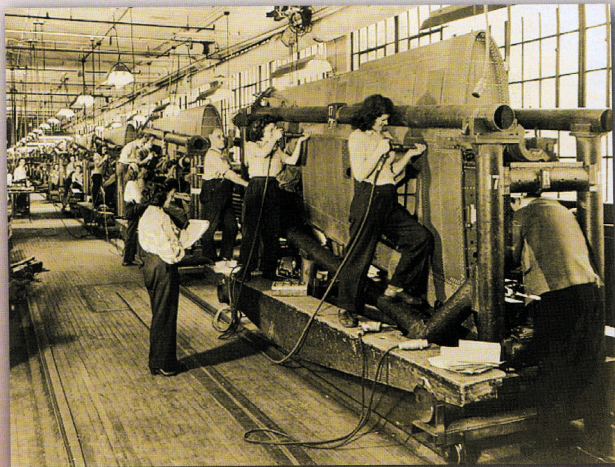


ΔΕΥΤΕΡΟ ΣΚΑΛΟΠΑΤΙ ΤΗΣ ΡΟΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΩΝ - ΣΥΝΘΕΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΔΕΥΤΕΡΟ ΣΚΑΛΟΠΑΤΙ ΤΗΣ ΡΟΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΩΝ - ΣΥΝΘΕΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ



"Όλα πρέπει να ειπωθούν όσο πιο απλά γίνεται, αλλά όχι απλούστερα."
Άλμπερτ Αϊνστάιν

6.1. **Πρωτεϊνοσύνθεση** – Ένας μηχανισμός αποκωδικοποίησης της γενετικής πληροφορίας

6.2. **Το προκαρυωτικό ριβόσωμα**

6.3. **Το ευκαρυωτικό ριβόσωμα**

6.4. **Ο μηχανισμός της σύνθεσης των πρωτεϊνών**

6.4.1. **Έναρξη**

6.4.1.1. Προκαρυωτικά κύτταρα

6.4.1.2. Ευκαρυωτικά κύτταρα

6.4.2. **Επιμήκυνση**

6.4.2.1. Μεταφορά του αμινο-ακυλο-tRNA

6.4.2.2. Πεπτιδυλο-μεταφορά ή Διαπεπτιδίωση

6.4.2.3. Μετατόπιση

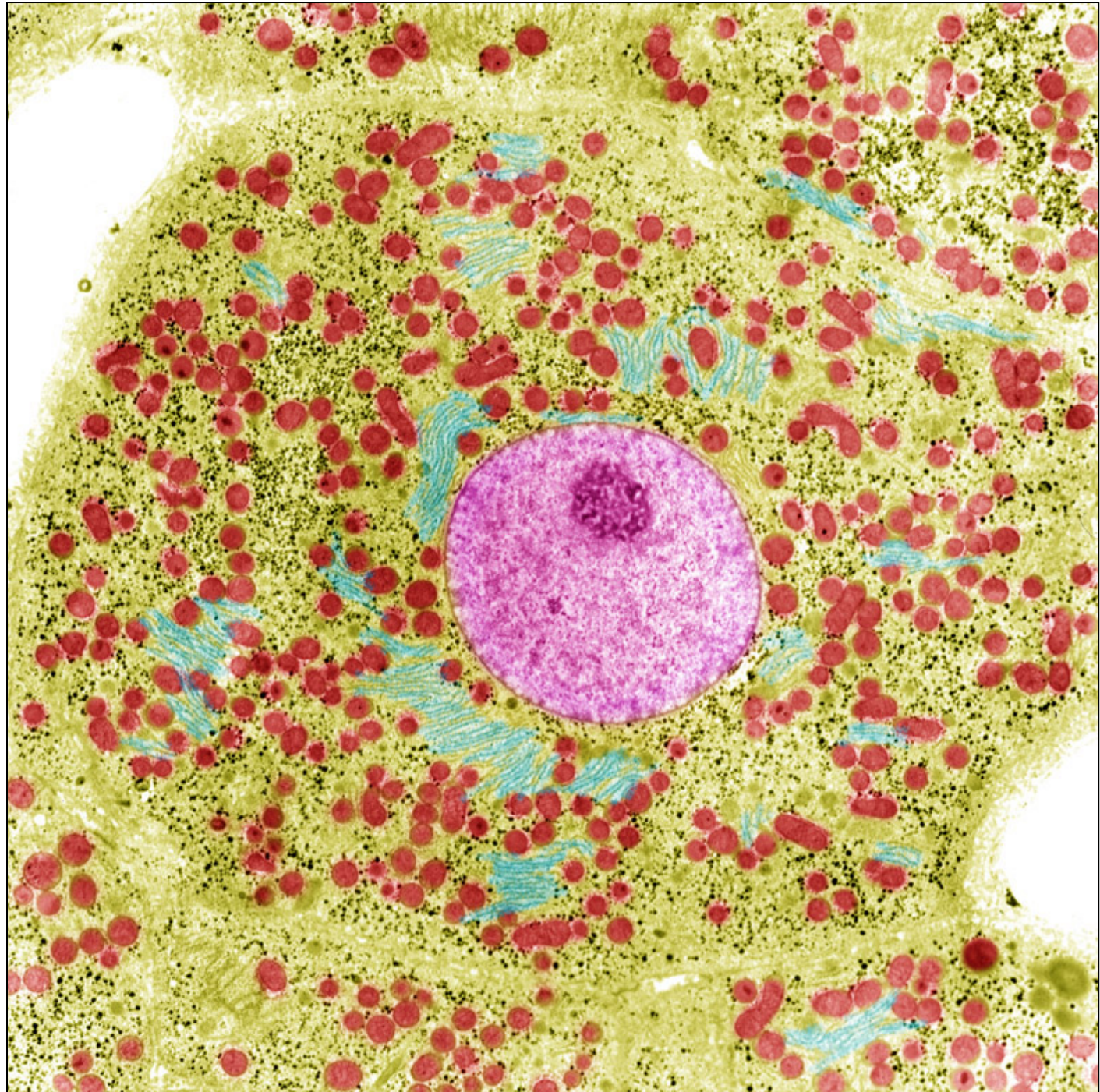
6.4.3. **Λήξη**

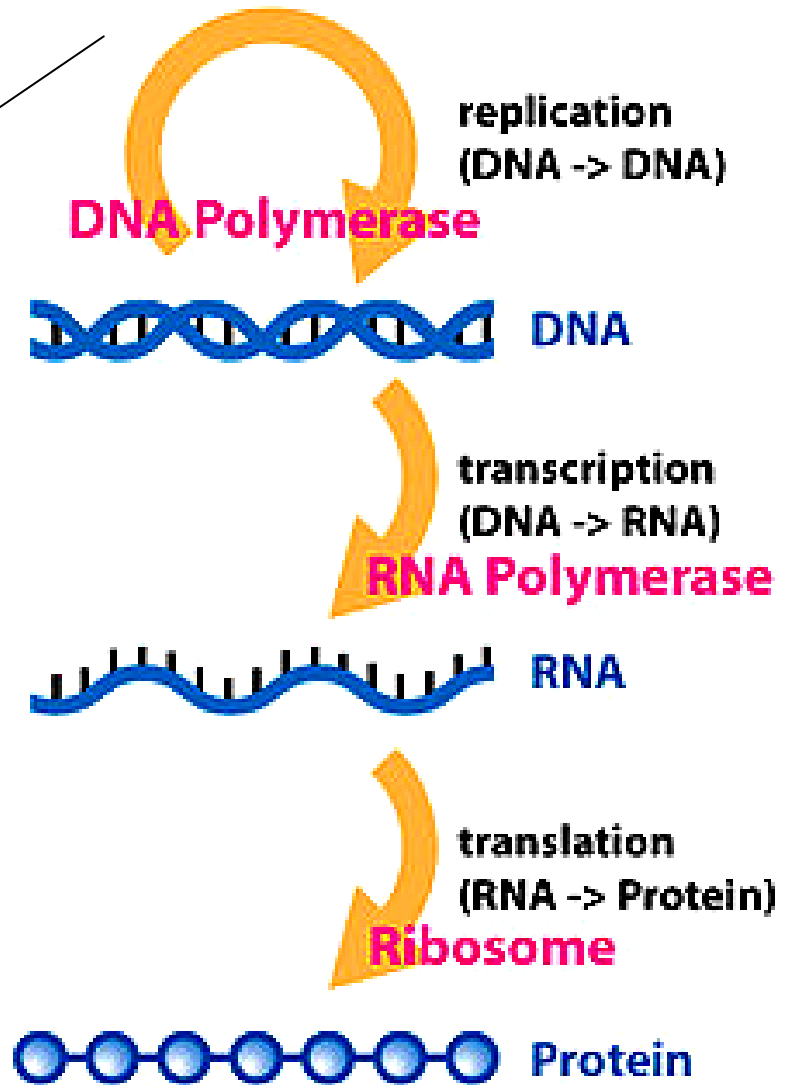
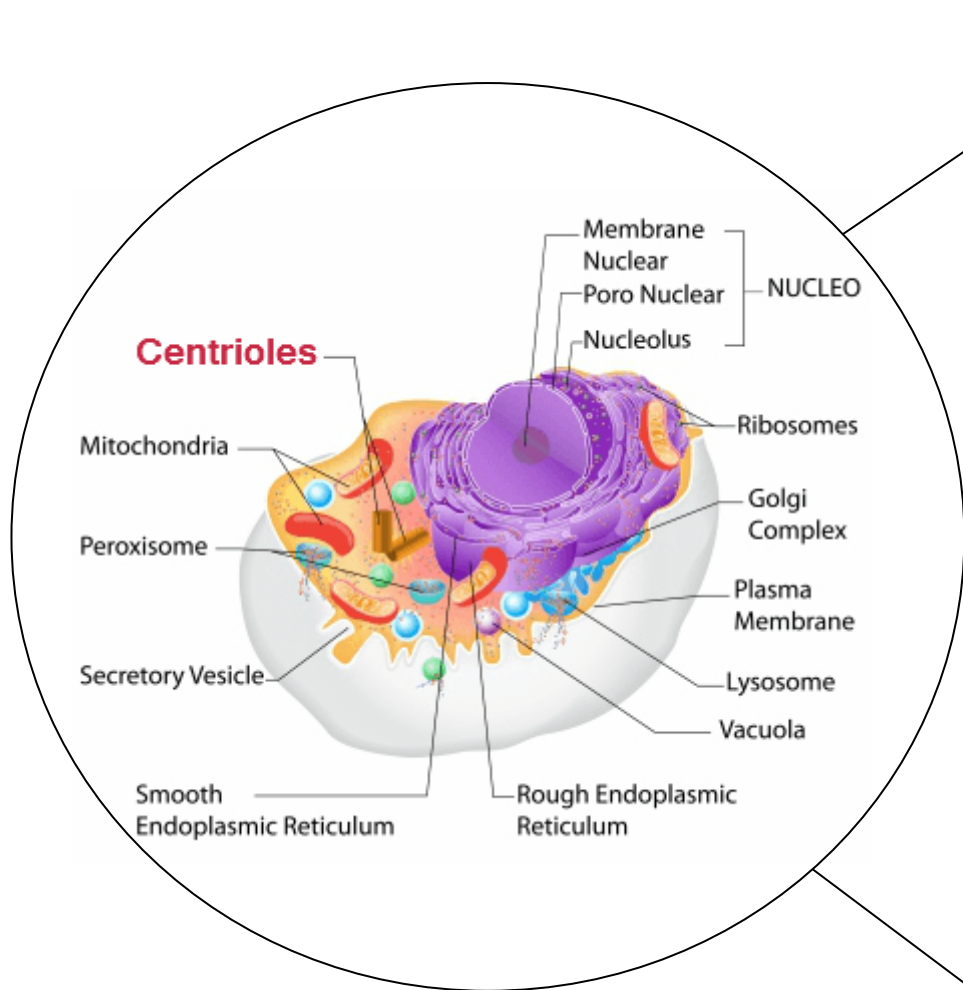
6.5. **Παράλληλη μετάφραση ενός mRNA από πολλαπλά ριβοσώματα**

