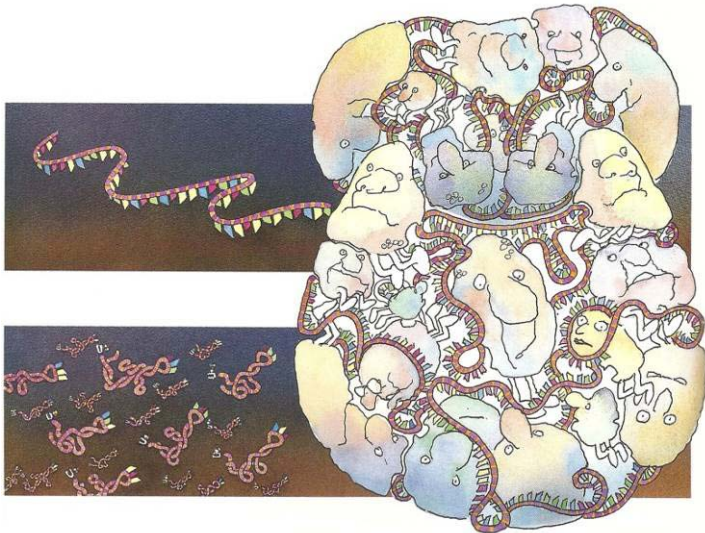


**Στο πρωτεϊνοσυνθετικό εργοστάσιο του κυττάρου, και ... ένα μικρό «λεξικό».**  
(Γ' Λυκείου Θετικής Κατεύθυνσης)

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: ..... ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ: .....

### 1. Τι απαιτείται για τη βιοσύνθεση ενός πρωτεϊνικού μορίου;

☞ Το *ριβόσωμα*: είναι η κατάλληλη *κυτταρική μηχανή*, προκειμένου να συνδεθούν τα αμινοξέα– τα δομικά μονομερή κάθε πρωτεΐνης–, σε αλυσίδα με καθορισμένη αλληλουχία. Στη λειτουργία αυτής της μηχανής συμμετέχουν επίσης *ποικίλες πρωτεΐνες*,



ορισμένες από τις οποίες θα γνωρίσουμε στη συνέχεια. Για να ακριβολογούμε, ωστόσο, δεν πρόκειται για απλή μηχανή, αλλά για ένα *οργανωμένο εργοστάσιο μηχανών* στο οποίο επιτελούνται διάφορες εργασίες με ακρίβεια και ταχύτητα.

☞ Ένας *εντολοδόχος*: πρόκειται για ένα *μόριο mRNA*, το οποίο ορίζει την αλληλουχία της σύνδεσης των αμινοξέων (– φαντάζεστε το κύτταρο να έπρεπε να συνδέσει τα όποια αμινοξέα με τυχαίο τρόπο, και να μην κατάφερνε στο τέλος να παραγάγει την πρωτεϊνική αλυσίδα που για κάποιο λόγο έχει απόλυτη ανάγκη σε δεδομένη χρονική στιγμή:).

[πηγή εικόνας: *Exploring the Way Life Works, The Science of Biology*, Mahlon Hoagland, Bert Dodson και Judith Hauck, (2001) Jones and Bartlett Publishers, Inc.]

*εντολοδότης* του εντολοδόχου είναι κάποιο γονίδιο (δηλαδή συγκεκριμένη περιοχή DNA της οποίας το πληροφοριακό περιεχόμενο έχει «περάσει» μέσω μεταγραφής στην αλυσίδα του

mRNA).

☞ Η *πρώτη ύλη*: μόρια *tRNA* «φορτωμένα» με τα κατάλληλα αμινοξέα (– από εδώ και στο εξής τα «φορτωμένα» αυτά οχήματα μεταφοράς θα τα αποκαλούμε *αμινοακύλο-tRNA*).

☞ Και *απαραίτητως ενέργεια*, υπό τη μορφή ATP και GTP (εφόσον οικοδομούνται, τουλάχιστον, νέοι χημικοί δεσμοί μεταξύ των αμινοξέων– πρόκειται για τον *πεπτιδικό δεσμό*).

### 2. Γνωριμία με τους συμμετέχοντες «παίκτες» στην πρωτεϊνοσύνθεση

Θα «κατεβάσετε» και θα αποθηκεύσετε ένα αρχείο powerpoint από τον σύνδεσμο

<http://blogs.sch.gr/geortsolbio/2013/04/09/%CE%BC%CE%B5%CF%84%CE%AC%CF%86%CF%81%CE%B1%CF%83%CE%B7-%CE%B3%CE%B5%CE%BD%CE%B5%CF%84%CE%B9%CE%BA%CF%8C%CF%82-%CE%BA%CF%8E%CE%B4%CE%B9%CE%BA%CE%B1%CF%82/>

Αφού το ανοίξετε, παρατηρήστε λεπτομέρειες στις διαφάνειές του, και προσπαθήστε να απαντήσετε στα ακόλουθα:

#### **Η οργάνωση του μεταφραστικού εργοστασίου**

Σύμφωνα με τη 2<sup>η</sup> διαφάνεια, το ευκαρυωτικό ή το προκαρυωτικό ριβόσωμα, πιστεύετε ότι είναι πιο πολύπλοκο;

.....

