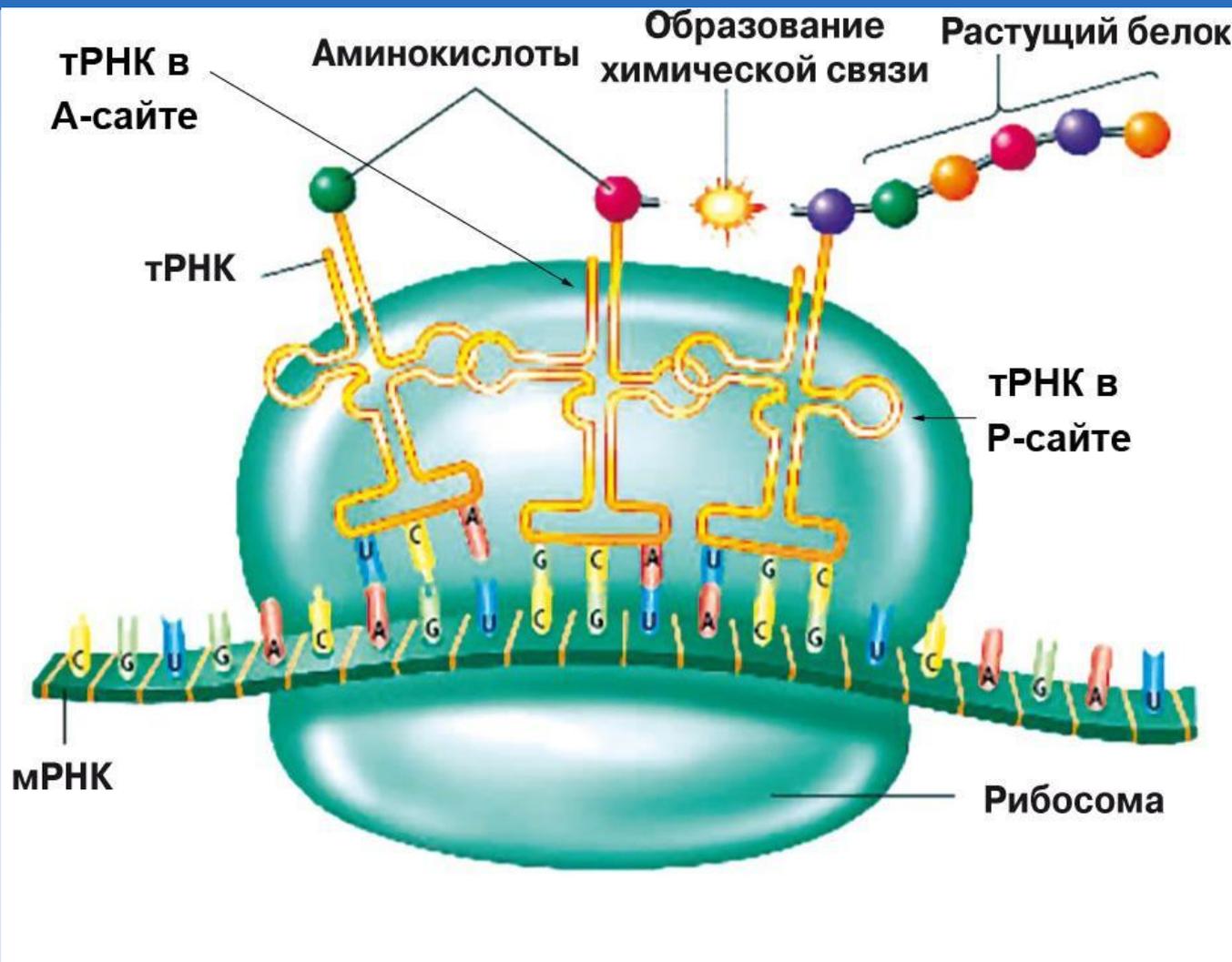


**ПРОИСХОЖДЕНИЕ РИБОСОМЫ,
БЕЛКОВОГО СИНТЕЗА И
ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОДА**

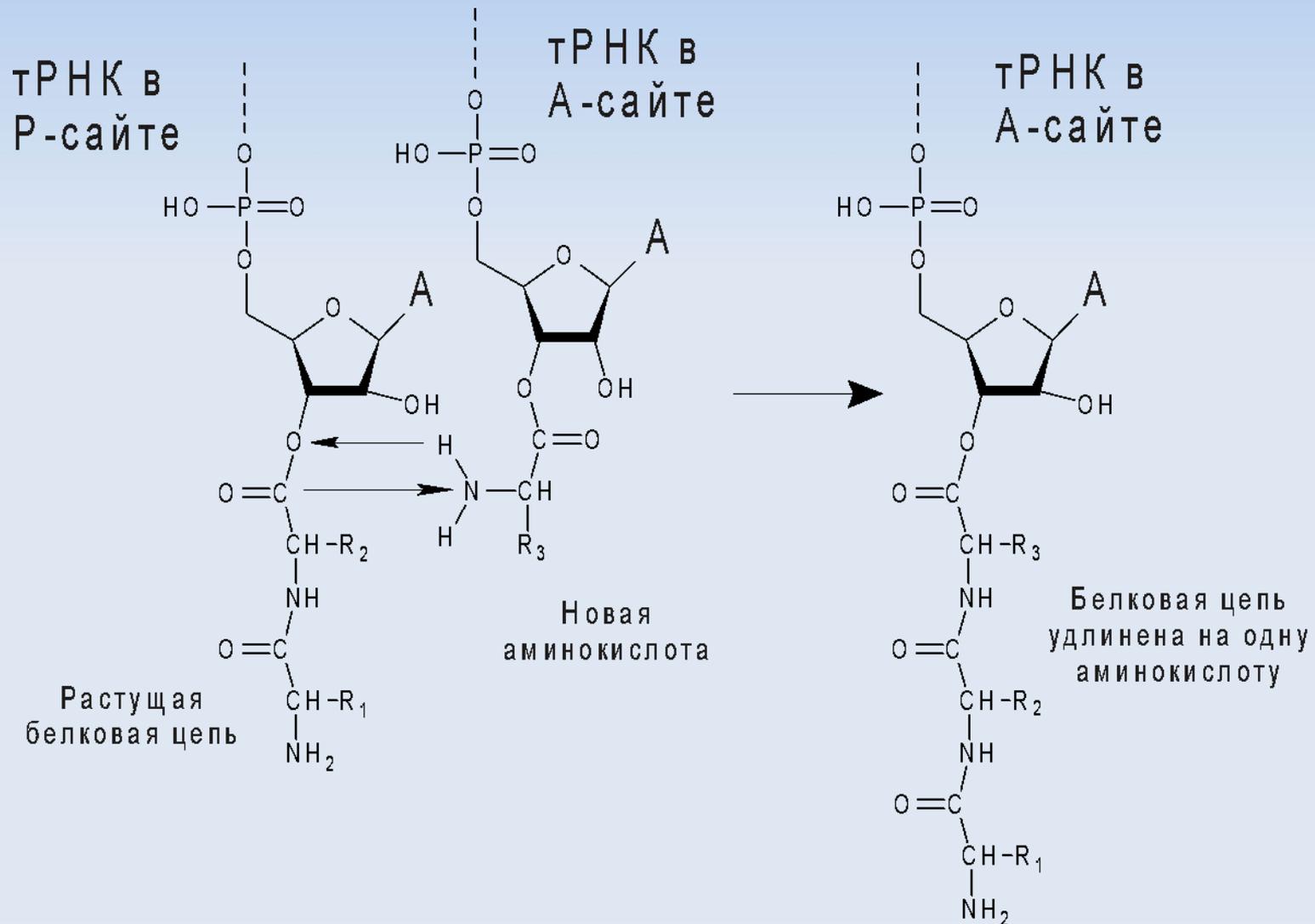
РИБОСОМА



- 3 рРНК, >4000 нуклеотидов
- Более 60 белков
- Более 40 тРНК
- 20 аминоацил-тРНК-синтетаз
- Другие вспомогательные белки — факторы инициации, элонгации и терминации

