

Биосинтеза на белтъци

Цели

Цели на преподавателя: Да се разгледа превеждането (транслацията) на генетичната информация от езика на нуклеиновите киселини на езика на белтъците и да се дадат примери за приложението на познанията върху белтъчната биосинтеза в медицината.

След работа с този раздел студентите ще могат да постигнат следните учебни цели:

А. Знания

1. Да посочат принципите, на които се основава синтезата на белтъци;
2. Да изброят характеристиките на генетичния код;
3. Да дефинират какво представлява дегенерацията на генетичния код;
4. Да изброят ензимите, необходими за синтезата на белтъци;
5. Да изброят етапите, през които минава синтезата на белтъци;
6. Да изброят процесите, които се използват за следсинтетичната обработка на белтъци;

Б. Разбирания

1. Да обяснят как се активират аминокиселините;
2. Да обяснят как се образува инициационният комплекс;
3. Да обяснят ролята на иРНК за белтъчната биосинтеза;
4. Да обяснят ролята на рРНК за белтъчната биосинтеза;
5. Да обяснят как протича елонгирането на полипептидната верига;
6. Да обяснят как протича терминирането на полипептидната верига;

В. Умения

1. Да приложат познанията си върху структура на тРНК и обяснят адапторната им роля в белтъчната синтеза;
2. Да приложат познанията си за да обяснят действието на антибиотици и токсини върху белтъчната биосинтеза;
3. Да приложат познанията си от този и предишни раздели и дадат примери за следсинтетична обработка на белтъци
4. Да приложат познанията си от този и предишни раздели и да обяснят как новосинтезирани белтъци се насочват към органели, мембрани или извънклетъчното пространство
5. Да обяснят механизма на някои заболявания, причинени от точкови мутации,

превръщане на смислен в безсмислен кодон и изместване рамката на четене като □-таласемии.

14.1 Резюме

Белтъците се синтезират върху рибозомите в процес, наречен превеждане на генетичната информация и направляван от иРНК. Нуклеотидната секвенция на ДНК, презаписана като последователност от кодони в иРНК, определя аминокиселинната последователност в белтъка. Транслацията започва от кодона АУГ, който определя първата аминокиселина метионин в еукариоти. Кодоните в иРНК се четат последователно в посока от 5' към 3'-края до достигане на 3'-края или "стоп"-кодон (УАГ, УГА или УАА). Белтъкът се синтезира от amino- към карбоксилния край.

Високо специфични ензими аминоксилтрансферази извършват отбор и активиране на аминокиселините преди свързването им с определени тРНК. тРНК пренасят аминокиселините към рибозомите. Комплементарното и антипаралелно взаимодействие между кодона в иРНК и антикодона в тРНК осигурява включването на правилната аминокиселина в полипептидната верига. При иницирането началната Мет-тРНК се свързва с малката субединица на рибозомата. Това става с помощта на цитозолни белтъци, наречени инициращи фактори (IFs) и ГТФ. При елонгирането става свързване на тРНК в аминокиселинния участък на рибозомата и към съответен кодон в иРНК; образуване на пептидната връзка и транслокация на иРНК спрямо рибозомата, така че иРНК с удължения пептид да заеме пептидния участък, а аминокиселинният участък на рибозомата да се заеме от следващата тРНК. При достигане на терминаращ кодон под действие на освобождаващи фактори белтъкът се отделя от рибозомата. Комплексът от една иРНК и много рибозоми се нарича полизома.

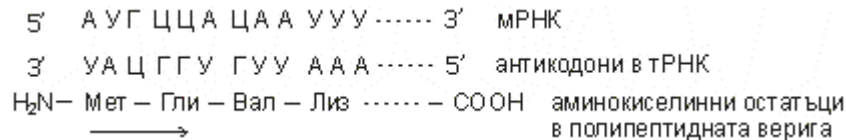
Нагъването на полипептидната верига се улеснява от специални белтъци шаперони и от ензими като пролил рацемази и протеин дисулфид изомерази. Следсинтетичната обработка на белтъците включва ковалентни модификации на аминокиселини, образуване на някои дисулфидни връзки, отделяне на пептиди и др. Някои белтъци се синтезират в цитозолните рибозоми и остават в цитоплазмата. Други се транспортират в митохондриите, ядрата и други органели. Белтъците, предназначени за лизозомите, за включване в клетъчните мембрани или за секреция извън клетките, се синтезират върху рибозоми, прикрепени към грубия ендоплазмен ретикулум и преминават в комплекса на Голджи, където се модифицират и насочват към своето крайно направление.

Тези познания позволяват да се разбере действието на някои антибиотици и токсини върху белтъчната синтеза, както и причините за някои от многобройните хемоглобинпатии и таласемии.

14.2 Превеждане на генетичната информация - общи принципи

Наследствената информация е записана като последователност от тройки нуклеотиди (триплети или кодони) в матричната верига на ДНК. Тя се преписва като последователност от кодони в иРНК и се превежда в процеса на белтъчната биосинтеза като последователност от аминокиселини. Репликацията и транскрипцията се основават на комплементарни взаимодействия между бази. При белтъчната биосинтеза също чрез комплементарни и антипаралелни взаимодействия между кодони от иРНК и антикодони от определени тРНК информацията се превежда от езика на нуклеиновите киселини на езика на белтъците. Аминокиселините не могат да се свързват директно към кодона в иРНК, но тРНК играе ролята на адаптор. Всяка тРНК има в 3'-края акцепторен участък за свързване на определена аминокиселина, съответстваща на кодона в иРНК (фиг. 14-1).

Транспортните РНК не могат да разпознаят коя аминокиселина трябва да свържат. Тази функция се осъществява от специални ензими, наречени аминоктил-тРНК синтетази. Изискват се поне 20 такива ензими, всеки от които разпознава едновременно специфична тРНК и специфична аминокиселина.



Фиг. 14-1. Превеждане на информацията от езика на нуклеиновите киселини на езика на белтъците.

Последователността от кодони в иРНК се чете в посока 5'-3'. тРНК чрез своите антикодони разпознават и намират съответните кодони, а носените от тях аминокиселини се използват за белтъчна биосинтеза в посока от amino-края към карбоксилния край.