Σήμερα, πλέον, γνωρίζουμε ότι, η κύρια καταλυτική δραστηριότητα στα περισσότερα από τα σημαντικά βήματα της πρωτεϊνσύνθεσης επιτελείται από το rRNA, ενώ οι ριβοσωματικές πρωτεΐνες απλώς το συνεπικουρούν. Συνολικά δε, τα συστατικά μέρη των ριβοσωμάτων, όπως και τα βήματα της πρωτεϊνσύνθεσης, μοιάζουν μεταξύ ευκαρυωτικών και προκαρυωτικών συστημάτων. Σε επίπεδο εξελικτικό, επομένως, οι ομοιότητες αυτές υποδηλώνουν ότι η μετάφραση ως διαδικασία είναι αρχαιότατη, και αναπτύχθηκε-προϋπήρξε ήδη στον κοινό πρόγονο των ευκαρυωτικών και προκαρυωτικών κυττάρων.

### ***tRNA: ο προσαρμοστής***

Αφότου διασαφηνίστηκε ότι από τις αζωτούχες βάσεις του mRNA κατά τριάδες (καλούνται *κωδικόνια*) καθορίζεται η αλληλουχία των αμινοξέων σε κάποια πρωτεϊνική αλυσίδα, οι επιστήμονες άρχισαν να διερωτώνται πώς επιτυγχανόταν αυτός ο καθορισμός. Σύμφωνα με ένα πρώτο μοντέλο, το οποίο σύντομα εγκαταλείφτηκε ως απίθανο, προτάθηκε ότι οι τριάδες των αζωτούχων βάσεων του mRNA θα μπορούσαν να αναδιπλώνονται ώστε να σχηματίζουν 20 ιδιαίτερες κοιλότητες, εντός των οποίων θα προσδένονταν με ειδικό τρόπο τα 20 διαφορετικά αμινοξέα στην κατάλληλη σειρά. Αντ' αυτού, το 1958, ο Francis Crick αναγνώρισε ότι

*«...είναι πολύ δύσκολο να δεχτεί κανείς ότι το DNA ή το RNA, σε οποιαδήποτε μορφή, θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως απευθείας εκμαγεία για τα είκοσι κύρια αμινοξέα. Αυτό που ήταν πιθανό να διέθετε οποιαδήποτε δομή, ήταν μια συγκεκριμένη διάταξη ομάδων από άτομα που θα μπορούσαν να αναπτύσσουν δεσμούς υδρογόνου. Γι' αυτό και πρότεινα μια θεωρία, με την οποία προέβλεπα είκοσι προσαρμοστές (έναν για κάθε αμινοξύ), μαζί με είκοσι ειδικά ένζυμα. Κάθε ένζυμο θα συνέδεε ένα συγκεκριμένο αμινοξύ στον δικό του ειδικό προσαρμοστή. Αυτός ο συνδυασμός θα διαχεόταν προς το εκμαγείο RNA. Ένα μόριο-προσαρμοστής θα ταίριαζε μόνο στις θέσεις εκείνες, στο εκμαγείο του νουκλεϊκού οξέος, στις οποίες θα μπορούσε να αναπτύξει τους αναγκαίους δεσμούς υδρογόνου και να σταθεροποιηθεί. Παραμένοντας εκεί, θα είχε μεταφέρει το αμινοξύ του ακριβώς στη σωστή θέση.»* [πηγή κειμένου: *Τι τρελό κνηγητό*, Francis Crick, (1991) Εκδόσεις Κάτοπτρο]

Σήμερα γνωρίζουμε ότι η υπόθεση σχετικά με τον προσαρμοστή ('adapter hypothesis') του Crick είναι σε μεγάλο βαθμό ορθή. Πράγματι, κάθε αμινοξύ προσδένεται σε ένα ειδικό μόριο-προσαρμοστή: τον ρόλο αυτό αναλαμβάνουν τα μόρια του μεταφορικού RNA (transfer RNA, tRNA).

Με βάση τη 3<sup>η</sup> κατά σειρά διαφάνεια, όπου παρουσιάζεται η δομή του μεταφορικού RNA, σημειώστε:

1. Σε ποια περιοχή ενός μορίου tRNA φορτώνεται το αντίστοιχο αμινοξύ;.....  
Ποια περιοχή του tRNA προορίζεται για να αλληλεπιδράσει λόγω συμπληρωματικότητας με την ειδική για το αμινοξύ τριάδα αζωτούχων βάσεων (*κωδικόνιο*) μέσα στην αλυσίδα του mRNA; Πώς καλείται αυτή η περιοχή;.....  
.....
2. Μολονότι τα μόρια tRNA διαφέρουν ως προς την πρωτοταγή αλληλουχία των νουκλεοτιδίων τους, όλα εμφανίζουν την ίδια ουσιαστικά τρισδιάστατη διαμόρφωση σχήματος «Γ» (παρατηρήστε, στο δεξί τμήμα της διαφάνειας #3, την δομική υπέρθεση δύο διαφορετικών μορίων tRNA από τον σακχαρομύκητα της αρτοποιίας). Εξαιρούνται, όμως, δύο περιοχές αυτών. Ποιες είναι;.....  
.....

Η δομική ομοιότητα μεταξύ των διαφορετικών μορίων tRNA δηλώνει τη σημασία του σχήματός τους κατά τη λειτουργία τους. Καθώς προχωρεί η πρωτεϊνσύνθεση, το σχήμα «Γ» των μορίων tRNA συμβάλλει καθοριστικά στην αλληλεπίδρασή τους με το ενεργό ριβόσωμα.