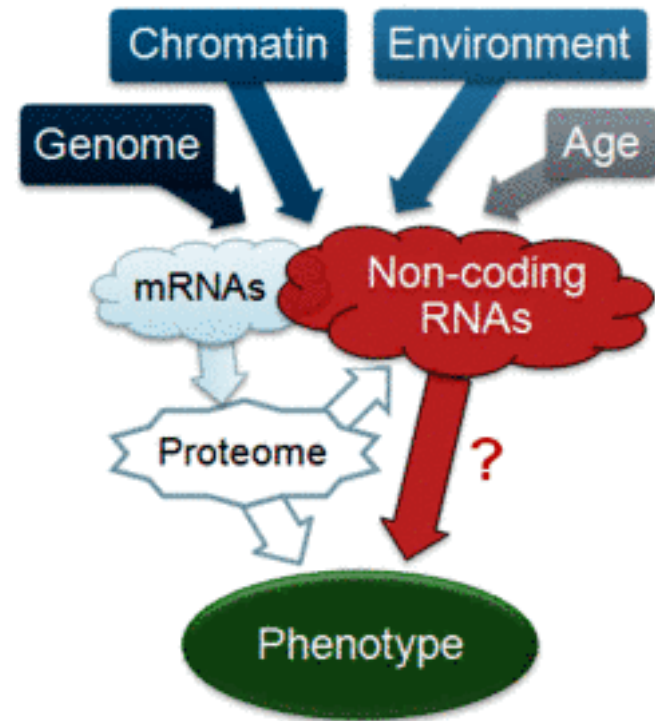
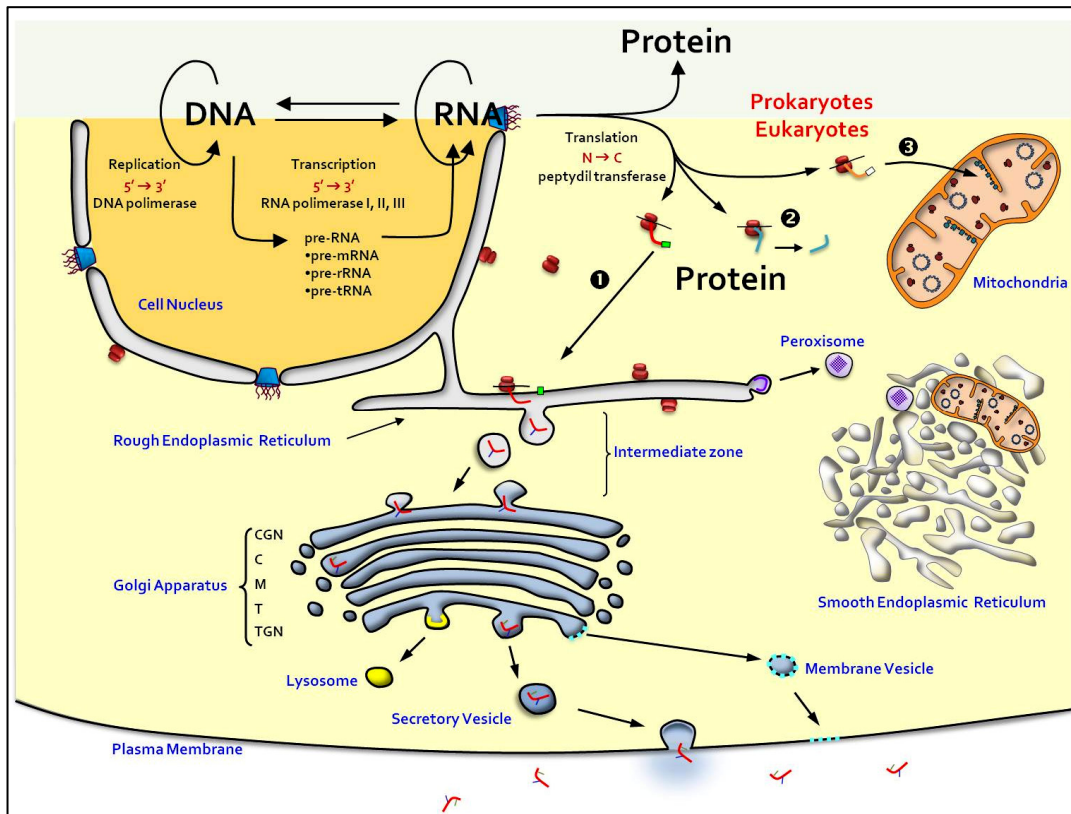
Βιβλιογραφία

Ηπατικό Παρεγχυματικό κύτταρο

Η τοποθέτηση κάθε οργανιδίου δεν είναι τυχαία εντός του κυττάρου αφού η τοπολογία του αντανακλά και μια λειτουργική συνέχεια. Για παράδειγμα το Golgi είναι κοντά στον πυρήνα ενώ το ER είναι σε άμεση σύνδεση με τον πυρήνα και διαχέεται σε όλο το κύτταρο.







Η βασική πρωτογενής πληροφορία του κυτταρικού συστήματος ροής πληροφοριών αποθηκεύεται και κληρονομείται από γενιά σε γενιά μέσω ενός σχετικά απλού συστήματος κωδικοποίησης (κώδικας τριών γραμμάτων) που περιλαμβάνει **ΝΟΥΚΛΕΪΚΑ ΟΞΕΑ**.

Οι βασικές αρχές για τη μετάδοση της πληροφορίας αυτής σε ένα **ΕΠΟΜΕΝΟ ΣΤΑΔΙΟ** που οδηγεί στην αποκωδικοποίηση της και στην παραγωγή των βασικών δομικών λίθων του κυττάρου (πρωτεΐνες) είναι παρόμοιες μεταξύ των προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών κυττάρων.

Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι κατά την εξέλιξη της μηχανής αποκωδικοποίησης, οι βασικές αρχές λειτουργίας ενός αρχικού επιτυχημένου πρωτοτύπου δεν άλλαξαν σημαντικά. Ίσως αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η όποια αστοχία της μηχανής οδηγεί άμεσα στην καταστροφή του φορέα της και κατ' επέκταση της ίδιας.

Κατά τη διαδικασία σύνθεσης-παραγωγής των πρωτεϊνών του κυττάρου ο αριθμός των εμπλεκόμενων μορίων-υπερδομών, ανά κατηγορία, που συνολικά συμμετέχουν στον μηχανισμό αποκωδικοποίησης της πρωτογενούς πληροφορίας **είναι αντιστρόφως ανάλογος της πολυπλοκότητας τους και κυρίως της δυνατότητας αντικατάστασης τους**.

ΣΥΝΘΕΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ* – ΕΜΠΛΕΚΟΜΕΝΑ ΜΟΡΙΑ / ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΜΗΧΑΝΕΣ

ΕΝΑ ΕΡΓΟΣΤΑΣΙΟ (**ΡΙΒΟΣΩΜΑ**)
ΑΡΚΕΤΟΙ (~50) ΠΡΟΜΗΘΕΥΤΕΣ (**tRNAs**)
ΧΙΛΙΑΔΕΣ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΣΧΕΔΙΑ-ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ (**mRNAs**)

* *δεύτερο σκαλοπάτι της ροής των πληροφοριών*

Η ακριβής αποκωδικοποίηση κάθε σχεδίου-πληροφορίας έχει σαν αποτέλεσμα την παράδοση του προϊόντος (πρωτεΐνη) για χρήση. Σε ένα διαφοροποιημένο ευκαρωτικό κύτταρο το εργοστάσιο παράγει περίπου 10.000 διαφορετικά προϊόντα κάποια από τα οποία ανακυκλώνονται συνεχώς και κάποια από τα οποία είναι σχετικά πιο σταθερά.

Σχεδόν αποκλειστικά, η δημιουργία “αλλοιωμένων” προϊόντων είναι αποτέλεσμα μετάλλαξης του σχεδίου-πληροφορία που μεταφέρεται για αποκωδικοποίηση, αφού η γραμμή παραγωγής διακρίνεται από εντυπωσιακή πιστότητα αποκωδικοποίησης και σωρεία ελέγχων κατά τη διάρκεια εκτέλεσης (ΕΝΑΡΞΗ, ΕΠΙΜΗΚΥΝΣΗ, ΛΗΞΗ) του σχεδίου-πληροφορία.

Η πρόσφατη σε βάθος ανάλυση της λειτουργίας του εργοστασίου είχε σαν αποτέλεσμα το εντυπωσιακό εύρημα ότι κάποιες αντιδράσεις κατάλυσης κατά την ΕΠΙΜΗΚΥΝΣΗ είναι δυνατόν να καταλύονται από νουκλεϊκά οξέα (**ΡΙΒΟΖΥΜΕ**). Η παρατήρηση αυτή αναθεωρεί σε μεγάλο βαθμό τις μέχρι σήμερα αντιλήψεις μας για τους μηχανισμούς κατάλυσης σε βιολογικά συστήματα.

**ΠΡΩΤΕΪΝΟΣΥΝΘΕΣΗ - ΕΝΑΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ
ΑΠΟΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ**

- κύριοι παράγοντες-μόρια που συμμετέχουν

το mRNA, το rRNA το tRNA και οι πρωτεΐνες

Τύπος μορίου	Χαρακτηριστικά	Λειτουργία
Ριβόσωμα	Πολύ μεγάλο σύμπλοκο από αρκετά rRNA (ριβωσωμικό RNA) και αρκετές πρωτεΐνες, με συνολικό μοριακό βάρος σχεδόν $2,5 \cdot 10^6$ daltons	Εργοστάσιο (συναρμολόγηση των αμινοξέων σύμφωνα με τις οδηγίες)
mRNA	Μήνυμα RNA: Μόριο RNA (μετάγραφο) με γραμμική αλληλουχία νουκλεοτιδίων που αποτελεί πιστό αντίγραφο συγκεκριμένης αλληλουχίας βάσεων DNA ενός γονιδίου	Πληροφορία (περιέχει τις απαιτούμενες οδηγίες-πληροφορίες για την παραγωγή ενός πολυπεπτιδίου)
tRNA	Αμινο-ακυλο-μεταφορικό RNA: Μόριο RNA που ονομάζεται επίσης και ανικωδικόνιο ή μόριο προσαρμοστής. Υπάρχουν 1 ή παραπάνω μόρια tRNA ανά αμινοξύ	Προμηθευτής αμινοξέων (παράλληλα αναγνωρίζει την κωδικοποιημένη πληροφορία)
Αμινοξέα	Δομικοί λίθοι πολυπεπτιδίων	Συναρμολογούνται στη σειρά προκειμένου να παραχθεί μια πρωτεΐνη
ATP, GTP	Μικρά μόρια με δεσμό φωσφόρου υψηλής ενέργειας	Πηγή ενέργειας για όλες τις φάσεις της πρωτεϊνοσύνθεσης
IF, eIF, Ef-Tu, κ.λπ.	Πρωτεΐνες με συγκεκριμένη αλληλουχία και δομή	Ρυθμιστές των φάσεων έναρξης, επιμήκυνσης και λήξης της πρωτεϊνοσύνθεσης
Πρωτεΐνη	Πολυπεπτιδική αλυσίδα η αλληλουχία της οποίας ορίζεται από το mRNA. Ονομάζεται και γονιδιακό παράγωγο	Προϊόν (πολυποίκιλες λειτουργίες ανάλογα με την αλληλουχία των αμινοξέων)

Χαρακτηριστικά και λειτουργία των μορίων που συμμετέχουν στην διαδικασία της πρωτεϊνοσύνθεσης

Χαρακτηριστικά των διαφόρων ειδών RNA και σταθερότητα τους στο προκαρυωτικό κύτταρο

Τύπος	Λειτουργία/ θέση	Διακριτά είδη	Αριθμός νουκλεοτιδίων	% συνολικού RNA	Μέση σταθερότητα
mRNA	Μήνυμα (πληροφορία)	Χιλιάδες	500-6000	3	$T_{1/2} = 1-3 \text{ min}$
rRNA	Ριβόσωμα (δομική, ενζυ- μική δράση)	23S, 16S, 5S	2904, 1542, 120	90	Σταθερό
tRNA	Προσαρμοστής	~30-50	73-93	7	Σταθερό

Το **μήνυμα RNA** (messenger RNA ή mRNA) μεταφέρει τη γενετική πληροφορία από το DNA σε “λέξεις” των τριών γραμμάτων καθεμία από τις οποίες κωδικοποιεί για ένα αμινοξύ. Το μόριο αυτό μεταφέρει τις πληροφορίες για τη σύνθεση των πρωτεϊνών από τον πυρήνα στο ριβόσωμα, ενώ τα πιο πολλά μηνύματα RNA των θηλαστικών κυμαίνονται από 300-5000 νουκλεοτίδια. Το mRNA φέρνει στην μια του άκρη αλληλουχίες αναγνώρισης-έναρξης και στην άλλη άκρη την αλληλουχία λήξης (π.χ. *UAA*, *UAG* ή *UGA*) της πρωτεϊνοσύνθεσης.