14.3 Генетичен код. Роля на иРНК

Буквите в езика на нуклеиновите киселини (азотните бази) са само четири, буквите в езика на белтъците (аминокиселините) са двадесет. Теоретичните пресмятания показват, че комбинация от две бази 4^2 или 16 кодона са недостатъчни. За 20 аминокиселини трябва да има 4^3 или 64 кодона. Експериментално са доказани 61 смислени кодона и 3 безсмислени, действащи като "стоп" сигнали (УГА, УАГ, УАА). Колекцията от всички тези кодони съставлява генетичния код (табл. 14-1).

Табл. 14-1. Таблица за генетичния код, т.е. за съответствието между кодоните в иРНК и аминокиселините, използвани за белтъчна биосинтеза.

Първи нуклеотид	Втори нуклеотид				Трети нуклеотид
	У	Ц	А	Г	
У	Фал Фал Лев Лев	Сер Сер Сер Сер	Тир Тир Стоп Стоп	Цис Цис Стоп* Три	У Ц А Г
Г	Лев Лев Лев Лев	Про Про Про Про	Хис Хис Глн Глн	Арг Арг Арг Арг	У Ц А Г
А	Иле Иле Иле* Мет	Тре Тре Тре Тре	Асн Асн Лиз Лиз	Сер Сер Арг* Арг*	У Ц А Г
Г	Вал Вал Вал	Ала Ала Ала	Асп Асп Глу	Гли Гли Гли	У Ц А

	Вал	Ала	Глу	Гли	Г
--	-----	-----	-----	-----	---

* В митохондрии на бозайници.

Генетичният код се характеризира със следните особености:

1) Дегенерация на генетичния код

С изключение на Мет и Три, за които има по един кодон, за останалите аминокиселини има повече кодони. Това се означава като дегенерация на генетичния код, макар че по-информативен е терминът "изобилие". Първите две бази в кодона са постоянни, а третата може да е различна, без това да променя включваната аминокиселина. Взаимодействието между 3'-базата в кодона и 5'-базата в антикодона може да не е строго комплементарно според Crick. Дегенерацията на генетичния код намалява броя на мутациите. Например за левцин има 6 кодона. Четири от тях са дадени по-долу:

ЦУУ ЦУЦ ЦУА ЦУГ

Както и да бъде променена третата база, ще се получи един от тези четири кодони, определящ включването на левцин в полипептидната верига.

2) Кодът е недвусмислен..

Макар че за повечето аминокиселини има повече от един кодон, то всеки кодон определя само една аминокиселина.

3) Кодът е неприпокриващ се и без запетайки.

След като започне четенето от определен кодон, без пунктуации и без припокриване информацията се чете до достигане на стоп-сигнал.

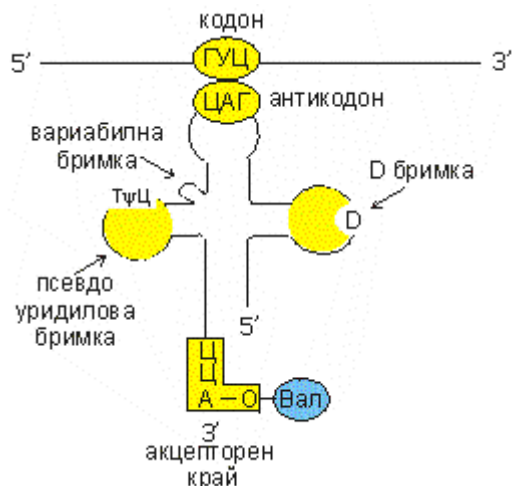
4) Кодът е универсален с малки изключения.

С много малки изключения (под 10 на брой, наскоро открити в човешки митохондрии) кодът е универсален. Напр. там УГА не е стоп-сигнал, а кодира Три. Поради това митохондриите изискват само 22 тРНК, а в цитоплазмата има пълен набор от 31 тРНК.

14.4 Роля на тРНК

Структурата на тРНК е идеално пригодена за нейната адапторна роля в белтъчната биосинтеза (фиг. 14-2). Транспортните РНК имат четири важни участъка. Два от тях са еднакви за всички тРНК, а другите два са специфични.

Фиг. 14-2. Роля на тРНК като адаптор в белтъчната биосинтеза.



Акцепторният участък за свързване на аминокиселинния остатък в 3'-ОН на крайния аденилов нуклеотид и псевдоуридиловата (ТψЦ) бримка за свързване с рибозомата (5.8S рРНК и 5S рРНК) са еднакви при всички тРНК. Антикодонният участък за комплементарно и антипаралелно свързване с определен кодон от иРНК и дихидроуридиловата (D) бримка за свързване аминоксил-тРНК синтетаза са специфични за всяка тРНК.

Специфичната дихидроуридилова бримка в тРНК е едно от местата, които ензимът аминоксил-тРНК синтетаза разпознава и свързва. Дихидроуридиловото рамо взаимодейства с 23S рРНК в прокариоти и 28S рРНК в еукариоти. Ензимът прехвърля активирания аминокиселинен остатък върху 3'-ОН на крайния аденилов нуклеотид от триплета ЦЦА (акцепторен участък) в тРНК, а АМФ се отделя.

Антикодонният участък в посока 3'-5' се състои от седем нуклеотида Н-Пу-XYZ-Пи-Пи, където Н е кой да е нуклеотид, Пи - пиримидинов, Пу - пуринов нуклеотид. Антикодонът XYZ е комплементарен и антипаралелен на определен кодон от иРНК (фиг. 14-2).

Четвъртият важен участък в тРНК (псевдоуридиловата бримка) е от значение за свързване с рибозомата (5.8S рРНК и 5S рРНК). Допълнителната вариабилна бримка пък осигурява еднакво разстояние между акцепторния и антикодонния участък, което е важно за образуване на пептидните връзки между аминокиселинните остатъци.

В еукариоти началната аминокиселина в amino-края е Мет. Има две различни тРНК - за Мет в amino-края и за Мет в друга позиция на полипептидната верига. В прокариоти началната аминокиселина в amino-края е формил-Мет.

