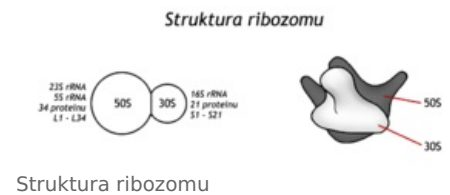


Translace u prokaryot

Struktura ribosomů

Bakteriální ribosom byl první buněčnou organelou podrobně popsanou na molekulární úrovni. Ribosom *E. coli* je ribonukleoproteinová částice (70S, Mr = 2,5 milionu), skládající se z jedné **menší (30S)** a z jedné **větší (50S) podjednotky**. Menší podjednotka obsahuje jednu molekulu ribosomální RNA (16S rRNA) a 21 molekul proteinů, označovaných S1, S2,...S21 (angl. small=malý). Větší podjednotka (50S) se u bakterií skládá ze dvou rRNA (23S a 5S) a 34 proteinů (angl. large = velký, proto L1, L2,...L34). Většina proteinů je v částici zastoupena jednou molekulou. Složky ribosomálních podjednotek jsou uspořádány tak, aby organela mohla plnit vazebné, katalytické a regulační funkce a aby mohla měnit konformaci a posunovat molekulu mRNA. Větší podjednotka tvarem připomíná křeslo, menší je oválná.



Iniciace translace

Syntéza peptidového řetězce je u bakterií zahajována vytvořením **iniciačního komplexu**, skládajícího se z podjednotky 30S, mRNA a **iniciační aa-tRNA**, což u bakterií je **N-formylmethionyl-tRNA** (fMet-tRNA^{Met}). Tato aa-tRNA se váže na mRNA s iniciačním kodonem AUG (někdy též GUG, čteným jako signál pro Met). Na mRNA byl objeven úsek před iniciačním kodonem (**Shineova-Dalgarnova sekvence**), který je komplementární k 3'-konci 16S rRNA. Asociace mRNA s 16S rRNA přispívá ke správné lokalizaci mRNA na ribosomu.

Iniciační komplex se tvoří tak, že na podjednotku 30S se nejdříve navážou proteinové iniciační faktory IF1, IF2 a IF3. Připojení GTP k IF2 umožní vazbu tohoto komplexu s mRNA a iniciační Met-tRNA. Vznikne iniciační komplex 30S.IF3.mRNA.IF1.IF2.fMet-tRNA.GTP. K němu se pak naváže ribosomální podjednotka 50S. Současně se uvolní faktory IF1, IF2, IF3 a hydrolyzuje se GTP na GDP a fosfát.

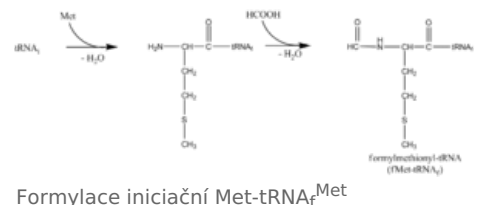
fMet-tRNA^{Met} obsadí na ribosomu tzv. **peptidylové místo P**. Další, **aminokyselinové místo A**, je určeno k vazbě další aa-tRNA, odpovídající kodonu následujícímu za AUG.

Methionin je formylován **transformylasou** za účasti N¹⁰-formyltetrahydrolistové kyseliny a to až po navázání aminokyseliny na iniciační tRNA_f Met-tRNA_m, zařazující methionin dovnitř peptidového řetězce, je poznávána též kodonem AUG, při translaci se váže na aminokyselinové místo ribosomu a není formylována. Popsaná modifikace iniciační Met-tRNA není známa u eukaryot.

Elongace peptidu

Prodlužování syntézovaného peptidu probíhá ve třech krocích:

1.fáze: Navázání další aa-tRNA na aminoacylové místo ribosomu. Tato aminoacyl-tRNA je vybrána kodonem nacházejícím se v tomto místě. Na ribosom je dopravena v komplexu s proteinovým elongačním faktorem EF-Tu, vázajícím GTP. Při předání aa-tRNA se GTP hydrolyzuje a EF-Tu se uvolní z ribosomu. Na EF-Tu.GDP se připojí elongační faktor EF-Ts a změní konformaci komplexu natolik, že se GDP uvolní. Regenerovaný EF-Tu může po vazbě s novým GTP vstoupit do dalšího cyklu. EF-Tu nereaguje s f-Met-tRNA^{Met}. Proto se tato aa-tRNA nenavazuje na aminoacylové místo. EF-Tu však váže Met-tRNA a zajišťuje tak zařazení methioninu dovnitř řetězce.



Při hydrolýze GTP a uvolňování EF-Tu-GDP z ribosomu se konformace faktoru mění v blízkosti právě navázané aa-tRNA natolik, že jen aa-tRNA pevně a přesně vázaná na antikodon a aminoacylové místo se neuvolní. Pokud je omylem zařazena nesprávná aa-tRNA se slabšími vazbami, je v této fázi translace opět uvolněna. Faktor EF-Tu udává rychlost (krok) celé translaci.