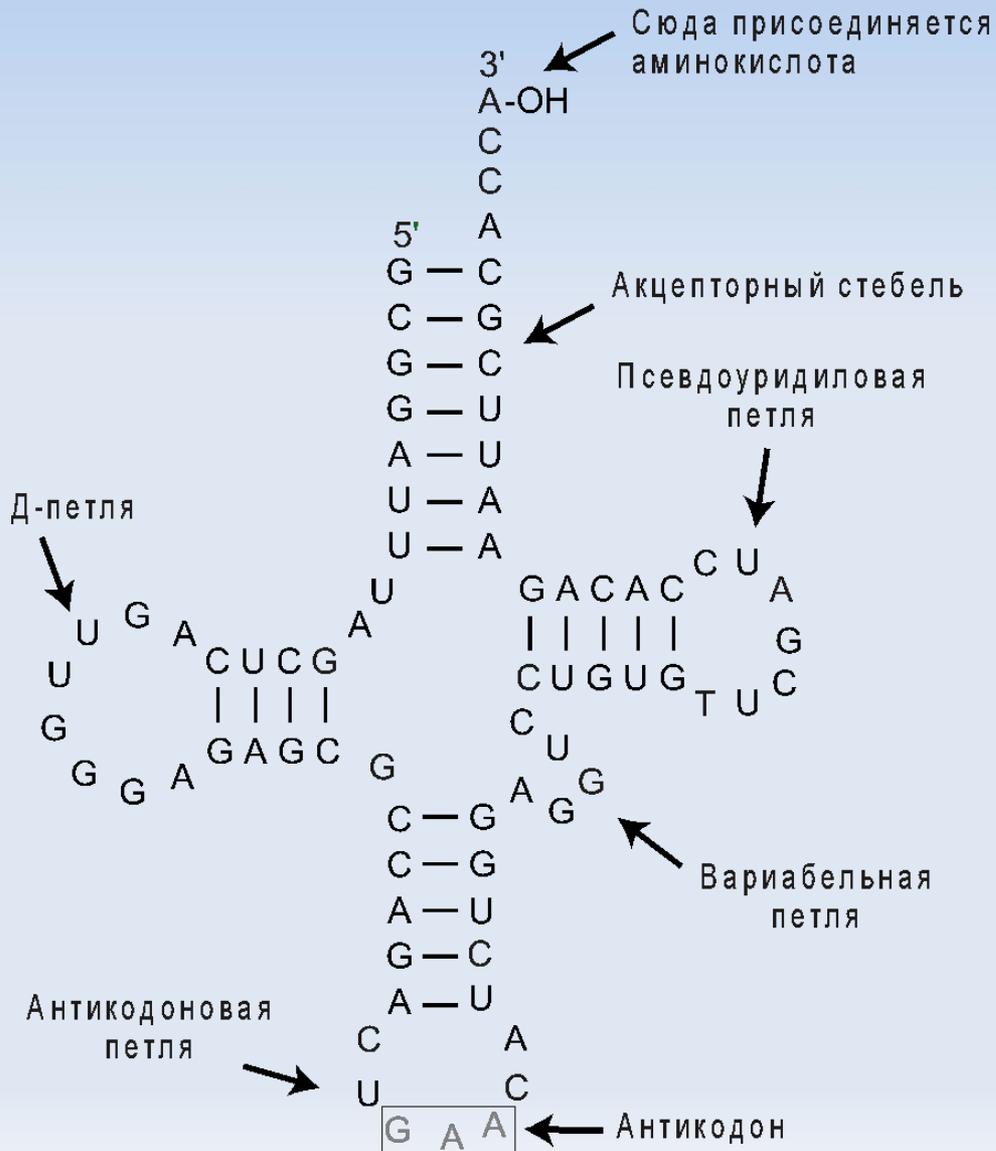
ПЕПТИДИЛ-ТРАНСФЕРАЗНАЯ РЕАКЦИЯ

Пептидная цепь переносится с тРНК на аминокетильную группу следующей аминокислоты



ТРАНСПОРТНЫЕ РНК СТАРШЕ БЕЛКОВОГО СИНТЕЗА

тРНК и похожие структуры участвуют в репликации РНК-геномов

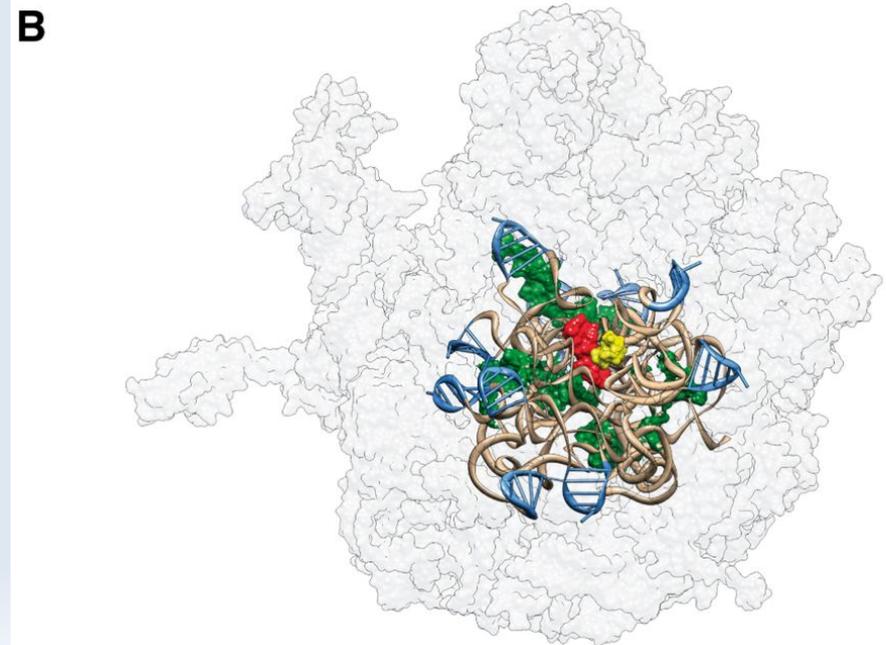
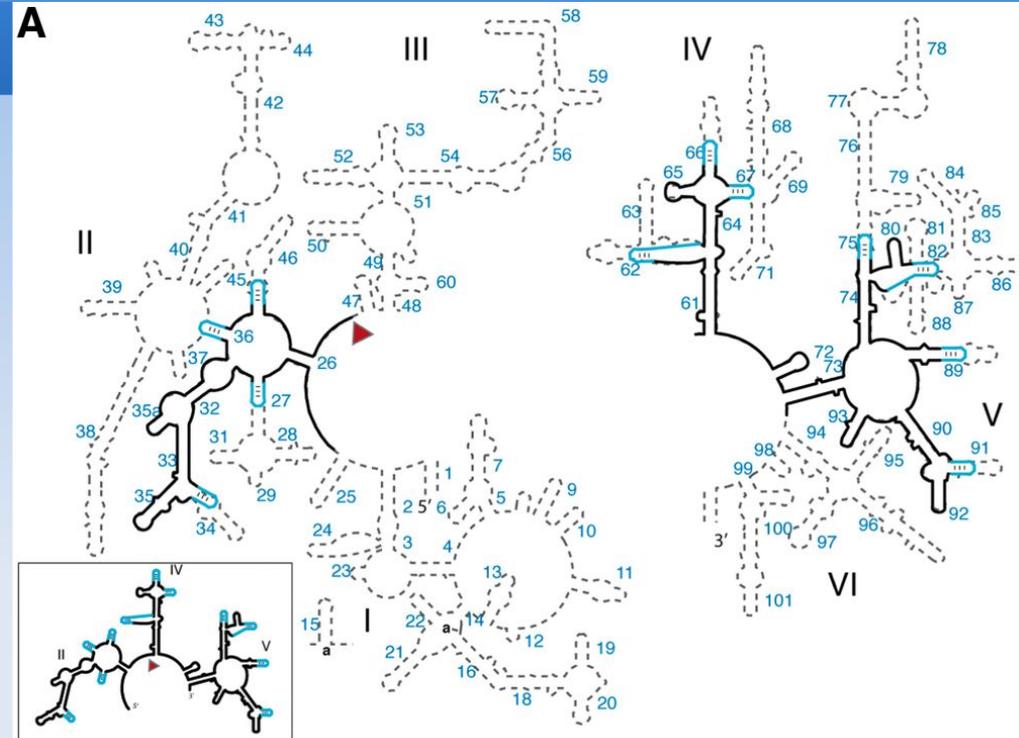


- С клеточной тРНК начинается репликация ретроплазмиды *Varkud* дрожжей
- тРНК-подобные структуры есть на концах вирусных РНК-геномов (вирус мозаики турнепса и другие)
- РНК-компонент теломеразы тоже сходен с тРНК и содержит ACC-мотивы

Присоединение аминокислот к тРНК-подобным концевым структурам могло расширять каталитические возможности рибозимов (аминокислоты были разновидностью витаминов)