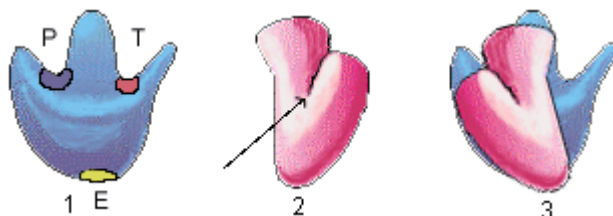
14.5 Роля на рРНК и на рибозомите за белтъчната биосинтеза. Рибозими

Рибозомните РНК имат не само структурна функция за изграждане на рибозомите заедно с белтъци, но имат и много активни функции (вж табл. 14-2). Някои рРНК имат каталитична функция, т.е. действат като рибозими, а също участват в специфични разпознавателни взаимодействия с тРНК или иРНК, необходими за правилното протичане на белтъчната биосинтеза.

Табл. 14-2. Примери за активната роля на рРНК за белтъчната биосинтеза.

В еукариоти	Активна роля в белтъчната биосинтеза
28S рРНК от 60S-субединица	1) пептидилтрансферазна активност; 2) осигурява взаимодействие с дихидроуридилово рамо на тРНК
18S от 40S-субединица	1) осигурява взаимодействие с т.н. секвенция на Kozak в иРНК, съдържаща инициращ кодон (вж табл. 14-3); 2) свързва се с терминаращи кодони
В прокариоти	Активна роля в белтъчната биосинтеза
23S рРНК от 50S-субединица	1) пептидилтрансферазна активност; 2) осигурява взаимодействие с дихидроуридилово рамо на тРНК
16S от 30S-субединица	1) осигурява взаимодействие с т.н. секвенция на Shine-Dalgarno в иРНК, намираща се преди инициращия кодон, (вж табл. 14-3); 2) свързва се с терминаращи кодони

Рибозомните РНК са в преобладаващо количество в клетките в сравнение с останалите РНК. В рибозомите се осъществява белтъчната биосинтеза. В малката субединица на еукариотни рибозоми 18S рРНК е свързана с около 30 белтъка. В голямата субединица 28S рРНК, 5.8S рРНК и 5S рРНК са свързани с около 50 белтъка. В комплекс с рибозомните белтъци рРНК са метаболитно стабилни и действат в продължение на много транслационни цикли. В края на всеки цикъл дисоциират до малка и голяма субединица. Структурата и функциите на рибозомите са изучавани чрез различни техники. Формата и размерите са определени чрез електронно-микроскопски изследвания (фиг. 14-3).



Фиг. 14-3. Модел за структурата и функциите на еукариотни рибозоми по [1].

1- голяма субединица, 2 - малка субединица, 3 - цялостна рибозома.

Показани са важни функционални участъци:

P - пептидил трансфераза;

T - транслокационен участък;

E - място за излизане на нарастващия пептид от голямата субединица.

В малката субединица се различават тяло и платформа. Стрелката между тях сочи вдлъбнатина, съдържаща декодиращото място (т.е. мястото, където се осъществява взаимодействието между кодон от иРНК и комплементарен антикодон от тРНК).

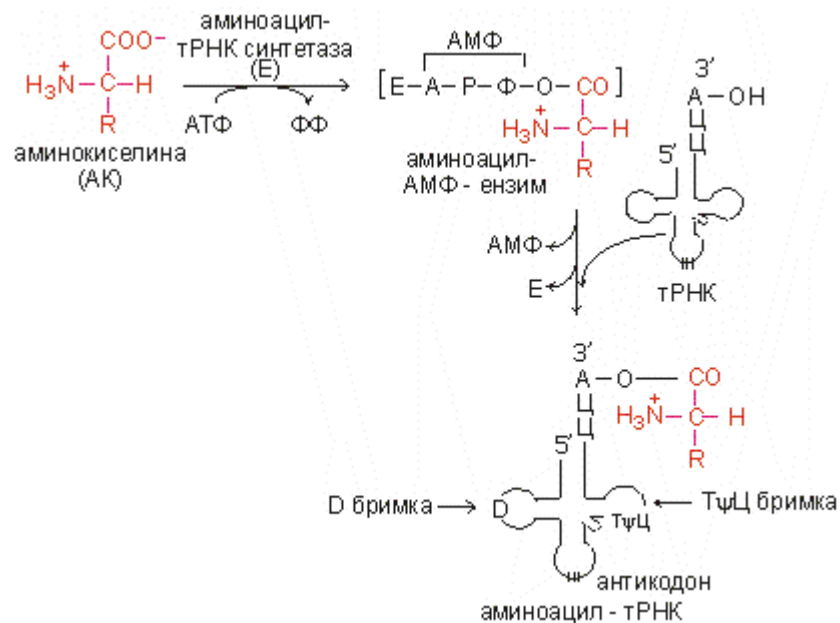
Локализацията на много рибозомни белтъци, някои РНК и функционални места в двете субединици са определени с електронна микроскопия на техни комплекси със специфични антитела спрямо определени компоненти на рибозомите. Други химически и физически техники, секвениране на белтъци, имунологични и ензимни изследвания са допринесли за съпоставяне на структурните и функционални данни и съставяне на рибозомни карти (assembly maps), които показват взаимодействията между рРНК и белтъци, както и белтък-белтъчни взаимодействия.

14.6 Етапи на белтъчната биосинтеза

Белтъчната синтеза започва с отбор и активиране на аминокиселините, след което се образуват аминок-ацил тРНК комплекси. След това преминава през етапите инициране, елонгиране и терминиране.

14.6.1 Отбор и активиране на аминокиселините и образуване на аминок-ацил-тРНК комплекси

Специфична за всяка аминокиселина аминок-ацил-тРНК синтетаза разпознава аминокиселината и в присъствие на АТФ я активира. Получава се аминок-ацил-АМФ-ензимен комплекс (фиг. 14-4). След това ензимът разпознава съответната тРНК и прехвърля върху нея активирания аминокиселинен остатък.



Фиг. 14-4. Активиране на аминокиселините и образуване на комплекси между тРНК и съответната аминокиселина.

14.6.2 Инициране на белтъчната биосинтеза в еукариоти

Наред с иРНК, Мет-тРНК, рибозоми в дисоциирано състояние, ГТФ и АТФ като донатори на енергия и изостерични ефектори, за инициране на белтъчната биосинтеза са необходими още поне десет еукариотни инициационни фактори (eIF), някои от които имат от 3 до 8 субединици.

