

11. előadás: A génektől a fehérjékig – A genetikai információ áramlása

- A DNS információtartalma specifikus nukleotidsorrend formájában van jelen
- Az átörökített DNS fehérjék szintézisét szabályozva tulajdonságok megjelenéséhez vezet,
- Így a fehérjék jelentik a kapcsolatot a genotípus és a fenotípus között
- **A gén expresszió/kifejeződés**, az a folyamat, mely során a DNS információinak irányításával fehérjék képződnek.

A gének a fehérjéket a transzkripció és a transláció folyamatain keresztül határozzák meg

- **Transzkripció:** Az élő sejtekben végbemenő folyamat, melynek során a DNS genetikai információja egy hírvivő (messenger) RNS molekulára (mRNS) íródik át, a fehérjeszintézis első lépéseként.
- **Transzláció:** Az élő sejtekben az a biokémiai folyamat, amelyben a hírvivő RNS-ben kódolt genetikai információ „lefordítódik” egy polipeptidláncban levő aminosavak sorrendjére a fehérjeszintézisben.

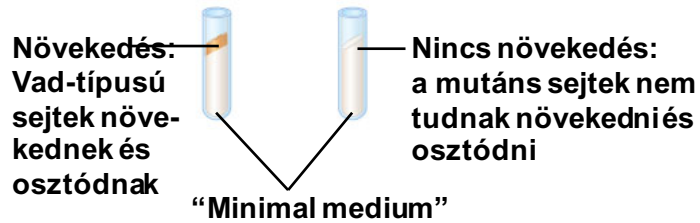
Történeti áttekintés:

- 1902-ben Archibald Garrod britt orvos elsőként utalt rá hogy a gének a fenotípust specifikus kémiai reakciókat katalizáló enzimeken keresztül alakítják ki
- Az öröklődő betegségek tüneteit arra vezette vissza, hogy a beteg nem tud számos enzimet megtermelni. (pl. alkaptonuria – tirozin anyagcsere zavar)
- A gének és enzimek szerepének megértését segítette annak felismerése, hogy a sejtben a felépítő és a lebontó folyamatok metabolikus útvonalakon mennek végbe

Neurospora gomba mutánsai:

- George Beadle és Edward Tatum a penészgombát Röntgen sugaraknak tette ki, és olyan mutánsokat állított elő, melyek nem tudtak túlélni minimál tápközegben (ionok, sók, cukor, biotin)
- Keresztezéseket használva, az arginin hiányos mutánsok három csoportját azonosították: mindegyik más arginin szintézishez szükséges enzimre volt hiányos
- Ők fejlesztették ki az **egy gén – egy enzim hipotézist**, mely szerint minden gén egy specifikus enzim termelésért felel

KÍSÉRLET



EREDMÉNYEK

<i>Neurospora crassa</i> mutánsok osztályozása					
	Vad típus	Class I mutáns	Class II mutáns	Class III mutáns	
Feltételek	Minimal medium (MM) (kontroll)				
	MM + ornithin				
	MM + citrullin				
	MM + arginin (control)				
	Eredmény:	kiegészítők hiányában is növekszik	növekszik: ornithin, citrullin vagy arginin mellett	növekszik: citrullin vagy arginin mellett	Csak arginin jelenlétében nő

KÖVETKEZTETÉS

Gének (enzimket kódolnak)	Vad típus	Class I mutáns (mutáció az A génben)	Class II mutáns (mutáció a B génben)	Class III mutáns (mutáció a C génben)
A gén	Prekurzor → enzim A	Prekurzor enzim A	Prekurzor → enzim A	Prekurzor → enzim A
B gén	Ornithin → enzim B	Ornithin → enzim B	Ornithin enzim B	Ornithin → enzim B
C gén	Citrullin → enzim C	Citrullin → enzim C	Citrullin → enzim C	Citrullin enzim C
	Arginin	Arginin	Arginin	Arginin

Az egy gén – egy enzim elmélet finomítása

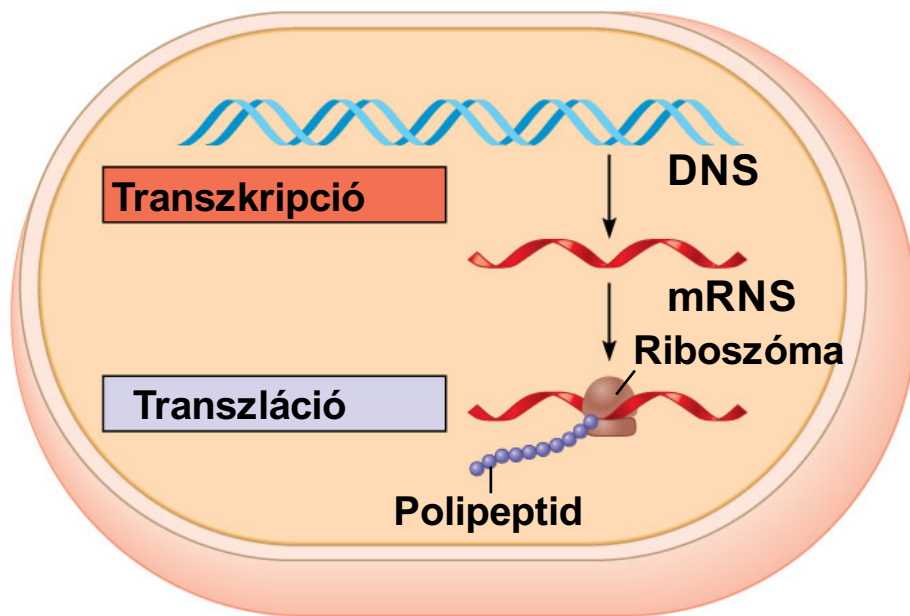
- Számos fehérje nem enzim (keratin, inzulin)
- Számos fehérje több alegységből (fehérjeláncból) áll, melyek mindegyikét más-más gén kódolja
- Ezért az eredeti elképzelést egy gén – egy polipeptid hipotézisre módosították
- még ez sem pontos:
 - egy génről több fehérjeváltozat is készülhet (alternatív splicing)
 - Néhány gén csak RNS-t kódol

A transzkripció és a transzláció alapjai

- Az RNS molekula kapcsolat a fehérjék és az azokat kódoló gének között
- A transzkripció során **hírvivő/messenger RNS (mRNS)** képződik,
- melyről a transzláció helyén, a **riboszómákon** képződnek a fehérjék
- Prokariótákban a transzláció már a transzkripció alatt megindulhat
- Eukariótákban a sejtmaghártya térben elválasztja a két folyamatot
- Eukariótákban az RNS transzkriptum módosul, mielőtt mRNS lesz belőle

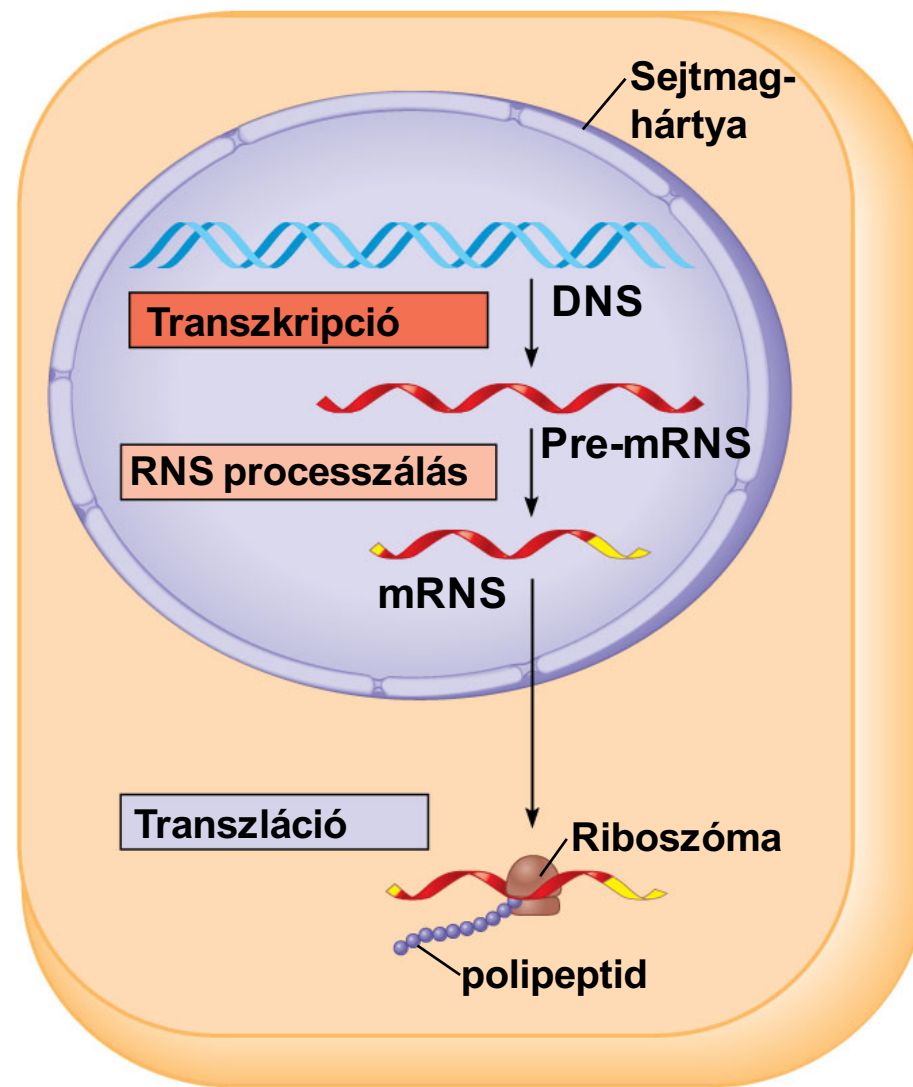
- Az **elsődleges átírat** bármely gén RNS átírata mielőtt a processzáció megtörténne
- Az információ áramlás *centrális dogmája* kimondja, hogy a genetikai információ kifejeződése az alábbiak szerint történik:





(a) Prokarióta sejt

© 2011 Pearson Education, Inc.