ПРОТОРИБОСОМА

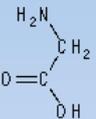
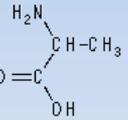
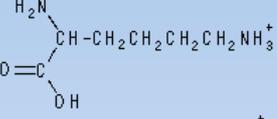
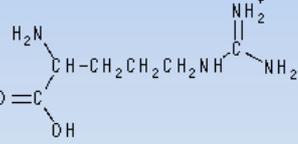
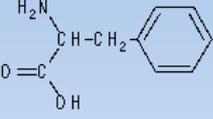
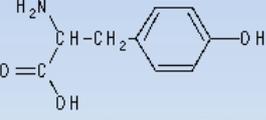
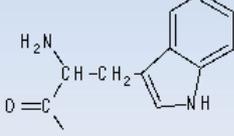
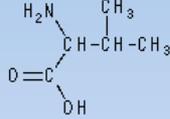
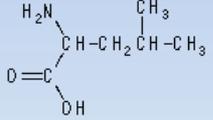
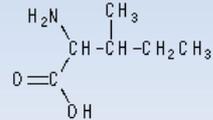
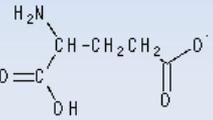
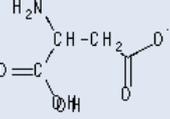
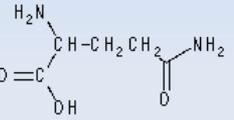
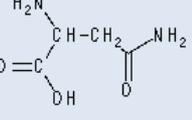
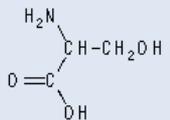
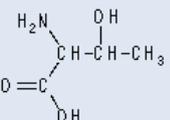
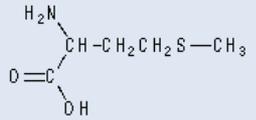
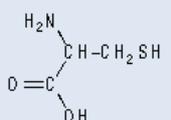
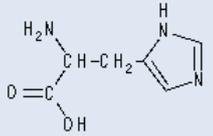
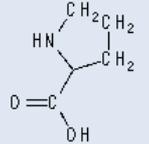
- Пептидил-трансферазный центр — древнейшая часть большой субъединицы
- Декодирующий центр — древнейшая часть малой субъединицы
- Контакты между субъединицами моложе, чем их центры → субъединицы исходно работали по отдельности
- РНК из частей V, II и IV доменов длиной 615 нк связывает тРНК и проводит пептидил-трансферазную реакцию



ФУНКЦИИ ПРОТОРИБОСОМЫ

- Пептидил-трансферазный центр не связан с матричной РНК
→ он не может контролировать последовательность пептида обычным способом.
- Что же он может делать?
- Гомополимерные пептиды — из 1 аминокислоты
- Случайные (статистические) пептиды из 2-4 аминокислот
- Периодические пептиды с правильным чередованием 2-3-аминокислот

СТАНДАРТНЫЙ НАБОР АМИНОКИСЛОТ

<p>Малые</p> <p> Глицин (Gly)</p> <p> Аланин (Ala)</p>	<p>С положительным зарядом</p> <p> Лизин (Lys)</p> <p> Аргинин (Arg)</p>	<p>Ароматические</p> <p> Фенилаланин (Phe)</p> <p> Тирозин (Tyr)</p> <p> Триптофан (Trp)</p>	<p>Разветвленные неполярные</p> <p> Валин (Val)</p> <p> Лейцин (Leu)</p> <p> Изолейцин (Ile)</p>
<p>С отрицательным зарядом</p> <p> Глутаминовая кислота (Glu)</p> <p> Аспарагиновая кислота (Asp)</p>	<p>Амидные</p> <p> Глутамин (Gln)</p> <p> Аспарагин (Asn)</p>	<p>Со спиртовой группой</p> <p> Серин (Ser)</p> <p> Треонин (Thr)</p>	<p>Серосодержащие</p> <p> Метионин (Met)</p> <p> Цистеин (Cys)</p>
<p>Прочие</p> <p> Гистидин (His)</p> <p> Пролин (Pro)</p>			

СОВРЕМЕННЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД

Современный код входит в 1/100 000 самых помехоустойчивых среди возможных но не самый – есть, куда улучшить

Первая буква кодона ↔ пути биосинтеза аминокислот

Вторая буква кодона ↔ гидрофобность аминокислот

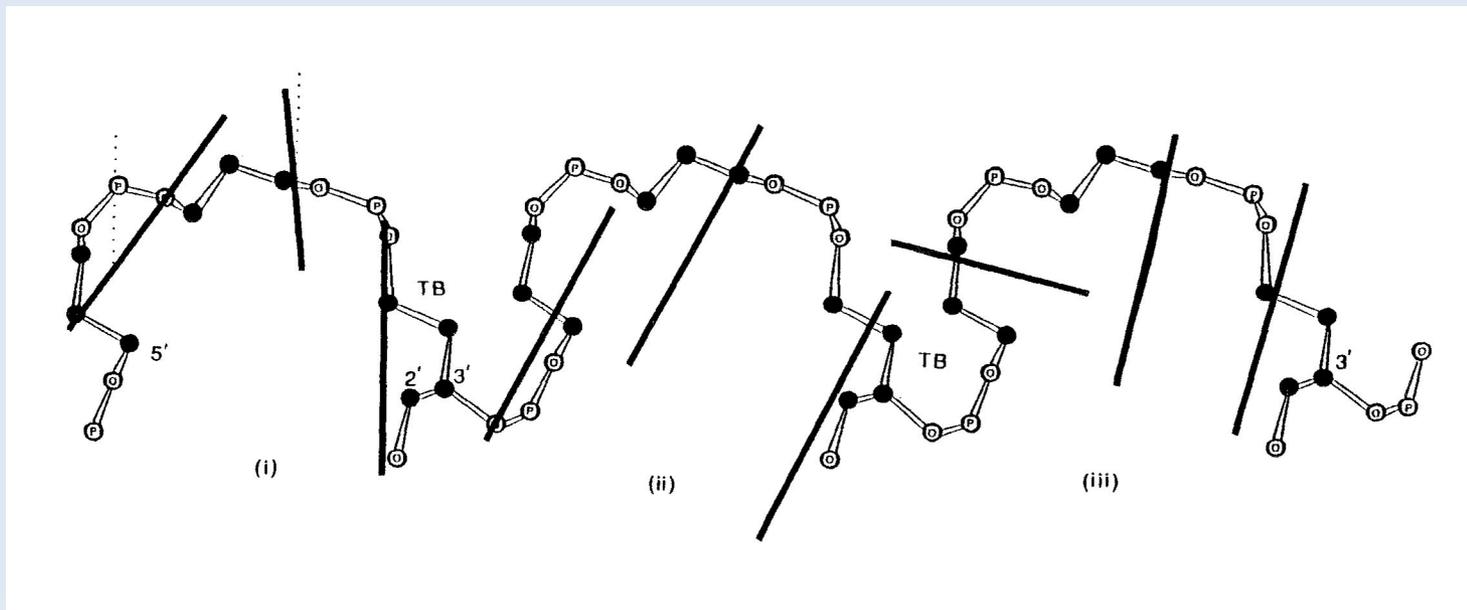
UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys
UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys
UUA Leu	UCA Ser	UAA ter	UGA ter/Sec
UUG Leu	UCG Ser	UAG ter/Pyl	UGG Trp
CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CCU Arg
CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg
CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg
CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg
AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser
AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser
AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg
AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg
GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly
GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly
GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly
GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly

ТЕОРИИ ПРОИСХОЖДЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОДА

- «Застывшая случайность»
- Оптимизация на помехоустойчивость (стандартный код входит в 1/100 000 самых помехоустойчивых среди возможных, но не самый – есть, куда улучшить)
- Стереохимическое соответствие аминокислот и кодонов («ключ-замок»)
- Козволюция кодонов и путей биосинтеза аминокислот