I. Образуване на 43S преинициационен комплекс

Необходимо е наличие на 40S-субединица на рибозомата, свързана с два инициационни фактора (eIF 1A и eIF 3), които пречат на нейното свързване с 60S-субединицата.

- 1) Образуване на троен комплекс между eIF 2, ГТФ и Мет-тРНК;
- 2) Присъединяване на този троен комплекс към комплекса от 40S-рибозомна субединица и eIF 1A и eIF 3. Получава се т.н. 43S преинициационен комплекс, съдържащ 40S рибозомна субединица, Мет-тРНК и инициращи фактори 1A, 3 и 2.

II. Образуване на 48S преинициационен комплекс

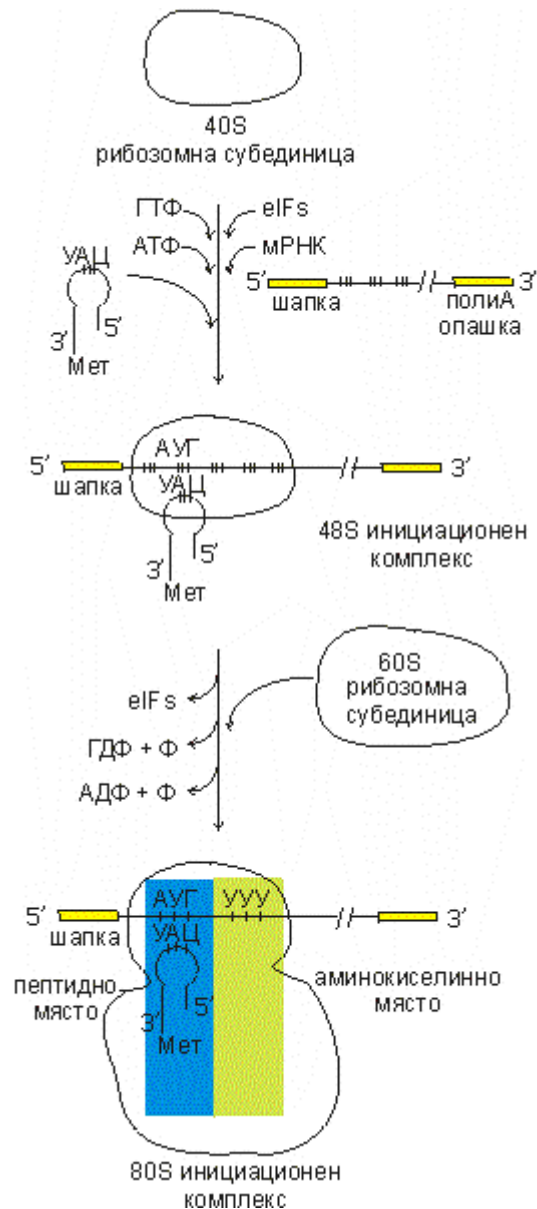
За активирането на иРНК е необходим eIF 4F, който се състои от 4E и 4G.4A компоненти. Целият този фактор 4F се свързва към шапката на Мет-тРНК чрез своя 4E-компонент. Разпознаването на шапката от 4E е скорост-определящата реакция в транслацията. След това в участък между шапката и стартовия кодон се свързва и eIF 4A.4B, който има АТФ-азна и хеликазна активност и разплита вторичната структура на иРНК в 5'-края, при едновременно разграждане на АТФ. 4G белтъкът, свързан към 4E, се свързва с eIF 3 от 43S-комплекса. Така свързването на активираната иРНК към 43-преинициационния комплекс го превръща в 48S инициационен комплекс (фиг. 14-5). Това е съпроводено с разграждане на АТФ.

В 5'-края на иРНК има нетранслиращ се участък с дължина най-често 40-80 нуклеотида. Комплексът сканира иРНК за намиране на най-близкия до 5'-края стартов кодон АУГ в правилно обкръжение, което е обикновено следната консервативна последователност, наречена последователност на Kozak [1]:

-3 -1 4
Г Ц Ц А/Г Ц Ц А У Г Г

Обикновено в позиция -3 и + 4 има пуринов нуклеотид. Предполага се, че енергията на АТФ се използва именно за сканирането на иРНК до намиране на стартовия кодон.

Фиг. 14-5. Принципна схема за иницирането на белтъчната биосинтеза.



Регулация на иницирането

Инсулин и митогенни растежни фактори стимулират иницирането, като стимулират фосфорилиране на Ser109 или Tre110 в eIF 4E вероятно под действие на компонент от MAP-киназната каскада. Фосфорилираният 4E се свързва много по-лесно към шапката на иРНК от нефосфорилирани 4E.

4E се инактивира от други белтъци 4E-VP1, 4E-VP2 и 4E-VP3 с висок афинитет към 4E. Свързаният 4E не може да се свърже с 4G и да образува 4F, необходим за свързване с шапката на иРНК. Така иницирането се инхибира. Инсулин и други растежни фактори стимулират фосфорилиране на VP1 и отделяне от 4E.

Тези ефекти на инсулин обясняват как инсулин предизвиква посттранскрипционно увеличение на белтъчната синтеза в мастна тъкан, черен дроб и мускулна тъкан.

III. Образуване на 80S инициационен комплекс

Свързването на 48S инициационен комплекс с голямата рибозомна субединица води до образуване на 80S инициационен комплекс. Това изисква разграждане на ГТФ, свързан към eIF 2 под действие на eIF 5. Инициационните фактори 1A, 2-ГДФ и 3 се отделят и използват наново.

В 80S инициационния комплекс има оформени два участъка Р (пептиден) и А (аминокиселинен). Р-участъкът е зает от Мет-тРНК (фиг. 14-5).

Някои различия при инициране в прокариоти са представени на табл. 14-3. Там иницирането протича по-просто - с участието на три инициационни фактори само - вж табл. 14-3.

