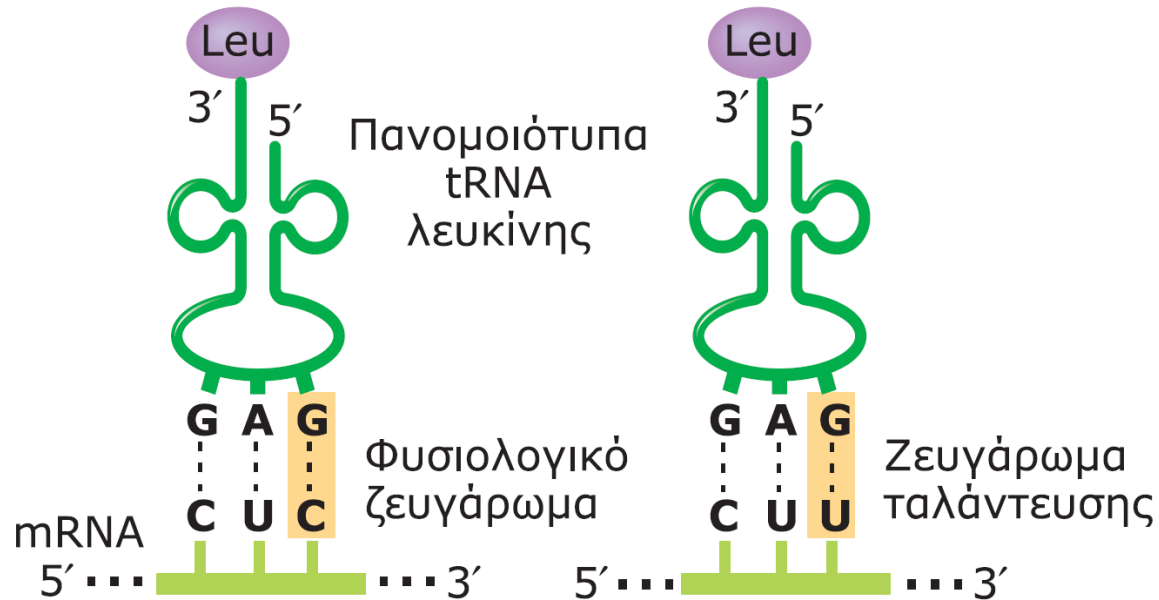


# Μεταφορικά RNA (TRNA)

Τα μόρια **TRNA** είναι μοριακοί προσαρμογείς που συνδέουν τα αμινοξέα με τα κωδικόνια



# Παράδειγμα ταλάντευσης κατά το ζευγάρωμα κωδικονίου-αντικωδικονίου.



Δυο διαφορετικά κωδικόνια λευκίνης (CTC, CTT) μπορούν να ζευγαρώσουν με το αντικωδικόνιο του ίδιου μορίου TRNA λευκίνης, κατά παράβαση των συνηθισμένων κανόνων ζευγαρώματος των βάσεων.

# Ζευγάρωμα μεταξύ κωδικονίων και αντικωδικονίων σύμφωνα με την υπόθεση της ταλάντευσης

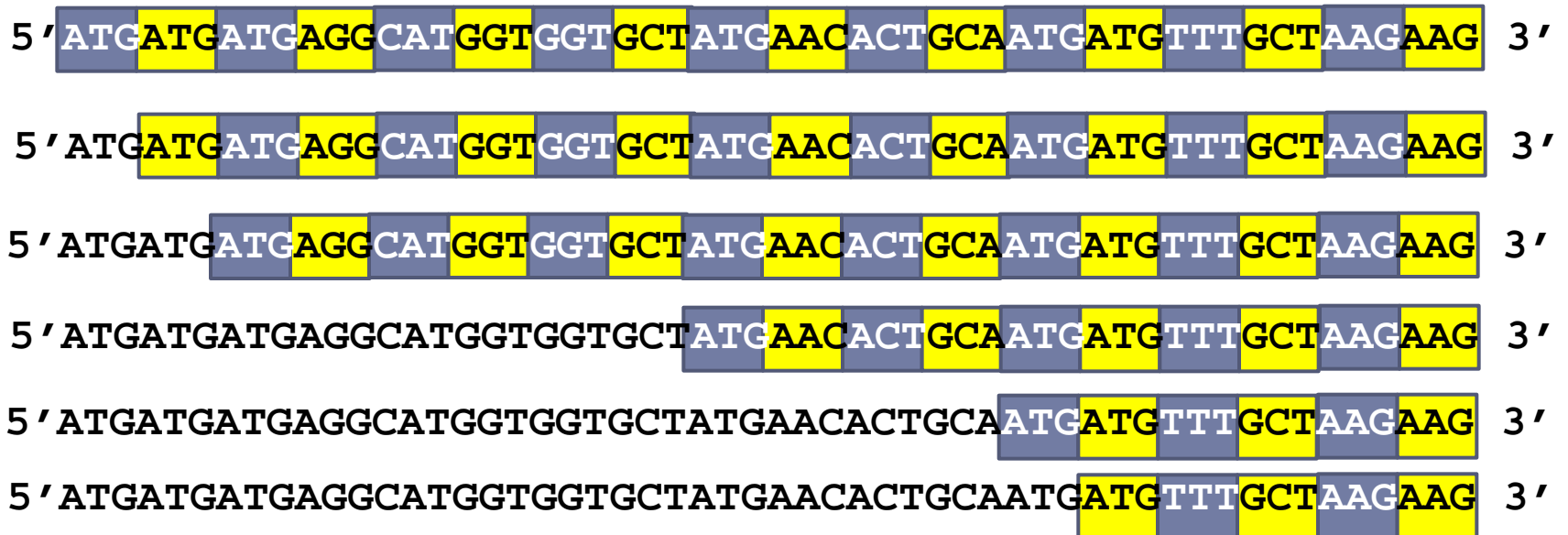
**Νουκλεοτίδιο στο  
5' άκρο του  
αντικωδικονίου**

**Νουκλεοτίδιο στο  
3' άκρο του  
κωδικονίου**

G	μπορεί να ζευγαρώσει με	U ή C
C	μπορεί να ζευγαρώσει με	G
A	μπορεί να ζευγαρώσει με	U
U	μπορεί να ζευγαρώσει με	A ή G
I (ινοσίνη)	μπορεί να ζευγαρώσει με	A, U ή C

## Ο γενετικός κώδικας είναι:

1. κώδικας τριπλέτας
2. Συνεχής
3. Χωρίς επικαλύψεις
4. Σχεδόν καθολικός
5. Εκφυλισμένος
6. Έχει κωδικόνια έναρξης-τερματισμού
7. Στα αντικωδικόνια παρατηρείται ταλάντωση