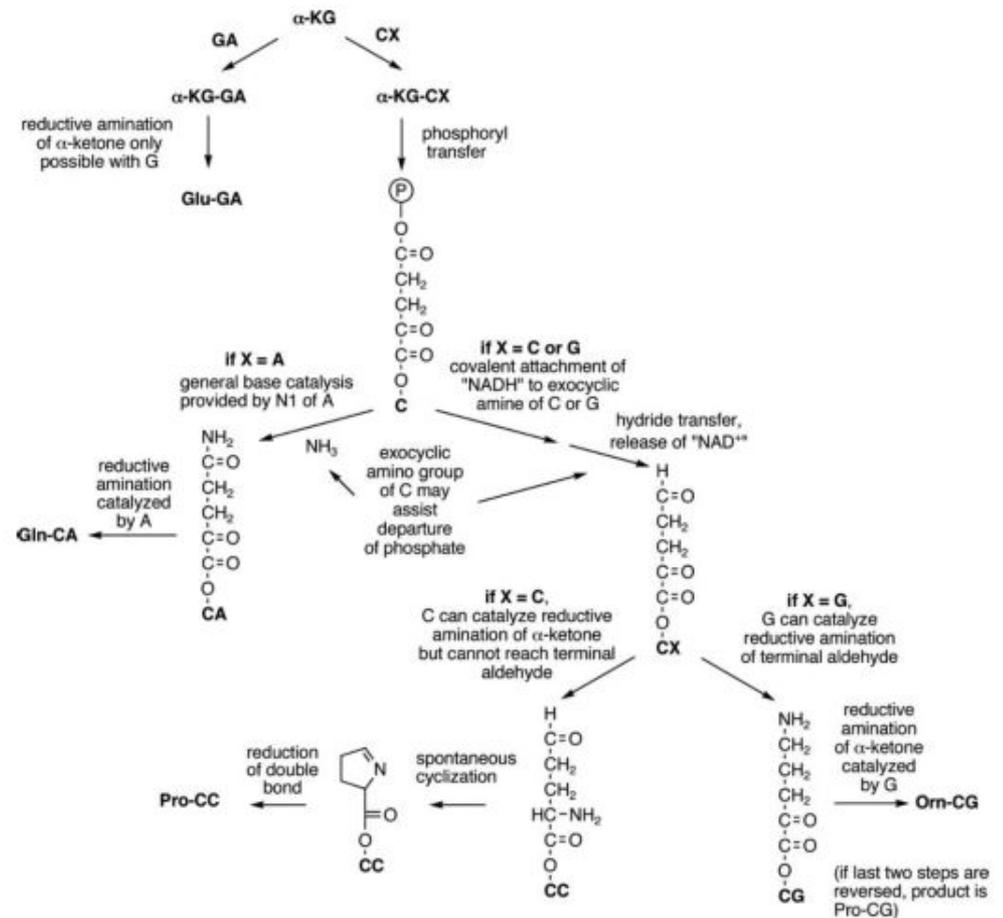
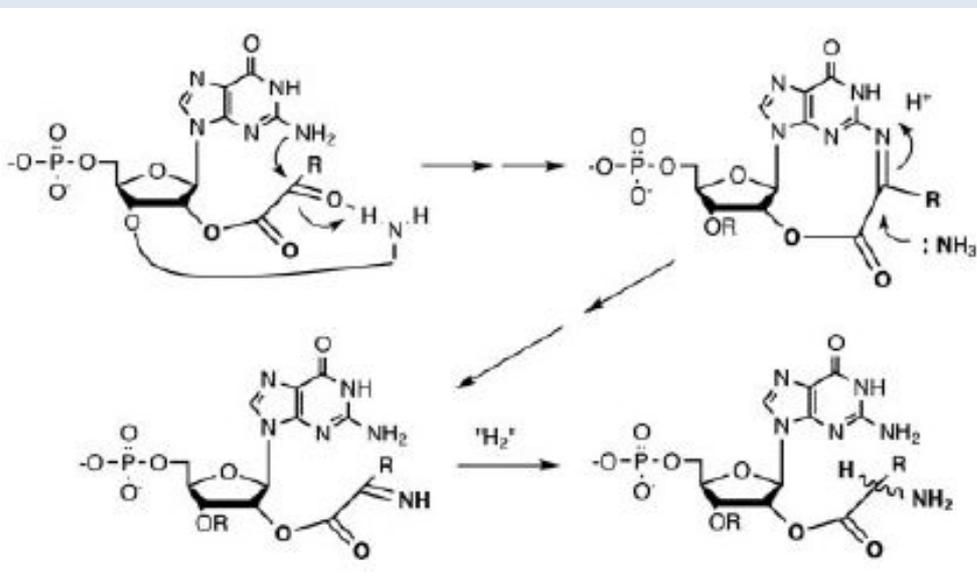
ПРОИСХОЖДЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОДА (ПО ТЕОРИИ СТЕРЕОХИМИЧЕСКОГО СООТВЕТСТВИЯ)

- РНК, адсорбированная на глине, располагается зигзагом
- Триплеты образуют впадины, соответствующие разным аминокислотам
- Впадины UAn и UGn слишком малы для любой аминокислоты → стоп-кодона
- Нет подходящих впадин для норвалина и других гидрофобных аминокислот с прямой цепью → поэтому их нет в белках, хотя они легко образуются абиогенно и есть в клетках



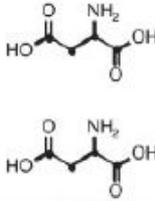
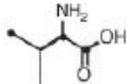
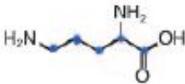
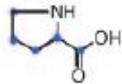
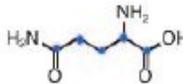
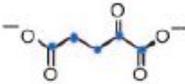
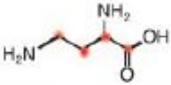
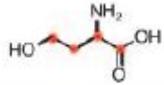
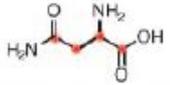
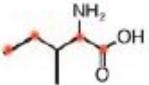
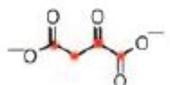
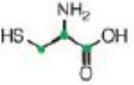
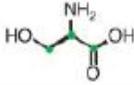
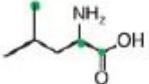
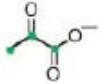
ДРЕВНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД (ПО ТЕОРИИ КОЭВОЛЮЦИИ)

- Синтез аминокислот шел в прикрепленном к РНК виде
- Первый нуклеотид катализировал аминирование (G) либо фосфорилирование концевой группы (A,C,U)
- Второй нуклеотид катализировал разные реакции с концевой группой



ДРЕВНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД (ПО ТЕОРИИ КОЭВОЛЮЦИИ)

- Древние варианты кода включали менее 20 аминокислот, третья буква кодона ни на что не влияла
- Кодон AGn кодировал ныне исчезнувшую аминокислоту

		first position	second position			
			G	C	A	U
	G		Gly	Ala	Asp/Glu	Val
			Gly	Ala	Asp/Glu	Val
						
α-ketoglutarate	C		Arg Orn	Pro Pro	Gln Gln	Leu ?
						?
						
oxaloacetate	A		Ser / Arg Dab	Thr Hsr	Asn Asn	Ile Ile
						
						
pyruvate	U		Cys Cys	Ser Ser	Tyr/stop ?	Leu Leu
					?	
						

НА САМОМ ДЕЛЕ СВЯЗЬ КОДОНОВ С ПУТЯМИ СИНТЕЗА НЕ ТАКАЯ ОЧЕВИДНАЯ

		Второй нуклеотид			
		U	C	A	G
Первый нуклеотид	U	Фенилаланин	Серин	Тирозин	Цистеин
		Лейцин		СТОП	СТОП
					Триптофан
	C	Лейцин	Пролин	Гистидин	Аргинин
				Глутамин	
	A	Изолейцин	Треонин	Аспарагин	Серин
		Метионин		Лизин	Аргинин
	G	Валин	Аланин	Аспарагиновая кислота Глутаминовая кислота	Глицин

Основные пути синтеза аминокислот:

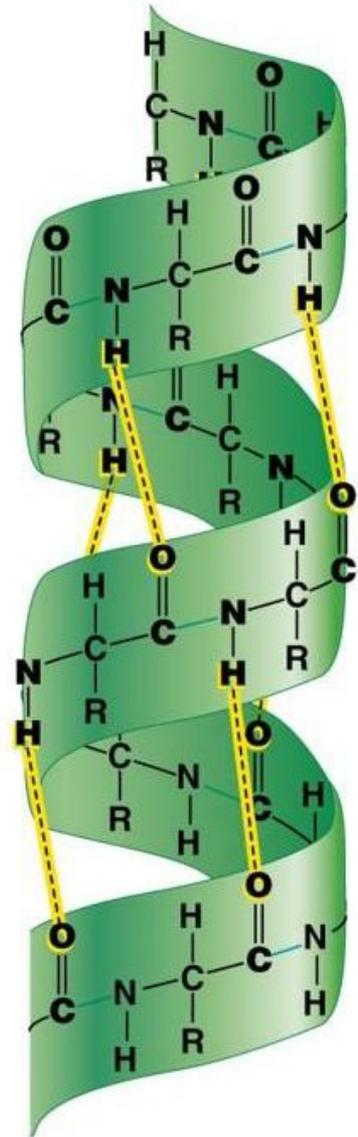
Прямое аминирование в одну стадию

Из пировиноградной кислоты

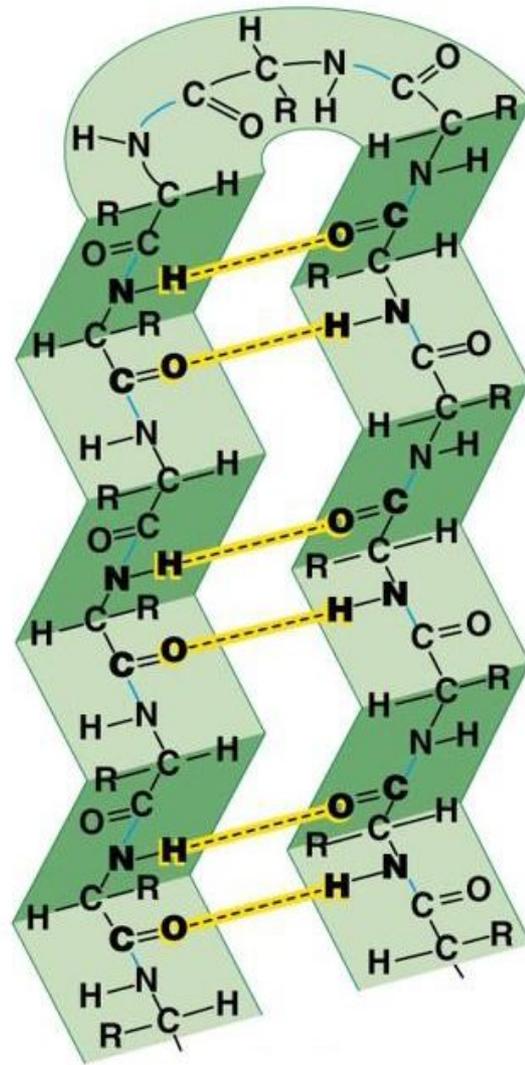
Из щавелевоуксусной кислоты

Из кетоглутаровой кислоты

ТРЕХМЕРНАЯ УКЛАДКА БЕЛКОВ



Альфа-спираль



Бета-слой

- Бета-слой создается чередованием полярных и неполярных АБАБАБ
- Альфа-спирали создаются из 7-аминокислотных повторов ААББАББ или АААБААБ
- Глицин и пролин не входят ни в альфа-спирали, ни в бета-слои и образуют повороты цепи
- Если белок может компактно свернуться, у него часто оказывается какая-нибудь ферментативная активность

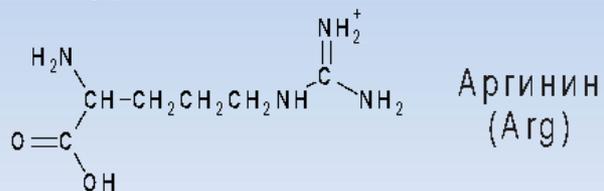
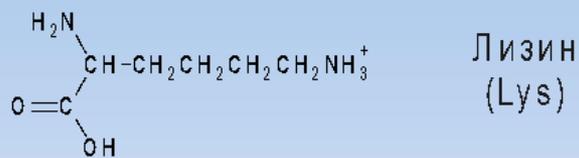
ИСТОРИЯ БЕЛКОВ ЗАПИСАНА В РИБОСОМЕ

Чем ближе рибосомный белок к пептидил-трансферазному центру — тем он древнее

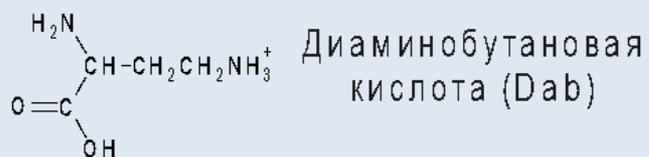
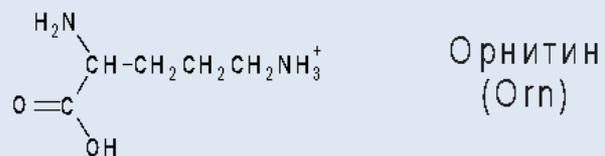
- Альфа-спирали есть лишь в поверхностных (молодых) рибосомных белках
- Более глубокие и древние белки уложены в бета-слои
- Самые древние домены рибосомных белков — выступающие «пальцы» L2, L3, L4, L22 — состоят из отдельных бета-шпилек и неструктурированных участков
- Аминокислотный состав древнейших рибосомных белков необычен. Они на 70% состоят из Gly, Pro, Arg, Lys, Ala.
- Полуслучайные пептиды из таких аминокислот уже могли повышать стабильность рибосомы и других больших рибозимов
- Lys и Arg имеют сложные пути биосинтеза, в древних пептидах их могли заменять орнитин, 1,3-диаминомасляная и 1,2-диаминопропионовая кислоты

ОБОЙДЕННЫЕ И ВЫМЕРШИЕ АМИНОКИСЛОТЫ

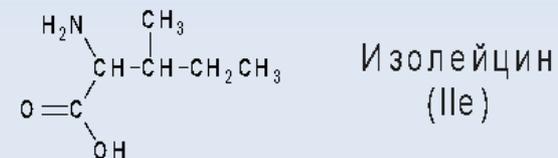
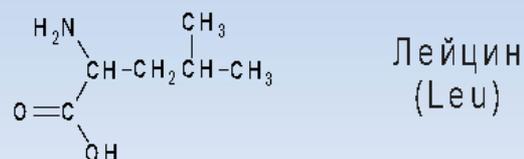
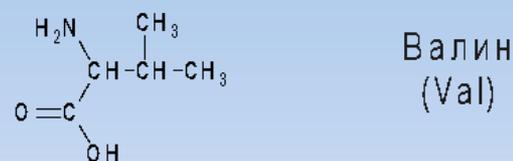
С положительным зарядом
(современные)



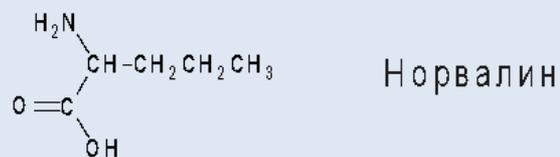
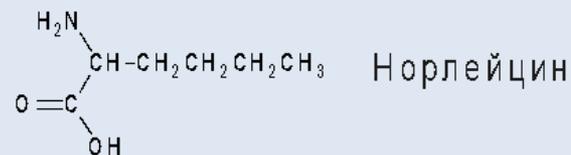
С положительным зарядом
(вымершие)



Разветвленные неполярные
(входят в состав белков)



Прямые неполярные
(никогда не были в составе белков)



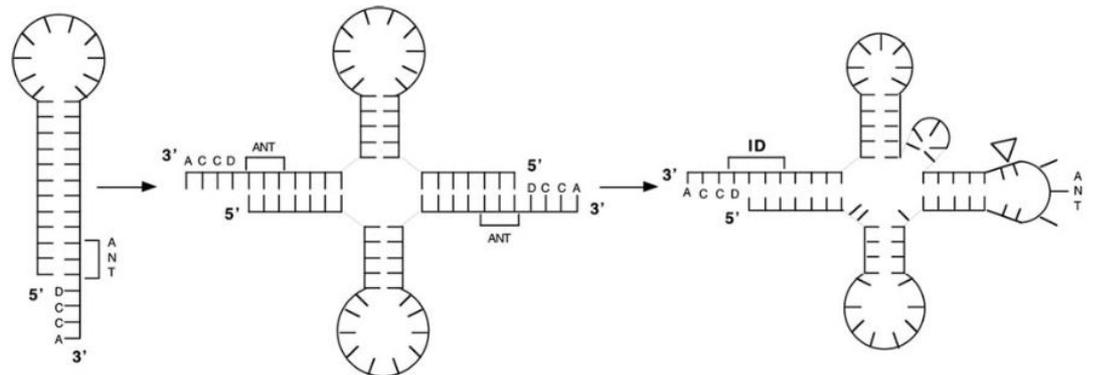
АМИНОАЦИЛ-тРНК-СИНТАЗЫ

- Отвечают за верное соединение АК с тРНК (рибосома эти ошибки не проверяет)
- Класс I и класс II с разной структурой
- Классы делят поровну аминокислоты (10-10) и кодоны (29-32)
- Гипотеза Родина-Оно: предки двух классов кодировались двумя цепями одного гена (выдвинута в 1995, подтверждена в 2014)
- Получены точные и эффективные рибозимы с такой же функцией