### *Άλλα δομικά-λειτουργικά χαρακτηριστικά του ενεργού ριβοσώματος*

Στο ριβόσωμα συναντιούνται οι υπόλοιποι σημαντικοί «παίκτες» της πρωτεϊνσύνθεσης –μόρια mRNA και tRNA– προκειμένου η αλληλουχία των αζωτούχων βάσεων κάποιου mRNA να μεταφραστεί επιτυχώς στην αλληλουχία αμινοξέων της σύστοιχης πρωτεΐνης. Τα μόρια mRNA και tRNA καταλαμβάνουν τέτοιες θέσεις στο ριβόσωμα, ώστε να επιτυγχάνεται η λειτουργική αλληλεπίδραση κωδικονίων (του mRNA) και αντικωδικονίων (των μορίων tRNA). Ειδικότερα, η αλυσίδα του mRNA προσδένεται εξ ολοκλήρου μέσα στην μικρή υπομονάδα του ριβοσώματος· τα δε μόρια tRNA, αναπτύσσονται σε *τρεις* θέσεις μεταξύ των δύο ριβοσωματικών υπομονάδων, σαν άλλες γέφυρες, με το κάθε άκρο αντικωδικονίου να εντοπίζεται στη μικρή υπομονάδα και το αμινοακύλο άκρο (το 3' άκρο του tRNA, όπου βρίσκεται φορτωμένο το αμινοξύ) εντός της μεγάλης υπομονάδας. Αντλήστε περισσότερες πληροφορίες από την 4<sup>η</sup> κατά σειρά διαφάνεια, και δημιουργήστε αντιστοιχίες με βέλη στον ακόλουθο πίνακα:

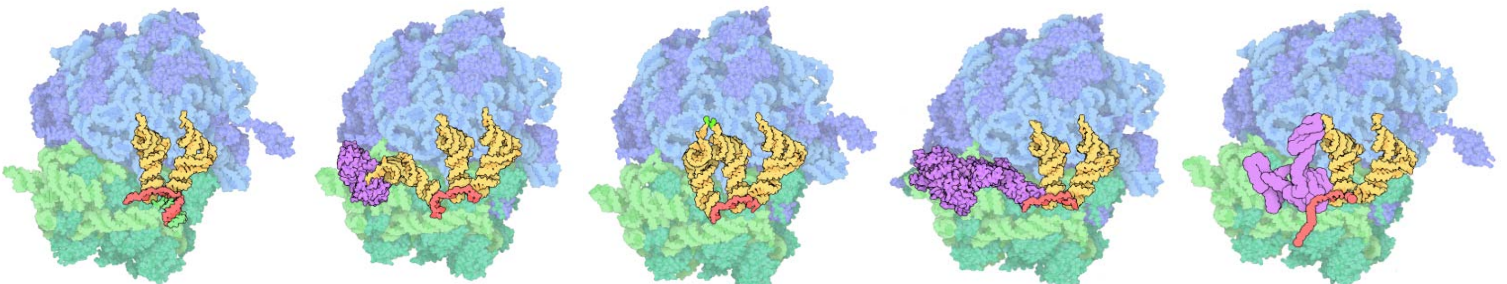
Περιοχή ριβοσώματος

Εντοπίζεται στη

Τύπος αλληλεπίδρασης- Λειτουργία

θέση <i>E</i>		Εκεί ελέγχεται η συμπληρωματικότητα κωδικονίου-αντικωδικονίου.
θέση <i>P</i>	Μεγάλη υπομονάδα	Εκεί απελευθερώνεται κάθε απακυλιωμένο tRNA από το ριβόσωμα.
θέση <i>A</i>		Εκεί καταλύεται ο σχηματισμός κάθε πεπτιδικού δεσμού.
κέντρο πεπτιδυλοτρανσφεράσης	Μικρή υπομονάδα	Εκεί εντοπίζεται κάθε μόριο tRNA στο οποίο βρίσκεται προσωρινά φορτωμένη η επιμηκυνόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα.
κέντρο αποκωδίκευσης		Εκεί προσδένεται κάθε νεοεισερχόμενο αμινοακύλο-tRNA.

Μέσα στην πρώτη δεκαετία του 21<sup>ου</sup> αιώνα δημοσιεύτηκε, αφού προσδιορίστηκε μέσω ποικίλων τεχνικών, σε επίπεδο ατόμων, η δομή του ριβοσώματος (κυρίως από ποικίλους μικροοργανισμούς) με συνδεδεμένα μόρια tRNA. Από τις αναλύσεις αυτές διαπιστώθηκε και δείχτηκε σαφέστατα ότι, στα δύο προαναφερθέντα κέντρα των ριβοσωματικών υπομονάδων αναπτύσσονται καθοριστικής σημασίας επαφές μεταξύ tRNA-tRNA, και ότι για τον σχηματισμό κάθε πεπτιδικού δεσμού, το tRNA διαδραματίζει τον *πρωτεύοντα καταλυτικό ρόλο* επικουρούμενο απλώς από ριβοσωματικές πρωτεΐνες.



[Στα παραπάνω μοριακά γραφικά απεικονίζονται οι διάφορες φάσεις της μετάφρασης με τα συνδεδεμένα μόρια tRNA συν κάποιες εξωριβοσωματικές επικουρικές πρωτεΐνες. Λεπτομέρειες για τα εικονιζόμενα στιγμιότυπα στην πολύ καλή ιστοσελίδα: <http://www.pdb.org/pdb/101/motm.do?momID=121>]

Η διαλεύκανση της δομής του ριβοσώματος εν ώρα δράσης αποτέλεσε αφορμή για απονομή βραβείου νομπέλ σε τρεις επιστήμονες μόλις πρόσφατα (νομπέλ Χημείας 2009). Αξιοπρόσεκτο: Ήταν η δεύτερη φορά στα επιστημονικά χρονικά που η Βασιλική Σουηδική Ακαδημία Επιστημών ασχολήθηκε με τη διαδικασία της κυτταρικής μετάφρασης σε σχέση με τις περίφημες βραβεύσεις της· είχαν προηγηθεί το 1968 άλλοι τρεις βραβευθέντες (βλ. σχετικό πρόβλημα στο Φύλλο Αξιολόγησης).