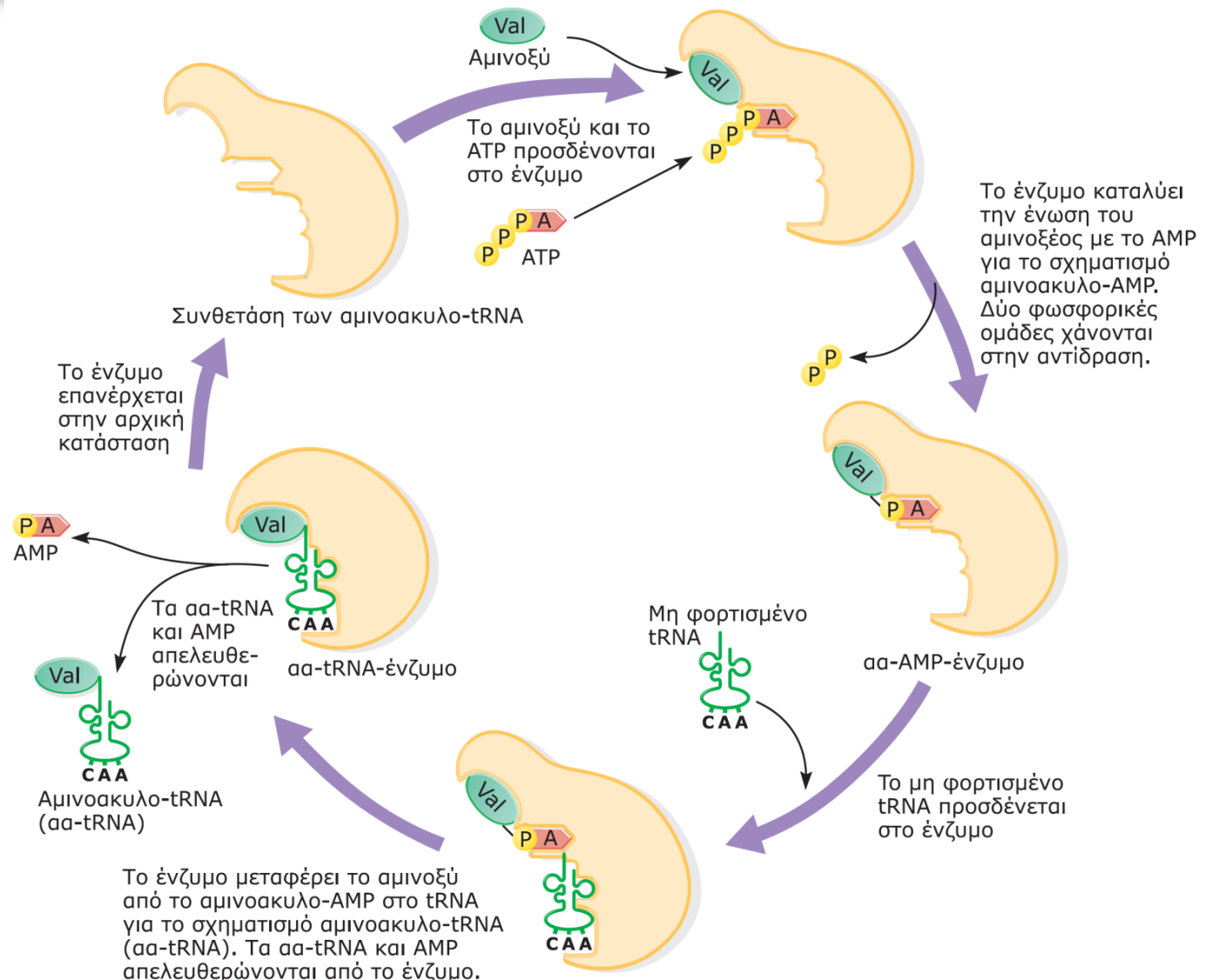
GGCATGTAAAGAGTCTTAGGTGGCCTACTGATATCTTTTTTTCATAGAAGGTATGGA  
 CCGTACATTTCTCAGAATCCACCGGATGACTATAGAAAAAAGTATCTTCATAGGT

# Έναρξη ATG Δήξη TAA, TAG, TGA

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

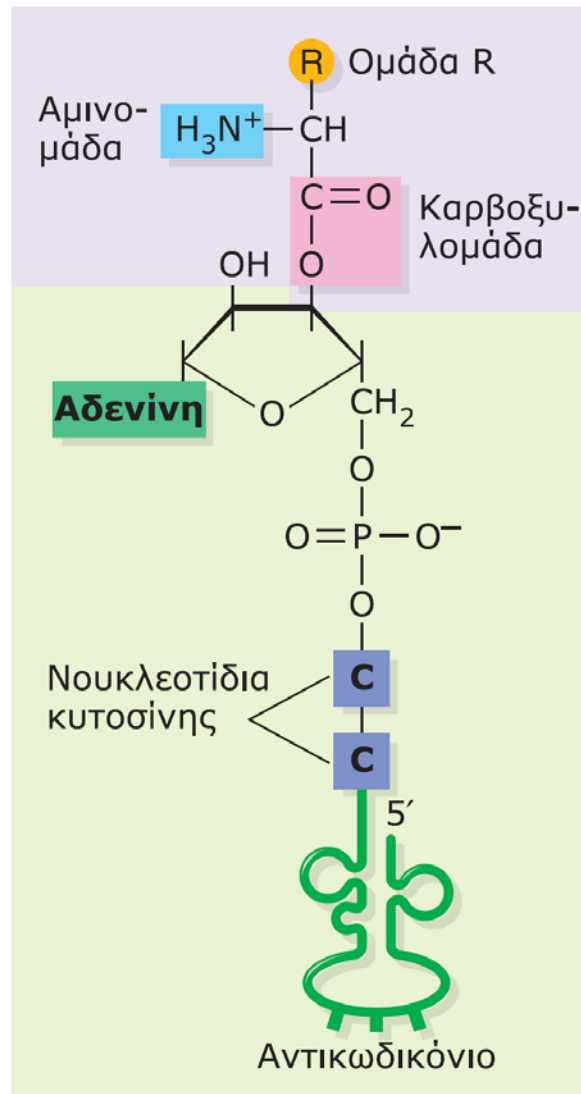
TCCAAACAAATGGGGTTATTTGGTTAGATCAACCCCTCTTGTAAGGAAAACCTAG  
 AGAAAGACAACAAGAATGTCGACAAAACCTCCGCCATCGTCTCAGGGTGGTGCTG  
 ACCAGTTATTGGGGTGTTCAACCTTCTAAAATCACAAAACCAGATGGTACTGAAT  
 GGAGACATACAAAGCAGATGTTACAATTGATCTGACTAAACATCATAAGCCAACA  
 GGACTGTAAAGAGTCTTAGGTGGCCAACCTGATATCTTTTTTCAGAGAAGGTATGGA

# Φόρτιση ενός μορίου TRNA από την αντίστοιχη συνθετάση αμινοακυλο-tRNA και παραγωγή ενός αμινοακυλο-TRNA (φορτισμένου tRNA).





# Πρόσδεση ενός αμινοξέος σε ένα μόριο tRNA.



Το αμινοξύ προσδένεται μέσω της καρβοξυλομάδας στη ριβόζη του τελευταίου ριβονουκλεοτιδίου της αλυσίδας του tRNA

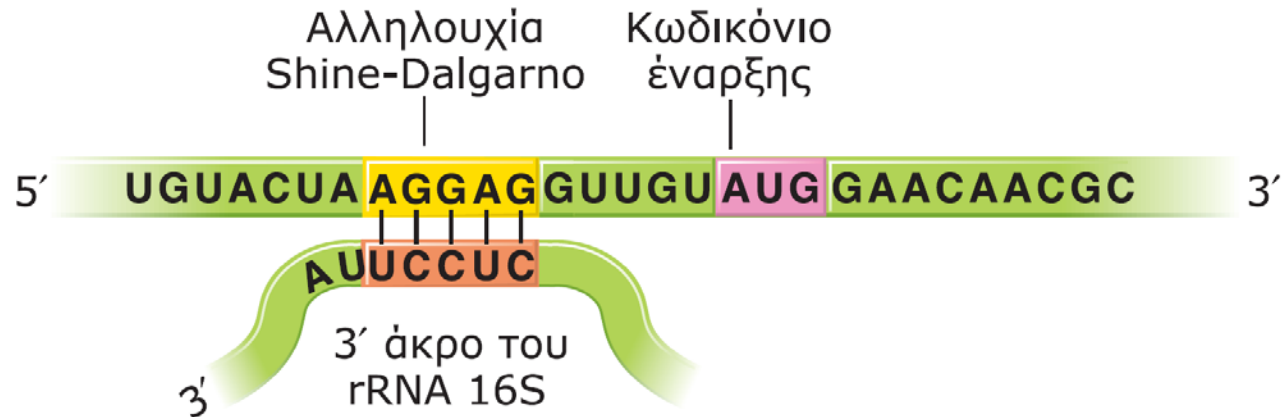
Τα τελευταία 3 νουκλεοτίδια όλων των tRNA είναι -C-C-A-3'

# Οι αλληλουχίες μέσω των οποίων τα ριβοσώματα προσδέονται στο mRNA κατά την έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης στους προκαρυώτες.