«РАБОЧИЙ КОД» ЗАПИСАН В АКЦЕПТОРНОМ СТЕБЛЕ тРНК

- Аминоацил-тРНК-синтазы узнают тРНК по акцепторному стеблю
- Генетический код обладает симметрией по тому, с какой стороны aa-тРНК-синтаза узнает тРНК
- Для пяти аминокислот (Gly, Ala, Pro, Asp, Val) триплет в акцепторном стебле совпадает с кодоном
- При образовании тРНК путем дубликации минишпильки антикодон становится копией спаренного участка акцепторного стебля

1	2						3
	U	C	A	G			
U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U		
U	UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	C		
U	UUA Leu	UCA Ser	UAA stop	UGA stop	A		
U	UUG Leu	UCG Ser	UAG stop	UGG Trp	G		
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U		
C	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C		
C	CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	A		
C	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	G		
A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U		
A	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	C		
A	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Ser/Gly	A		
A	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Ser/Gly	G		
G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U		
G	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	C		
G	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	A		
G	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	G		



ЭВОЛЮЦИЯ БЕЛКОВОГО СИНТЕЗА И ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОДА

- Проторибосома без малой субъединицы и без мРНК строила периодические пептиды из 6 аминокислот (Gly, Ala, Pro, Asp, Val и вымершая положительная заряженная аминокислота, например, орнитин)
- «рабочий код» использовался как для аминоацилирования древних 2-шпилечных тРНК, так и в рибосоме для правильного чередования пептидов
- Внутренняя дупликация тРНК превращает их в 4-шпилечные трилистники и создает антикодоновую петлю
- Взаимодействие антикодоновых петель с участками рибосомной РНК увеличило точность и воспроизводимость пептидов
- Появление сменных мРНК сделало рибосому универсальной машиной сборки любых белков. Появились белки, способные свернуться компактно без РНК. Первые белковые фолды из бета-слоев.
- Добавление Ser, His, Cys позволяет делать разные ферменты
- Добавление Glu, Leu, Arg, Lys позволило перейти к альфа-спиральным фолдам

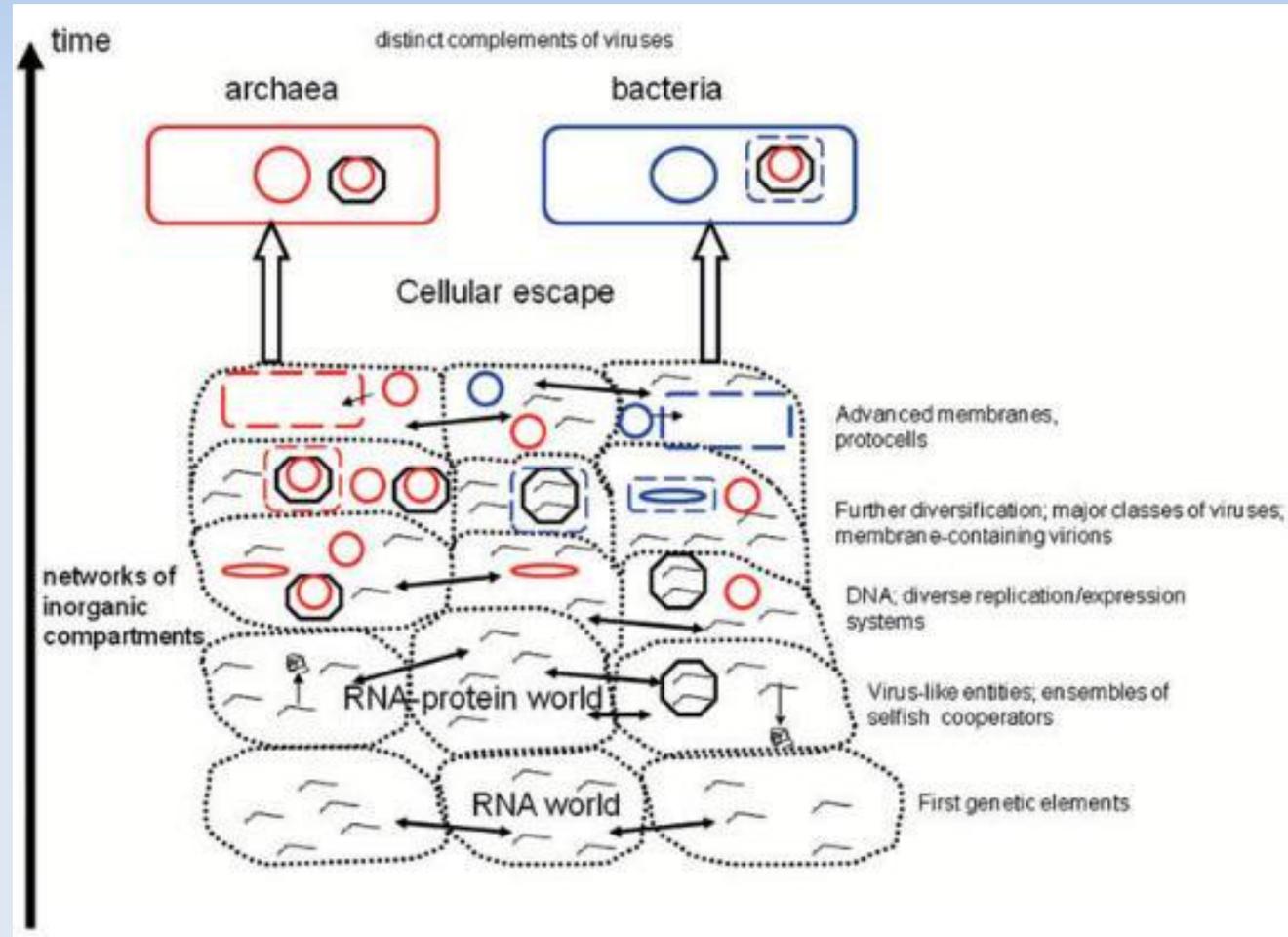
LUCA – ПОСЛЕДНИЙ ВСЕОБЩИЙ ПРЕДОК

(Last Universal Common Ancestor)