[ενδιαφέρουσες λεπτομέρειες στους ακόλουθους συνδέσμους:

<http://ygeia.tanea.gr/default.asp?pid=8&ct=1&articleID=7658&la=1>

[http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/2009/](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2009/) ]

### 3. Περί της μετάφρασης, διεξοδικότερα

**Επιμήκυνση:** Η μετάφραση ως διαδικασία, και χάριν ευκολίας στις μελέτες, υποδιαιρείται σε τρεις φάσεις, την *έναρξη*, την *επιμήκυνση* και τη *λήξη*. Θα ασχοληθούμε, ωστόσο, πρώτα με την *επιμήκυνση* (αφού η *έναρξη* και η *λήξη* έχουν κοινά χαρακτηριστικά με την επιμήκυνση), κατά την οποία κάθε νέο αμινοξύ προστίθεται στην αυξανόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα σύμφωνα με έναν κύκλο αντιδράσεων αποτελούμενο από τέσσερα κύρια βήματα που επαναλαμβάνονται: πρόσδεση του νεοεισερχόμενου στο ριβόσωμα αμινοακύλο-tRNA, σχηματισμός του πεπτιδικού δεσμού, μετατόπισης της μεγάλης και της μικρής υπομονάδας. Παρατηρήστε στην 5<sup>η</sup> διαφάνεια τα σχηματικά στιγμιότυπα, και διατάξτε μέσω αρίθμησης τις ακόλουθες προτάσεις σε μια αντίστοιχη χρονική αλληλουχία:

<i>Βήμα Νο ...</i>	<i>Ριβοσωματική δραστηριότητα</i>
...	<i>Σχηματισμός νέου πεπτιδικού δεσμού:</i> η επιμηκυνόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα απελευθερώνεται από το tRNA που βρίσκεται στη θέση <b>P</b> , και ενώνεται (μέσω του καρβοξυλικού άκρου της) με την ελεύθερη αμινική ομάδα του αμινοξέος που βρίσκεται φορτωμένο στο tRNA της θέσης <b>A</b> . Εδώ εκδηλώνεται η ενεργότητα της μεγάλης υπομονάδας ως <i>πεπτιδυλοτρανσφεράσης</i> .
...	<i>Επανάταξη του ριβόσωματος:</i> Η μικρή υπομονάδα μετατοπίζεται έτσι ώστε το mRNA να μετακομιστεί κατά 3 ριβονουκλεοτίδια εντός του ριβοσώματος, και να εκτεθεί ξανά η θέση <b>A</b> , εντελώς άδεια, προκειμένου να προσδεθεί σε αυτήν το επόμενο μόριο αμινοακύλο-tRNA.
...	<i>Άφιξη και είσοδος νέου «προσαρμοστή»:</i> ένα μόριο αμινοακύλο-tRNA που φέρει το επόμενο στην ακολουθία αμινοξύ της πολυπεπτιδικής αλυσίδας, συνδέεται στην κενή θέση <b>A</b> σχηματίζοντας ζεύγη βάσεων μέσω του αντικωδικονίου του με το κωδικόνιο του mRNA που βρίσκεται εκεί· έτσι, οι θέσεις <b>A</b> και <b>P</b> καταλαμβάνονται από παρακείμενα μόρια tRNA. Συγχρόνως, από τη θέση <b>E</b> αποχωρεί ένα μόριο tRNA που ήδη νωρίτερα «ξεφόρτωσε» το αμινοξύ του στην πολυπεπτιδική αλυσίδα.
...	<i>Μετατόπιση της μεγάλης υπομονάδας:</i> ουσιαστικά η μεγάλη υπομονάδα «κυλάει» πάνω στην αλυσίδα του mRNA, την οποία συγκρατεί η μικρή υπομονάδα, και έτσι τα δύο ήδη προσδεμένα μόρια tRNA μετακομίζονται στις θέσεις <b>E</b> και <b>P</b> της μεγάλης υπομονάδας, ενώ παραμένουν αντίστοιχα στις θέσεις <b>P</b> και <b>A</b> της μικρής υπομονάδας.

Αλήθεια, σκεφτήκατε τι θα συνέβαινε εάν κατά την επιμήκυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας εισερχόταν λανθασμένο αμινοξύ; Στο ριβόσωμα, λοιπόν, αποτρέπονται τέτοιου τύπου σφάλματα, και κάθε μόριο mRNA μεταφράζεται με ακρίβεια 99,99%. Αυτό επιτυγχάνεται με τη μεσολάβηση ειδικών πρωτεϊνών που καλούνται παράγοντες επιμήκυνσης (**e**longation **f**actors, EF). Παρακολουθήστε προσεκτικά το ακόλουθο βίντεο <http://www.youtube.com/watch?v=1PSwhTGFmxs>, συμβουλευτείτε επίσης το περιεχόμενο της 6<sup>ης</sup> κατά σειρά διαφάνειας, και δώστε μια απάντηση στα ακόλουθα:

1. Ποιος ο ρόλος του βακτηριακού παράγοντα **EF-Tu** (αντίστοιχα του **EF1** στα ευκαρυωτικά συστήματα) κατά τον βασικό κύκλο της μεταφραστικής επιμήκυνσης;

.....  
 .....  
 .....

2. Σε ποιο βήμα της μεταφραστικής επιμήκυνσης είναι καθοριστική η συμμετοχή του βακτηριακού παράγοντα **EF-G** (ή αντίστοιχα του ευκαρυωτικού **EF2**);

.....  
 .....