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

Ο (εκφυλισμένος) γενετικός κώδικας που απεικονίζει την αντιστοιχία τριπλετών του mRNA με συγκεκριμένα αμινοξέα

Πίνακας 6.4. Περιπτώσεις κωδικονίων όπου έχει αναφερθεί ασυνήθιστη χρήση σε πυρηνικά ή σε μιτοχονδριακά γονίδια

Κωδικόνιο	Συνήθης κωδικοποίηση	Σπάνια κωδικοποίηση	Βρέθηκε σε:
UGA	Stop	Trp	Mycoplasma, Spiroplasma, μιτοχόνδρια πολλών ειδών
CUG	Leu	Thr	Μιτοχόνδρια μυκήτων
UAA, UAG	Stop	Gln	Acetabularia, Tetrahymena, Paramecium
UGA	Stop	Cys	Euplotes

Περιπτώσεις κωδικονίων όπου έχει αναφερθεί ασυνήθιστη χρήση σε πυρηνικά ή μιτοχονδριακά γονίδια

Τα τρία πλαίσια ανάγνωσης:



Coding sequence

```
atgatgaagactctgctgctgtttgtggggctgctgctgacctgg
gagagtgggcaggtcctgggggaccagacggtctcagacaaatgagctccaggaaatgtcc
aatcagggaaagtaagtacgtcaataaggaaattcaaaatgctgtcaacggggtgaaacag
ataaagactctcatagaaaaaacaacgaagagcgcgaagacactgctcagcaacctagaa
gaagccaagaagaagaagaggatgccctaaaatgagaccagggaatcagagacaaagctg
aaggagctcccaggagtgtgcaatgagaccatgtagggcctctgggaagagtgtaaagccc
tgcctgaaacagacctgcatgaagttctacgcacgcgtctgcagaagtggctcaggcctg
gttggccgccagcttgaggagtccctgaaccagagctcgccttctacttctggatgaat
ggtgaccgcatcgactccctgctggagaacgaccggcagcagacgcacatgctggatgct
atgcaggaccacttcagccgcgctccagcatcatagacgagctctccaggacaggttc
ttcaccgggagccccaggatacctaccactacctgcccctcagcctgccccaccggagg
cctcacttcttcttcccaagtcccgcacgtccgcagcttgatgcccttctctccgtac
gagcccctgaacttccacgccatggtccagccctccttgagatgatacacgaggctcag
caggccatggacatccacttccacagcccggccttccagcaccggccaacagaattcata
cgagaaggcgacgatgaccggactgtgtgccgggagatccgccacaactccacgggctgc
ctgcggatgaaggaccagtgtgacaagtgccgggagatccttgtctgtggactgttccacc
aacaccctcccaggctaagctgcggcgggagctcgacgaatccctccaggtcgtgag
aggttgaccagaaaataaacgagctgctaaagtccctaccagtggaaagtgtcaacacc
tcctccttgctggagcagctgaacgagcagtttaactgggtgtcccggctggcaaaccctc
acgcaaggcgaagaccagtactatctgcgggtcaccacgggtggcttcccacacttctgac
tcggacgttccctccgggtgctactgaggtggctcgtgaagctctttgactctgatcccatc
actgtgacggctccctgtagaagtctccaggaagaaccctaaatttatggagaccgtggcg
Gagaaagcgtgcaggaataccgcaaaaagcaccgggaggagtga
```

Protein

```
M M K T L L L F V G L L L T W E S G Q V L G D Q T V S D N E L Q E M S N Q G
S K Y V N K E I Q N A V N G V K Q I K T L I E K T N E E R K T L L S N L E E
A K K K K E D A L N E T R E S E T K L K E L P G V C N E T M M A L W E E C K
P C L K Q T C M K F Y A R V C R S G S G L V G R Q L E E F L N Q S S P F Y F
W M N G D R I D S L L E N D R Q Q T H M L D V M Q D H F S R A S S I I D E L
F Q D R F F T R E P Q D T Y H Y L P F S L P H R R P H F F F P K S R I V R S
L M P F S P Y E P L N F H A M F Q P F L E M I H E A Q Q A M D I H F H S P A
F Q H P P T E F I R E G D D D R T V C R E I R H N S T G C L R M K D Q C D K
C R E I L S V D C S T N N P S Q A K L R R E L D E S L Q V A E R L T R K Y N
E L L K S Y Q W K M L N T S S L L E Q L N E Q F N W V S R L A N L T Q G E D
Q Y Y L R V T T V A S H T S D S D V P S G V T E V V V K L F D S D P I T V T
V P V E V S R K N P K F M E T V A E K A L Q E Y R K K H R E E Stop
```

Τα τρία πλαίσια ανάγνωσης:



ExPASy Proteomics Server

Search for

Databases Tools Services Mirrors About Contact

You are here: [ExPASy CH](#) > [Tools](#) > [DNA -> Protein](#) > [Translate](#)

Translate Tool - Results of translation

Please select one of the following frames:

5'3' Frame 1
Met Met K P L L L F V G L L L T W E S G Q V L G D Q T V S D N E L Q E Met S N Q G S K Y V N K E I Q N A V N G V K Q I K T L I E K T N E E R K T L L S N L E E A K K K K E D A L N E T R E S E T K L K E L P G V C N E T Met Met A L W E E C K P C L K Q T C Met K F Y A R V C R S G S G L V G R Q L E E F L N Q S S P F Y F W Met N G D R I D S L L E N D R Q Q T H Met L D V Met Q D H F S R A S S I I D E L F Q D R F T R E P Q D T Y H Y L P F S L P H R R P H F F F P K S R I V R S L Met P F S P Y E P L N F H A Met F Q P F L E Met I H E A Q Q A Met D I H F H S P A F Q H P P T E F I R E G D D D R T V C R E I R H N S T G C L R Met K D Q C D K C R E I L S V D C S T N N P S Q A K L R R E L D E S L Q V A E R L T R K Y N E L L K S Y Q W K Met L N T S S L L E Q L N E Q F N W V S R L A N L T Q G E D Q Y Y L R V T T V A S H T S D S D V P S G V T E V V V K L F D S D P I T V T V P E V S R K N P K F Met E T V A E K A L Q E Y R K K H R E E Stop

5'3' Frame 2
Stop Stop R L C C L W G C C Stop P G R V G R S W G T R R S Q T Met S S R K C P I R E V S T S I R K F K Met L S T G Stop N R Stop R L S Stop K K Q T K S A R H C S A T Stop K K P R R R K R Met P Stop Met R P G N Q R Q S Stop R S S Q E C A Met R P Stop W P S G K S V S P A Stop N R P A Stop S S T H A S A E V A Q A W L A A S L R S S Stop T R A R P S T S G Stop Met V T A S T P C W R T T G S R R T C W Met S C R T T S A A R P A S Stop T S S S R T G S S P G S P R I P T T T C P S A C T P G G L T S S F P S P A S S A A Stop C P S L R T S P Stop T S T P C S S P S L R Stop Y T R L S R P W T S T S T A R P S S T R Q N S Y E K A T Met T G L C A G R S A T T P R A A C G Stop R T S V T S A G R S C L W T V P P T P P R L S C G G S S T N P S R S L R G Stop P G N I T S C Stop S P T S G R C S T P P P C W S S Stop T S S L T G C P G W Q T S R K A K T S T I C G S P R W L P T L L T R T F L P V S L R W S Stop S S L T L I P S L Stop R S L Stop K S P G R T L N L W R P W R R K R C R N T A K S T G R S

5'3' Frame 3
D E D S A A V C G A A A D L G E W A G P G G P D G L R Q Stop A P G N V Q S G K Stop V R Q Stop G N S K C C O R G E T D K D S H R K N K R R A O D T A Q Q P R R S Q E E E R G C P K Stop D Q G I R D K A E G A P R S V Q Stop D H D G P L G R V Stop A L P E T D L H E V L R T R L Q K W L R P G W P P A Stop G V P E P E L A L L L L D E W Stop P H R L P A G E R P A A D A H A G C H A G P L Q P R V Q H H R R A L P G Q V L H P G A P G Y L P L P A L Q P A P P E A S L L L S Q V P H R P Q L D A L L S V R A P E L P R H V P A L P Stop D D T R G S A G H G H L P Q P G L P A P A N R I H T R R R R Stop P D C V P G D P P Q L H G L P A D E G P V Stop Q V P G D L V C G L F H Q Q L P G Stop A A A G A R R I P P G R Stop E V D Q E I Stop R A A K V L P V E D A Q H L L L A G A A E R A V Stop L G V P A G K P H A R R R P V L S A G H H G G F P H F Stop L G R S F R C H Stop G G R E A L Stop L Stop S H H C D G P C R S L Q E E P Stop I Y G D R G G E S A A G I P Q K A P G G V

3'5' Frame 1
S L L P V L F A V F L Q R F L R H G L H K F R V L P G D F Y R D R H S D G I R V K E L H D H L S D T G R N V R V R S V G S H R G D P Q I V L V F A L R E V C Q P G H P V K L L V Q L L Q Q G G V E H L P L V G L Stop Q L V I F F G O P L S D L E G F V E L P P Q L S L G G V V G G T V H R Q D L P A L V T L V L H P Q A A R G V V A D L P A H S P V I A F S Y E F C W R V L E G R A V E D V H G L L S L V Y H L K E G L E H G V E V Q G L V R R E G H Q A A D D A G L G K E E V R P P V G Q A E G Q V V V G I L G L P G E E P V L E E L V Y D A G R A A E V L H D I Q H V R L L P V L Q Q G V D A V T I H P E V E G R A L V Q E L L K A A N Q A Stop A T S A D A C V E L H A G L F Q A G L T L F P E G H H G L I A H S W E L L Q L C L Stop F P G L I Stop G I L F L L L G F F Stop V A E Q C L A L F V C F F Y E S L Y L F H P V D S I L N F L I D V L T S L I G H F L E L I V Stop D R L V P Q D L P T L P G Q Q P H K Q Q Q S L H H