## α) Αλληλουχία στο 3' άκρο του rRNA 16S

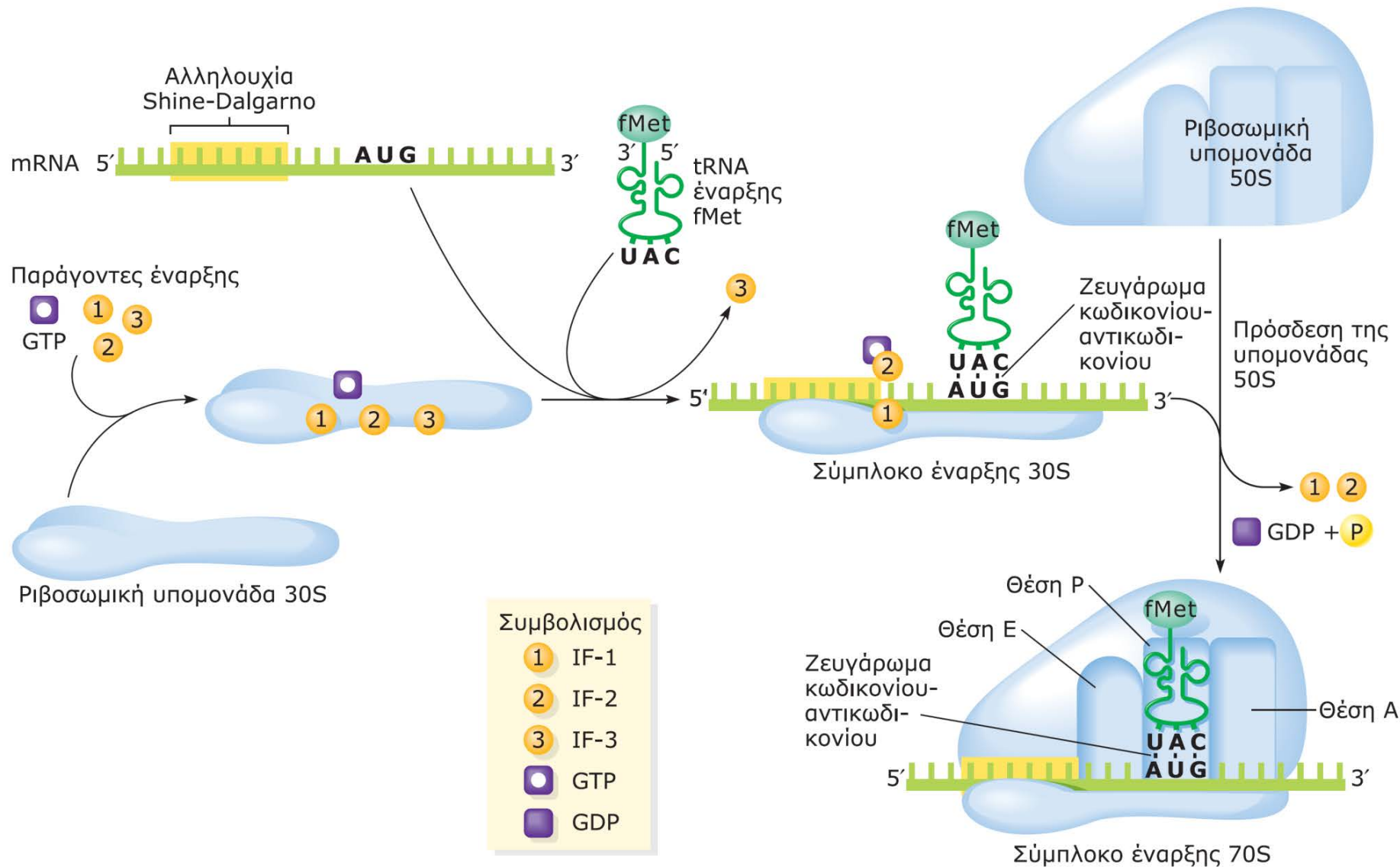
3' **AUUCCUCCA**UAG 5'