**Ολοκλήρωση πρώτης (1<sup>ης</sup>) διδακτικής ώρας**

**Δεύτερη (2<sup>η</sup>) διδακτική ώρα**

**Έναρξη: το σωστό πλαίσιο ανάγνωσης.** Η περιοχή του mRNA από την οποία το ριβόσωμα ξεκινά τον πολυμερισμό των αμινοξέων είναι ιδιαίτερα σημαντική, αφού από εκεί ορίζεται το λεγόμενο *πλαίσιο ανάγνωσης*, δηλαδή το πώς θα διαβαστεί η αλληλουχία των αζωτούχων βάσεων καθ'όλο το μήκος του μοριακού μηνύματος. Επίσης, η φάση της έναρξης αντιπροσωπεύει για τα περισσότερα γονίδια το τελευταίο σημείο όπου το κύτταρο δύναται να λάβει την απόφαση να μεταφράσει, ή να μην μεταφράσει, κάποιο δεδομένο μόριο mRNA, και να συνθέσει, ή να αποφύγει να συνθέσει, την κωδικευόμενη πρωτεΐνη. Ως εκ τούτου, η ταχύτητα με την οποία συμβαίνει η έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης καθορίζει τον ρυθμό με τον οποίο συντίθεται κάποια πρωτεΐνη. Έτσι, τα κύτταρα διαθέτουν διάφορους μηχανισμούς ελέγχου μέσω των οποίων ρυθμίζουν την έναρξη της μετάφρασης.

Στην 8<sup>η</sup> κατά σειρά διαφάνεια αποδίδεται με απλά σχήματα η έναρξη της μετάφρασης στα προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά συστήματα. Συμπληρώστε τον ακόλουθο πίνακα στον οποίον επιχειρείται μια αδρομερής σύγκριση των δύο τύπων μεταφραστικής έναρξης:

	Έναρξη μετάφρασης στους <b>προκαρυώτες</b>	Έναρξη μετάφρασης στους <b>ευκαρυώτες</b>
Εισάγεται το πρώτο αμινοακύλο-tRNA ( <i>εναρκτήριο tRNA</i> ) στη θέση <b>P</b> του ριβοσώματος;		
Ποιο το 1 <sup>ο</sup> αμινοξύ στο νεοσυντιθέ-μενο πολυπεπίδιο:	<i>N</i> -φορμυλο-μεθειονίνη, fMet (στους περισσότερους προκαρυώτες) [η φορμυλο-ομάδα απομακρύνεται αργότερα]	Μεθειονίνη, Met (σε όλους τους ευκαρυώτες)
Ποιο το κωδικόνιο έναρξης; (από αυτό κατοχυρώνεται το ορθό πλαίσιο ανάγνωσης· επίσης, ορίζει το 1 <sup>ο</sup> αμινοξύ)		
Πώς επιλέγεται το κωδικόνιο έναρξης μέσα από τα υπόλοιπα τα ταυτόσημα ως προς την αλληλουχία κωδικόνια στο 5'αμετάφραστο άκρο ενός μορίου mRNA;		
Συμμετέχουν παράγοντες έναρξης της μετάφρασης (initiation factors, IF);	Ναι	Ναι

Απαιτείται ενέργεια;		
Από ποιους συγκροτείται το σύμπλοκο έναρξης;		

**Λήξη: η τελική φάση της πρωτεϊνσύνθεσης.** Το μεταφερόμενο από το mRNA μήνυμα για την κωδίκευση ενός πρωτεϊνικού μορίου σηματοδοτεί το τέλος του με την παρουσία ενός από τα επόμενα τρία κωδικόνια UGA, UAA και UAG, τα οποία δεν αναγνωρίζονται από κανένα tRNA και δεν αντιστοιχούν σε κανένα αμινοξύ· καλούνται *κωδικόνια λήξης*, επειδή μέσω αυτών ένα ενεργό ριβόσωμα είναι σε θέση να αντιληφθεί ότι έφτασε η στιγμή να ολοκληρώσει τον μεταφραστικό «περίπατό» του επί του mRNA. Με βάση το περιεχόμενο της 9<sup>ης</sup> διαφάνειας, διαπραγματευθείτε τις επόμενες ερωτήσεις:

1. Ποιος ο ρόλος του παράγοντα απελευθέρωσης, όταν προσδεθεί στη θέση A του ενεργού ριβοσώματος;

.....  
 .....  
 .....

2. Το 1<sup>ο</sup> εξόνιο κάποιου γονιδίου έχει την εξής αλληλουχία:

5' **ATGCAGAGGTCGCCTCTGGAAAAGGCCAGCGTTGTCTCCAAACTTTAA** 3'

Αν, στη νουκλεοτιδική θέση 11, η C αντικατασταθεί από την A, τότε:

α) Σημειώστε τι θα συμβεί στο mRNA.

.....  
 .....

β) Τι θα συμβεί κατά τη γνώμη σας στην κωδικευόμενη πρωτεΐνη;

.....  
 .....