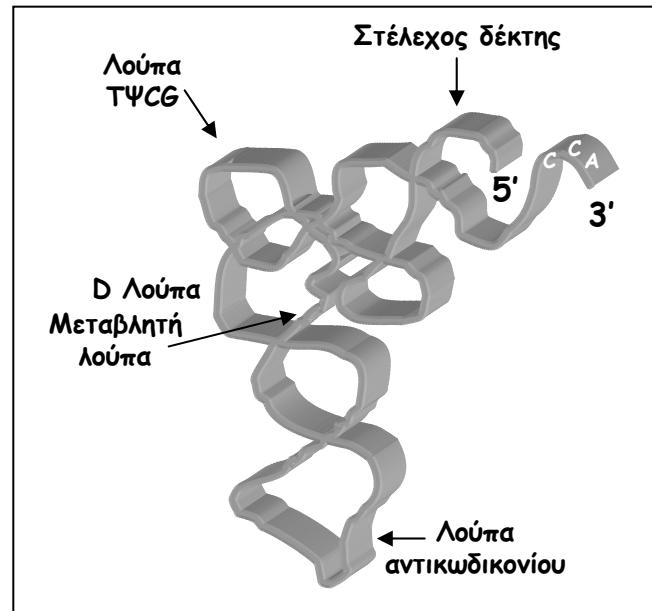
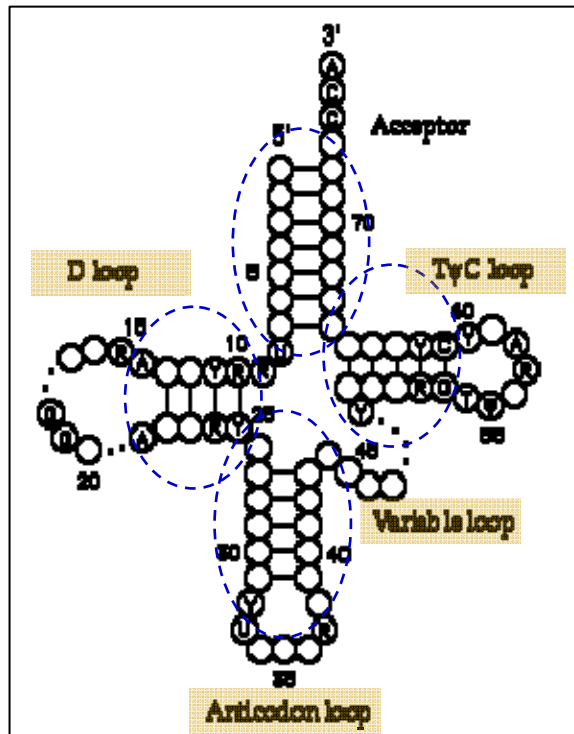
3'5' Frame 2
H S S R C F L R Y S C S A F S A T S V I N L G F F L E T S T G T V T V Met G S E S K S F T T T S V T P E G T S E S E V W E A T V V T R R Stop Y W S S P C V R F A S R D T Q L N C S F S C S S K E E V L S I F H W Stop D F S S S L Y F L V N L S A T W R D S S S R R S L A W E G L L V E Q S T D K I S R H L S H S F I R R Q P V E L W I R S H T V R S S S P S R Met N S V G G C W K A G L W K W Met S Met A C Stop A S C I I S R K G W N Met A W K F R G S Y G E K G I K L R T Met R D L G K K K Stop G L R W G R L K G R Stop W Stop V S W G S R V K N L S W K S S S Met Met L D A R L K W S C Met T S S Met C V C C R S F S S R E S Met R S P F I Q K Stop K G E L W F R N S S S W R P T R P E L L Q T R A Stop N F Met Q V C F R Q G L H S S Q R A I Met V S L H T P G S S F S F V S D S L V S F R A S S F F F L A S S R L L S S V L R S S F V F S Met R V F I C F T P L T A F Stop I S L L T Y L L P Stop L D I S W S S L S E T V W S P R T C P L S Q V S S S P T N S S R V F I

3'5' Frame 3
T P P G A F C G I P A A L S P P R S P Stop I Stop G S S W R L L Q G P S Q Stop W D Q S Q R A S R P P Q Stop P H R K E R P S Q K C G K P P W Stop P A D S T G L R L A Stop G L P A G T P S Stop T A R S A A P A R R R C Stop A S S T G R T L A A R Y I S W S T S Q R P G G I R A P A A A Stop P G R G C W W N S P Q T R S P G T C H T G P S S A G S P W S C G G S P G T Q S G H R R L L V Stop I L L A G A G R P G C G S G C P W A E P R V S S Q G R A G T W R G S S G A R T E R R A S S C G R C G T W E R R S E A S G G A G Stop R A G S G R Y P G A P G Stop R T C P G R A R L Stop C W T R G Stop S G P A Stop H P A C A S A A G R S P A G S R C G H H S S R S R R A S S G S G T P Q A G G Q P G L S H F C R R V R R T S C R V S G R A Y T L P R G P S W S H C T L L G A P S A L S L I P W S H L G H P L S S S W L L L G C Stop A V S C A L R L F F L Stop E S L S V S P R Stop Q H F E F P Y Stop R T Y F P D W T F P G A H C L R P S G P P G A H S P R S A A P Q T A A E S S S

Το **μεταφορικό RNA** (transfer RNA; tRNA) είναι το μόριο κλειδί όσον αφορά την αποκωδικοποίηση των “λέξεων” που μεταφέρει το mRNA αφού κάθε αμινοξύ έχει το δικό του τύπο tRNA.

Ειδικότερα όλα τα tRNAs έχουν δύο λειτουργίες.

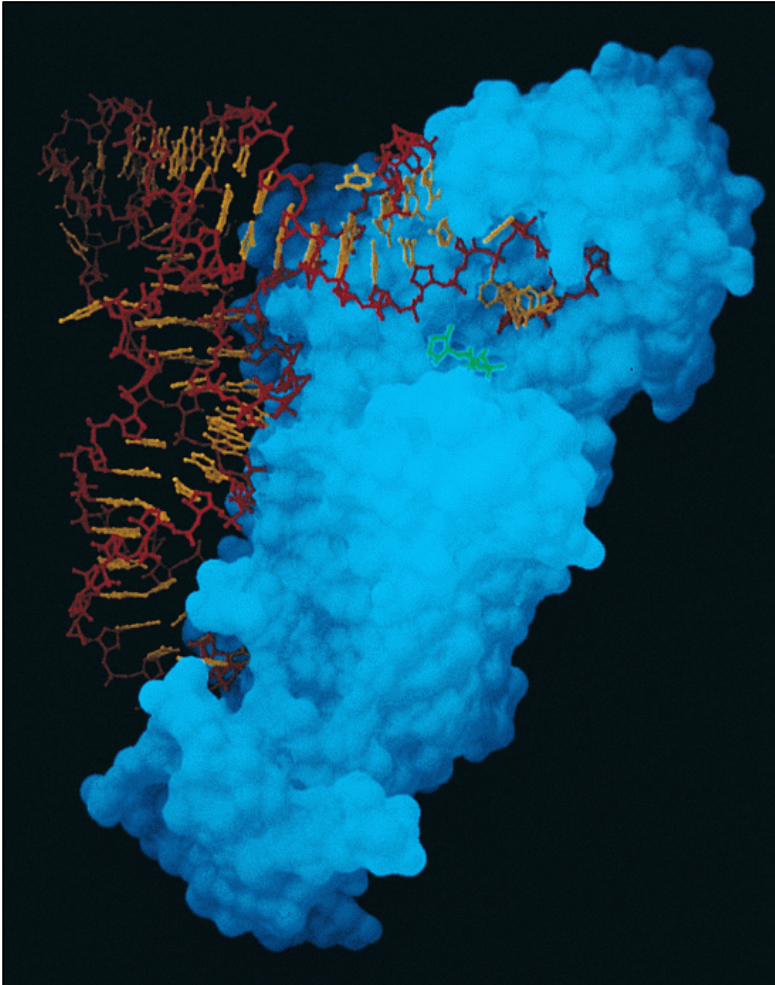
Να συνδεθούν χημικά με ένα συγκεκριμένο αμινοξύ και να κάνουν δεσμούς με το ειδικό κωδικόνιο στο mRNA έτσι ώστε το σωστό αμινοξύ να προσδεθεί στην πολυπεπτιδική αλυσίδα. Το σωστό tRNA με το προσδεμένο του αμινοξύ επιλέγεται σε κάθε βήμα επειδή κάθε ειδικό tRNA περιέχει μια αλληλουχία 3 βάσεων που σχηματίζει δεσμούς με τη συμπληρωματική της στο mRNA. Ειδικότερα, τα tRNAs είναι μικρά μόρια με 75 - 90 νουκλεοτίδια και ειδική στερεοδιάταξη που επιτρέπει με ειδική τριπλέτα βάσεων, αναγνώριση αντίστοιχης τριπλέτας στο mRNA με βασική αρχή: κωδικόνιο mRNA=αντικωδικόνιο tRNA=αμινοξύ.



Απλοποιημένη τρισδιάστατη δομή των tRNAs.

Όλα τα tRNAs διαμορφώνονται σε 4 τμήματα (όπου υπάρχει ζευγάρωμα βάσεων του tRNA) και σε 4 λούπες. Η τριπλέτα στο άκρο της λούπας του αντικωδικονίου ζευγαρώνει με αυτήν του mRNA.

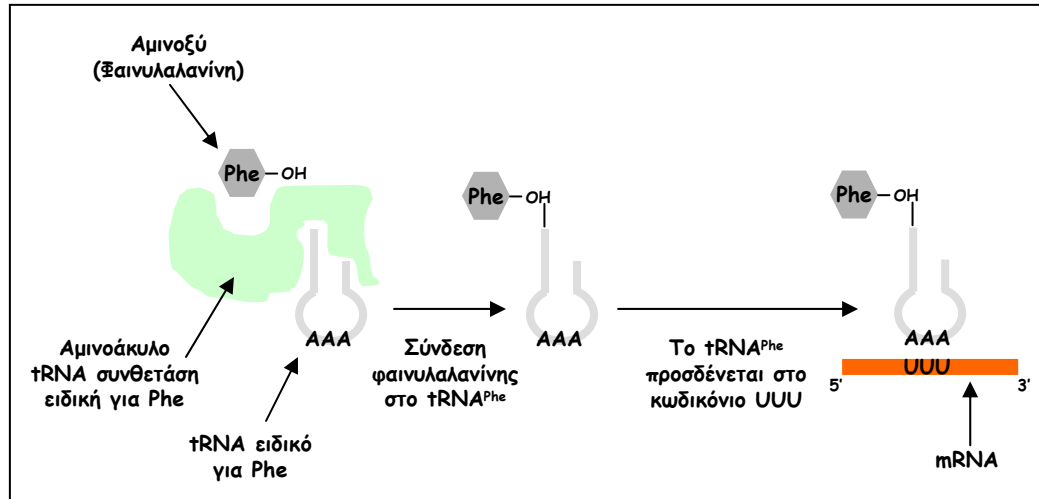
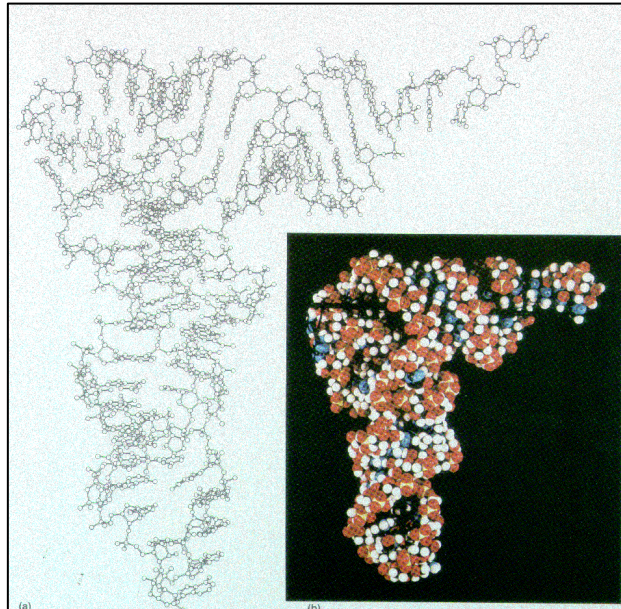
Η πρόσδεση ενός αμινοξέος στο στέλεχος δέκτη δημιουργεί ένα αμινοάκυλο-tRNA.



Η δράση αποκωδικοποιητή των

tRNAs βασίζεται στην τρισδιάστατη δομή τους και απαιτεί επίσης τη συμμετοχή των **αμινοάκυλο-tRNA συνθετασών (aminoacyl-tRNA synthetases)** που μεταφέρουν το ειδικό αμινοξύ στο κατάλληλο tRNA.