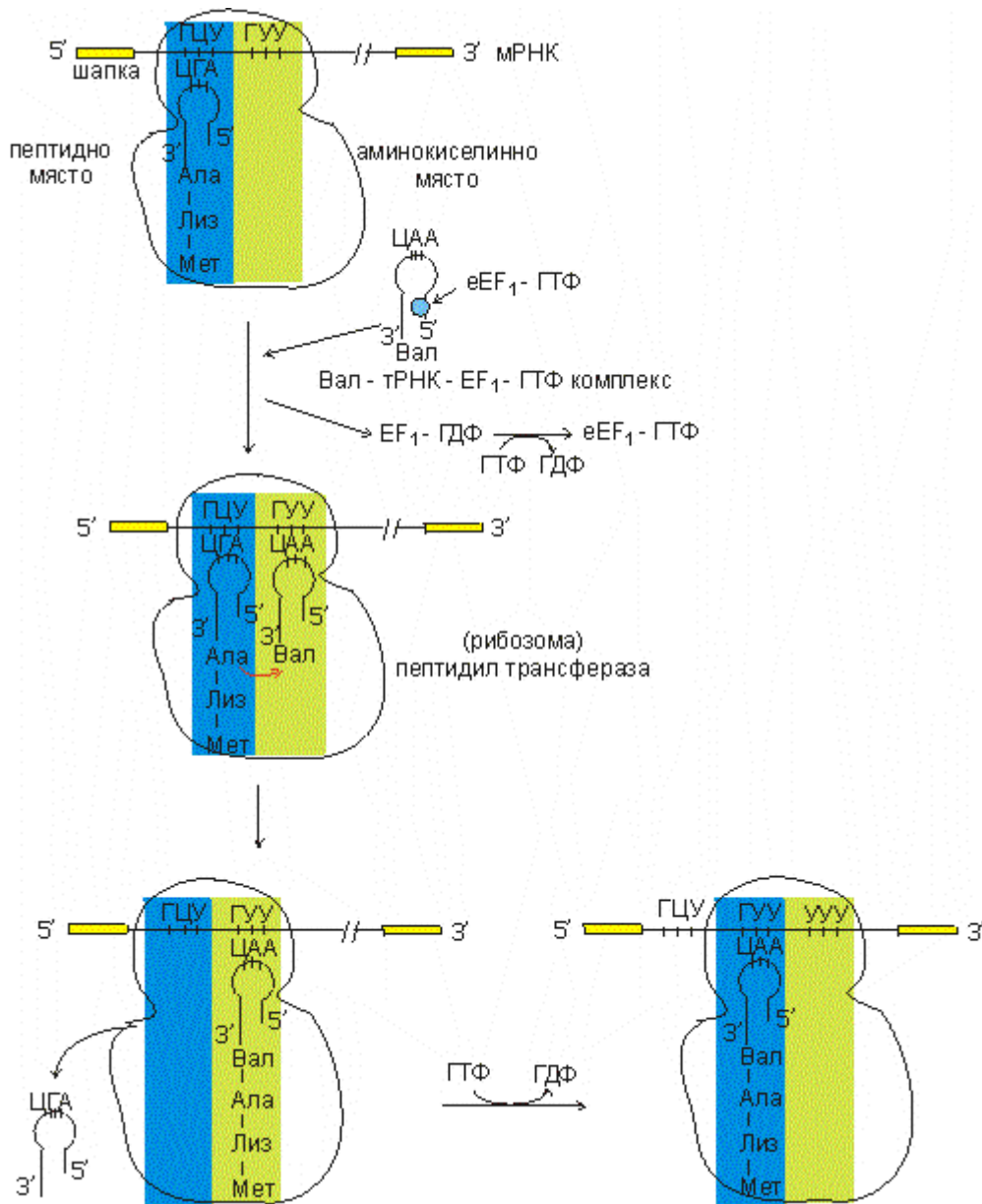
Табл. 14-3. Сравняване на необходимите компоненти за инициране на белтъчна биосинтеза в прокариоти и еукариоти.

	Прокариоти	Еукариоти
рибозоми	70S 30S малка субединица 50S голяма субединица	80S 40S малка субединица 60S голяма субединица
иРНК	Участък на Shine-Dalgarno в иРНК (преди инициращия кодон) се свързва с комплементарен участък в 16S рРНК; IF3 се отделя от малката субединица при свързването на формил-Мет-РНК	Шапката в 5'-края на иРНК се свързва с инициращи фактори и 40S рибозомната субединица. иРНК се сканира до намиране на първия инициращ кодон АУГ. Той се намира в т.н. консервативна последователност на Kozak: -1 4 ГЦЦАГЦЦАУГГ
Инициращи фактори	три (IF1, IF2, IF3)	10 или повече фактори (eIF)
Донатор на енергия	ГТФ	ГТФ и АТФ
Първи аминокиселинен остатък	формил-Мет-тРНК	Мет-тРНК

14.6.3 Елонгиране на полипептидната верига

На фиг. 14-6 е показано удължаването на полипептидната верига. В Р-участъка има тРНК, която носи пептида N-Мет-Лиз-Ала. А-участъкът с кодон ГУУ за валин е свободен и към него се насочва следващата Вал-тРНК, свързана с eEF1-ГТФ (еукариотен елонгационен Фактор 1-ГТФ). Разграждането на ГТФ осигурява свързването на Вал-тРНК в А-участъка. α -амино-групата на вал-тРНК провежда нуклеофилна атака върху естерифицираната COOH-група на пептидил-тРНК в Р-участъка. Образуването на пептидна връзка се катализира от рибозим с пептидилтрансферазна активност, компонент на 28S РНК в 60S субединицата на рибозимите. След прехвърляне на пептида върху тРНК в А-участъка, освободената тРНК от Р-участъка го напуска. За

транслокация на тРНК от А в Р-участъка е необходим еEF2 и ГТФ, който се разгражда до ГДФ и Ф. Място А се освобождава за нова тРНК през следващия цикъл.



Фиг. 14-6. Схема за елонгирането на полипептидната верига

I. В пептидното място (Р) има тРНК, която носи пептида N-Мет-Лиз-Ала. А-участъкът с кодон ГУУ за валин е свободен и към него се насочва Вал-тРНК, свързана с еEF1-ГТФ (комплекс от еукариотен елонгационен Фактор 1 и ГТФ). Разграждането на ГТФ осигурява заемането на аминокиселинното място (А). □-амино-групата на вал-тРНК провежда нуклеофилна атака върху естерифицираната СООН-група на пептидил-тРНК в Р-мястото. Тази реакция се катализира от рибозим с пептидилтрансферазна активност, компонент на 28S РНК в 60S субединицата на рибозимите.