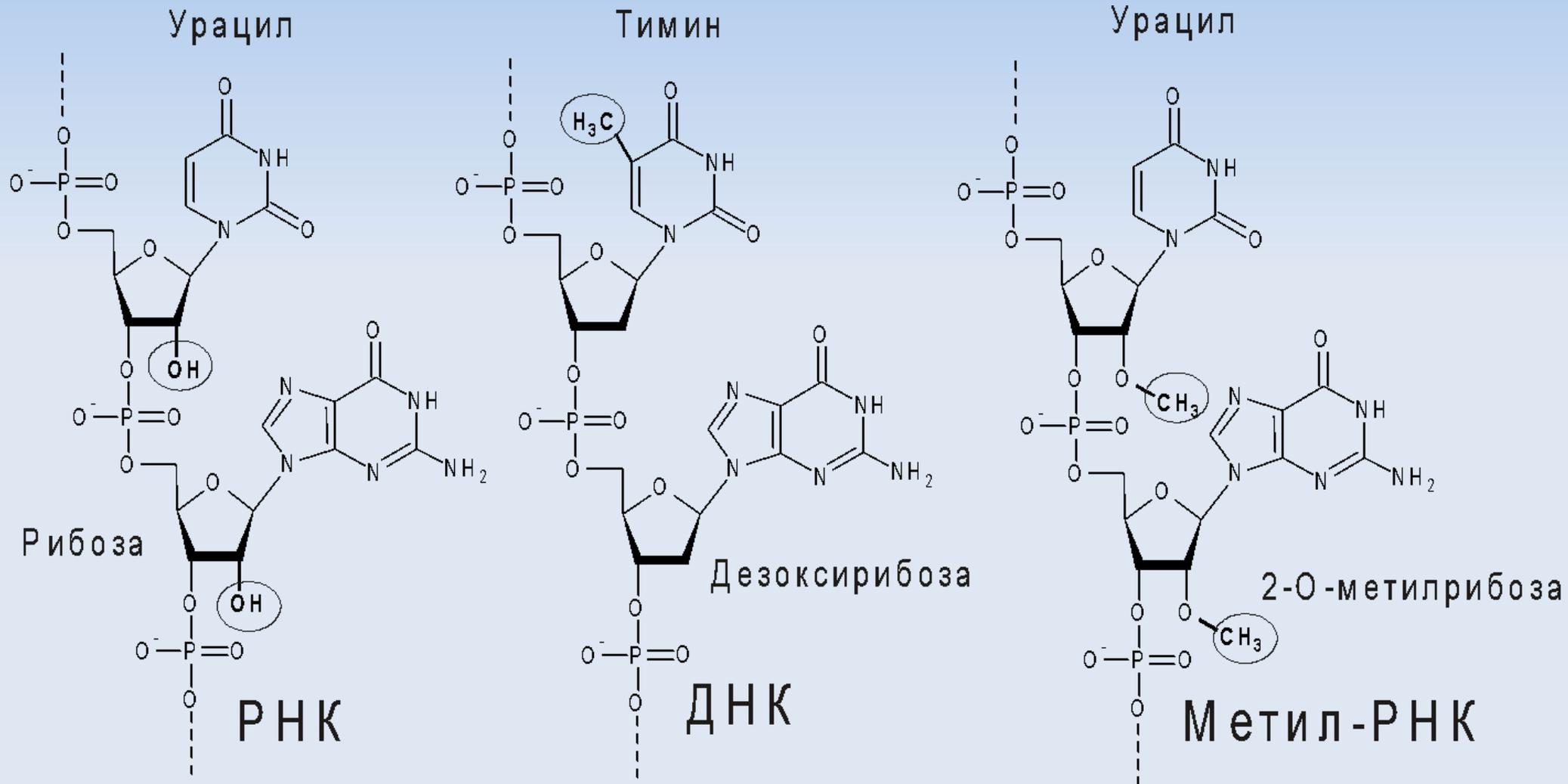
- От LUCA произошли бактерии и археи – сравнивая их, можно узнать устройство LUCA
- LUCA имел более 1300 белковых семейств – как сложные современные бактерии
- LUCA обладал множеством биохимических путей (синтезы, брожения и т.д.) – больше, чем любая современная бактерия
- Рибосомы и белковый синтез LUCA мало отличались от современных
- В геноме LUCA использовалась ДНК, но механизм репликации отличался от современных клеток
- РНК-полимеразы LUCA похожи на современные, но система их регуляции сильно отличалась
- LUCA имел липидные мембраны, сильно отличающиеся от современных, они пропускали ионы металлов

ВИРУСЫ СТАРШЕ, ЧЕМ LUCA

- Все основные группы вирусов имеют несколько общих белков, бесполезных для клеток
- Вирусы паразитировали еще на неклеточном LUCA
- Вирусы изобрели ДНК

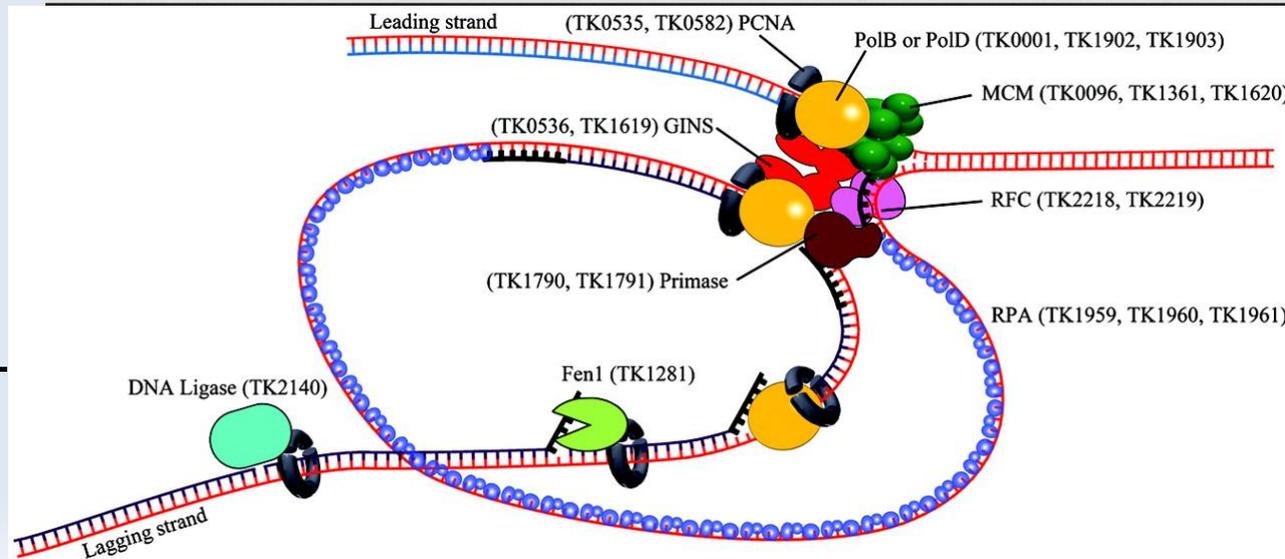
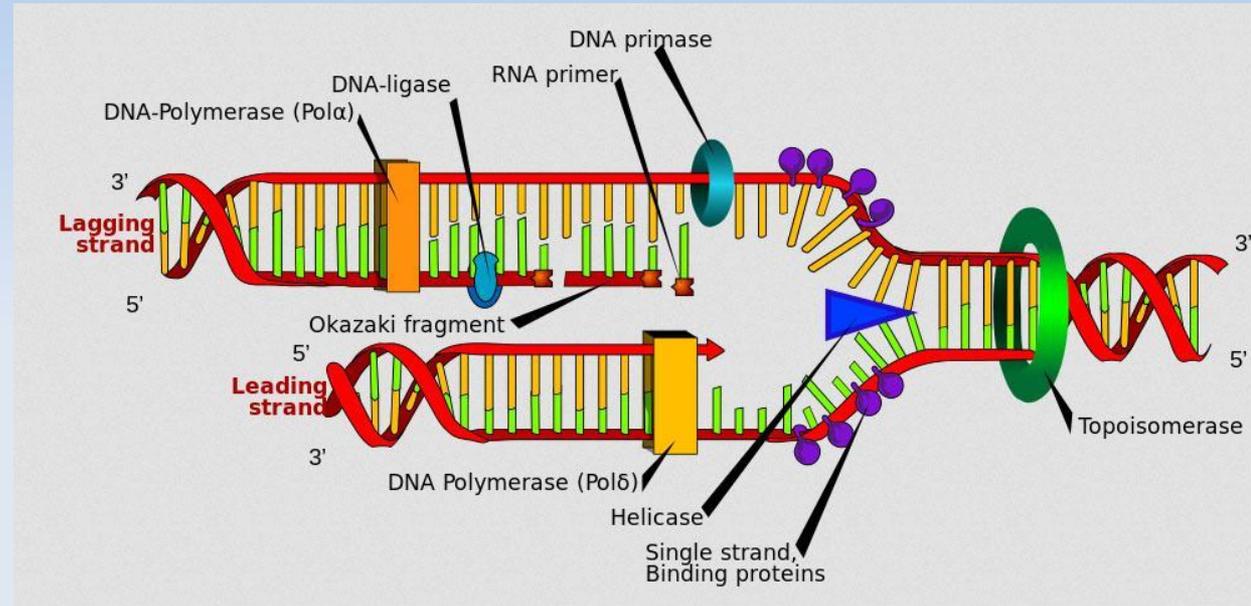


МАТЕРИАЛ ГЕНОМА: РНК, МЕТИЛ-РНК, ДНК



УСТРОЙСТВО РЕПЛИКАТИВНОЙ ВИЛКИ

- 2 ДНК-полимеразы синтезируют новые цепи – лидирующую и отстающую
- Топоизомераза раскручивает исходную 2-нитевую ДНК
- SSB-белки стабилизируют 1-нитевую ДНК
- Праймазы делают затравки для ДНК-полимераз
- Лигаза зашивают разрывы отстающей цепи
- Экзонуклеазы проверяют точность копирования за ДНК-полимеразами