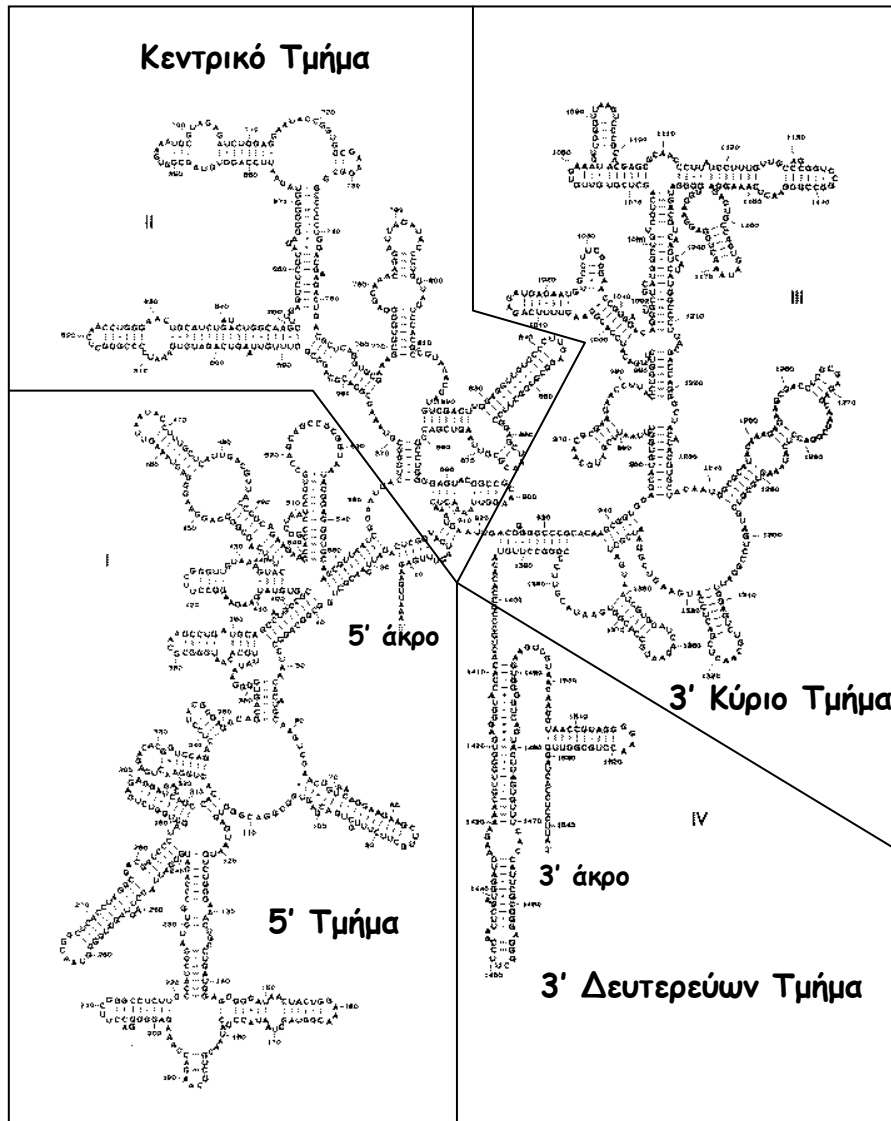
Κάθε ένα tRNA αναγνωρίζεται **από μόνο μία από τις 20 αμινοακυλο συνθετάσες**. Καθένα από τα ένζυμα αυτά προσδένει ένα από τα 20 αμινοξέα σε ένα δεδομένο tRNA δημιουργώντας έτσι ένα αμινοάκυλο-tRNA. Μέχρι σήμερα έχουν βρεθεί περίπου **30-40 διαφορετικά tRNAs** σε βακτηριακά κύτταρα και **50-100 σε ευκαρυωτικά κύτταρα**.



Η μετάφραση του γενετικού κώδικα που μεταφέρεται στο mRNA περιλαμβάνει αρχικά τη δημιουργία ενός “φορτισμένου” tRNA μέσω πρόσδεσης του ειδικού ανά τριπλέτα (αντικωδικόνιο) αμινοξέος που καταλύεται από την ειδική αμινο-άκυλο συνθετάση.

Στη συνέχεια μέσω των 3 βάσεων του αντικωδικονίου το φορτισμένο tRNA προσδένεται στο κωδικόνιο του mRNA και τελικά το αμινοξύ που μεταφέρει ενώνεται με την πολυπεπτιδική αλυσίδα.

Το **ριβωσωμικό RNA** (ribosomal RNA; rRNA) συνδέεται με μια σειρά πρωτεϊνών προκειμένου να δημιουργήσει το ριβόσωμα. Η πολύπλοκη αυτή δομή κινείται κατά μήκος ενός μορίου mRNA και καταλύει την αυτοσυγκρότηση των αμινοξέων σε πολυπεπτιδικές αλυσίδες.



Τύπος	Αριθμός νουκλεοτιδίων	Υπομονάδα
16S	1542	30S
5S	120	50S
23S	2904	50S

Τα μόρια rRNA του **προκαρυωτικού** ριβοσώματος

Τύπος	Αριθμός νουκλεοτιδίων	Υπομονάδα
18S	1874	40S
5S	120	60S
5.8S	160	60S
28S	4718	60S

Τα μόρια rRNA του **ευκαρυωτικού** ριβοσώματος

Προτεινόμενη δευτεροταγής δομή για το 16S rRNA. Πολλές περιοχές είναι συμπληρωματικές και ικανές να δημιουργούν τμήματα διπλο-έλικας.

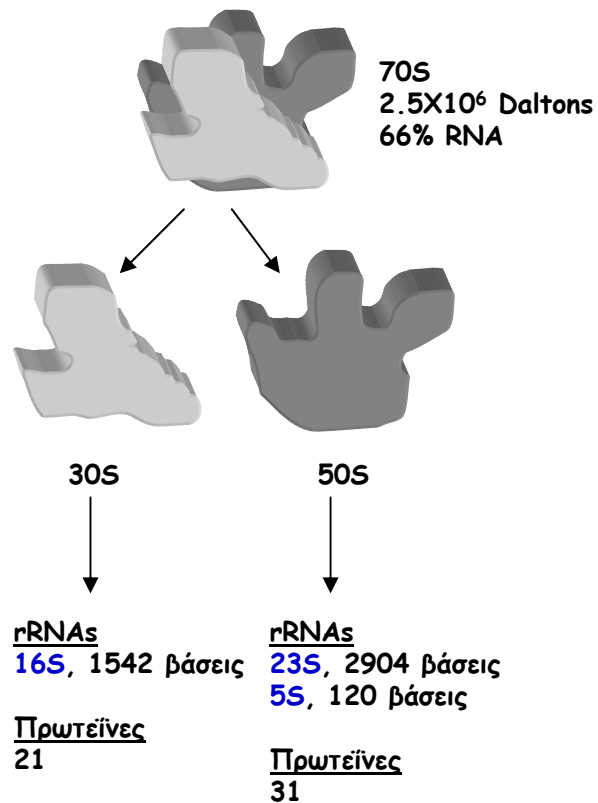
Τα **ριβοσώματα** αποτελούν συστατικά-οργανίδια όλων των κυττάρων (προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών), με εξαίρεση τα ερυθροκύτταρα και τα ώριμα σπερματοζωάρια. Είναι σωματίδια σφαιρικά-ελλειψοειδή διαστάσεων 200-300 Å, και περιέχουν RNA και πρωτεΐνες. Η αυτοσυγκρότηση των πολύπλοκων αυτών κυτταροπλασματικών συστατικών γίνεται στον πυρήνα μετά από τη σύνθεση των rRNA στον πυρηνίσκο και την εισαγωγή των ριβοσωμικών πρωτεϊνών από το κυτταρόπλασμα.

- Πειράματα υβριδισμού DNA-RNA έδειξαν πως **υπάρχουν πολλά αντίτυπα γονιδίων ριβοσωμικού RNA** σε κάθε γονιδίωμα (π.χ. 200 αντίτυπα στο απλοειδές ανθρώπινο γονιδίωμα και 600 αντίτυπα στο γονιδίωμα του βατράχου).

- Ο **συνολικός αριθμός ενεργών ριβοσωμάτων** ποικίλει από 5.000 για ένα απλό βακτηριακό κύτταρο μέχρι αρκετά εκατομμύρια για ένα πολύπλοκο ευκαρυωτικό κύτταρο. Στο κύτταρο της *E. coli* τα ριβοσώματα αποτελούν περίπου ~25% της ξηρής κυτταρικής μάζας, ενώ θα πρέπει να σημειωθεί ότι όλα τα ριβοσώματα του ίδιου ευκαρυωτικού κυττάρου είναι πανομοιότυπα, ενώ τα ριβοσώματα των μιτοχονδρίων είναι παρόμοια με αυτά των προκαρυωτικών κυττάρων.

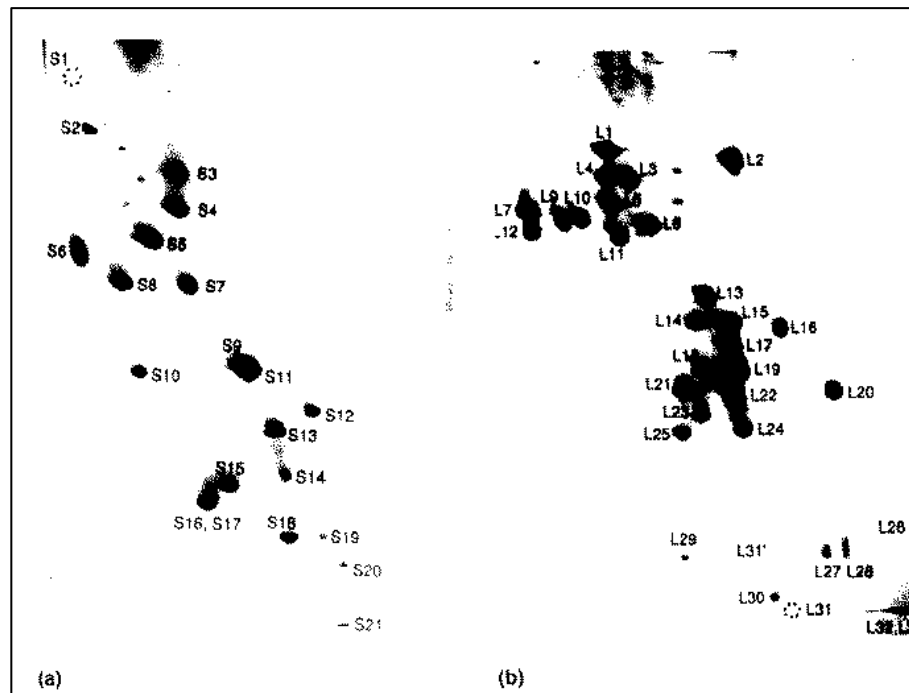
- Τα ριβοσώματα **τοπολογικά** στο κύτταρο μπορεί να βρεθούν είτε προσδεδεμένα στις μεμβράνες του κοκκιώδους ενδοπλασματικού δικτύου είτε ελεύθερα στο κυτταρόπλασμα. Τα ριβοσώματα τα οποία είναι προσδεδεμένα στο εξωτερικό τμήμα του ενδοπλασματικού δικτύου συμμετέχουν στο σχηματισμό του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου και βρίσκονται σε μεγάλο αριθμό στα κύτταρα των οποίων τα προϊόντα κατευθύνονται για έκκριση. Στα ριβοσώματα αυτά παράγονται οι πρωτεΐνες που ενσωματώνονται σε μεμβράνες ή πακετάρονται σε κυστίδια και προορίζονται είτε για αποθήκευση στο κυτταρόπλασμα είτε για έκκριση. Αντίθετα τα ελεύθερα ριβοσώματα βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα είτε σαν ένα ριβόσωμα ή σε ομάδες που ονομάζονται πολυ-ριβοσώματα ή πολυσώματα. Είναι πιο πολυάριθμα από ότι τα προσδεδεμένα ριβοσώματα και σε αυτά παράγονται οι διαλυτές πρωτεΐνες του κυτταροπλάσματος ή οι πρωτεΐνες που σχηματίζουν σημαντικά κυτταροπλασματικά δομικά ή κινητά στοιχεία.