## β) Παράδειγμα ζευγαρώματος του mRNA-οδηγού και του rRNA 16S

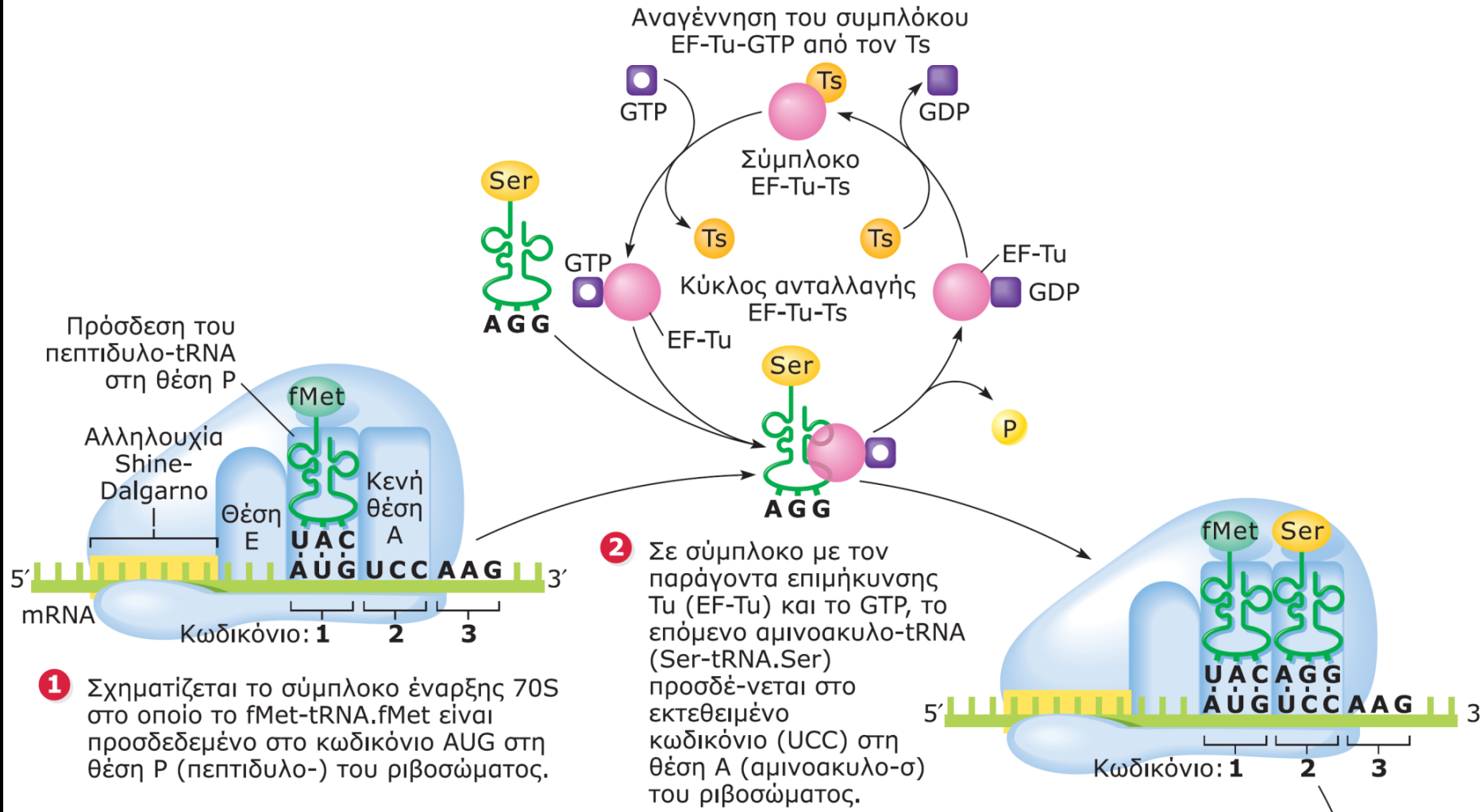


(α) Η νουκλεοτιδική αλληλουχία στο 3' άκρο του 16S rRNA της *E.coli*. (β) Παράδειγμα στο οποίο φαίνεται πώς το 3' άκρο του 16S rRNA ζευγαρώνει με την αλληλουχία Shine-Dalgarno που βρίσκεται ανοδικά του κωδικονίου έναρξης ATG.

# Έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης στους προκαρυώτες.

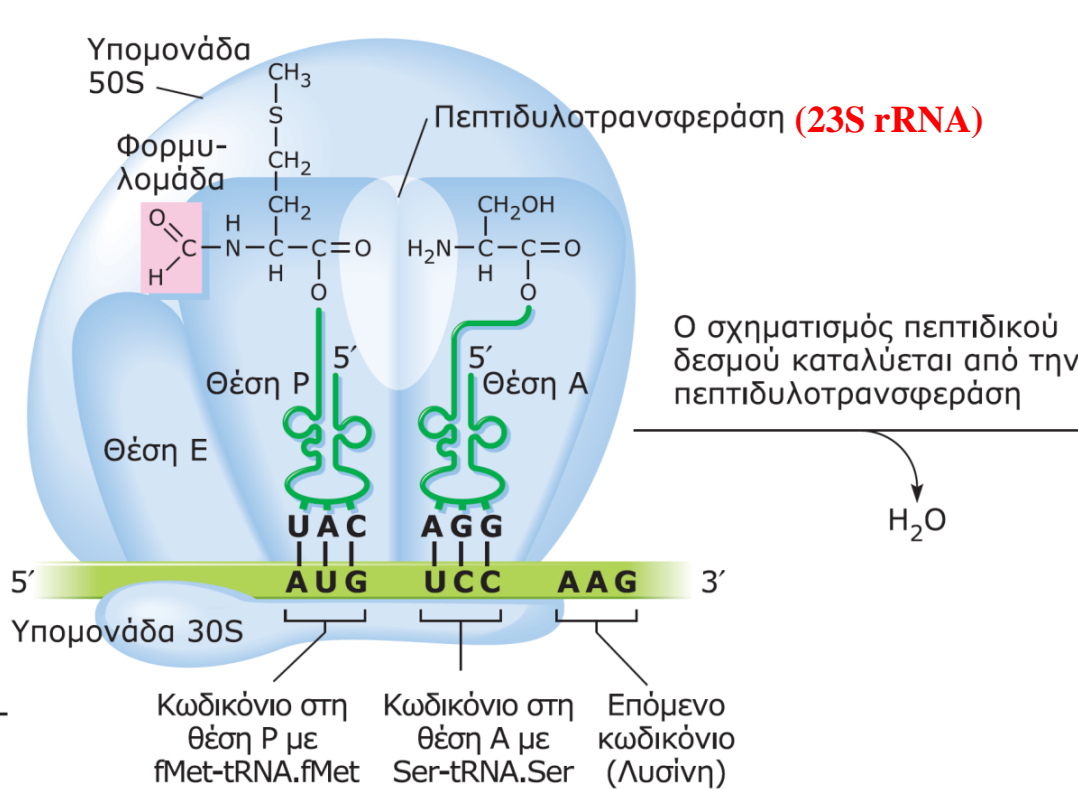


# Η επιμήκυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας κατά τη μετάφραση στους προκαρυώτες.

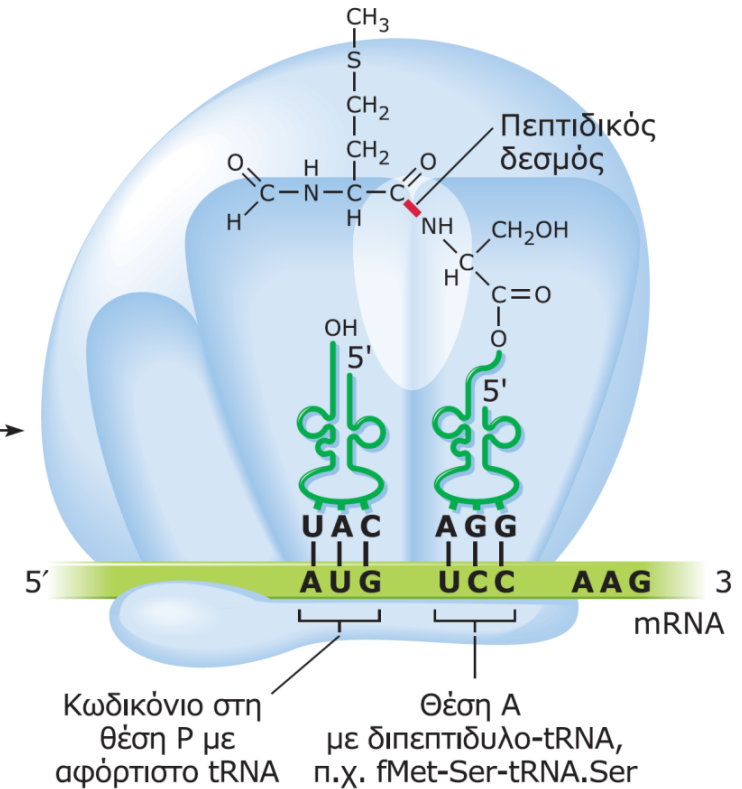


# Ο σχηματισμός πεπτιδικού δεσμού μεταξύ των δύο πρώτων αμινοξέων μιας πολυ- πεπτιδικής αλυσίδας καταλύεται στο ριβόσωμα από την πεπτιδυλοτρανσφεράση.