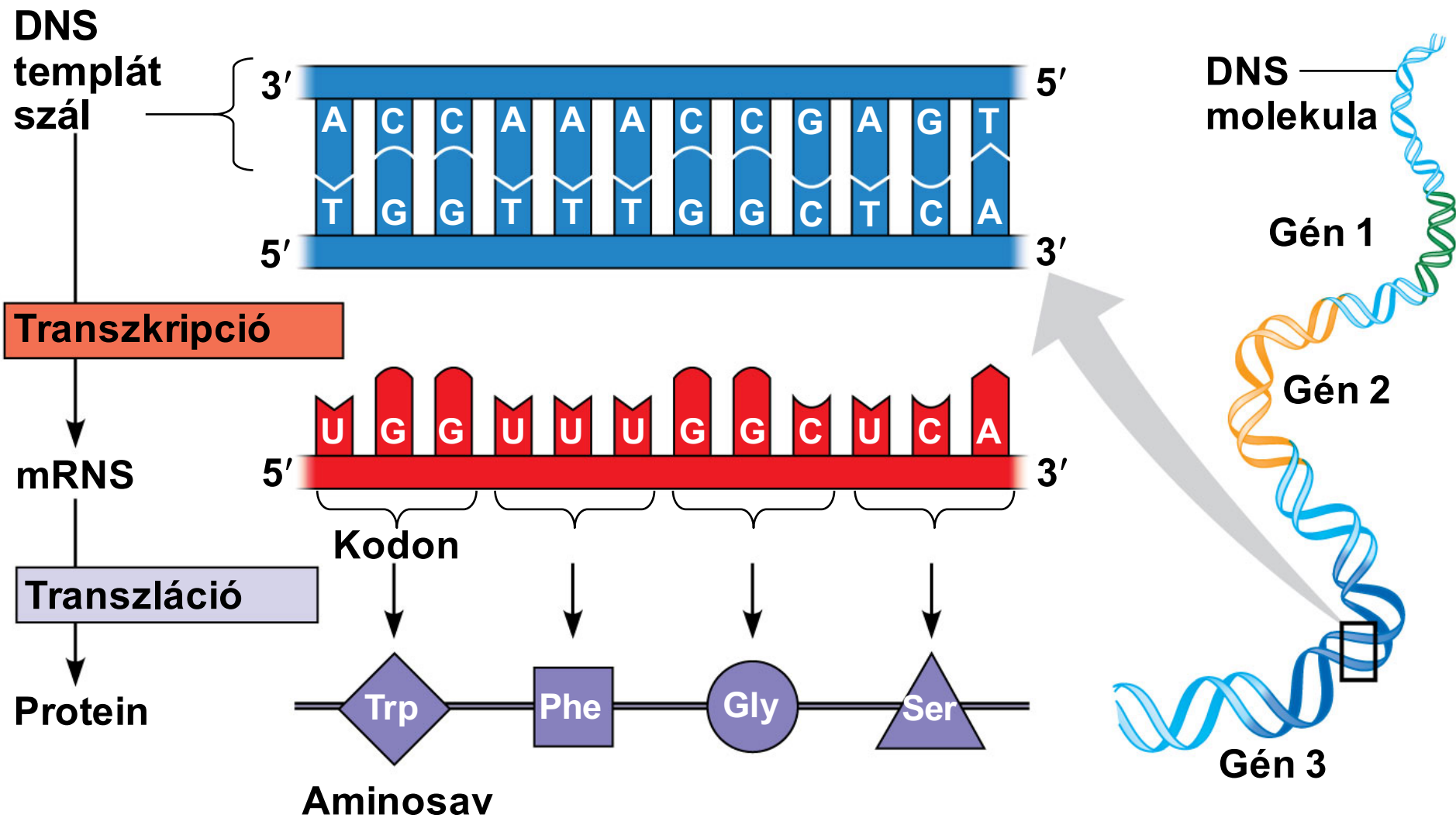
(b) Eukarióta sejt

A Genetikai kód

- A genetikai kód az a szabályrendszer, amely megadja, hogy a nukleinsav sorrend hogyan határozza meg (kódolja) az aminosav sorrendet.
- A fehérjéket 20 féle aminosav alkotja, de csak 4 féle nukleotid bázissal találkozunk a DNS-ben
- Hány nukleotid felelős akkor 1 aminosav kódolásáért?

Kodonok: Nukleotid tripletok

- A gén – fehérje irányú információ átadás **triplet kódon** alapul: három nukleotidos, nem-átfedő szavak sorozatán
- A gének szavai az mRNS három nukleotidos, nem-átfedő szavaivá íródnak át
- Ezek a szavak fordítódnak le aminosav sorrendé



- A transzkripció alatt a DNS két szála közül az egyik szál, a **templát szál**, szekvenciája szolgál az RNS molekula készítéséhez mintául
- A templát szál az adott gén esetén mindig ugyanaz a szál
- Transzláció alatt, az mRNS triplets, kodonjai, lesznek leolvasva 5' - 3' irányban

“A kód feltörése”

- Mind a 64 kodont leírták a 60-as évek közepéig
- A 64 tripletból, 61 aminosavat kódol; 3 triplet “stop” signálként funkcionál (leállítja a transzlációt)
- A genetikai kód redundáns, de egyértelmű
- A kodonokat megfelelő **leolvasási keretben (reading frame)**, megfelelő csoportosításban kell olvasni, hogy a megfelelő polipeptidhez jussunk

második mRNS bázis

		második mRNS bázis					
		U	C	A	G		
Első mRNS bázis (5' vég a kodonon)	U	UUU	UCU	UAU	UGU	U C A G	
		UUC	UCC	UAC	UGC		
		UUA	UCA	UAA Stop	UGA Stop		
		UUG	UCG	UAG Stop	UGG Trp		
	C	CUU	CCU	CAU	CGU	U C A G	
		CUC	CCC	CAC	CGC		
		CUA	CCA	CAA	CGA		
		CUG	CCG	CAG	CGG		
	A	AUU	ACU	AAU	AGU	U C A G	
		AUC	ACC	AAC	AGC		
		AUA	ACA	AAA	AGA		
		AUG	ACG	AAG	AGG		
	G	GUU	GCU	GAU	GGU	U C A G	
		GUC	GCC	GAC	GGC		
		GUA	GCA	GAA	GGA		
		GUG	GCG	GAG	GGG		

Harmadik mRNS bázis (3' vég a kodonon)

A genetikai kód tulajdonságai:

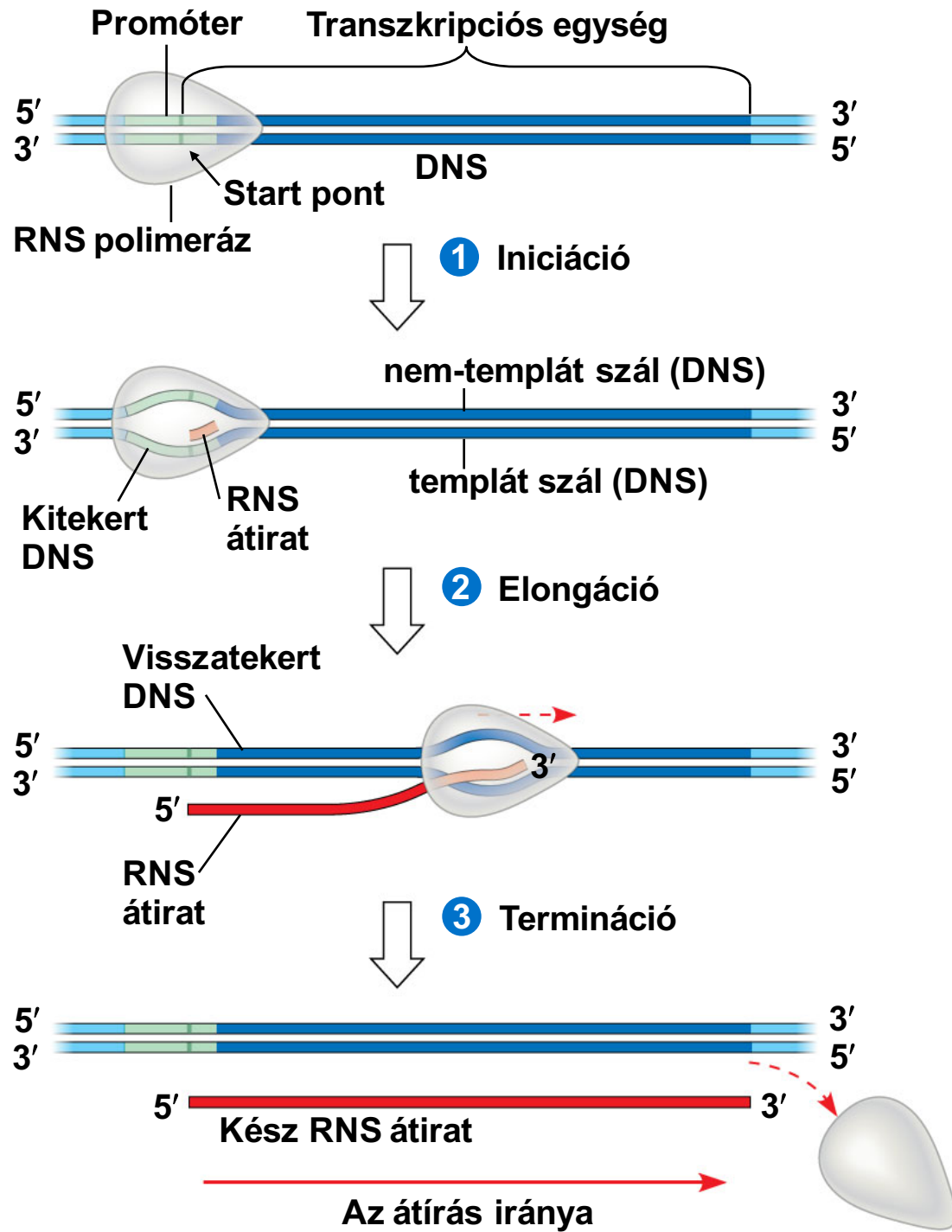
- **Triplet szerkezetű**, vagyis egy aminosavat három egymást követő nukleotid egység határoz meg.
- **Nem átfedő**, vagyis minden nukleotid egység legfeljebb egy triplethez tartozik.
- **Vesszőmentes**, vagyis az egyes tripletek között nincs szünetjel.
- A leolvasása speciális **kezdő tripletnél indul** (start kodon), és speciális **záró tripleteknél** (stop kodonok) **fejeződik be**.
- A kód **egyértelmű**, vagyis egy adott triplet csak egyféle aminosavat jelent.
- A kód **redundáns** (illetve „degenerált”), vagyis a legtöbb aminosavat egynél több triplet kódolja.
- A kód (szinte) **univerzális**, vagyis minden élőlényben ugyanaz (a mitokondriumokban kissé eltér a kód).