Protein EF-Tu patří do velké a fylogeneticky staré rodiny proteinů G, které jsou mimo jiné součástí mechanismu hormonální regulace.

2.fáze: Tvorba peptidové vazby (transpeptidace). Vznik peptidové vazby je katalyzován **peptidyltransferasou**, která je součástí podjednotky 50S. V podstatě jde o nukleofilní ataku skupiny dusíku 2-NH₂ skupiny připojované aminokyseliny (aa-tRNA na místě A) na karboxylový uhlík f-Met-tRNA^{Met} nebo peptidyl-tRNA, nacházející se na místě P. Mezi zúčastněnými aminokyselinami se vytvoří peptidová vazba a zároveň se rozštěpí esterová vazba mezi aminokyselinou a tRNA na místě P. Na místě A tak vznikne peptidyl-tRNA. Jinak řečeno, peptidyl se přenese z předchozí tRNA na skupinu NH₂ následující aa-tRNA, čímž se řetězec prodlouží o jednu aminokyselinu. Z toho vyplývá, že **peptidový řetězec roste od N-konce k C-konci**.

3.fáze: Translokace je pochod, při kterém se volná tRNA z peptidylového místa uvolní a mRNA se posune o 3 nukleotidy (o jeden kodon), takže peptidyl-tRNA se dostane z místa A na místo P. K posunu je třeba elongační faktor EF-G s navázaným GTP, který patří mezi zmíněné proteiny G jako EF-Tu. Hydrolýzou GTP se EF-G z ribosomu

uvolní. Na volné místo A se může navázat další aa-tRNA a cyklus se opakuje. Tímto způsobem se mRNA posunuje po ribosomu, z něhož se zároveň odvíjí rostoucí polypeptidový řetězec.

Terminace translace

Ribosom se během syntézy polypeptidu posune k **terminátoru**, tj. kodonu, signalizujícímu ukončení translace. Je to kodon UAG, UAA nebo UGA. Žádný z nich nekóduje zařazení nějaké aminokyseliny do peptidu, tyto kodony rozpozná některý z proteinových **uvolňovacích terminačních faktorů (releasing factors)**. Faktor RF1 pozná UAA a UAG, RF2 pak UGA a UAA. Po navázání faktoru na ribosom se peptidyl-tRNA přesune z místa A na místo P. Specifita peptidyltransferasy se změní natolik, že přepojí peptidyl na molekulu vody místo na 2-NH₂ další aa-tRNA. Jinak řečeno, hotový peptid se hydrolyticky uvolní od poslední tRNA. Uvolní se tRNA a mRNA a ribosom se rozpadne na podjednotky 50S a 30S. Iniciační faktor IF3 se ihned naváže na 30S a tak zabráni reasociaci ribosomu, který by byl nefunkční, neboť neobsahuje mRNA. Jednotlivé složky se mohou účastnit tvorby nového iniciačního komplexu a zahájit nový cyklus. Na jediné mRNA je simultánně navázáno několik ribosomů, které po řetězci mRNA postupují v určitém odstupu a na každém z nich probíhá syntéza jednoho peptidu. Celý útvar se nazývá **polyribosom**, též **polysom**. Tímto způsobem se mRNA využívá velmi efektivně.

Inhibitory bakteriální translace

Řada antibiotik používaných v lékařské praxi i pro výzkumné účely inhibuje některou fázi translace.

Streptomycin brání v navázání fMet-tRNA^{Met} na 30S-podjednotku ribosomu a znemožňuje zahájení translace. Kromě toho je příčinou chybného čtení genetického kódu.

Tetracyklin se též navazuje na podjednotku 30S a inhibuje připojení aa-tRNA na místě A. Běžně užívaný **chloramfenikol** inhibuje bakteriální peptidyltransferasu (toxický **cykloheximid** působí analogickým způsobem na eukaryotickou translaci). **Erytromycin** zastavuje translaci tím, že se připojuje na podjednotku 50S. Uvedená antibiotika se užívají k léčení bakteriálních infekcí, zatímco **puromycin** je s úspěchem používán k vědeckým účelům, ke studiu mechanismu proteosyntézy. Svou strukturou imituje 3'-konec tyrosinyl-tRNA. Methyltyrosinyl je v puromycinu vázán pevnou amidickou, nikoli esterovou vazbou a molekula nemá antikodon. Na místě A se rostoucí peptid přenes na puromycin a výsledný peptidyl-puromycin se z ribosomu uvolní. Syntéza peptidu je tak předčasně přerušena.