II. Удълженият пептид е върху тРНК в аминокиселинното място (място А). тРНК от Р-място го напуска. За транслокация на тРНК от А- в Р-място е необходим еEF2 (еукариотен елонгационен фактор 2) и ГТФ, който се разгражда до ГДФ и Ф. Място А се освобождава за нова тРНК през следващия цикъл.

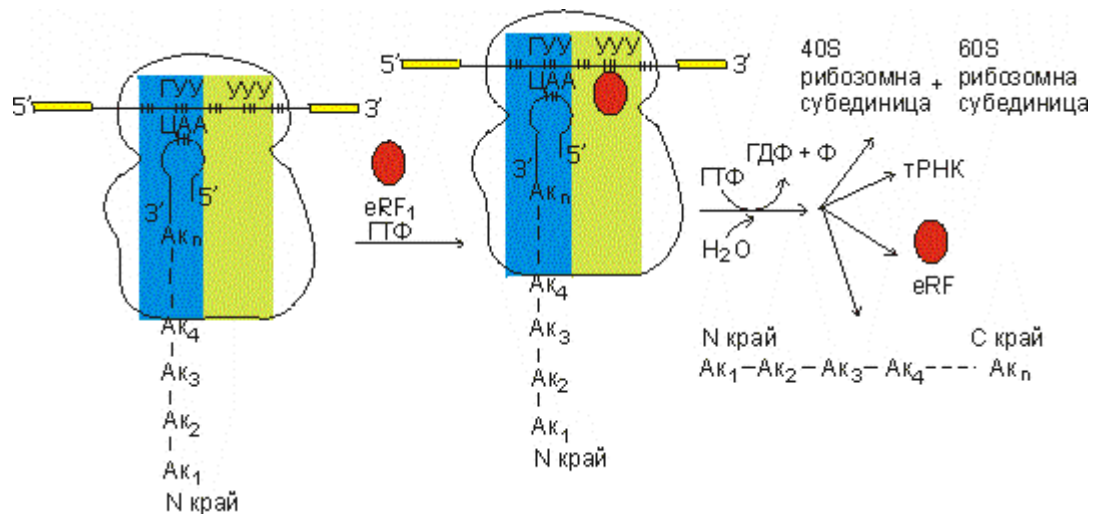
Смята се, че енергетичното обезпечаване за образуване на една пептидна връзка се свежда до разхода, необходим за активиране на аминокиселината (2 макроергични връзки). Останалата част е разход за осигуряване на информационния аспект на белтъчната биосинтеза. За влизане на аминокиселина-ацил-тРНК комплекс в А-участък и за транслокацията от А- в Р-участък се изразходва по 1 ~ от ГТФ. Или още 2 ~ са необходими за осигуряване точното подреждане на аминокиселината в полипептидната верига.

В еукариоти веригата се удължава с 6 аминокиселини за секунда, а в прокариоти с 18 за секунда.

Полизоми се наричат комплексите от много рибозоми, превеждащи една и съща иРНК. Полизомите могат да действат като отделни частици в цитоплазмата или да бъдат присъединени към мембраните на ендоплазмения ретикулум.

14.6.4 Терминиране

Терминирането на белтъчната биосинтеза е по-прост процес от иницирането и елонгирането. След множество елонгационни цикли се стига до безсмислен или терминаращ кодон, наричан още "стоп" сигнал УУА, УАГ или УГА в А-участъка. Няма тРНК с антикодон, комплементарен на този "стоп" сигнал. Той се разпознава от освобождаващи фактори (eRF - от eucaryotic releasing factors). Този фактор заема А-участъка и при наличие на АТФ и H₂O пептидната верига се отделя хидролитно от тРНК. За целта пептидилтрансферазната активност се модифицира в хидролазна. ГТФазната активност на RF води до дисоциация на рибонуклеопротеините - рибозомата дисоциира до 40S и 60S субединици (фиг. 14-7).



Фиг. 14-7. Терминиране на белтъчната синтеза.

14.7 Следсинтетична обработка на белтъци

В еукариоти много белтъци се синтезират като прекурсори - напр. протеазите в храносмилателния тракт химотрипсиноген, трипсиноген, пепсиноген се превръщат в активни ензими химотрипсин, трипсин, пепсин, съответно чрез протеолиза - отделяне на фрагмент от полипептидната верига (вж фиг. 4-30 в т. 4.3.6).

Хормонът инсулин също се синтезира като прекурсор препроинсулин. Първо от аминокрая се отделя сигнален пептид и се получава проинсулин. След скъсване на веригата в две места и отделяне на Арг31, 32, 65 и Лиз 64 се получава С-пептид и двете полипептидни вериги А и В на инсулин (фиг. 2-7 в т. 2.2.2).

Освен откъсване на фрагменти от amino-края в някои белтъци се извършва ковалентно модифициране на различни аминокиселинни остатъци в полипептидната верига като фосфорилиране, гликозилиране, карбоксилиране, ацетилиране и др. Следсинтетичната обработка на колаген е разгледана в т. 2.3.4.2.

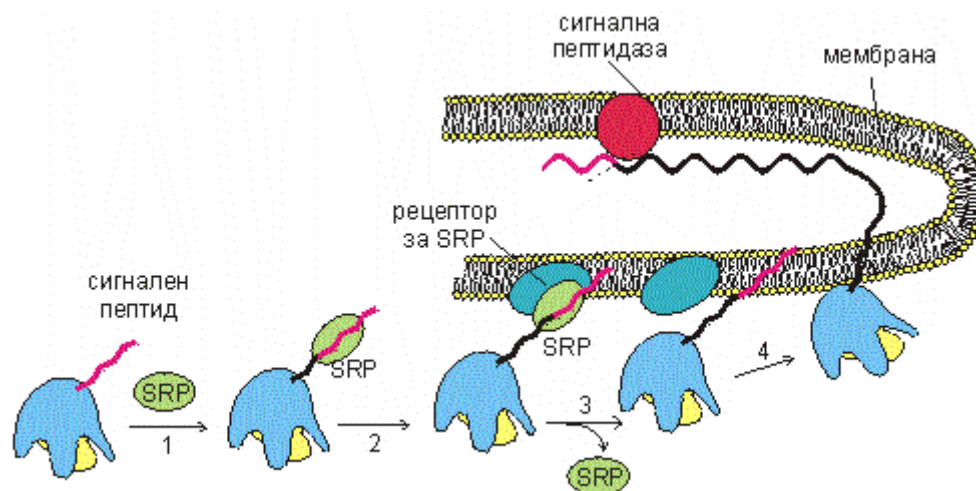
Нагъването на новосинтезираната верига, ролята на шапероните, на пролил рацемази и протеин дисулфид изомерази са разгледани в т. 2.2.8.