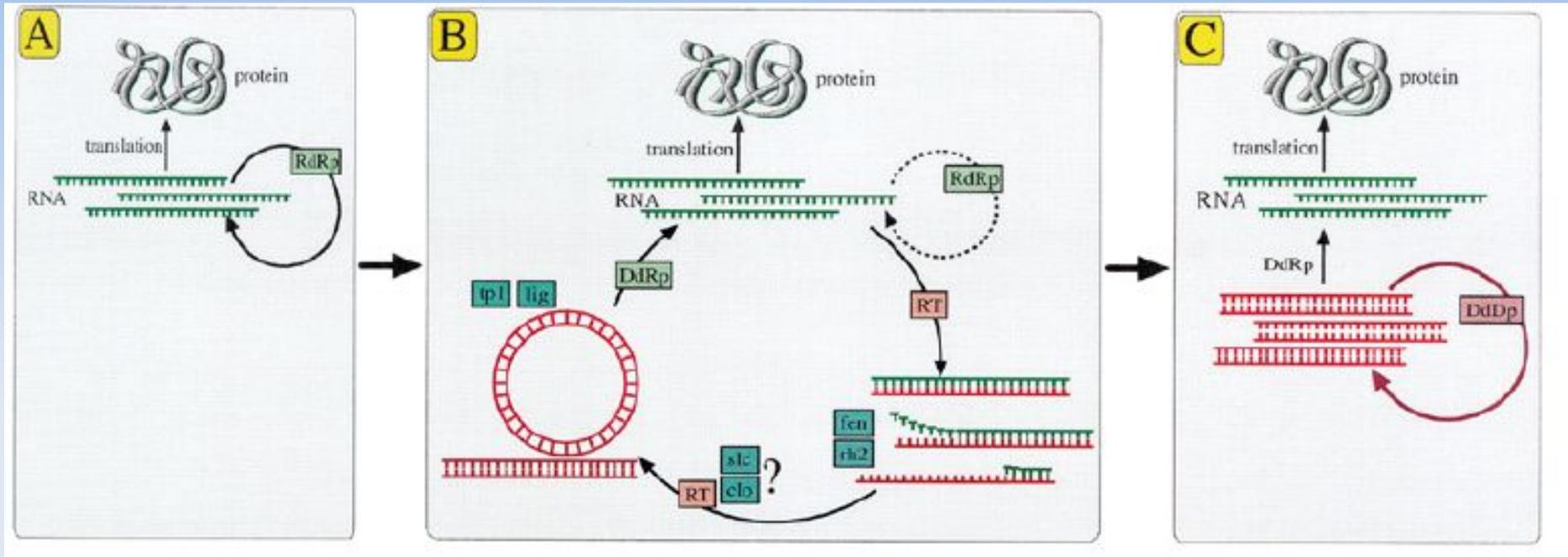


ГОМОЛОГИЯ ДЕТАЛЕЙ РЕПЛИКАТИВНОЙ ВИЛКИ БАКТЕРИЙ И АРХЕЙ

Компоненты	История
Главная ДНК-полимераза, копирующая ДНК по шаблону ДНК	Принципиально разные. У бактерий и архей этот фермент возник независимо
Праймаза	Разная у бактерий и архей, возникла независимо
Вспомогательные ДНК-полимеразы	Разные у бактерий и архей, возникли независимо
ДНК-хеликазы	Родственны, но произошли два раза от предковых белков с другими функциями
3'-5' проверочные экзонуклеазы	Родственны, но произошли два раза от предковой РНК-экзонуклеазы
SSB-белки	Родственны, но произошли два раза от предковых РНК-связывающих белков
РНКазы II	Родственна, возможно, унаследована от LUCA

ИСТОРИЯ РЕПЛИКАЦИИ ДНК

(Как она представлялась в 2000 году)



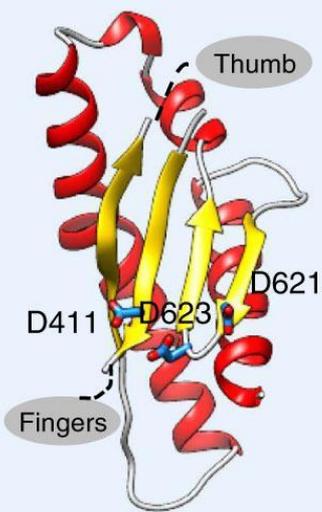
- У бактерий и архей общие вспомогательные детали репликативной вилки (топоизомераза, РНКаза III, Clamp, Clamp loader) и общие ферменты синтеза дезоксирибозы
- Центральные компоненты репликативной вилки бактерий и архей (ДНК-полимеразы, праймазы, лигазы) не родственны и произошли независимо от ферментов с другими функциями

Вывод: LUSA не имел 2-нитевых ДНК, а только 1-нитевые. Скорее всего, его геном состоял из ДНК-РНК-гетеродуплексов и копировался обратными транскриптазами

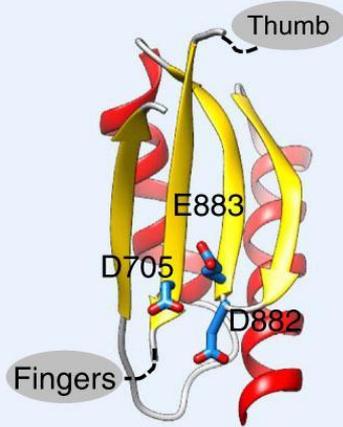
НОВЫЕ ДАННЫЕ ВСЕ ЗАПУТАЛИ

- Теперь известны 4 неродственных семейства ДНК-полимераз: PolA, PolB, PolC и PolD
- PolA — вспомогательная у всех бактерий и основная у одной группы вирусов
- PolB — основная у эукариот, многих архей и большинства вирусов
- PolC — основная у всех бактерий и только у них
- PolD — у многих архей, часто вместе с PolB, бывает основной и вспомогательной
- Только PolB (возможно, еще PolA) сходны с вирусными РНК-полимеразами и обратными транскриптазами по 3D-структуре
- PolC сходны с нематричными нуклеотидил-трансферазами
- Происхождение PolD совершенно неизвестно

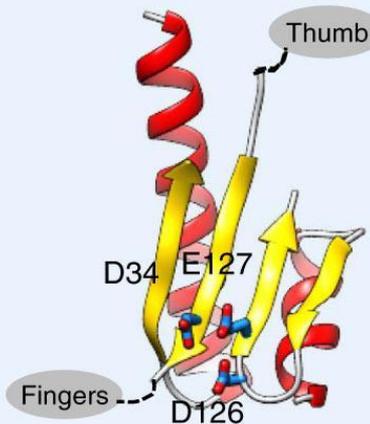
<http://qoo.by/1dD0>



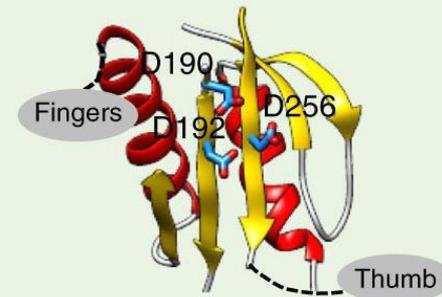
Phage RB69
(B-family DNAP)



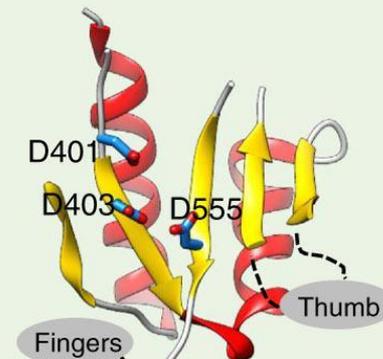
E. coli Pol I
(A-family DNAP)



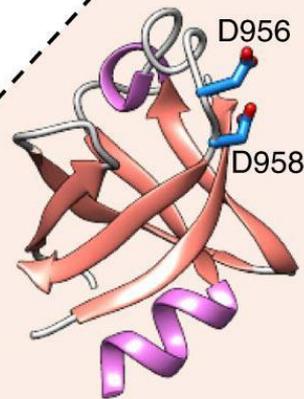
H. sapiens Pol ι
(Y-family DNAP)



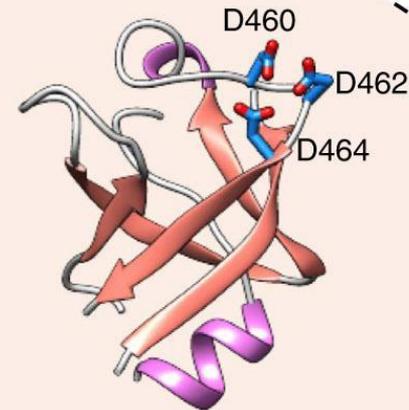
R. norvegicus Pol β
(X-family DNAP)



E. coli Pol III
(C-family DNAP)



P. abyssi Pol D
(D-family DNAP)



E. coli β' subunit
(RNAP)

Right-handed
Klenow-fold DNAP

Pol β -like DNAP

DNA-dependent
polymerases

« two-barrels »
DNAP and RNAP