Odkazy

Související články

- Translace
- Translace u eukaryot
- Transkripce
- RNA

*Další kapitoly z knihy **ŠTÍPEK, S.: Stručná biochemie uchování a exprese genetické informace:***

Struktura nukleových kyselin: Základní složky nukleových kyselin • Primární struktura nukleových kyselin • Řetězec nukleové kyseliny lze štěpit neenzymovou nebo enzymovou hydrolýzou • Metody sekvencování • **Sekundární a vyšší struktura nukleových kyselin:** Sekundární struktura DNA • Denaturace a reasociace řetězců nukleových kyselin, molekulární hybridizace • Sekundární struktura RNA • Topologie DNA; • Interakce DNA s proteiny, struktura chromosomu • Bakteriální chromosom • Eukaryotické chromosomy • DNA mitochondrií

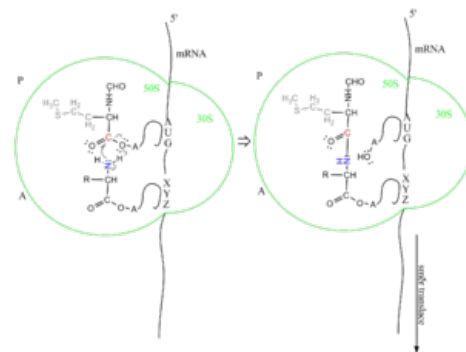
Biosyntéza nukleových kyselin: Replikace DNA • Transkripce

Biosyntéza polypeptidového řetězce - translace: Transferové RNA (tRNA) • Aktivace aminokyselin, syntéza aminoacyl-tRNA • Funkce ribozómů v translaci • Translace u prokaryotů • Struktura ribozómů • Iniciace translace • Elongace peptidů • Terminace translace • Inhibitory bakteriální translace • Translace u eukaryotů • Struktura ribozómů • Iniciace eukaryotické translace • Elongace eukaryotické translace • Terminace eukaryotické translace • Inhibitory eukaryotické translace

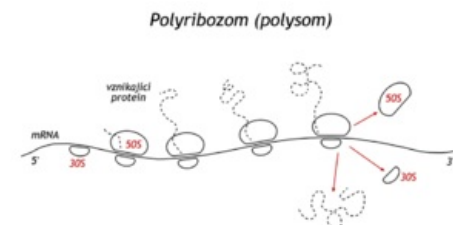
Genetický kód

Biosyntéza nukleových kyselin a proteosyntéza v mitochondriích: Replikace mitochondriální DNA • Mitochondriální transkripce • Mitochondriální translace

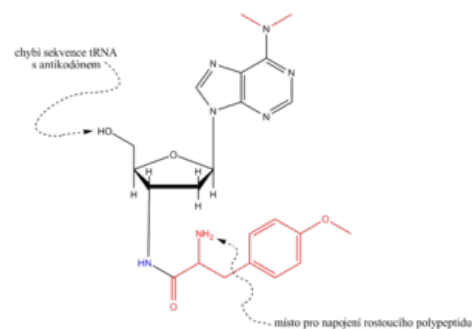
Řízení genové exprese a proteosyntézy: Řízení genové exprese a



Translace (elongace peptidu)



Polyribosom



Vzorec puromycinu

proteosyntézy u prokaryot • Regulace na úrovni transkripce • Regulace sigma-faktory • Jacobův-Monodův operonový model • Regulační význam cAMP u bakterií • Variace operonového řízení genů • Tryptofanový a arabinosový operon • Řízení terminace transkripce • Regulace bakteriální proteosyntézy na úrovni translace • Řízení genové exprese a proteosyntézy u eukaryot • Regulace na úrovni uspořádání genů • Regulace na úrovni transkripce • Regulace posttranskripčních úprav pre-mRNA • Regulace na úrovni translace • Řízení rychlosti degradace mRNA • Regulace funkce proteinu kotranslačními a posttranslačními úpravami

Posttranslační úpravy a targeting proteinů: Signální sekvence polypeptidu, volné a vázané ribozómy • Posttranslační glykosylace proteinů • Targeting nezávislý na glykosylaci proteinů • Targeting mitochondriálních proteinů • Targeting jaderných proteinů • Rozhodovací mechanismus k destrukci nefunkčních proteinů • Receptorem zprostředkovaná endocytóza

Biochemie virů: Reprodukce DNA virů • Reprodukce RNA virů • Interferony

Biochemie genového inženýrství: Štěpení DNA na definovaném místě řetězce • Účinné dělení fragmentů DNA elektroforézou • Identifikace restrikčních fragmentů • Syntéza umělé DNA • Pomnožení a exprese izolovaného nebo umělého genu v hostitelské buňce

Zdroje

- ŠTÍPEK, Stanislav. *Stručná biochemie : Uchování a exprese genetické informace*. 1. vydání. Medprint, 1998. 92 s. s. 45–49. ISBN 80-902036-2-0.