(a) dohány növény szentjános- (b) sertés medúza gént fejez ki bogár gént fejez ki

A transzkripció molekuláris komponensei

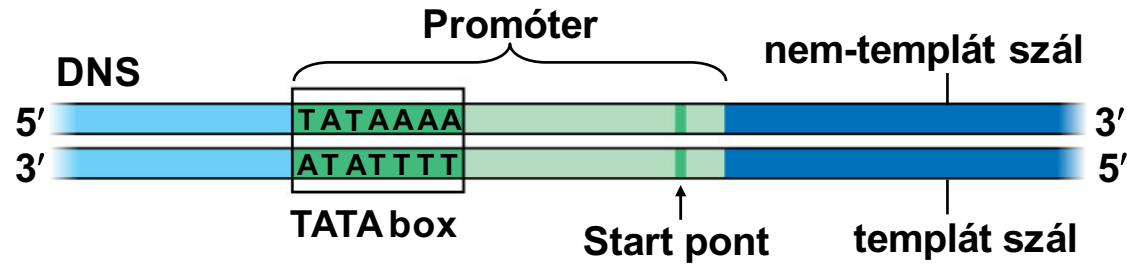
- RNS szintézist az **RNS polimeráz** katalizálja, mely szétnyitja a DNS szálakat, és összekapcsolja az RNS nukleotidokat
- a képződő RNS komplementer a DNS templát szállal
- az RNS szintézis ugyanazokat a szabályokat követi, mint a DNS esetén, csak T helyett U van
- Az a DNS szekvenciát, ahova az RNS polimeráz kapcsolódik **promóternek** nevezzük; baktériumokban, a transzkripciót leállító szekvencia a **terminator**
- a kinyújtott, átíródó DNS szakaszt, **transzkripciós egységnek** hívjuk



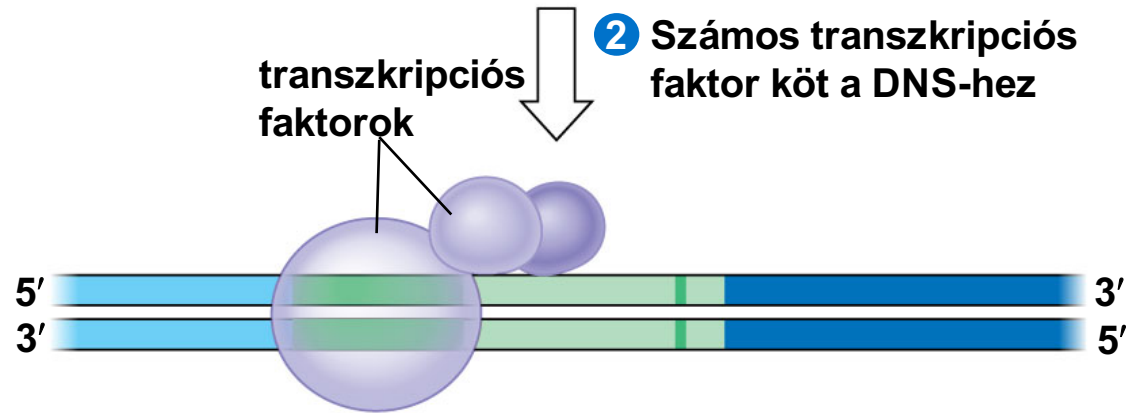
RNS polimeráz kötése és a transzkripció kezdete

- A promóterek a transzkripció **start pontját** jelzik, és általában több tíz nukleotidra kiterjednek a start pont elé (upstream)
- **A transzkripciós faktorok** szabályozzák az RNS polimeráz kötését és a transzkripció kezdetét
- A transzkripciós faktorok és az RNS polimeráz II összeszerelődésével és promóterhez való kapcsolódásával létrejön a **transzkripciós iniciációs komplex**
- Eukariótákban a **TATA box-nak nevezett promóter** alapvető az iniciációs komplexben

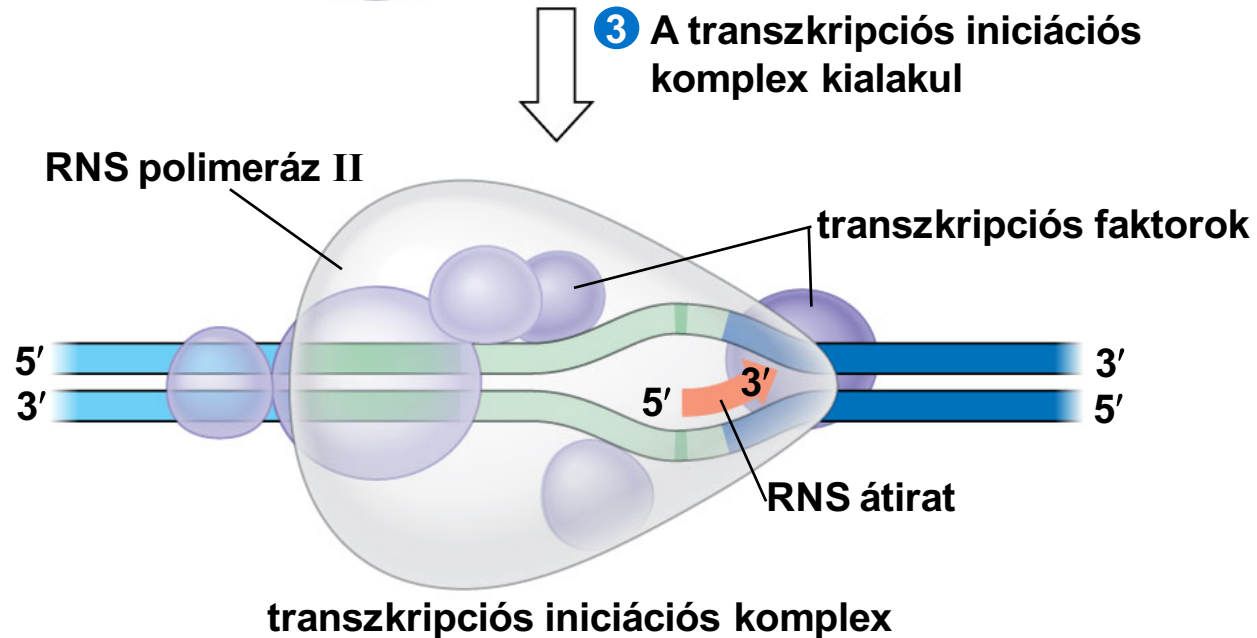
1 Eukarióta promóter



2 Számos transzkripció faktor köt a DNS-hez

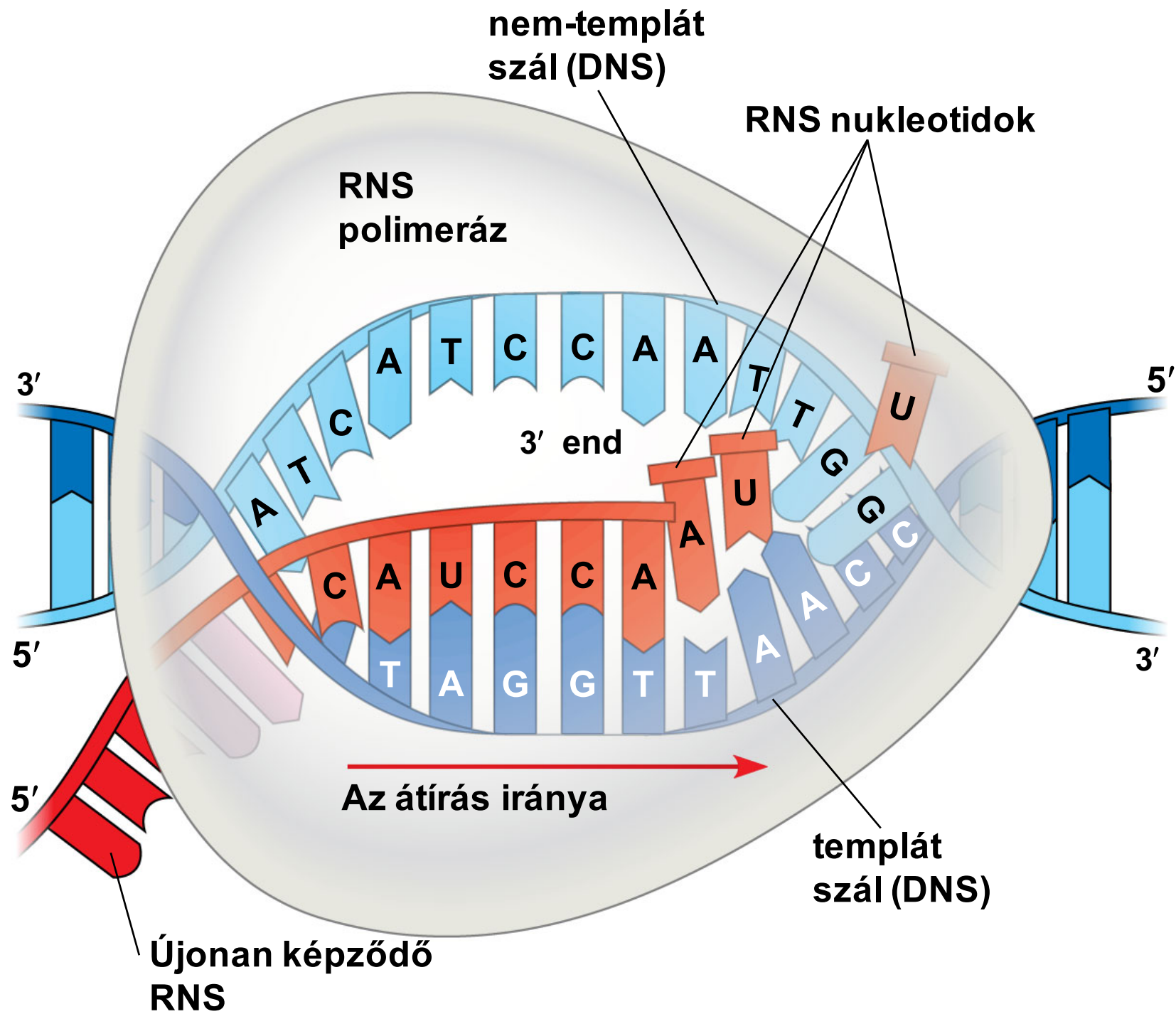


3 A transzkripció iniciációs komplex kialakul



RNS szál hosszabítása (elongáció)

- Ahogy az RNS polimeráz mozog a DNS-en, kicsavarja a kettős hélixet, 10-20 bázist egyszerre
- A transzkripció sebessége 40 nukleotid / mp eukariótákban
- egy gént egyidejűleg számos RNS polimeráz átírhat
- a nukleotidok a növekvő RNS molekula 3' végéhez kapcsolódnak



A transzkripció leállítása (Termináció)

- A termináció mechanizmusa különböző prokariótákban és eukariótákban
- Baktériumokban, a polimeráz megállítja az átírást a terminátor szakasz végén, és az mRNS további módosítások nélkül transzlálható
- Eukariótákban az RNS polimeráz II átírja az ún. poliadenilációs szignál szekvenciát; az átírt RNS 10–35 nukleotiddal e szekvencia után leválik