**4. Ας συνοψίσουμε ορισμένες πληροφορίες από όσα παρουσιάστηκαν έως τώρα.**

(i) Συμπληρώστε τον ακόλουθο πίνακα:

*Έναρξη*

*Επιμήκυνση*

*Λήξη*

	<i>Έναρξη</i>	<i>Επιμήκυνση</i>	<i>Λήξη</i>
Απαραίτητ-η/-ες αλληλουχί-α/-ες του mRNA για τη ριβοσωματική δραστηριότητα:			
Αναγκαί-ο/-α μόριο/μόρια tRNA:			
Ειδικές πρωτεΐνες εκτός ριβοσώματος που συμμετέχουν ανά φάση:			
Οι ανάγκες σε ενέργεια καλύπτονται από:			

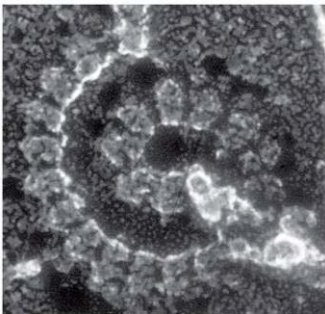
(ii) Σκέφτεστε να δημιουργήσετε ένα σύστημα τεχνητής μετάφρασης *in vitro*. Ποια απαραίτητα υλικά πρέπει να αναμείξετε στον δοκιμαστικό σωλήνα, ώστε να είστε σε θέση να παράγετε σταθερά την πολυόθητη πρωτεΐνη που ονειρεύεστε να μελετήσετε;

.....  
.....  
.....

(iii) Έχουμε ήδη αντιληφθεί ότι η βιοσύνθεση των πρωτεϊνών αποτελεί πολύπλοκη και δυναμική διαδικασία με πολυάριθμα βήματα, κατά τα οποία απαιτείται ενέργεια είτε για τις μετακινήσεις μορίων είτε για τον σχηματισμό νέων χημικών δεσμών. Για ποιο λόγο, πιστεύετε, είναι αναγκαία τόσα βήματα;

.....  
.....  
.....

## 5. Η μετάφραση παρεκτεταμένη: άλλες λεπτομέρειες.



100 nm

Πολυριβόσωμα ευκαρυωτικού κυττάρου σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Από Alberts *et al.* (2008).

**A.** Σε όλες τις περιγραφές που προηγήθηκαν, ασχοληθήκαμε με τη ενεργότητα ενός μεμονωμένου ριβοσώματος καθώς αυτό «κυλάει» πάνω σε ένα μόριο mRNA. Η πραγματικότητα διαφέρει κάπως: κάμποσα ριβοσώματα μπορούν να μεταφράζουν συγχρόνως την ίδια αλυσίδα mRNA. Αφότου ένα ριβόσωμα έχει διανύσει και αναγνώσει περίπου 25 κωδικόνια (~ 80 ριβονουκλεοτίδια) κατά μήκος μιας αλυσίδας mRNA, τότε το 5' άκρο του mRNA μπορεί να συμμετάσχει ξανά στον σχηματισμό ενός νέου συμπλόκου έναρξης.

Αποτέλεσμα αυτού είναι, σε ένα μεταφραζόμενο μόριο mRNA να απαντά κατά μήκος του ένας αριθμός ενεργών ριβοσωμάτων, διάσπαρτα σε ίσες περίπου αποστάσεις μεταξύ τους. Η συνάθροιση αυτή είναι γνωστή ως **πολυριβόσωμα** ή **πολύσωμα**, και μπορείτε να την παρακολουθήσετε στο ακόλουθο βίντεο:

<http://www.youtube.com/watch?v=bJmml5KLJO8&NR=1>

Καθώς τα «πολυσωματικά» ριβοσώματα προσεγγίζουν το 3' άκρο του μεταφραζόμενου mRNA, τι προβλέπετε για το μήκος των πολυπεπτιδικών αλυσίδων που συντίθενται από αυτά;

.....

Μέσω των πολυριβοσωμάτων ένα κύτταρο είναι σε θέση να παραγάγει πολύ περισσότερα μόρια μιας πρωτεΐνης σε μια δεδομένη χρονική στιγμή, από το να περιμένε να ολοκληρώσει πρώτα τη σύνθεση ενός μορίου και κατόπιν να ξεκινήσει την εκ νέου σύνθεση επόμενου (ίδιου) μορίου.

**B.** Είδαμε προηγούμενα ότι η ανάγνωση από ένα ριβόσωμα της αλληλουχίας των αζωτούχων βάσεων σε μια αλυσίδα mRNA προχωρεί με βήμα τριάδας (ή τριπλέτας, δηλ. τρεις βάσεις ανά βήμα)· κάθε τέτοια τριπλέτα καλείται **κωδικόνιο** και αντιστοιχεί αυστηρά σε ένα αμινοξύ (εξαιρούνται τα τρία κωδικόνια λήξης). Με άλλα λόγια, τα νουκλεοτίδια του mRNA– και κατ'επέκταση του DNA ενός γονιδίου από το οποίο μεταγράφεται το mRNA– θεωρούνται τα «γράμματα» ενός **κώδικα** τα οποία συνδυαζόμενα σχηματίζουν «λέξεις» που αντιπροσωπεύουν διαφορετικά αμινοξέα. Η αντιστοίχιση καθενός από τα 20 διαφορετικά αμινοξέα των πρωτεϊνών στις





του tRNA μπορεί να είναι τέτοια ώστε να απαιτεί ακριβές ζευγάρωμα βάσεων μόνο στις δύο πρώτες θέσεις του κωδικονίου, ενώ στην τρίτη θέση να ανέχεται ένα πιο παράταιρο ζευγάρωμα, γνωστό ως **αστάθεια** ή **ταλάντευση** (*wobble*) [βλέπε την 10<sup>η</sup> διαφάνεια]. Με αυτό το ασταθές ζευγάρωμα βάσεων εξηγείται γιατί τα συνώνυμα κωδικόνια ενός αμινοξέος διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το τρίτο νουκλεοτίδιό τους. Έτσι στα βακτήρια, 31 τύποι μορίων tRNA επαρκούν για να μεταφέρουν τα 20 αμινοξέα στο ριβοσωματικό εργοστάσιο, παρά τα 61 διαφορετικά κωδικόνια που απαντούν στα μόρια mRNA. Εντούτοις, ο ακριβής αριθμός των διαφορετικών διαθέσιμων μορίων tRNA διαφέρει από είδος σε είδος. Στους ανθρώπους, λόγου χάρη, τα υπεύθυνα για τα μόρια tRNA γονίδια είναι σχεδόν 500, και μεταξύ όλων αυτών απαντούν μόνο 48 διαφορετικά αντικωδικόνια.