14.8 Насочване на белтъци към субклетъчни органели, мембрани и към извънклетъчното обкръжение

Част от белтъците, които се синтезират върху полизомите в цитоплазмата, остават там и изпълняват различни функции. Други белтъци се транспортират в митохондриите, където проникват благодарение на специална аминокиселинна секвенция в amino-края, която улеснява транспорта през митохондриалната мембрана. Някои белтъци се синтезират върху митохондрични рибозоми.

Други белтъци имат хидрофобни секвенции в amino-края (20-25 остатъци), наричани сигнални (фиг. 14-8). Те биват разпознавани от частици, наречени SRP (от Signal Recognition Particle). SRP се свързва към рибозомата и към сигналния пептид, излизащ от рибозомата, при което транслацията спира. След това комплексът "SRP-рибозома-сигнален пептид" стига до грубия ендоплазмен ретикулум (ГЕР), където се свързва със специален рецептор. SRP се отделя. Така рибозомата се закотвя върху ГЕР и транслацията продължава, като новосинтезиращата се верига навлиза в лумена на ГЕР. Сигналният пептид се отделя под действието на пептидаза, а новосинтезираната верига се пренася в малки везикули до комплекса на Голджи.

Белтъците, произведени в ендоплазмения ретикулум, стават съставна част на лизозоми и секреторни везикули. Фосфоманозен остатък, добавен към лизозомни ензими, ги насочва към лизозомите. Белтъците, предназначени за мембрани, имат хидрофобни секвенции, чрез които се свързват към клетъчната или друг вид мембрани и стават интегрални мембранни белтъци.



Фиг. 14-8. Насочване на белтъци към грубия ендоплазматичен ретикулум. Върху голямата субединица на рибозома в цитоплазмата се показва първоначално синтезирания сигнален пептид.

1 - Сигналният пептид се разпознава от специфична частица SRP (signal recognition particle). Това временно прекратява транслацията.

2 - Комплексът "SRP-сигнален пептид-рибозома" се придвижва до грубия ендоплазматичен ретикулум (ГЕР), където се свързва от рецептор за SRP.

3 и 4 - SRP се отделя, а свързаната към ГЕР рибозома продължава транслацията, като удължаващата се верига се разполага във вътрешността на ГЕР.

5 - Специфична сигнална пептидаза отделя сигналния пептид.

14.9 Приложение на познанията за биосинтеза на белтъци в медицината

14.9.1 Действие на антибиотиците върху белтъчната биосинтеза в бактерии

Различията в строежа на рибозомите в прокариоти и еукариоти позволяват използване на антибиотици, които не са токсични за еукариоти, но спират бактериалния растеж и делене в бактерии. Тези антибиотици взаимодействат с бактериални белтъци или рНК. Всеки от главните етапи в белтъчната биосинтеза може да бъде инхибиран (табл. 14-4).

Табл. 14-4. Действие на някои антибиотици и токсини върху белтъчната синтеза.

Етап в белтъчната синтеза	Антибиотик или токсин
Инициране Образуване на инициационния комплекс	стрептомицин - свързва се към 30S рибозна субединица
Елонгиране Правилно четене на иРНК	гентамицин, стрептомицин
Свързване на аминоксил-тРНК към А-участък в рибозомата	тетрациклини, стрептомицин, пурамицин
Пептидил трансферазна активност	хлормицетин и макролиди блокират 23S рРНК; рицин блокира 28 S рРНК
Транслокация	еритромицин - свързва се към 50S рибозна субединица дифтериен токсин - инактивира eEF2 в еукариоти

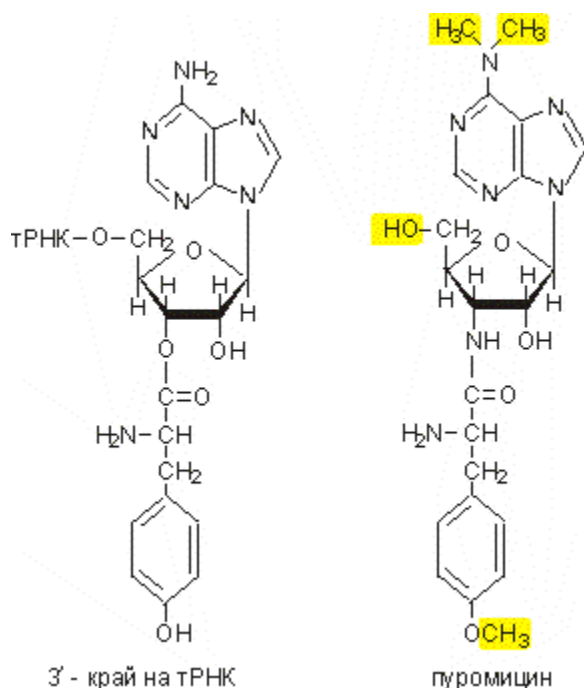
По данни на [1, 2].

Широкото и непредпазливо използване на антибиотици е довело до резистентни щамове бактерии. Някои от антибиотиците инхибират белтък-синтезиращия апарат в митохондри, който е подобен на този в бактерии.

Тетрациклин пречи на свързването на аминоксил-тРНК към А-участъка в рибозомите. Хлормицетин и макролиди се свързват към 23S рРНК, т.е. вероятно блокират пептидилтрансферазната активност, която рРНК в голямата субединица проявява като рибозим.

Пурамицин потиска белтъчната биосинтеза в про- и еукариоти, тъй като е структурен аналог на Тир-тРНК (фиг. 14-9). Включва се в А-участъка и прекратява нарастването на полипептидната верига. Циклохексимид инхибира рибозима пептидилтрансфераза в 60S субединица на еукариоти. Поради това тези два антибиотика не се използват в клиниката, но са допринесли за изясняване ролята на белтъчната синтеза за регулация на метаболизма, и по-специално ензимната индукция от хормони.