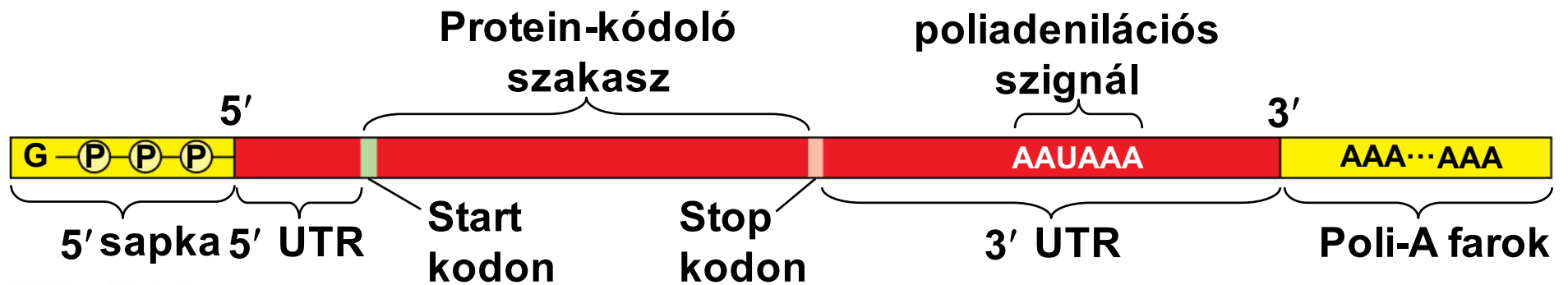
Az eukaróta sejtek módosítják az RNS-t a transzkripciót követően

- az enzimek a sejtmagban módosítják a pre-mRNS (**RNS processzálas**) mielőtt a genetikai üzenet kikerülne a citoplazmába
- Az RNS processzálas alatt az elsődleges átírat mindkét vége módosul általában
- valamint a molekula számos belső szakasza kivágódik és a távolabbi részek összeillesztődnek

Az mRNS végeinek módosításai

- A pre-mRNS molekula végei egyénileg módosítódnak
 - Az 5' vég módosított nukleotidokat kap: **5' sapka/cap**
 - A 3' végen **poli-A farok** alakul ki
- Ezek a módosítások számos funkciót eredményeznek
 - gyorsítják az mRNS exportját a citoplazmába
 - megvédik az mRNS-t a hidrolitikus enzimektől
 - segítik, hogy a riboszómák hozzákapcsolódjanak az 5' véghez

RNS processzálas



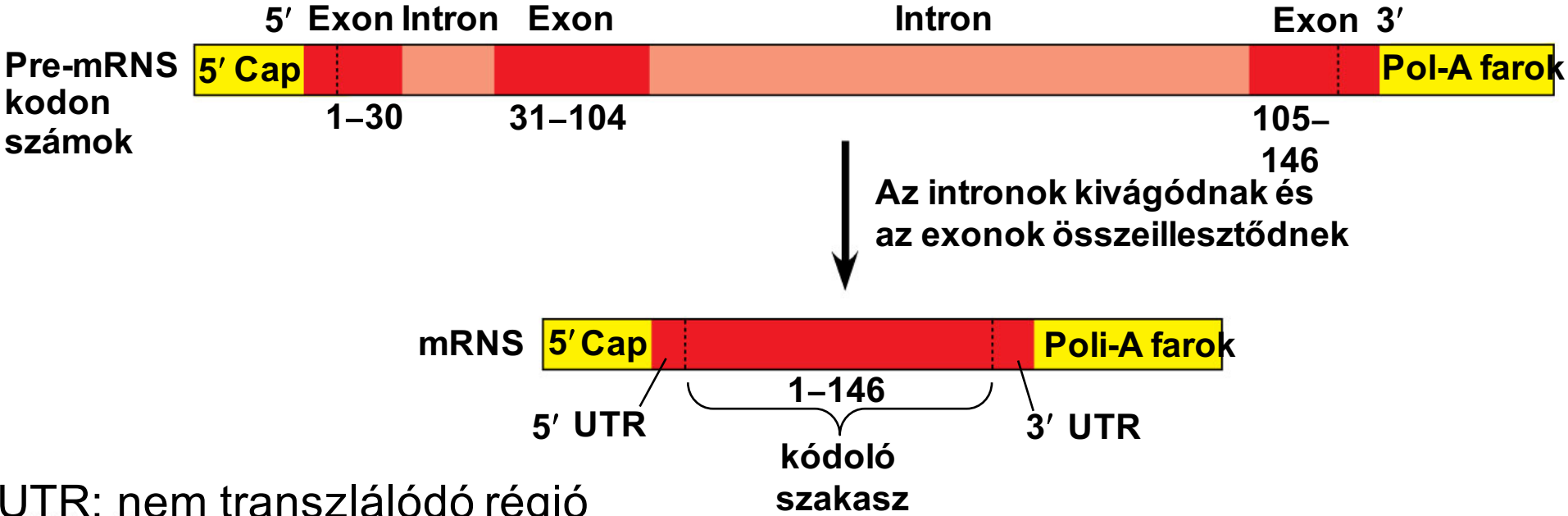
© 2011 Pearson Education, Inc.

UTR: nem transzlálódó régió

A gének szerkezete és az RNS “splicing”

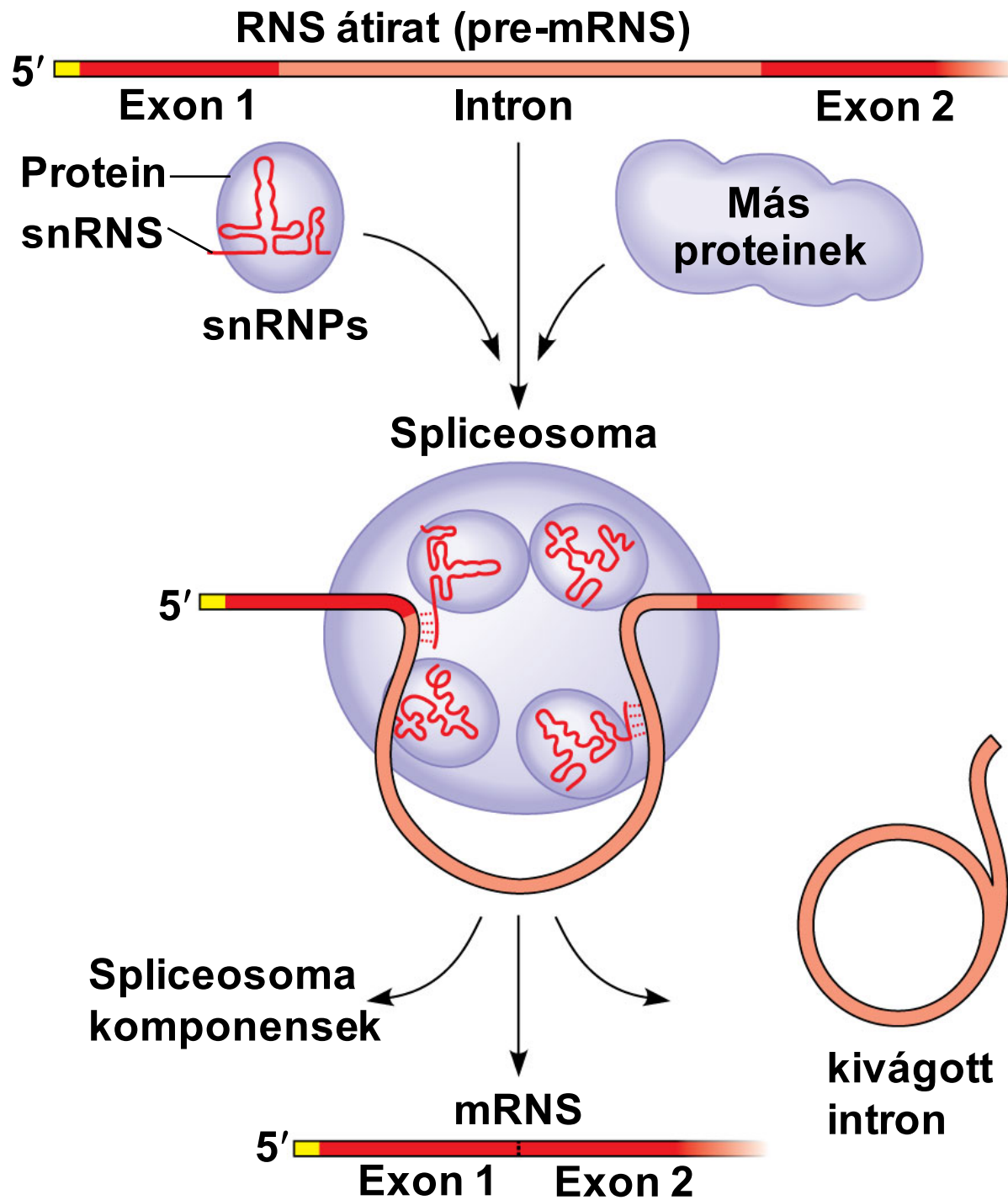
- a legtöbb eukarióta gén és így elsődleges RNS átírataik is mozaikos szerkezetű: a fehérjében megjelenő információ a DNS-ben nem egyetlen, folyamatos „szövegként” van tárolva, hanem egymást követő kisebb egységekre van tördelve.
- melyekben kódoló régiók (exon) és *nem-kódoló régiók (intron)* váltják egymást
- **Az RNS vágás/splicing** eltávolítja az intronokat, és folyamatos kódoló szekvenciával rendelkező RNS molekulát állít elő

RNS splicing



UTR: nem transzlálódó régió

- Számos esetben az RNS splicing ún spliceosomákban történik
- **A Spliceosoma** számos különböző fehérjéből és kis magi ribonukleoproteinből (**snRNPs**) épül fel , melyek a vágási helyeket ismerik fel