Αφού συμβουλευτείτε τον διπλανό πίνακα με όλες τις επιτρεπτές αλληλεπιδράσεις ταλάντευσης (κανόνες αστάθειας), προσδιορίστε για την ακόλουθη αλληλουχία mRNA, πόσα κατ'ελάχιστον διαφορετικά μόρια tRNA πρέπει να διαθέτει ένα κύτταρο *Escherichia coli*, προκειμένου να την μεταφράσει με ή χωρίς ταλάντευση κωδικονίων-αντικωδικονίων:

5' **AUGCUAUACCUCCUUAUCUGUGA** 3'

.....  
 .....

#### Δ. Αντιβιοτικά εναντίον προκαρυωτικής μετάφρασης.

Πολλά από τα πιο δραστικά αντιβιοτικά στα οποία καταφεύγει η σύγχρονη ιατρική είναι φυσικής προέλευσης: πρόκειται για ενώσεις που συντίθενται κυρίως από μύκητες και αναστέλλουν τη βακτηριακή πρωτεϊνοσύνθεση. Η αποτελεσματική δράση αυτών απορρέει από και βασίζεται στο ότι επεμβαίνουν επιλεκτικά στη λειτουργία των βακτηριακών ριβοσωμάτων· ως εκ τούτου, ορισμένες από αυτές τις ενώσεις δεν επιφέρουν υπερβολική τοξικότητα σε όποιον άνθρωπο τις καταναλώσει σε σχετικά υψηλή δόση. Στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζονται ορισμένα από αυτά τα αντιβιοτικά, καθώς και ορισμένοι άλλοι αναστολείς της πρωτεϊνοσύνθεσης, των οποίων η δράση στοχεύει αδιακρίτως και τα ευκαρυωτικά κύτταρα, με συνέπεια η χρήση τους ως αντιβιοτικά να είναι απαγορευτική.

#### Αναστολείς της πρωτεϊνοσύνθεσης

##### ΑΝΑΣΤΟΛΕΑΣ

##### ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ

##### Αποκλειστικά αντιβακτηριακής δράσης

<i>Τετρακυκλίνη</i>	Παρεμποδίζει τη σύνδεση του αμινοακύλο-tRNA στη θέση A του ριβοσώματος.	
<i>Στρεπτομυκίνη</i>	Παρεμποδίζει τη μετάβαση από την έναρξη της μετάφρασης στην επιμήκυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.	
<i>Χλωραμφενικόλη</i>	Παρεμποδίζει την αντίδραση της πεπτιδυλοτρανσφεράσης (βήμα 2 στη διαφάνεια #4).	
<i>Ερυθρομυκίνη</i>	Προσδέεται στον δίαυλο εξόδου που χρησιμοποιεί η επιμηκυνόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα για να εξέλθει από το ριβόσωμα, και έτσι αναστέλλει την επιμήκυνση αυτής.	

##### Επιλεκτική δράση μόνο κατά των ευκαρυωτικών κυττάρων

<i>Κυκλοεξιμίδη</i>	Παρεμποδίζει την αντίδραση της ριβοσωματικής μετατόπισης (βήμα 3 στη διαφάνεια #4).	
<i>Ανισομυκίνη</i>	Παρεμποδίζει την αντίδραση της πεπτιδυλοτρανσφεράσης (βήμα 2 στη διαφάνεια #4).	
<i>Σπάρσομυκίνη</i>	Παρεμποδίζει την αντίδραση της πεπτιδυλοτρανσφεράσης (βήμα 2 στη διαφάνεια #4).	

**Αδιακρίτως δράση εναντίον βακτηρίων και ευκαρυωτικών κυττάρων**

<i>Πουρομυκίνη</i>	Προστίθεται στην επιμηκυνόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα μιμούμενο ένα αυθεντικό αμινοξύ, με συνέπεια την πρόωρη λήξη και την απελευθέρωση της αλυσίδας.	
<i>Αουριντρικαρβοξυλικό οξύ</i>	Παρεμποδίζει την αλληλεπίδραση κωδικονίου-αντικωδικονίου στις θέσεις <b>A</b> και <b>P</b> της μικρής ριβοσωματικής υπομονάδας.	
<i>Σπεκτινομυκίνη</i>	Παρεμποδίζει τη μετατόπιση του πεπτιδυλο-tRNA από τη θέση <b>A</b> στη θέση <b>P</b> .	

Σημειώστε στην 3<sup>η</sup> λευκή κενή στήλη του παραπάνω πίνακα, δίπλα σε κάθε καταχώριση αναστολέα, σε ποιο/ποια στάδιο/στάδια της πρωτεϊνοσύνθεσης εκδηλώνεται η δράση του. Χρησιμοποιήστε τους αριθμούς της ακόλουθης αντιστοιχίας,

- 1:** σχηματισμός συμπλόκου έναρξης, **2:** έναρξη της αλυσίδας,  
**3:** επιμήκυνση της αλυσίδας, **4:** τερματισμός της αλυσίδας.