α) Γειτονικά αμινοακυλο-tRNA



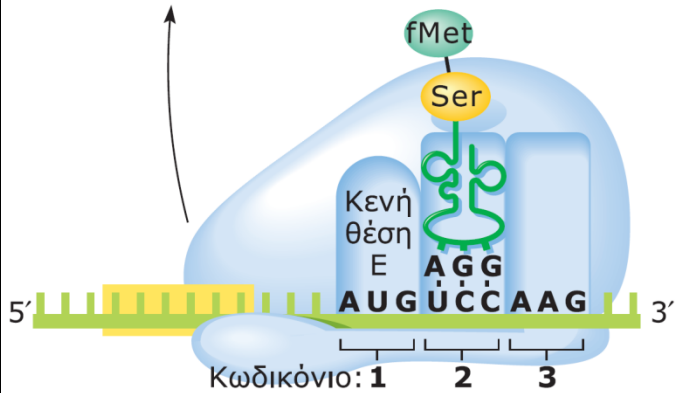
β) Μετά το σχηματισμό πεπτιδικού δεσμού



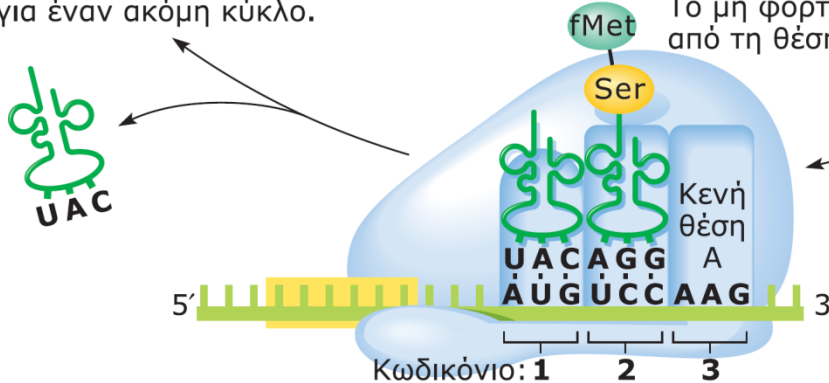
(α) Απεικονίζονται δύο γειτονικά αμινοακυλο-TRNA τα οποία μεταφέρουν τα αμινοξέα fMeT και Ser, τοποθετημένα στο ριβόσωμα και προσδεδεμένα στο mRNA. (β) μετά το σχηματισμό του πεπτιδικού δεσμού, στη θέση P βρίσκεται ένα μη φορτισμένο tRNA και στη θέση A ένα διπεπτιδυλο- tRNA.

# Η επιμήκυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας κατά τη μετάφραση στους προκαρυώτες.

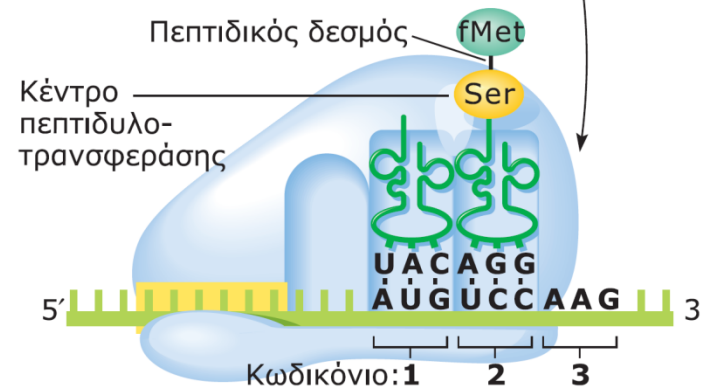
- 6** Ο κύκλος επιμήκυνσης επαναλαμβάνεται μέχρι να εντοπιστεί το κωδικόνιο λήξης.



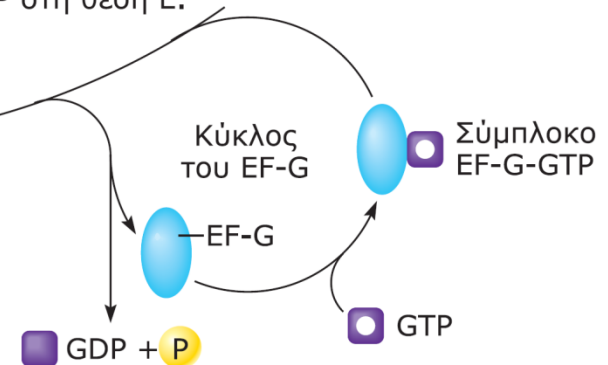
- 5** Όταν ολοκληρωθεί η μετατόπιση και το πεπτιδυλο-tRNA βρίσκεται στη θέση P, το μη φορτισμένο tRNA απελευθερώνεται από τη θέση E και το ριβόσωμα είναι έτοιμο για έναν ακόμη κύκλο.



- 3** Σχηματίζεται πεπτιδικός δεσμός μεταξύ των δύο γειτονικών αμινοξέων, ο οποίος καταλύεται από την πεπτιδυλοτρανσφεράση. Τα συνδεδεμένα αμινοξέα προσδένονται στο tRNA στη θέση A, σχηματίζοντας ένα πεπτιδυλο-tRNA.

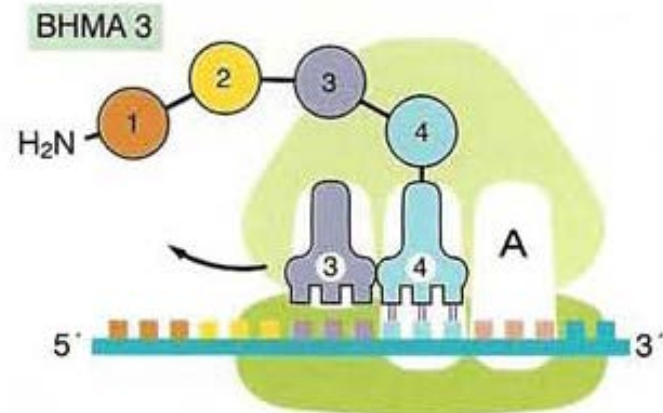
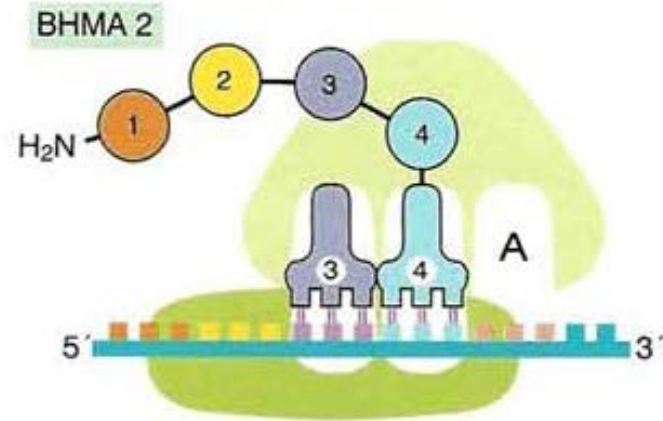
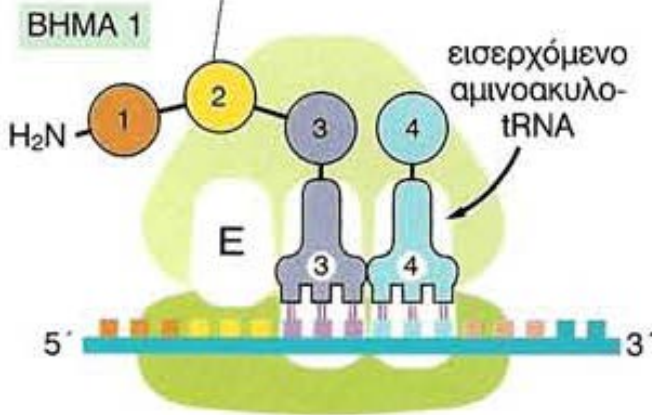


- 4** Καθώς το ριβόσωμα μετατοπίζεται κατά ένα κωδικόνιο προς τα δεξιά (απαιτείται EF-G και GTP), το πεπτιδυλο-tRNA μεταφέρεται από τη θέση A στη θέση P. Το μη φορτισμένο tRNA μετακινείται από τη θέση P στη θέση E.