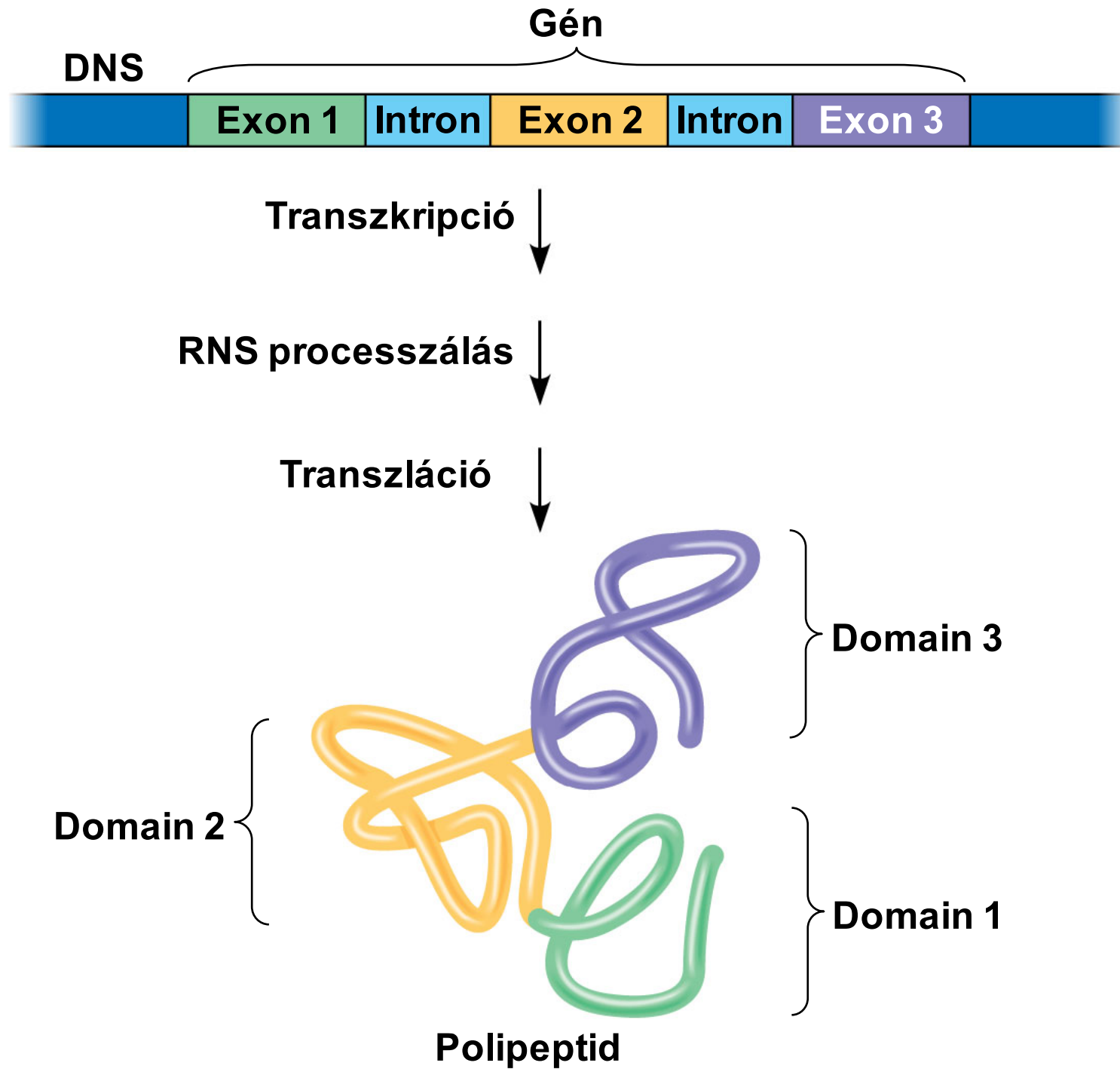


Ribozimek

- **Ribozimek** katalitikus RNS molekulák, melyek enzimként képesek funkcionálni, és hasítják az RNS-t
- Az RNS három tulajdonsága teszi lehetővé, hogy enzimként funkcionáljon
 - önmagával képes bázispárokat kialakítani, így lehet 3D szerkezete
 - RNS számos bázisa funkciós csoportot tartalmaz, mely részt vehet katalízisben
 - RNS hidrogén-kötést alakíthat ki más nukleotid molekulákkal

Az intronok funkcionális és evolúciós jelentősége

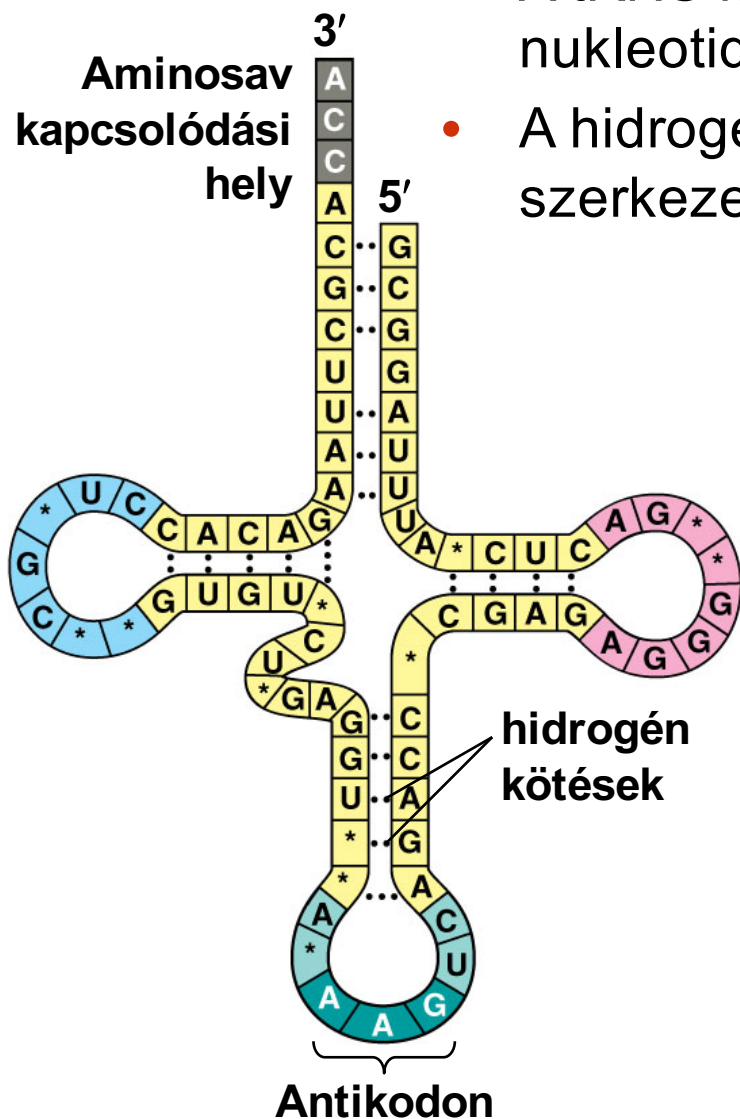
- Számos intron olyan szekvenciákat tartalmaz, melyek a génexpressziót szabályozzák
- Ugyanarról a génről többféle polipeptid is keletkezhet, annak függvényében, hogy az mRNS-be mely exonok kerülnek bele
- ezt a folyamatot **alternatív RNS splicing-nak nevezzük**
- A fehérjék gyakran moduláris szerkezetűek, a modulokat **doméneknek nevezzük.**
- Számos esetben a különböző exonok a fehérje különböző doménjeit kódolják
- Exon keverődés/shuffling új, evolúciósan sikeres fehérjét eredményezhet



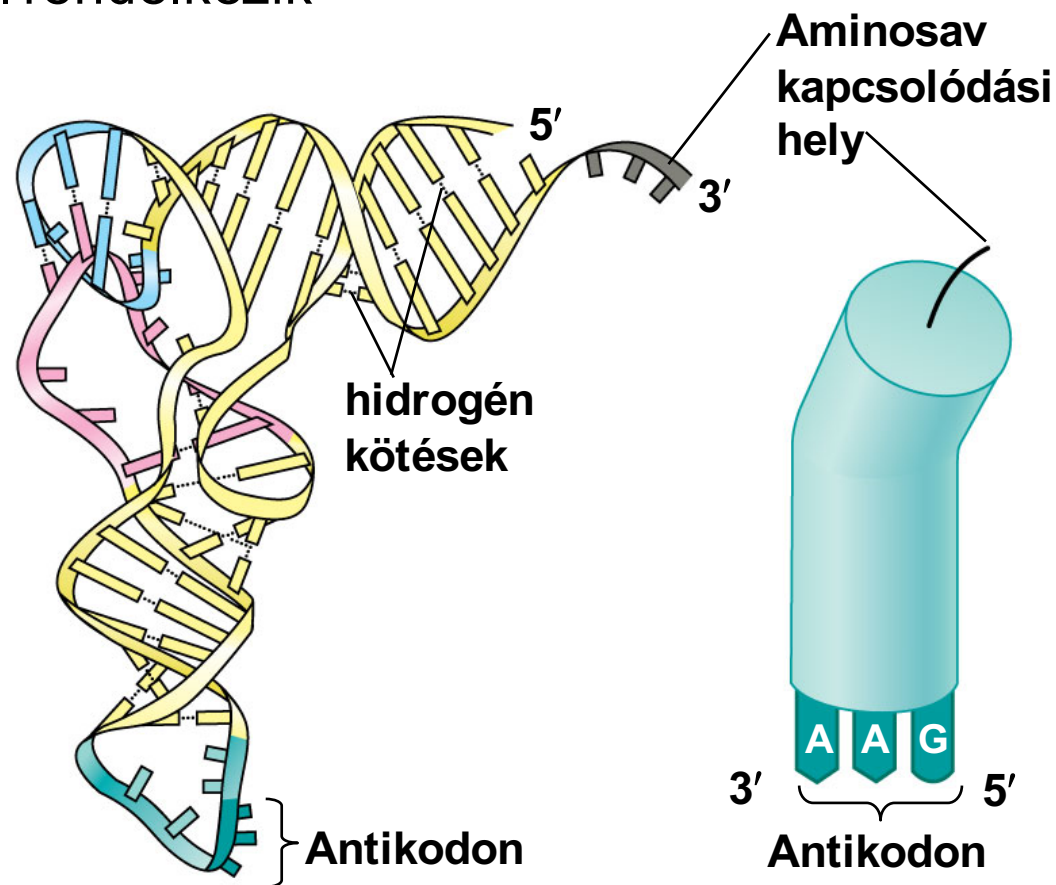
II. Transzláció: molekuláris komponensek

- A sejt az mRNS üzenetét **szállító/transzfer RNSeK (tRNS)** segítségével fordítja le
- tRNSs az aminosavakat szállítja a riboszómákhoz
- tRNS molekulák nem egyformák
 - mindegyik egy specifikus aminosvat szállít a végén
 - mindegyik rendelkezik **antikodonnal**, mely az mRNS-en található kodonok komplementer párja

- A tRNS molekula egyszálú RNSből áll, mely kb. 80 nukleotid hosszú
- A hidrogén kötések miatt megcsavarodik és 3D szerkezettel rendelkezik