ΤΟ ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΟ ΡΙΒΟΣΩΜΑ

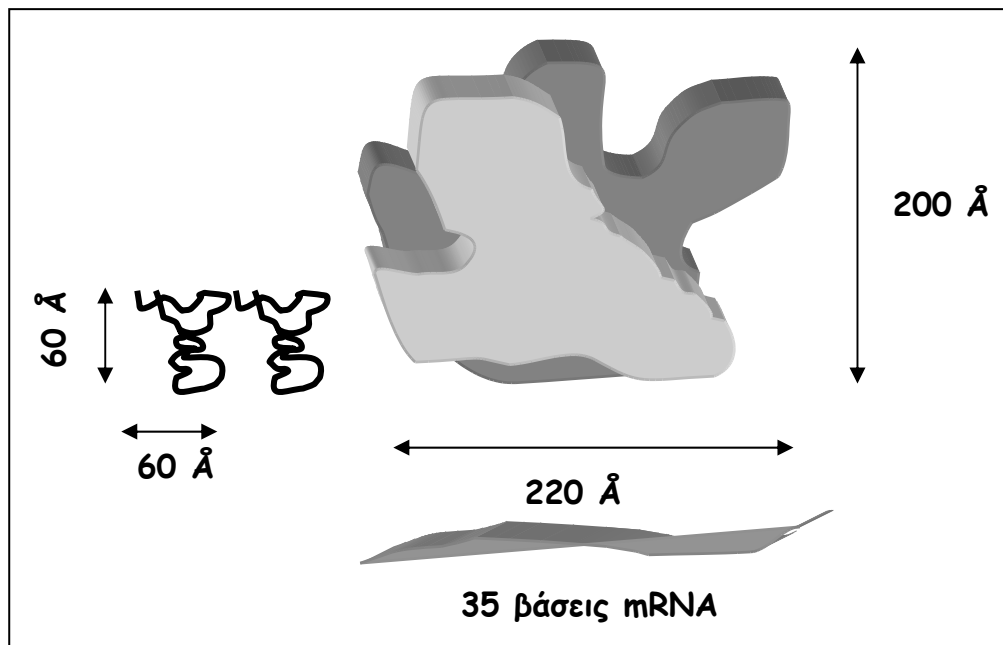


Τα **προκαρυωτικά ριβοσώματα** (π.χ. της *E. coli*) εμφανίζουν κατά την υπερφυγοκέντρωση συντελεστή καθίζησης* **70S** και αποτελείται από μια μικρή (**30S**) και μια μεγάλη (**50S**) υπομονάδα. Η 30S υπομονάδα αποτελείται από ένα μόριο rRNA (16S) και 21 διαφορετικές πρωτεΐνες που ονομάζονται S1-S21, ενώ η μεγάλη υπομονάδα 50S αποτελείται από δύο μόρια rRNA (5S και 23S) και 31 (ή 34) διαφορετικές πρωτεΐνες L1-L31 (η πρωτεΐνη L12 είναι παρούσα σε 4 αντίγραφα). Πολλές περιοχές του 16S rRNA είναι αυτοσυμπληρωματικές και ικανές να σχηματίζουν τμήματα διπλο-έλικας, ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι η δευτεροταγής δομή είναι πολύ πιο ισχυρά συντηρημένη μεταξύ των ειδών σε σχέση με την πρωτοταγή ακολουθία.

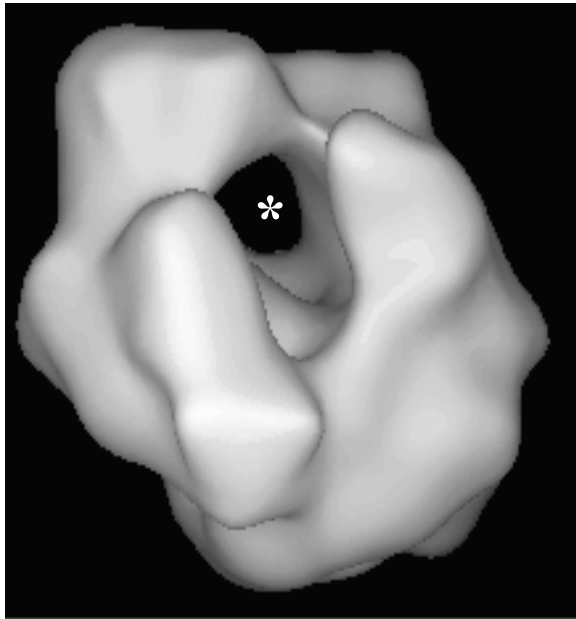
* Ο συντελεστής καθίζησης μετράται σε μονάδες **Svedberg (S)**. Ο ρυθμός καθίζησης ενός συστατικού στη φυγόκεντρο σχετίζεται τόσο με το μοριακό βάρος του μορίου όσο και με το τρισδιάστατο σχήμα του συγκεκριμένου συστατικού.



**Διαχωρισμός των ριβοσωμικών πρωτεϊνών με
δισδιάστατη (2-D) ηλεκτροφόρηση [α, μικρή 30S και β,
μεγάλη 50S υπομονάδα].**

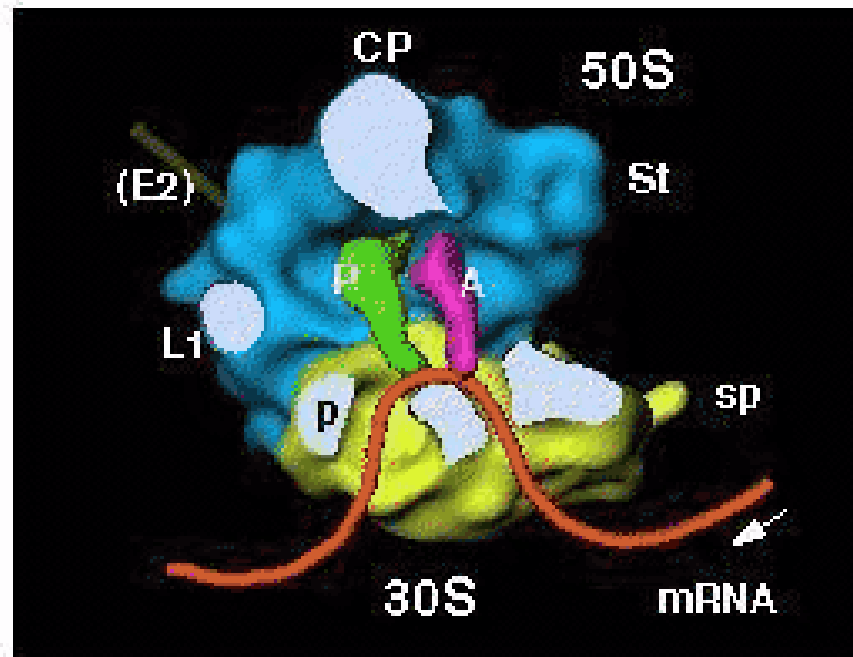


Διαστάσεις του ριβοσώματος. Όπως είναι φανερό, στο ριβόσωμα μπορούν να ενσωματωθούν ένα mRNA μήκους περίπου 35 βάσεων και δύο tRNAs.

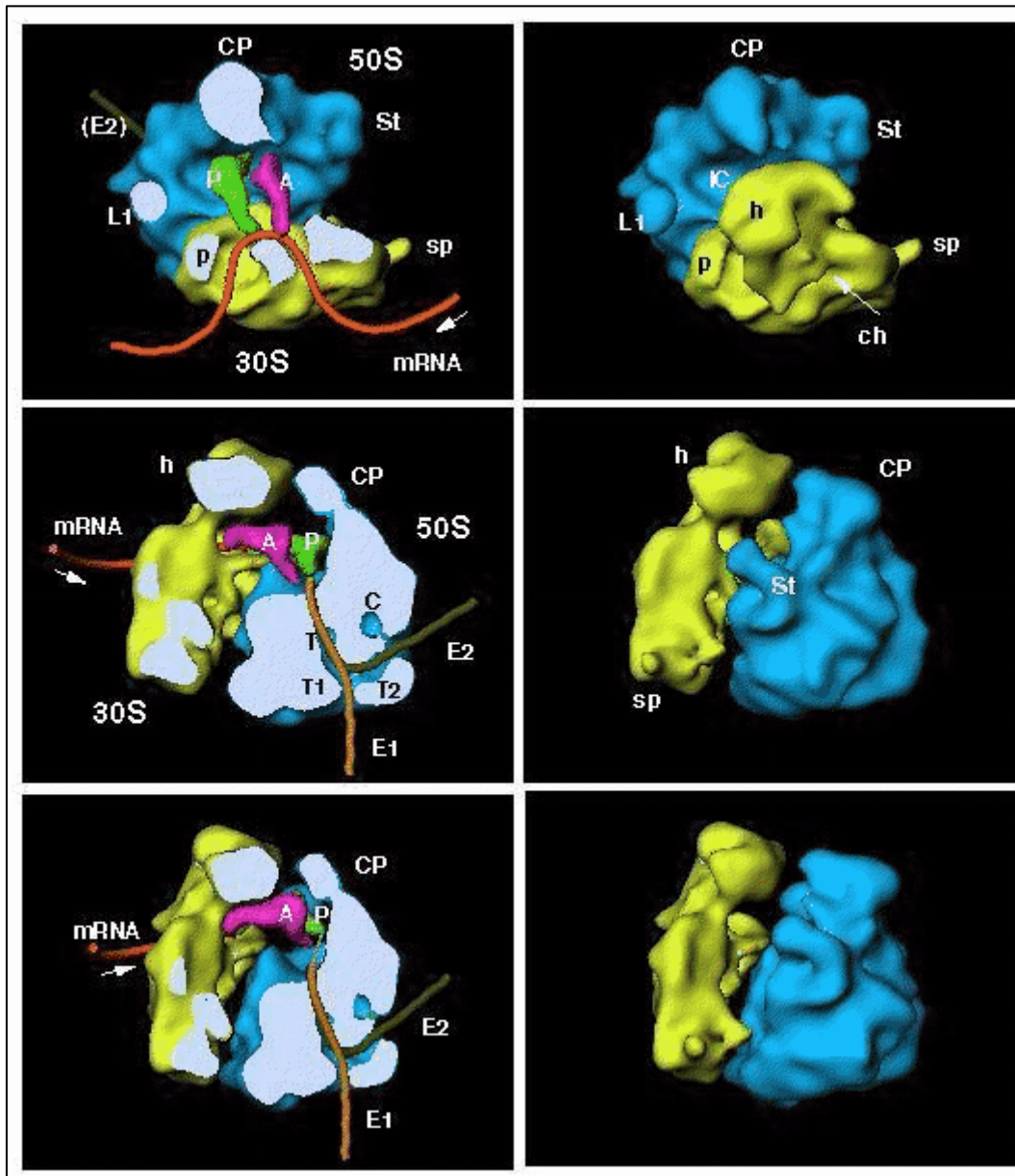


**Τρισδιάστατο μοντέλο του 70S
ριβოსώματος**

όπου διακρίνεται το τούνελ μήκους περίπου 10 nm και πλάτους περίπου 2.5 nm της μεγάλης υπομονάδας (αστερίσκος) μέσω του οποίου οι νεοσυντιθέμενες και αυτοσυγκροτούμενες πρωτεΐνες περνούν καθοδόν για την έξοδο από το ριβόσωμα.



Διαφορετικές οπτικές γωνίες του ριβοσώματος 70S. Με κίτρινο χρώμα διακρίνεται η μικρή υπομονάδα 30S και με μπλε η μεγάλη υπομονάδα 50S.