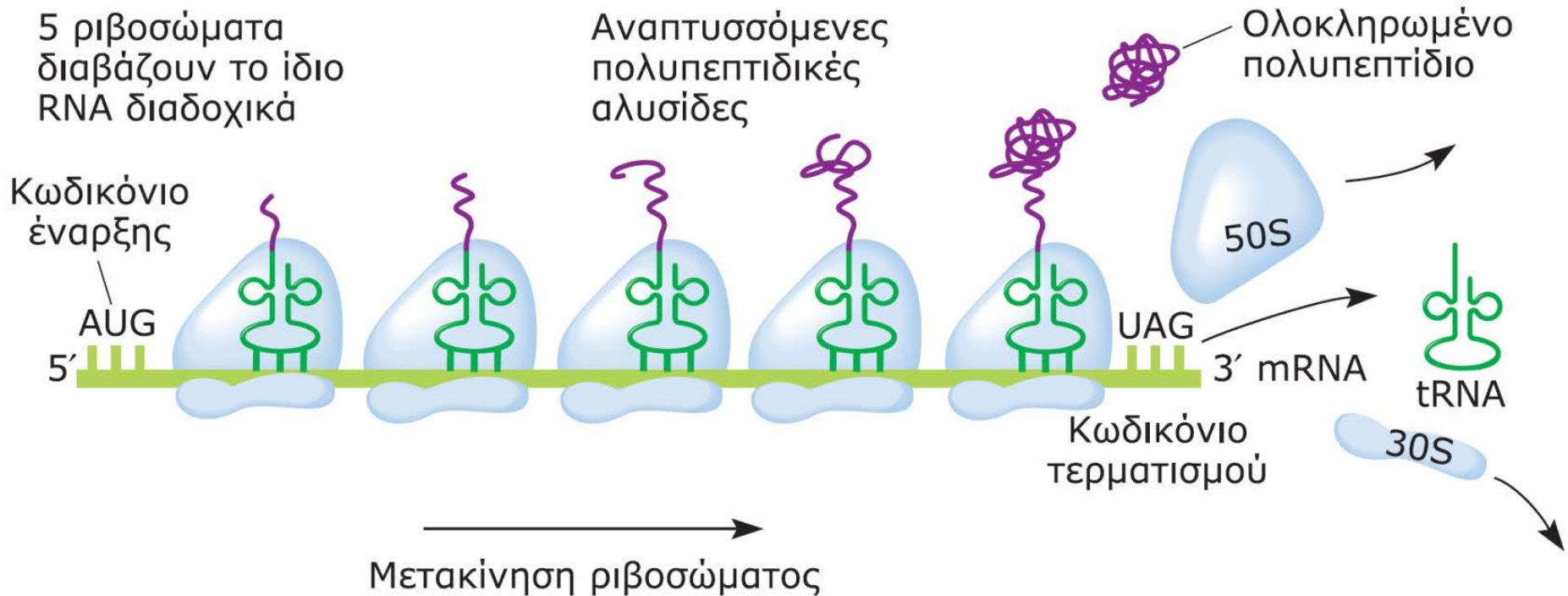


# Αύξηση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας

αυξανόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα

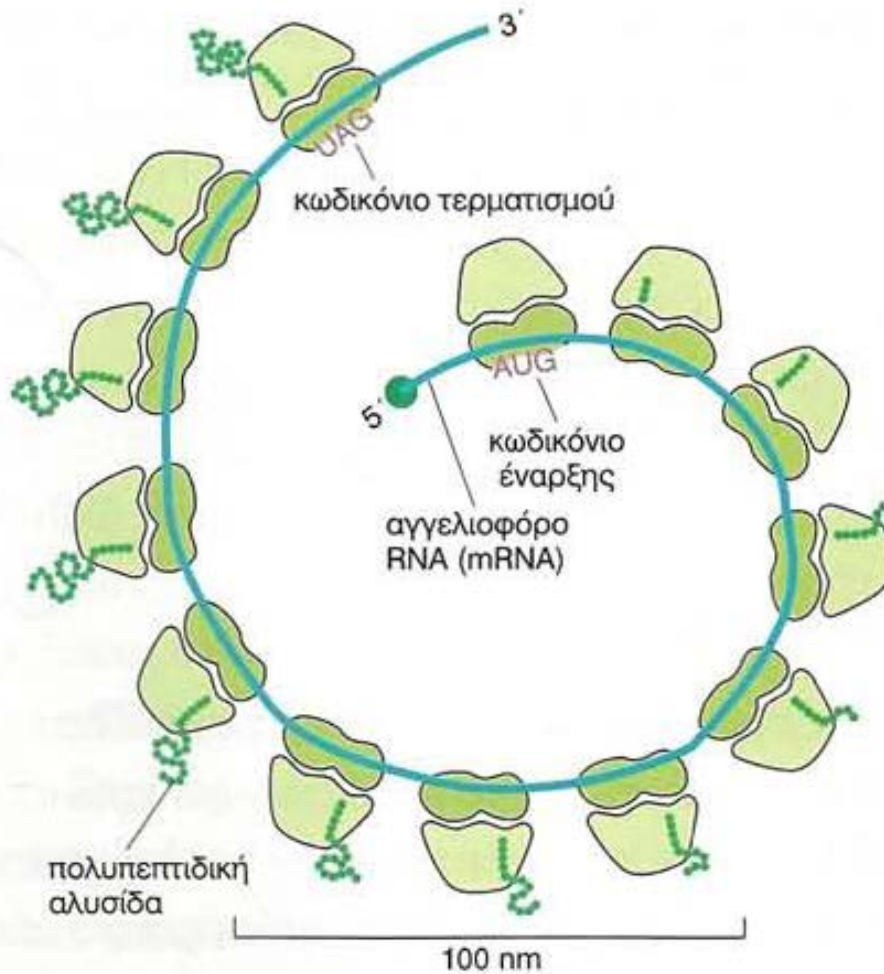


# Διαγραμματική απεικόνιση ενός πολυσώματος – πολλών ριβοσωμάτων, τα οποία μεταφράζουν ταυτόχρονα το ίδιο mRNA.

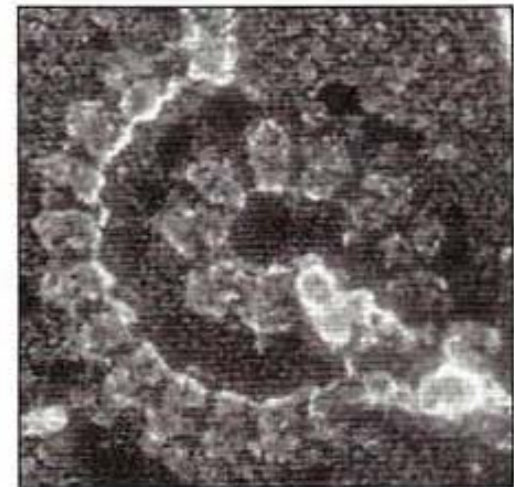




# Πολυριβωσώματα



(A)



(B)

# Ριβωσώματα- Nobel Χημείας 2009

July 2009



## The Nobel Prize in Chemistry 2009

"for studies of the structure and function of the ribosome"