**E. Virtual ribosome (= εικονικό ριβόσωμα): η μετάφραση *in silico* (= σε υπολογιστή)**

Ας επισκεφτούμε διαδικτυακά μια βάση γονιδιωματικών δεδομένων (στο Εθνικό Κέντρο Πληροφοριών σχετικών με τη Βιοτεχνολογία, το γνωστό NCBI, στην Ουάσινγκτον, Περιοχή Κολούμπια, Η.Π.Α.) προκειμένου να αναζητήσουμε πληροφορίες σχετικά με ένα γονίδιο· επιλέξαμε το γονίδιο (*INS*) της ανθρώπινης ινσουλίνης.

Πληκτρολογήστε στον φυλλομετρητή (browser) σας τον σύνδεσμο

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

και *πάνω δεξιά* στην ιστοσελίδα, κάτω από τον τίτλο Popular Resources, κάνετε κλικ στη λέξη-σύνδεσμο Gene. Ο φυλλομετρητής θα σας ανοίξει νέα ιστοσελίδα, όπου στη γραμμή αναζήτησης θα πληκτρολογήσετε το ακόλουθο:

**INS Homo sapiens**

Η αναζήτηση θα σας ανασύρει 124 καταχωρίσεις από τη βάση δεδομένων, και εμείς θα κάνουμε κλικ στην 1<sup>η</sup> στη λίστα εμφάνισης αυτών.

Θα μεταφερθούμε τότε σε μια νέα, πλούσια σε περιεχόμενο, ιστοσελίδα (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3630>) στην οποία μπορούμε να βρούμε άφθονες πληροφορίες σχετικά με το γονίδιο της ανθρώπινης ινσουλίνης. Περιηγηθείτε εκεί με scrolling, και αναζητήστε απαντήσεις στις ακόλουθες ερωτήσεις:

1. Σε ποιο χρωμόσωμα του ανθρώπου εδράζεται το γονίδιο *INS*; .....
2. Ποιοι άλλοι οργανισμοί (ζώα) διαθέτουν ομόλογα (παρεμφερή) του γονιδίου *INS*;

[☞ εντοπίστε σχετικές πληροφορίες κάτω από την επικεφαλίδα Homology]

.....

Στο κάτω μέρος της ιστοσελίδας αναζητήστε τον πίνακα Related Sequences, και εκεί κάνετε κλικ στην καταχώριση mRNA [AY899304.1](#). Θα ανοίξει τότε νέα σελίδα με τίτλο:

Homo sapiens proinsulin mRNA, complete cds, alternatively spliced

δηλαδή, εδώ μας παρουσιάζεται η πλήρης αλληλουχία βάσεων (ως αλληλουχία DNA σύμφωνα με το μεταγραφόμενο μόριο mRNA) που κωδικεύει την ανθρώπινη ινσουλίνη. Με βάση το περιεχόμενο της καταχώρισης:

3. Ποιο το μήκος σε νουκλεοτιδικά ζεύγη της κωδικής αλληλουχίας (cds); .....

4. Στην αλληλουχία που έχει καταχωριστεί εδώ, αναφέρεται ότι εμπεριέχεται τμήμα εσωνίου (intron). Σε ποιο μήκος εκτείνεται το μερικό αυτό εσώνιο; .....
5. ☞ Εντοπίστε μόνοι σας στην αλληλουχία των βάσεων ένα *κωδικόνιο έναρξης* (ATG). Κατά σύμβαση, κάθε γονιδιακή καταχώριση στις βάσεις δεδομένων αντιπροσωπεύει πάντα την κωδική (ή την θεωρούμενη ως κωδική) αλυσίδα του οποιοδήποτε γονιδίου, και δίδεται με προσανατολισμό 5'→ 3', με το 5' άκρο γραμμένο πάντα εξ ευωνύμων.  
☞ Επιλέξτε με το ποντίκι την αλληλουχία μας, και κατόπιν με δεξί κλικ *Αντιγραφή* αυτής.
6. Ανοίξτε επίσης στον φυλλομετρητή την ακόλουθη σελίδα:

<http://www.cbs.dtu.dk/services/VirtualRibosome/>

Εδώ, απλώς, θα «μεταφράσουμε» διαδικτυακά την αλληλουχία από τη βάση δεδομένων (την έχουμε αντιγράψει μόλις πριν). Επικολλήστε με δεξί κλικ στο λευκό ορθογώνιο της ιστοσελίδας (κάτω από το Paste in DNA sequences in FASTA, GenBank or TAB format) την αντιγραμμένη αλληλουχία. Στο τμήμα Options, κάτω από το Reading Frame (δηλ. Πλαίσιο Ανάγνωσης) επιλέξτε το Plus(1,2,3), και πατήστε Submit query. Ποιο από τα τρία (3) προτεινόμενα προϊόντα μετάφρασης που μας δίνει το **εικονικό ριβόσωμα**, πιστεύετε πως είναι αυτό που αντιστοιχεί στη γνήσια αλληλουχία της ινσουλίνης; Συμβουλευτείτε την ιστοσελίδα του NCBI για να το επιβεβαιώσετε.

.....

Μετά από όλα αυτά, πήραμε μια ελαφρά μόνο γεύση των δυνατοτήτων που παρέχει το διαδίκτυο σε έναν βιοεπιστήμονα –ανήσυχο όπως εσείς–, σε οποιοδήποτε σημείο του κόσμου και αν βρίσκεται, οποιαδήποτε χρονική στιγμή και αν το θελήσει. Στη δική μας εποχή, κανείς δεν θα «μετέφραζε», στο χαρτί και «με το χέρι», ένα τμήμα γενετικής πληροφορίας οσοδήποτε μήκους. Αφού σήμερα πλέον η κάθε μορφής πληροφορία (οφείλει να) κυκλοφορεί απλώς τάχιστα!