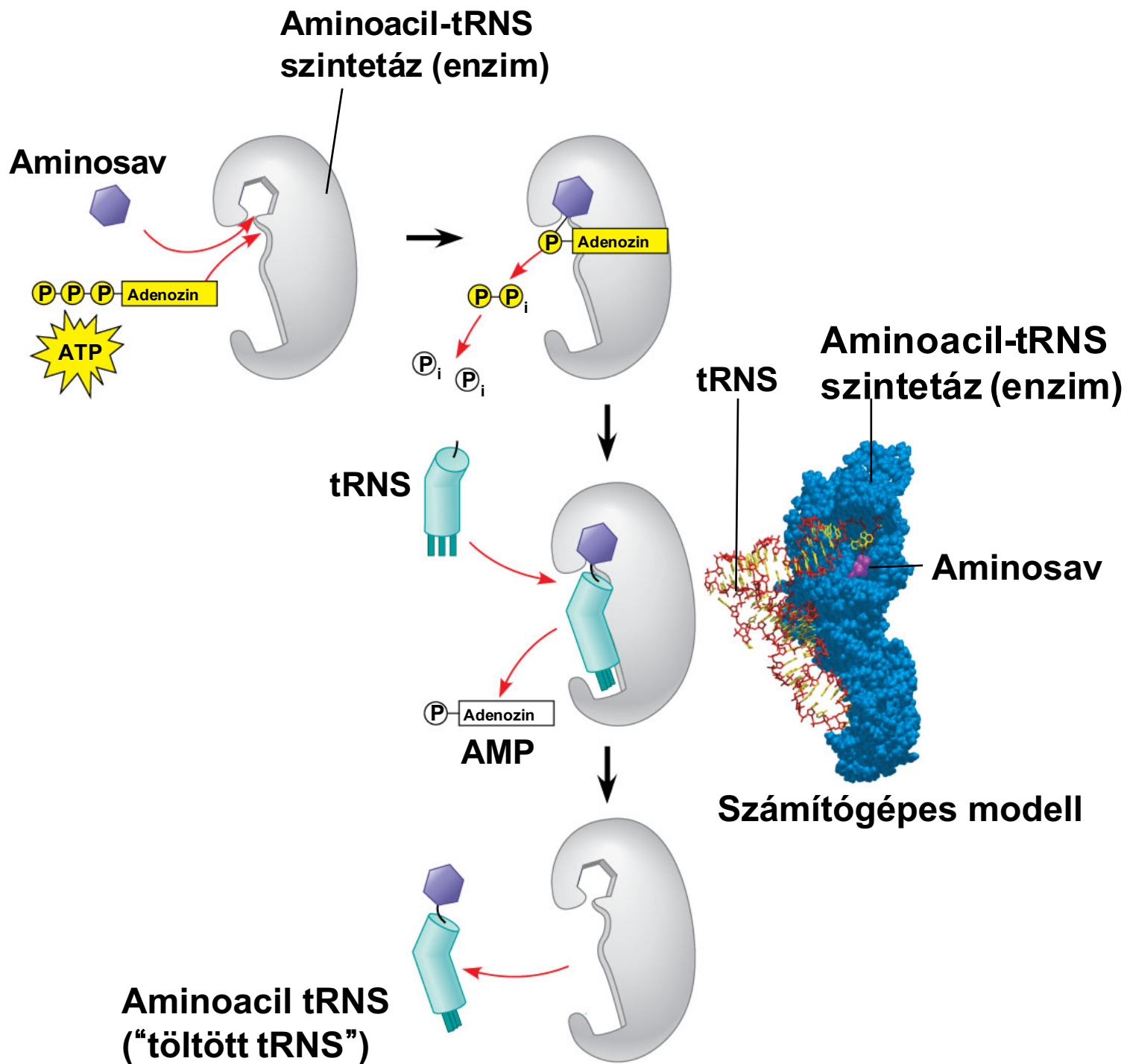


(a) Két dimenziós struktúra



(b) három dimenziós struktúra

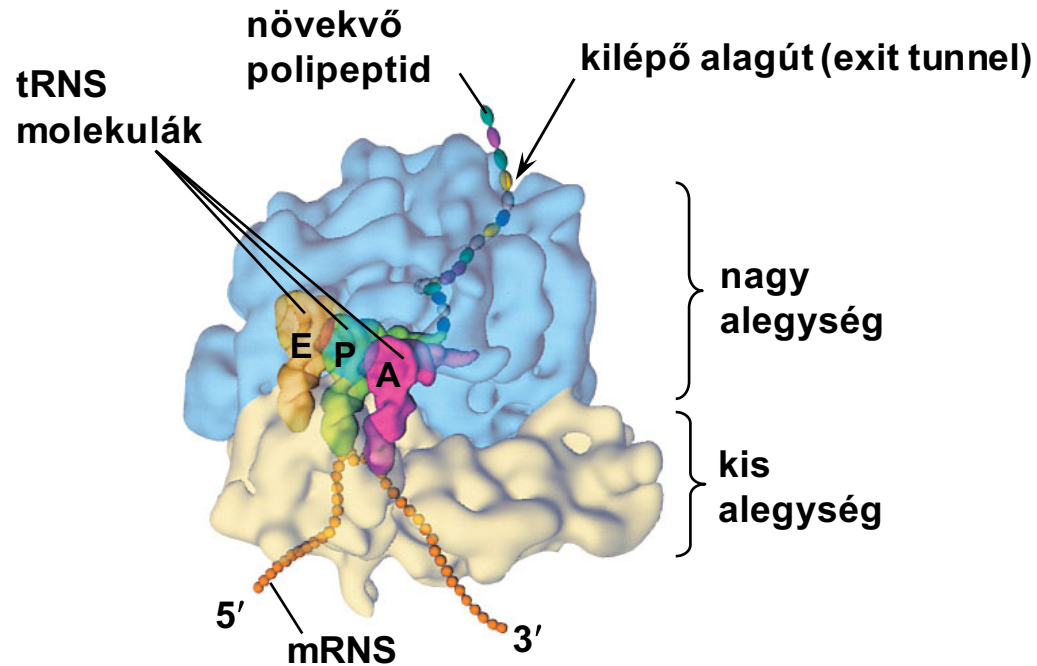
- A pontos transzláció két lépést igényel
 - Elsőként: megfelelő egyezést a tRNS és az aminosav között, ezt az **aminoacil-tRNS szintetáz** biztosítja
 - Másodszer: megfelelő egyezést a tRNS antikodonja és az mRNS egy kodonja között
- A kodon harmadik bázisának “lötyögése” (flexibilis párosodása) lehetővé teszi, hogy számos tRNSs egynél több kodonhoz is kapcsolódhasson



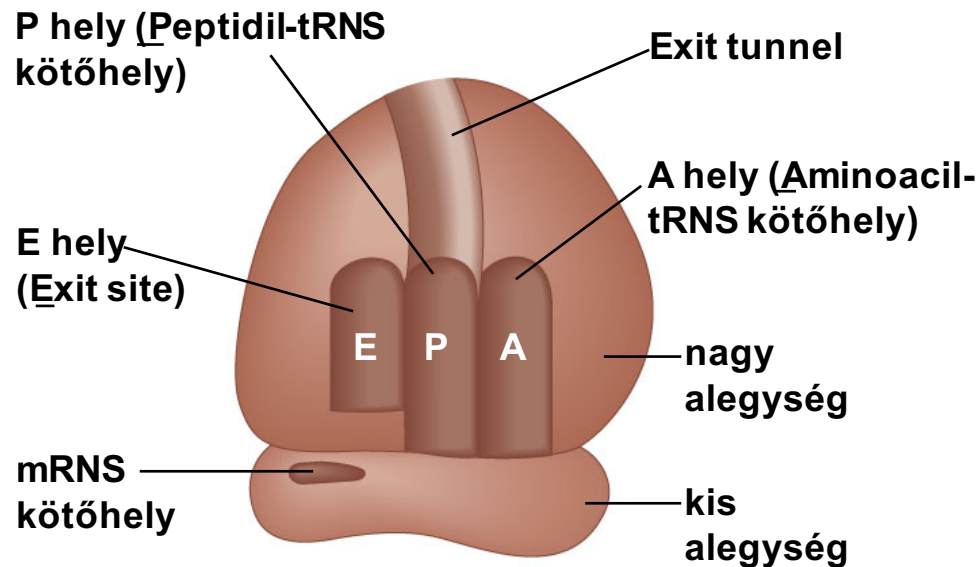
Riboszóma

- Riboszómas elsőségitik a megfelelő tRNS antikodonok mRNS kodonokhoz történő kapcsolódását a fehérjeszintézis során
- A kis és a nagy riboszómális alegység fehérjékből és **riboszómális RNSből (rRNS)** épül fel
- A pro- és eukarióta riboszómák hasonlóak, de van néhány jellegzetes különbség :
 - különbözik az alegységek mérete
 - számos antibiotikus a bakteriális riboszómákat veszi célba, de nem hat az eukarióta riboszómákon

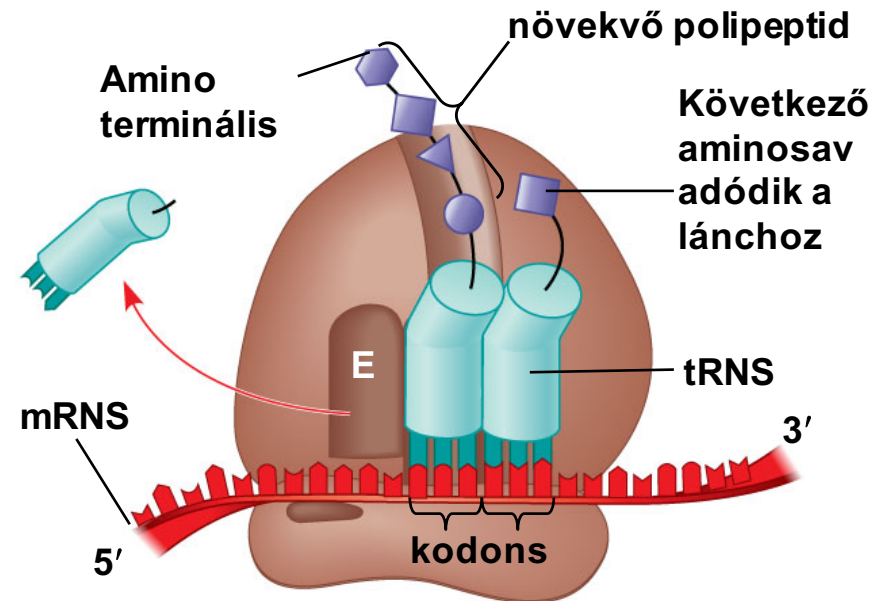
- A Riboszóma három tRNS kötőhellyel rendelkezik:
 - **P hely** tartalmazza a növekvő polipeptid láncot hordozó tRNS-t
 - **A hely** tartalmazza a következő aminosavat szállító tRNS-t
 - **E hely** a kilépési pont, az üres tRNS elhagyja a riboszómát