Дифтерийният токсин, изолиран от *Corynebacterium diphtheriae*, катализира АДФ-рибозилиране на eEF-2 в бозайници. Това инактивира eEF-2 и така специфично се потиска белтъчната синтеза в бозайници. Някои животни, напр. мишки са нечувствителни към този токсин поради това, че той не преминава през клетъчната мембрана и не може да упражни инхибиращ ефект върху eEF-2.



Фиг. 14-9. Пуромицин - структурен аналог на Тир-тРНК.

14.9.2 Примери за точкови мутации в кодони от гени за хемоглобин

Промяната на единични нуклеотиди в кодона за дадена аминокиселина могат да водят до последствия с различна тежест при трансляцията. В едни случаи, когато е променен третият нуклеотид, може да няма забележим ефект поради дегенерацията на генетичния код. Такава мутация се означава като приемлива. Ако промяната засяга втория или първия нуклеотид, това води до включване на неправилни аминокиселини и до сериозни промени в структурата, свойствата и функциите на даден белтък. Такива мутации се означават като частично приемливи и неприемливи, в зависимост от тежестта на промените.

Известни са няколкостотин мутации в гените за хемоглобин [3]. Повечето от тях са редки или без значение за функциите му. При промени в гените, които водят до промени в биологичните функции, се говори за хемоглобинпатии.

Табл. 14-5. Примери за приемливи, частично приемливи и неприемливи точкови мутации в гена за Hb

	Приемлива мутация	Частично приемлива мутация	Неприемлива мутация
Белтък	HbA ---->Hb Hikari	HbA ---> HbS	HbA -->HbM (Boston)
Аминокиселина	□61 Лиз ---> □61 Асн	□6 Глу ---> □6 Вал	□58 Хис ---> □58 Тир
Кодон	AAA ----> AAU или AAЦ или AAG ----> AAU или AAЦ	ГАА ----> ГУА или ГАГ ----> ГУГ	ЦАУ ----> УАУ или ЦАЦ ----> УАЦ
Промяна в белтъка	Hb Hikari е с нормални физиологични свойства.	HbS свързва O ₂ , но в дезоси-състояние се утаява и води до лизис на еритроцитите	В HbM (Boston) има Fe ³⁺ йон вместо Fe ²⁺ , който не свързва O ₂ . Функционално неактивен.

По данни от [1 и 3].

В табл. 14-5 са сравнени три мутантни хемоглобини: Hb Hikari, HbS и HbM (Boston). И при трите е променена електрофоретичната подвижност спрямо HbA. Различно е засегнатата функцията им да свързват кислород.

Хемоглобин Hikari, открит в японски семейства, е с нормални физиологични свойства. Мутацията на кодоните AAA до AAU или AAЦ и на AAG до AAU или AAЦ води до промяна на аминокиселината Лиз в Асн на 61 позиция в □-веригите, което не променя физиологичните свойства на белтъка.

В гена за HbS промяната на кодоните ГАА до ГУА и ГАГ до ГУГ води до замяна на Глу с Вал на 6 позиция в □-веригите. Това не пречи на свързването и освобождаването на O₂, но в дезоси-състояние HbS полимеризира, утаява се и при хомозиготни носители се развива сърповидно-клетъчна анемия (виж също т. 2.5.7).

В HbM (Boston) мутацията на кодоните ЦАУ до УАУ и ЦАЦ до УАЦ води до замяна на Хис с Тир в □-веригите на 58 позиция. Тази промяна позволява окисление на Fe²⁺ до Fe³⁺ йон, който не свързва O₂. Поради това този HbM е функционално неактивен.

14.9.3 Причини за □-Таласемии (превърщане на смислен кодон в безсмислен или изместване рамката на четене)

Таласемиите са голяма група заболявания, при които е нарушена синтезата на □- или □-веригите в хемоглобина и баланса между тях.

При някои □-таласемии причината е мутация на смислен кодон в безсмислен (вж табл. 14-6). Получават се по-къси вериги, които са функционално неактивни. Неизползваните за синтеза на хемоглобин □-вериги, които се синтезират нормално, остават несвързани, натрупват се, агрегират и се утаяват. Това води до хемолитична анемия и стимулиране на еритропоезата.

При други □-таласемии причината е изместване на рамката на четене поради делеция (отпадане) или инсерция (вмъкване) на n нуклеотиди, където n е различно от 3 (вж табл. 14-6). Синтезираните белтъци са с променена секвенция и неактивни.

Табл. 14-6. Причини за различни видове α -таласемии

Смислен кодон-> Безсмислен кодон	Произход
Кодон 17 (A -->T)	Китай
Кодон 39 (Ц -->T)	Средиземноморие
Кодон 121 (A -->T)	Полша
Изместване рамката на четене	
Кодон 6 (-1 bp)	Средиземноморие
Кодон 16 (-1 bp)	Индия
Кодон 41/42 (-4 bp)	Индия, Китай
Кодон 71/72 (+1 bp)	Китай

По данни на [5].

14.10 Материали за самостоятелна работа

1. Запознайте се с дискусията върху клиничен случай с α -таласемия в литературния източник [6].
2. Разгледайте Интернет-сайта [4]: **Globin Gene Server Home Page**.

14. 11 Литература

1. B. Alberts, D. Bray, J. Lewis, et al. Molecular Biology of the Cell, 3rd ed., New York, Garland Publishing, 1994, p. 233.
2. Murray, R., D. Granner, P. Mayes, V. Rodwell (1996) Harper's Biochemistry, Prentice-Hall International, Inc., Twenty-Fourth Edition.
3. Devlin, T. M. (ed.) (1997) Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations, Wiley-Liss, New York, Fourth Edition.
4. Globin Gene Server Home Page. [Http://globin.cse.psu.edu](http://globin.cse.psu.edu)
5. C. R. Scriver, et al. The metabolic and molecular bases of inherited diseases, vol. III, New York, Mac-Grow-Hill, 1995, 3456-3457.
6. R. Montgomery, T. Conway, A. Spector, D. Chappell (1996) Biochemistry. A Case-Oriented Approach. The C. V. Mosby Company, St. Louis, Sixth Edition, 518-521