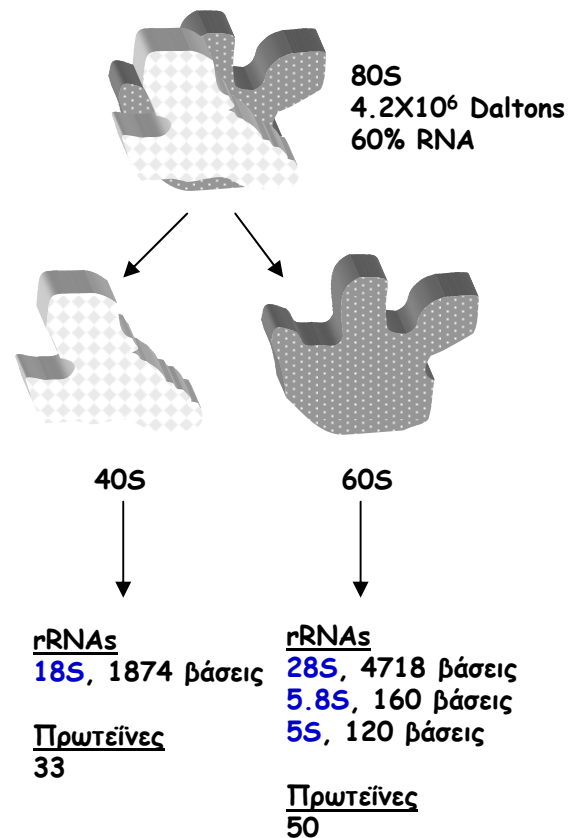


Δομική ανάλυση του προκαρυωτικού ριβοσώματος.

Σημαντικά σημεία στη δομή της 30S υπομονάδας (κίτρινο χρώμα): h, κεφαλή, p, πλατφόρμα, ch, κανάλι που θεωρείται ότι είναι το αγωγός για το mRNA, sp, πλήκτρο.

Σημαντικά σημεία στη δομή της 50S υπομονάδας (μπλε χρώμα). CP, κεντρική προεξοχή, St, L7/L12 στέλεχος, L1, πρωτεΐνη L1, IC, χαράδρα δι-επιφάνειας, T, τούνελ που θεωρείται ότι είναι ο αγωγός για τη νεοσχηματισμένη πολυπεπτιδική αλυσίδα, T1 και T2, τα χαμηλότερα τμήματα του τούνελ που οδηγούν στα εναλλακτικά σημεία εξόδου E1 και E2 αντίστοιχα.

ΤΟ ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΟ ΡΙΒΟΣΩΜΑ



Το **ευκαρυωτικό ριβοσώμα** εμφανίζει συντελεστή καθίζηση **80S** με συνολικό μοριακό βάρος 4.500.000 daltons ($2,5 \times 10^6$ daltons για την μεγάλη υπομονάδα). Αποτελείται από τη μικρή υπομονάδα **40S** που περιέχει ένα μόριο rRNA (18S) και 33 διαφορετικές πρωτεΐνες που ονομάζονται S1-S33 και από τη μεγάλη υπομονάδα **60S** που αποτελείται από τρία μόρια rRNA (5S, 5.8S και 28S) και 50 διαφορετικές πρωτεΐνες L1-L50.

80S ριβόσωμα

http://emnavi.protein.osaka-u.ac.jp/emnavi_detail.php?id=emdb-1076

http://emnavi.protein.osaka-u.ac.jp/emnavi_detail.php?id=1480

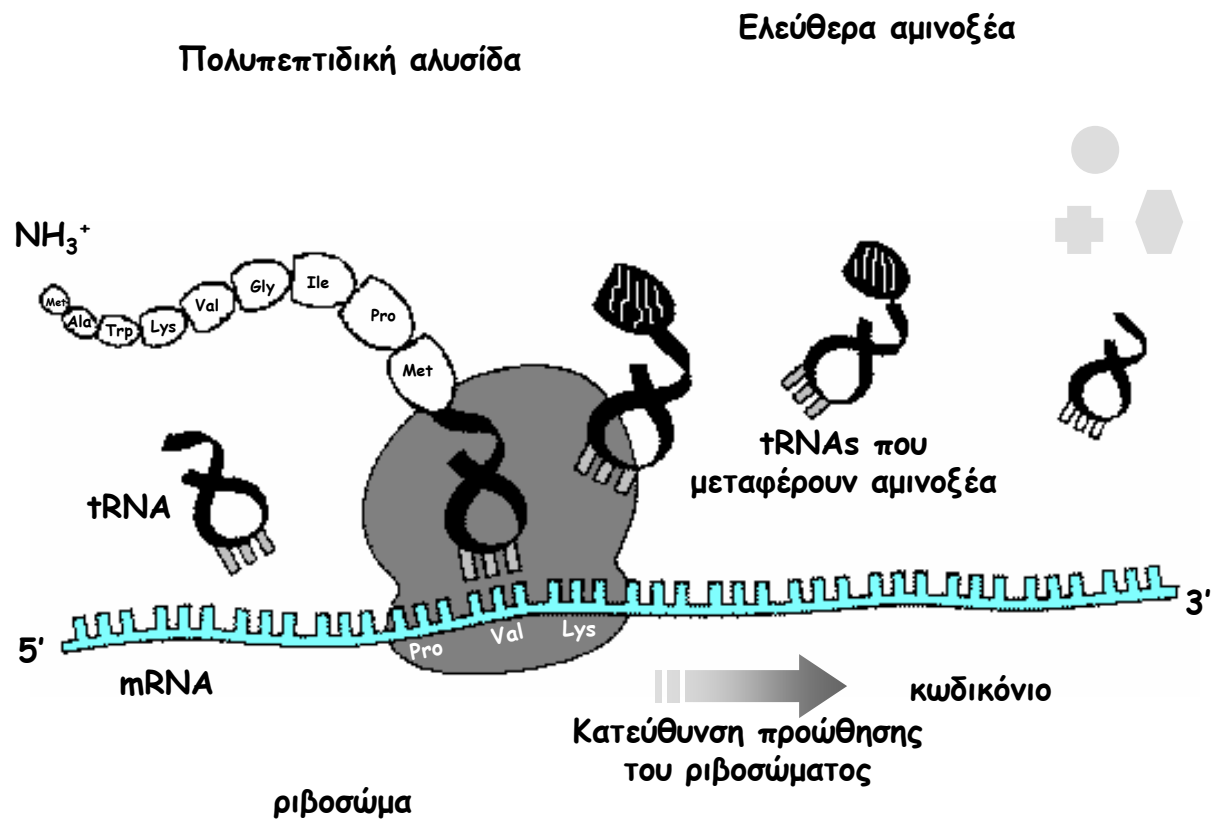
ΣΥΝΘΕΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Ως πρωτεϊνοσύνθεση ορίζεται **η πολύπλοκη διαδικασία αποκωδικοποίησης της γενετικής πληροφορίας** που βρίσκεται τώρα με τη μορφή mRNA.

Περιλαμβάνει ομοιοπολική σύνδεση διαδοχικών αμινοξέων που καταλήγει στη δημιουργία μιας πρωτεΐνης

(πολυπεπτιδικής αλυσίδας για την ακρίβεια, γιατί μια ενεργή πρωτεΐνη μπορεί να αποτελείται από πολλές και διαφορετικές πολυπεπτιδικές αλυσίδες).

Στη διαδικασία της πρωτεϊνοσύνθεσης συμμετέχουν πολλά μόρια και υπερμοριακές δομές που από μόνες τους έχουν πολύπλοκη οργάνωση, όπως τα **tRNAs, το mRNA, τα ριβοσώματα, διάφορα ένζυμα καθώς και κυτταρικές μεμβράνες**. Αν και το όλο φαινόμενο έχει περιγραφεί με σημαντική λεπτομέρεια εν τούτοις **πολλές πτυχές παραμένουν άγνωστες** (σε αντίθεση με τα φαινόμενα της αντιγραφής και μεταγραφής του DNA) που δεν μας επιτρέπουν ακόμα να κατανοήσουμε πλήρως όλες τις λεπτομέρειες των υφιστάμενων αλληλεπιδράσεων πρωτεϊνών-RNA-αμινοξέων.



Συνοπτική παρουσίαση της διαδικασίας παραγωγής ενός πολυπεπτιδίου και των κυριότερων συστατικών που συμμετέχουν στην πρωτεϊνοσύνθεση. Η διαδικασία της πρωτεϊνοσύνθεσης περιλαμβάνει την αποκωδικοποίηση της πληροφορίας που μεταφέρει το mRNA σε μορφή τριπλετών με τη βοήθεια ειδικών για κάθε τριπλέτα tRNAs που μεταφέρουν το αντίστοιχο αμινοξύ. Τα κύρια συστατικά για την παραγωγή ενός πολυπεπτιδίου είναι το **mRNA**, τα **tRNAs** που μεταφέρουν τα αμινοξέα και η “μηχανή σύνθεσης” που είναι το **ριβόσωμα** και το οποίο αποτελείται από το rRNA και από πρωτεΐνες.

Η σύνθεση των πολυπεπτιδίων κατά την πρωτεϊνοσύνθεση προχωρά στην κατεύθυνση από το αμινοτελικό (NH_2 -) προς το καρβόξυ ($-\text{COOH}$) τελικό άκρο, δεδομένου ότι τα ριβοσώματα “διαβάζουν” το mRNA κατά τη κατεύθυνση $5' \rightarrow 3'$ και όχι στην κατεύθυνση $3' \rightarrow 5'$.

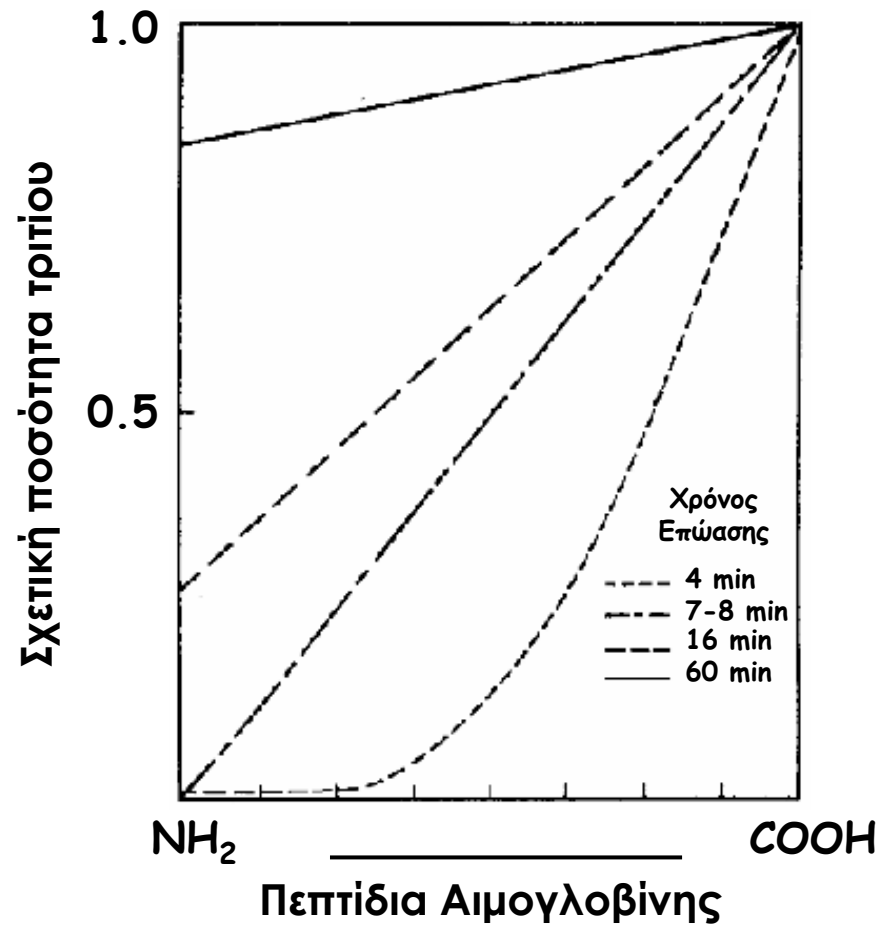
Γνωρίζοντας το γενετικό κώδικα και δεδομένου ότι η τριπλέτα AAC κωδικοποιεί για Asn, η τριπλέτα CAA για Gln και η τριπλέτα AAA για Lys αν σε ένα ελεύθερο σύστημα μετάφρασης προστεθεί τεχνητό mRNA αποτελούμενο από poly-A με μια βάση C στο $3'$ άκρο τότε οι δυνατοί συνδυασμοί πεπτιδίων είναι:

$5' \text{-AAAAAA(AAA)nAAC-}3' \rightarrow \text{Lys-Lys-(Lys)n-Asn} \quad [5' \rightarrow 3']$

$3' \text{-CAAAAA(AAA)nAAA-}5' \rightarrow \text{Gln-Lys-(Lys)n-Lys} \quad [3' \rightarrow 5']$

Η απομόνωση του πρώτου αμινοξέος απέδειξε την κατεύθυνση της μετάφρασης

Παράλληλα όπως αποδείχθηκε από τα κλασσικά πειράματα του Dintzis το 1961 τα αμινοξέα δεν τοποθετούνται σε μια προϋπάρχουσα μήτρα. Ο ερευνητής αυτός συνέθεσε αιμογλοβίνη στο δοκιμαστικό σωλήνα χρησιμοποιώντας ένα σύστημα δικτυοερυθροκυττάρων. Μετά την έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης πρόσθεσε Leu σημασμένη με H^3 και στη συνέχεια δημιούργησε πεπτιδικά κομμάτια πρωτεολύοντας την αιμογλοβίνη με τρυψίνη. Αναλύοντας στη συνέχεια τα κομμάτια που προέκυψαν όσον αφορά τη σχετική ποσότητα ραδιενέργειας παρατήρησε ότι υπάρχει μια κλίση συγκέντρωσης σημασμένων μορίων από το καρβόξυ προς το αμινοτελικό άκρο που σημαίνει ότι η σύνθεση προχωρά προς αυτή τη κατεύθυνση.