(a) működő riboszóma modellje



(b) A kötőhelyek sematikus modellje



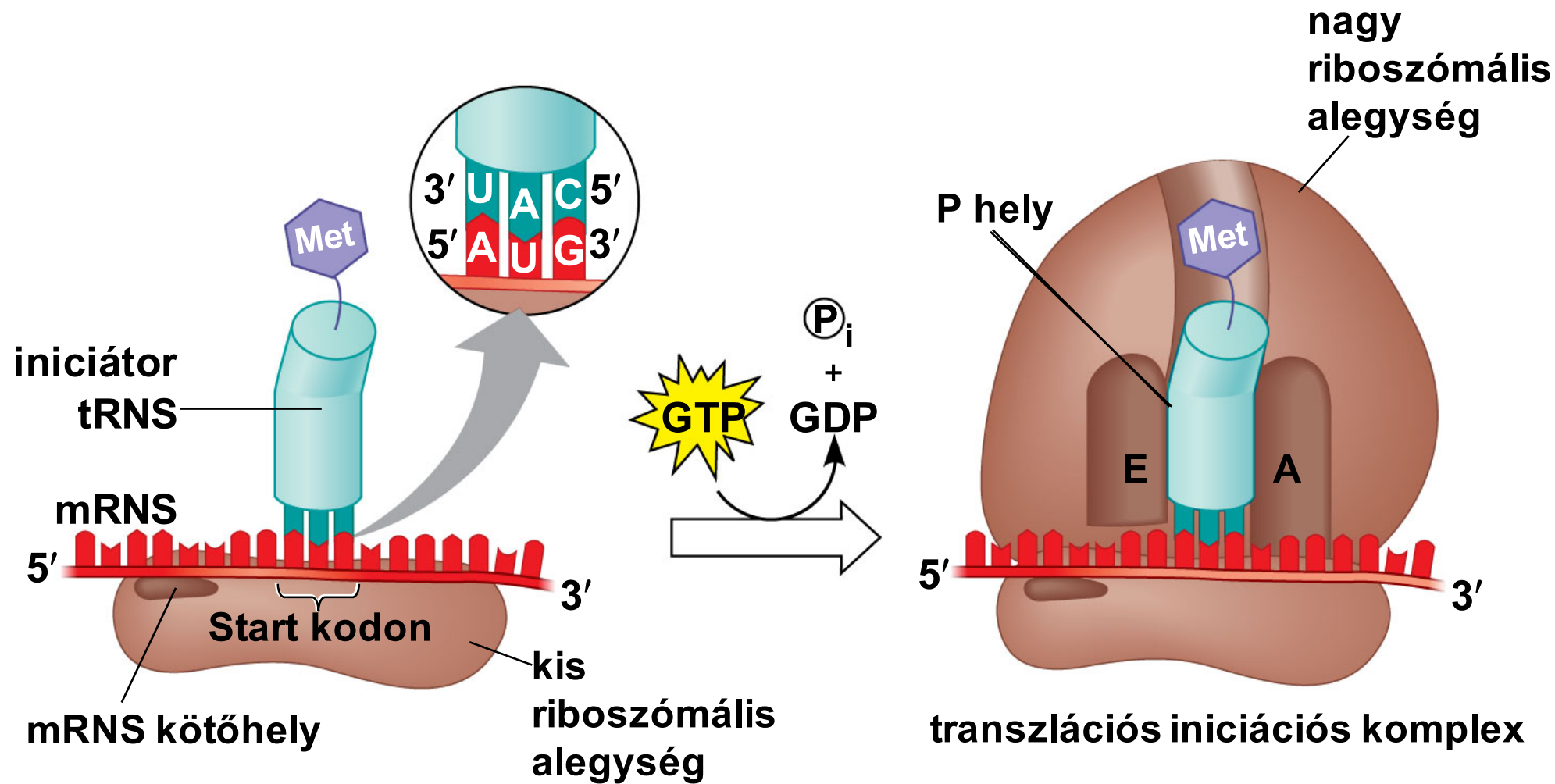
(c) sematikus modell mRNSsel és tRNSekkel

Építsünk polipeptidet!

- A transzláció három szakaszra osztható
 - Iniciáció
 - Elongáció
 - Termináció

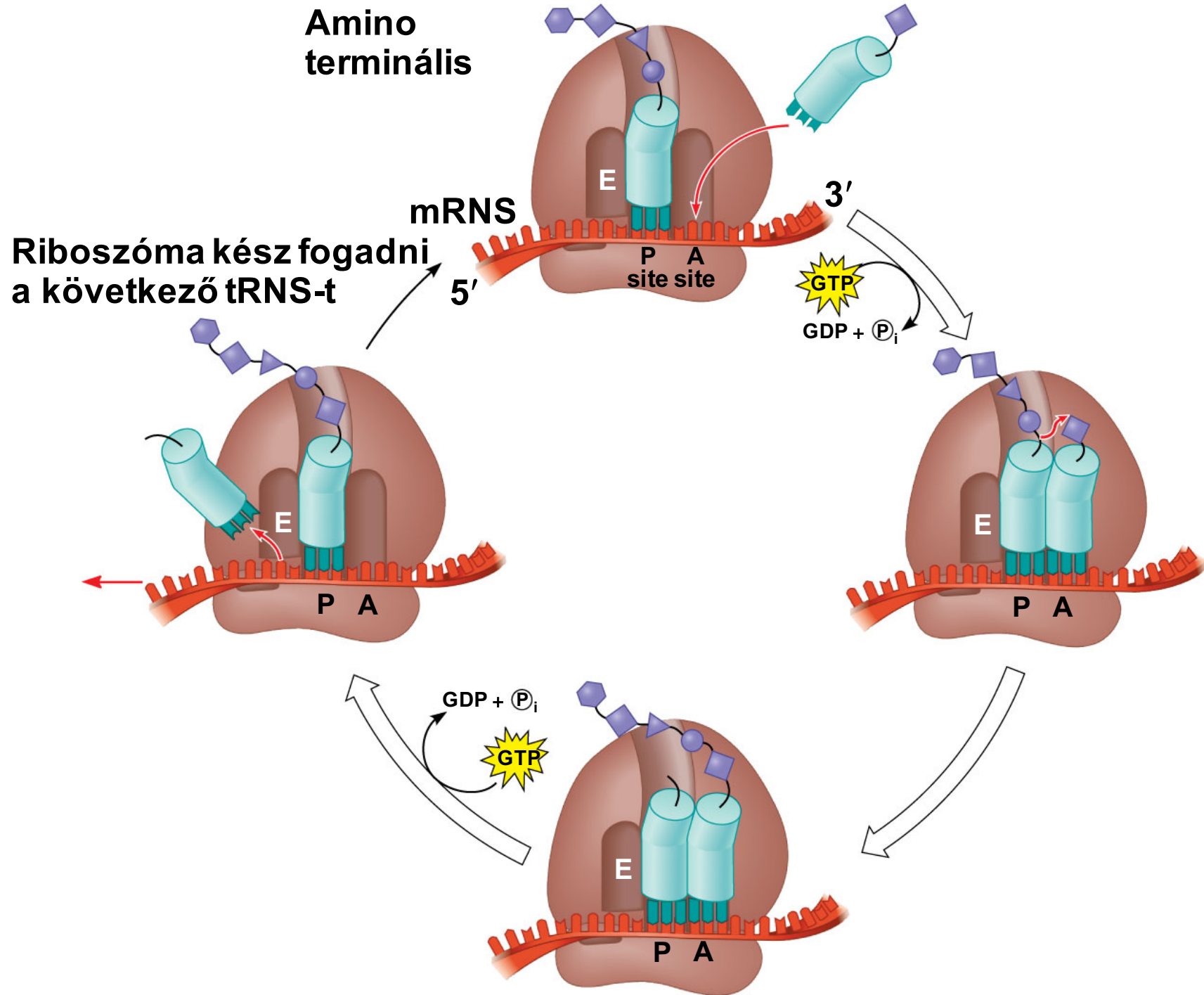
I. Riboszóma asszociáció és a transzláció iniciációja

- Az iniciációs fázisban áll össze az mRNS, az első aminosavat hordozó tRNS és a két riboszómális alegység
- Elsőként a kis alegység köti az mRNS-t és hozzákapcsolódik az iniciátor tRNS
- Majd a kis alegység elmozdul az mRNS-en, míg a start kodonhoz (AUG) nem ér
- Az iniciációs faktor fehérjék a nagy alegységet a komplexhez kapcsolják



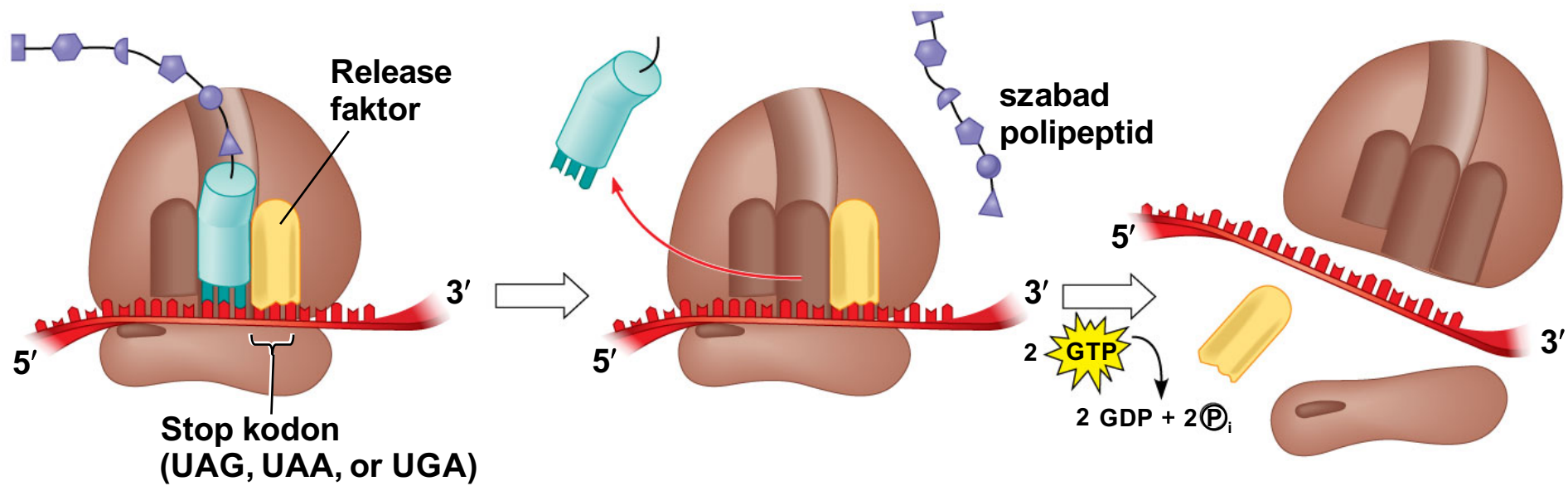
II. A polipeptid lánc elongációja

- Az elongációs fázis alatt a következő aminosav az előző C terminálisához adódik hozzá. A folyamat az elongációs faktor jelenlétét igényli
- három lépésből áll:
 1. kodon felismerés,
 2. a peptid kötés kialakulása
 3. transzlokáció
- a transzlokáció az mRNS 5' - 3' irányában történik