Photo: MRC Laboratory of Molecular Biology

**Venkatraman Ramakrishnan**

🕒 1/3 of the prize

United Kingdom

MRC Laboratory of Molecular Biology  
Cambridge, United Kingdom



Credits: Michael Marsland/Yale University

**Thomas A. Steitz**

🕒 1/3 of the prize

USA

Yale University  
New Haven, CT, USA;  
Howard Hughes Medical Institute



Credits: Micheline Pelletier/Corbis

**Ada E. Yonath**

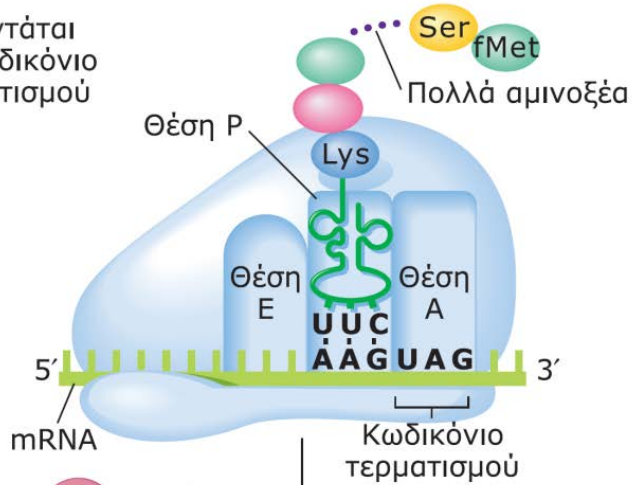
🕒 1/3 of the prize

Israel

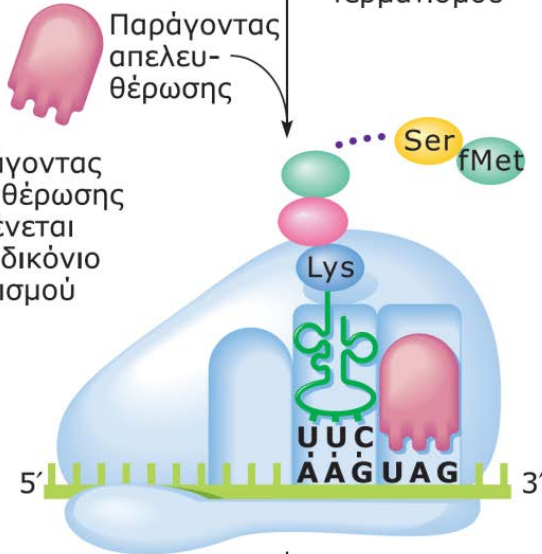
Weizmann Institute of Science  
Rehovot, Israel

# Τερματισμός της μετάφρασης.

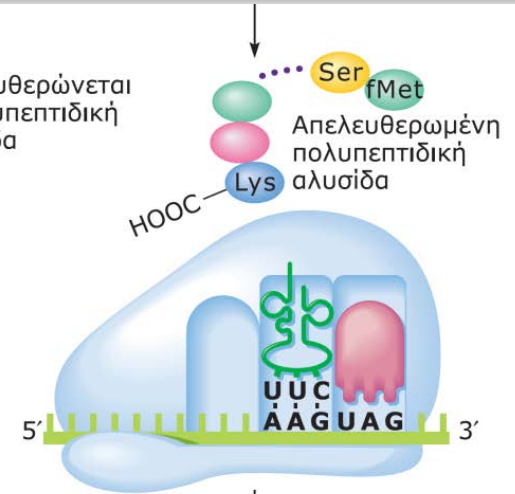
1 Συναντάται το κωδικόνιο τερματισμού



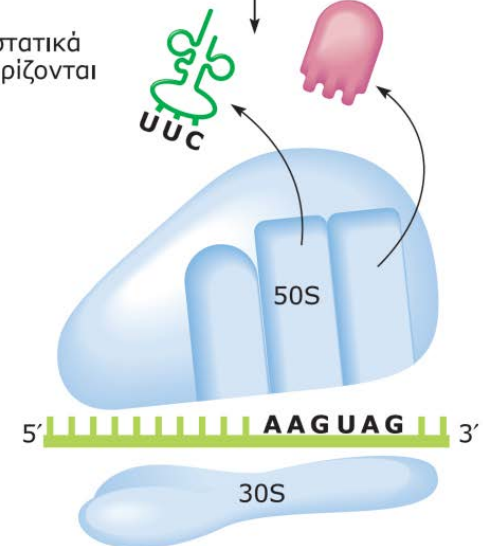
2 Ο παράγοντας απελευθέρωσης προσδένεται στο κωδικόνιο τερματισμού



3 Απελευθερώνεται η πολυπεπτιδική αλυσίδα



4 Τα συστατικά αποχωρίζονται

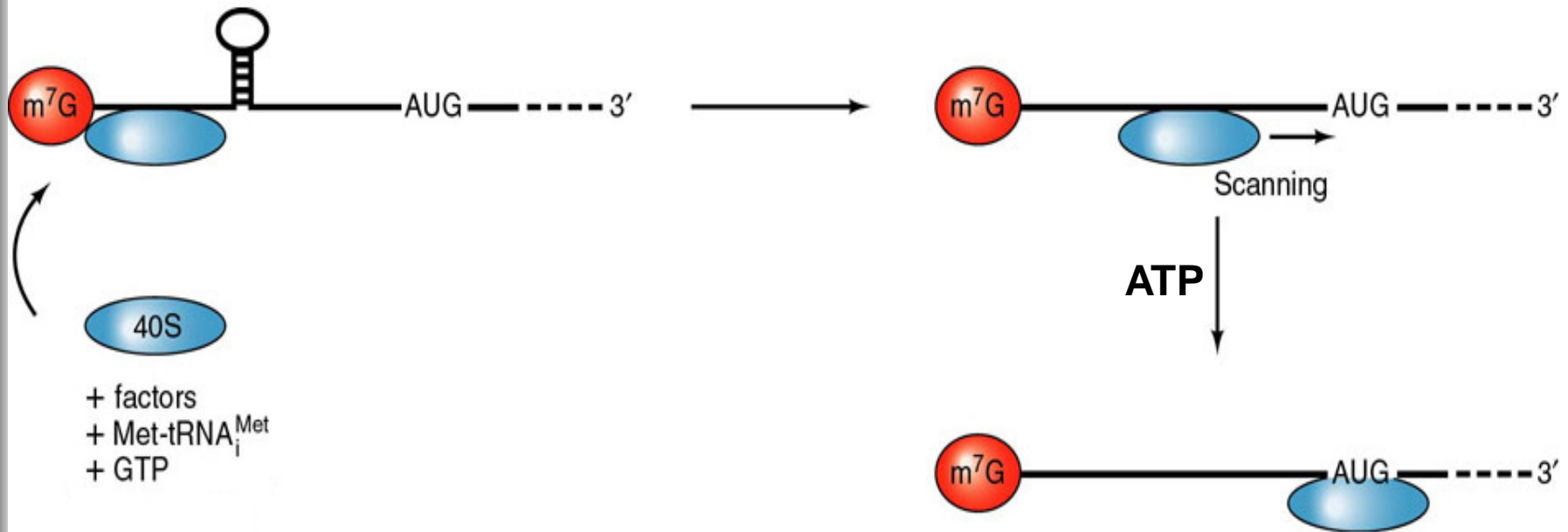




NCER



# Scanning (or Kozak) Model for Translation Initiation in Eukaryotes



# Apparent Exceptions to the Scanning Model?

- ▶ Translation of some mRNAs (5-10%) doesn't start at first AUG (ribosome skips one or more AUGs)
- ▶ Comparative sequence analysis of these mRNAs revealed the following consensus sequence at the AUG that is used:

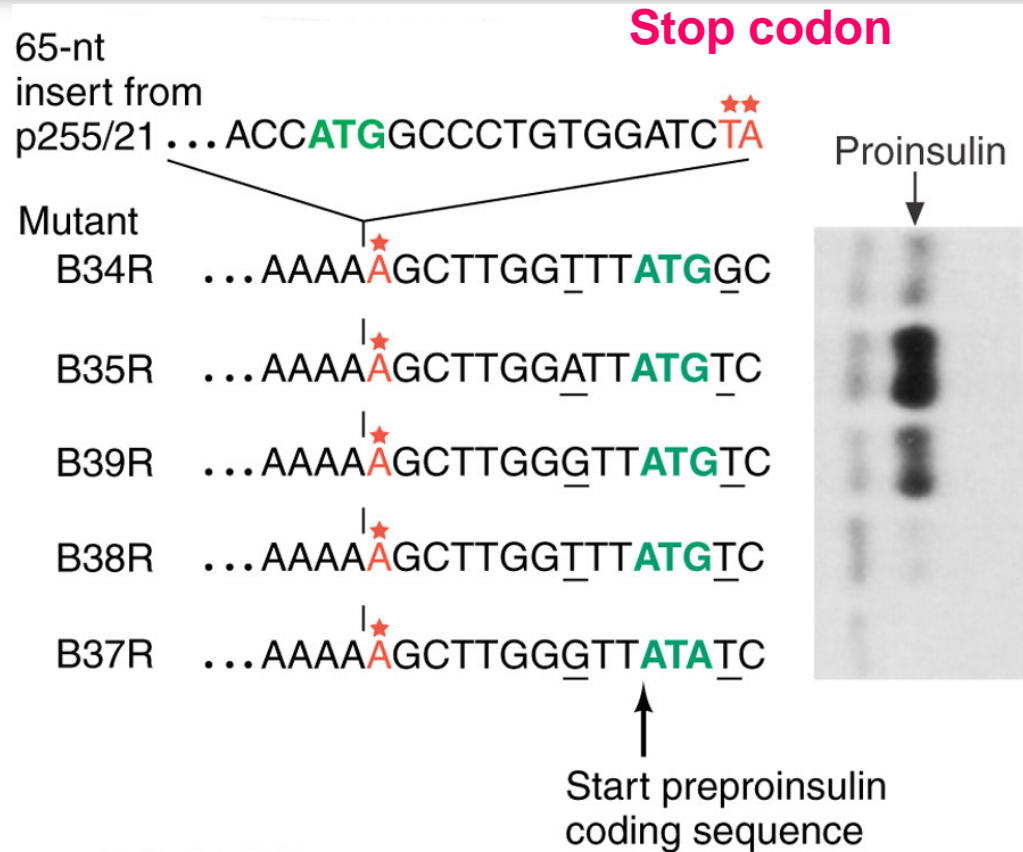
-5 -4 -3 -2 -1 +1 +2 +3 +4  
C C R C C A U G G R=purine

- ▶ Positions -3 and +4 are particularly important, based on mutagenesis studies



# Upstream ATG is an ineffective barrier if followed by a Stop codon.

In some mRNAs, the first ATG is in a favorable context, but is still not used. Kozak noted that there was usually a Stop codon in between the start codons in these mRNAs. So she engineered such a situation in the preproinsulin mRNA and tested its affect on translation.



Kozak, Point mutations define a sequence flanking the AUG initiator codon that modulates translation by eukaryotic ribosomes. *Cell* 44 (31 Jan 1986) p. 289, f. 7. Reprinted by permission of Elsevier Science.

**Result:** Translation was good at the downstream ATG as long as it was in a good context.

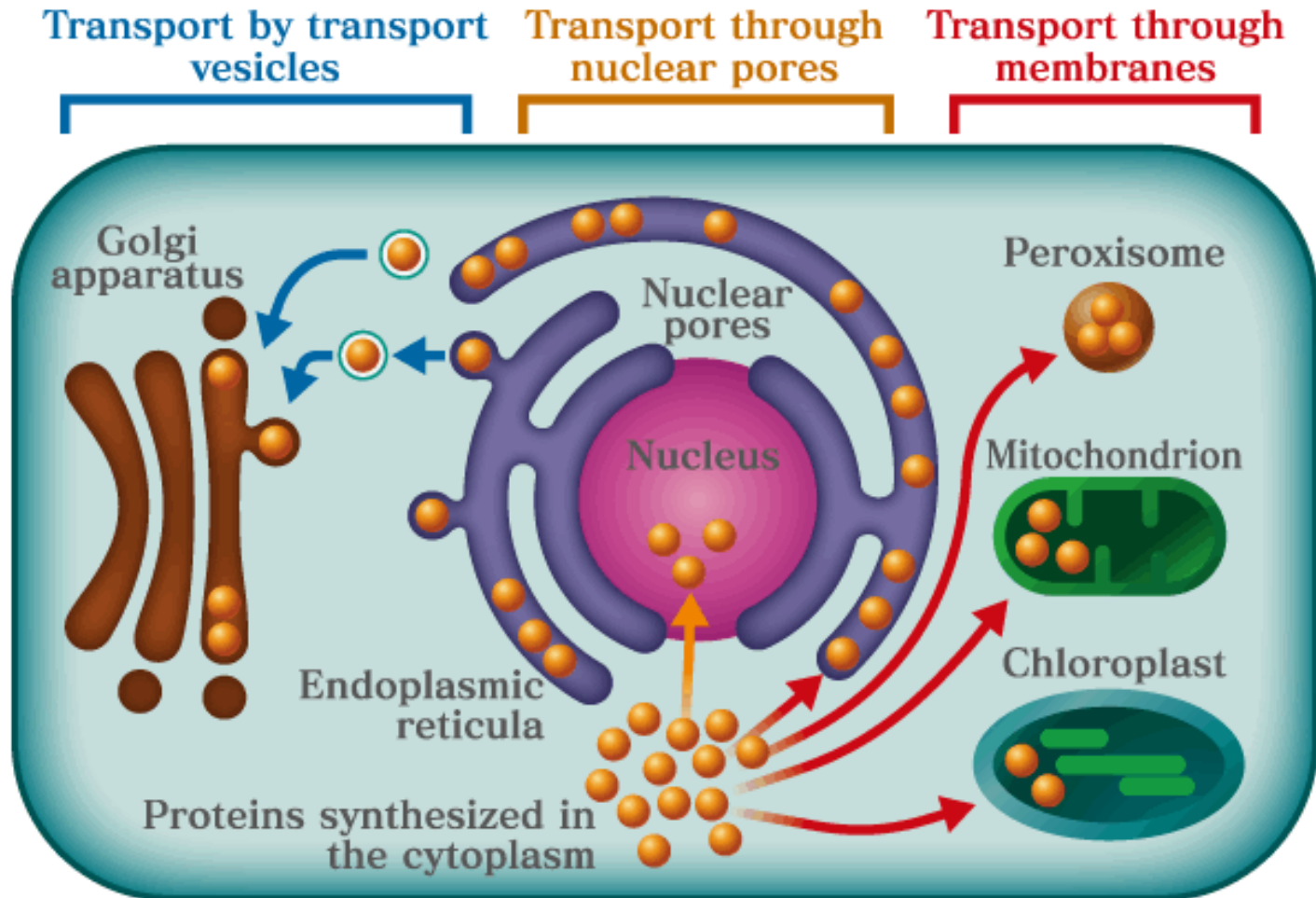


# Conclusions

- ▶ An upstream AUG does not interfere if it's context (-3,+4) is poor, or if it is followed quickly by an in-frame Stop codon.
  - In the latter case, it may be that the ribosomes don't fall off the mRNA after translating such a short ORF.
  - In natural mRNAs, upstream ORFs are very short, unless they have a regulatory role.



# Μεταφορά των πρωτεϊνών



# Μοντέλο στο οποίο παρουσιάζεται η διαδικασία μεταφοράς των πρωτεϊνών στο εσωτερικό του ενδοπλασματικού δικτύου.