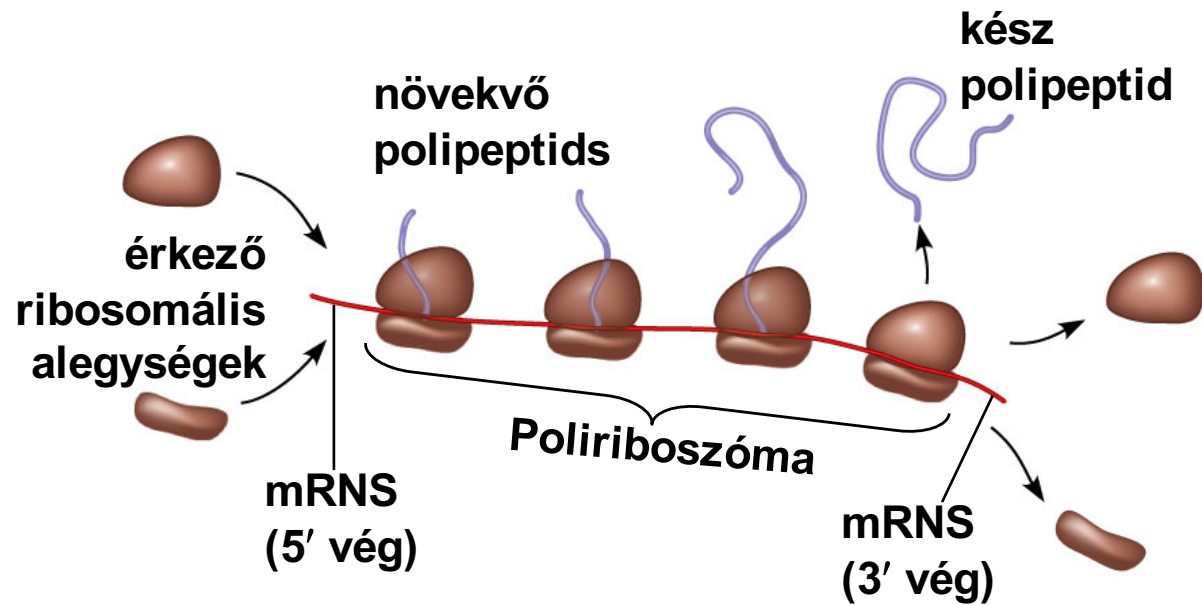
III. A transzláció befejezése (termináció)

- A termináció bekövetkezik, ha az mRNS-en egy stop kodon a riboszóma A helyére ér
- Az A hely release faktor fogad
- A release factor víz molekula hozzáadását okozza aminosav helyett, a riboszóma elengedi a fehérjét és a transzlációs komplex szétesik

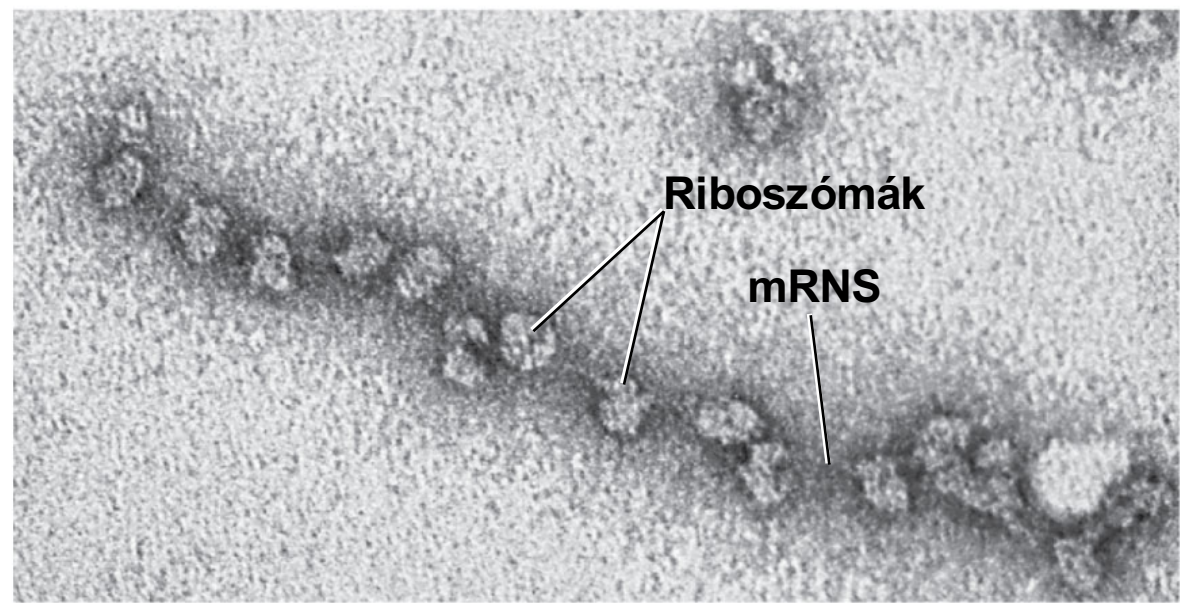


Poliriboszómák

- Számos riboszóma tudja ugyanazt az mRNS molekulát egyidejűleg használni: ún. **poliriboszóma** (vagy **poliszóma**)
- A poliriboszómák lehetővé teszik, hogy nagyon gyorsan képződjön több fehérje kópia

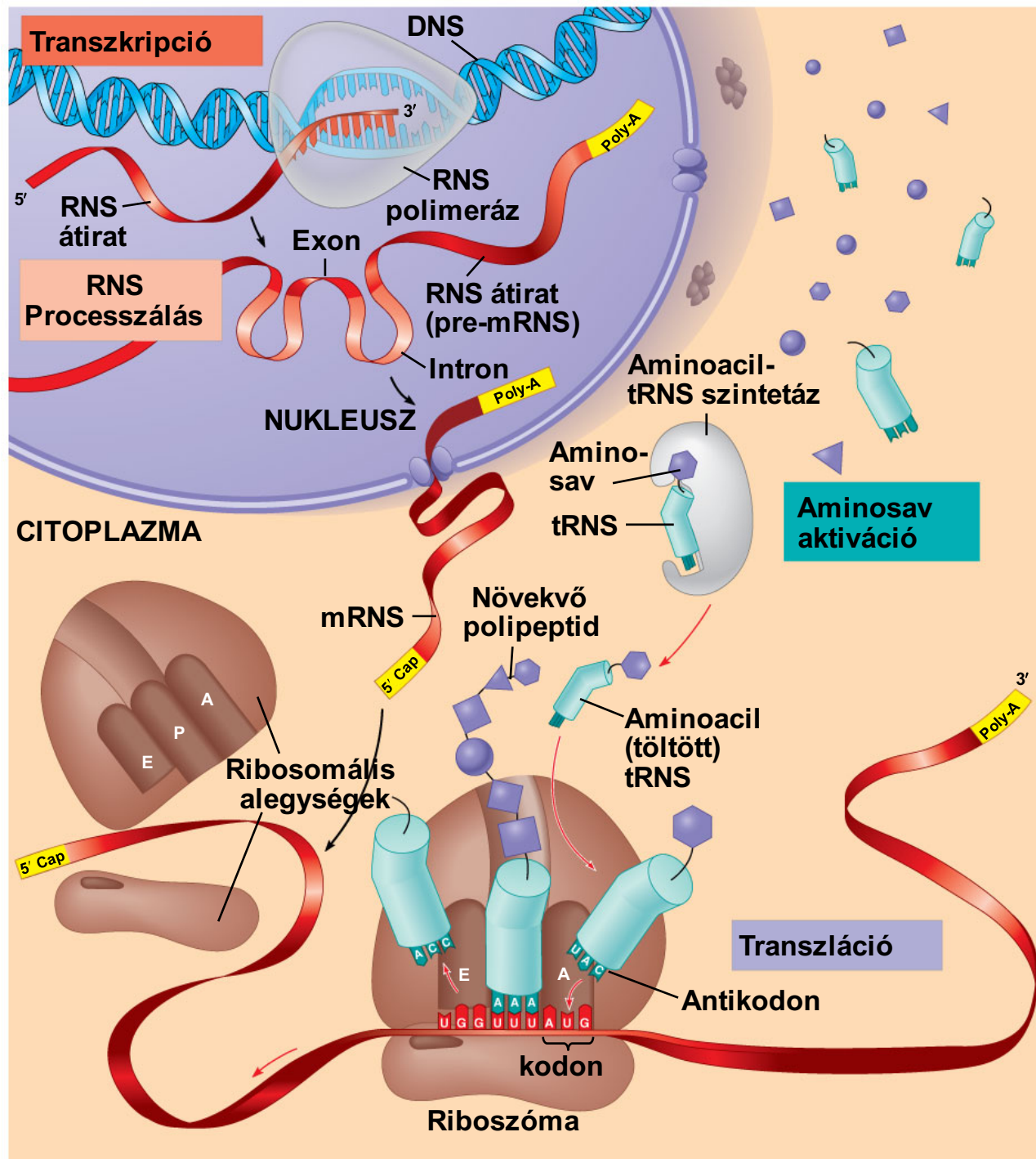


(a)



(b)

0.1 μ m



A transzláció során elkészült fehérje módosítása és irányítása

- Gyakran a transzláció önmagában nem elegendő a funkcionális fehérje elkészítéséhez
- A polipeptid láncok általában módosulnak a transzlációt követően és/vagy a sejt megfelelő helyére irányítódnak

A fehérjék felgombolyodása és a poszttranszlációs módosítások

- A fehérjeszintézis alatt és után a polipeptid lánc spontán 3 dimenziós alakba gombolyodik
- A poszttranszlációs módosítások (pl. glikoziláció) egyes fehérjék esetén elengedhetetlenek a fehérje működéséhez
- Számos fehérje enzimatis hasításra aktiválódik
- Más fehérjék csak alegységeket képeznek és az alegységek összeállva hoznak létre működő fehérje együttest

A polipeptidek megfelelő helyre irányítása

- A sejtekben szabad és kötött riboszómákat találunk
- A citoplazmatikus szabad riboszómák elsősorban a citoszólban szerepet játszó fehérjéket szintetizálnak
- A kötött riboszómák az endomembrán rendszer fehérjéit és exportfehérjéket szintetizálnak
- A két csoport riboszómái egyformák, és állapotukat változtathatják

- A polipeptid szintézis mindig a citoplazmában kezdődik
- Ha a fehérje nem tartalmaz szignál szakaszt , akkor a szintézis a citoplazmában fejeződik is be
- A kötött riboszómákon szintetizálódó fehérjék **szignál peptiddel** jelöltek
- A szignál felismerő részecske (**signal-recognition particle – SRP**) köti a szignál peptidet és irányítja a riboszómát az ER-hoz