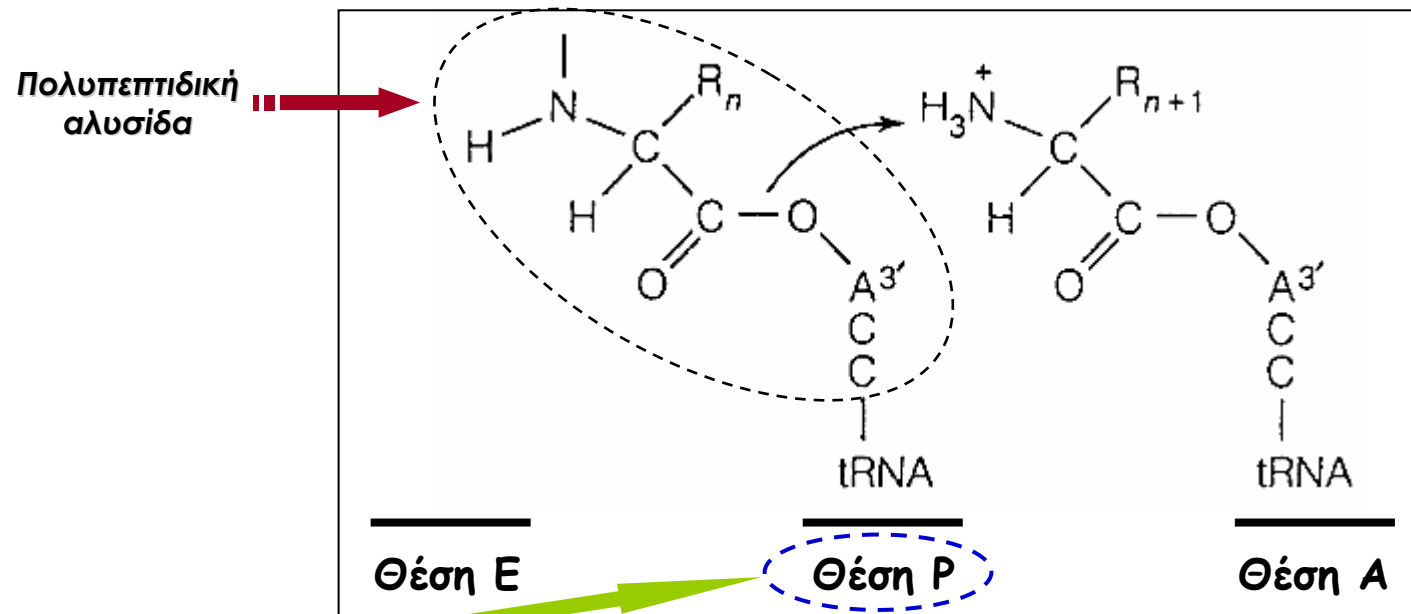


Ενσωμάτωση της ραδιενεργής Leu στην αιμογλοβίνη μετά από διαφορετικές περιόδους επώασης. Παρατηρείται μια κλίση από το C- προς το N-άκρο της πρωτεΐνης που σημαίνει ότι η πρωτεϊνοσύνθεση λαμβάνει χώρα σειριακά από το NH₂- προς το COOH- άκρο. Καθώς ο χρόνος επώασης αυξάνει η συνολική ποσότητα ραδιενέργειας αυξάνει αλλά η κλίση παραμένει. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν η αναλογία σημασμένου H³ στη Leu προς ένα εσωτερικό μάρτυρα C¹⁴.

Η επιμήκυνση της νεοσυντιθέμενης πολυπεπτιδικής αλυσίδας συνδέει το αυξανόμενο πολυπεπτίδιο με το εισερχόμενο αμινο-ακυλο-tRNA και η νεοσυντιθέμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα είναι προσδεμένη σε ένα μόριο tRNA και όχι σε μια πρωτεΐνη ή ένα μόριο mRNA. Έτσι, αν σε σύστημα ελεύθερης μετάφρασης με τεχνητό poly-A mRNA προστεθεί H^3 -Lys και μετά από κάποιο χρονικό διάστημα διακοπεί η διαδικασία πρωτεϊνοσύνθεσης με διάλυμα υψηλού αλατιού που θα προκαλέσει αποσύνδεση των ριβοσωμικών υπομονάδων **η μεγιστη συγκέντρωση ραδιενέργειας πάντοτε θα βρεθεί στο κλάσμα των tRNAs**.

Οι δυνατές θέσεις πρόσδεσης των tRNAs στο ριβόσωμα είναι τρεις.

Η **θέση A** στην οποία προσδένεται το εισερχόμενο αμινο-ακυλο tRNA (aminoacyl-tRNA) (**Acceptor site**), η **θέση P** που συγκρατεί το πεπτιδυλο-tRNA (**peptidyl-tRNA**) το οποίο είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένο με την αυξανόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα (Peptidyl site) και η **θέση E** στην οποία προσδένεται παροδικά το εξερχόμενο αποακυλιωμένο tRNA (**Exit site**).



Κωδικόνιο
Εναρξης

Οι τρεις θέσεις E (**Εξοδος, Exit**), P (**Πεπτιδυλο-, Peptidyl**) και A (**Δέκτης, Acceptor**) του ριβοσώματος και το εισερχόμενο tRNA.

Τα στάδια σύνθεσης μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας σε ΟΛΟΥΣ τους κυτταρικούς τύπους (προκαρυωτικά – ευκαρυωτικά κύτταρα) είναι τρία.

- ΕΝΑΡΞΗ
- ΕΠΙΚΗΚΥΝΣΗ
- ΛΗΞΗ

ΈΝΑΡΞΗ

Λαμβάνει χώρα μόνο μία φορά ανά πολυπεπτιδική αλυσίδα και προϋποθέτει την αυτοσυγκρότηση του ενεργού ριβοσώματος και την ανάγνωση του πρώτου κωδικονίου του mRNA (κωδικόνιο ΕΝΑΡΞΗΣ).

Τα ειδικά σινιάλα για την έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης είναι το κωδικόνιο ΕΝΑΡΞΗΣ στο mRNA, το οποίο τόσο στα προκαρυωτικά όσο και στα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι το AUG (πολύ πιο σπάνια στα προκαρυωτικά κύτταρα έναρξη μπορεί να προκληθεί και από τα κωδικόνια GUG και UUG).

Μετά την ολοκλήρωση της σύνθεσης της πρωτεΐνης η Met του N-άκρου αποκόπτεται

Προκαρυωτικά κύτταρα

- Προκειμένου να διακριθεί το κωδικόνιο έναρξης AUG από τα κωδικόνια AUG που κωδικοποιούν για εσωτερικές Met ή από κωδικόνια AUG σε άλλα πλαίσια ανάγνωσης **το κωδικόνιο έναρξης AUG στα προκαρυωτικά κύτταρα έπεται μιας πολύ συντηρημένης ακολουθίας στο 5' άκρο του mRNA που αποτελεί το σημείο πρόσδεσης στο ριβόσωμα.**

- Η ακολουθία αυτή ονομάζεται ακολουθία **Shine-Dalgarno**, είναι πλούσια σε πουρίνη, αποτελείται από 3-10 νουκλεοτίδα και προηγείται του κωδικονίου έναρξης περίπου 10 νουκλεοτίδια σε σχέση με το 5' άκρο. Η ακολουθία Shine-Dalgarno **σχηματίζει δεσμούς με μια πολύ συντηρημένη περιοχή πλούσια σε πυριμιδίνες του 16S rRNA** που είναι μέρος της ριβοσωμικής υπομονάδας 30S.

Ο σχηματισμός των δεσμών αυτών ευθυγραμμίζει το κωδικόνιο έναρξης AUG στη θέση P της 30S ριβοσωμικής υπομονάδας.

Στα προκαρυωτικά κύτταρα υπάρχουν 3 παράγοντες έναρξης που ονομάζονται **IF1, IF2, και IF3 (initiation factors)** και καταλύουν την αυτοσυγκρότηση ενός ενεργού ριβοσώματος και τη τοποθέτηση του πρώτου **fMet-tRNA^{fMet}**.

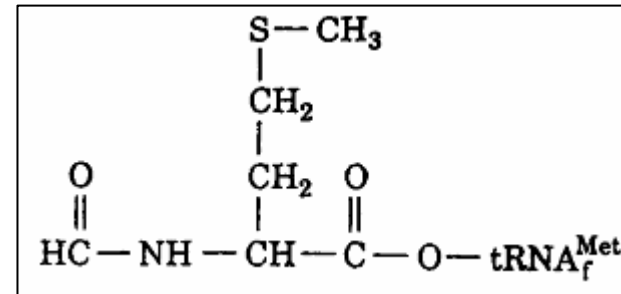
Πιο συγκεκριμένα ο παράγων **IF3** προσδένεται στην υπομονάδα 30S και προωθεί την αποσύνδεση της 30S από την υπομονάδα 50S και την συνεπακόλουθη πρόσδεση του mRNA. Ο **IF1** βοηθά τον IF3 αυξάνοντας το ρυθμό αποσύνδεσης μεταξύ των υπομονάδων 30S και 50S, ενώ τέλος ο **IF2** σχηματίζοντας σύμπλοκο με το GTP, προσδένεται στο fMet-tRNA^{fMet} **και το τοποθετεί στη θέση P της υπομονάδας 30S**. Στη συνέχεια ο IF3 απελευθερώνεται προκαλώντας την υδρόλυση του GTP σε GDP, που στη συνέχεια απελευθερώνει το IF2-GDP. **Η υδρόλυση του GTP προωθεί την απελευθέρωση του IF1 και τη συνεπακόλουθη σύνδεση της υπομονάδας 30S με την υπομονάδα 50S.**

Το ειδικό tRNA που χρησιμοποιείται για να τοποθετήσει τη πρώτη Met φέρει πάντα μια φορμυλιωμένη μεθειονίνη [formyl-methionine (fMet)].

Το tRNA αυτό ονομάζεται fMet-tRNA και διαφέρει από όλα τα άλλα tRNAs κατά ένα λιγότερο ζεύγος βάσεων στη περιοχή δέκτη (acceptor stem) και κατά τρία συνεχόμενα G:C ζεύγη βάσεων στην περιοχή του αντικωδικονίου. Οι αλλαγές αυτές μεταβάλλουν τη τρισδιάστατη δομή του fMet-tRNA.

Τα fMet-tRNA^{fMet} και το Met-tRNA^{Met} αναγνωρίζουν και τα δύο το κωδικόνιο AUG ενώ η Met προσδένεται και στα δύο tRNA από την ίδια methionyl-tRNA συνθετάση.

Παρόλα αυτά από τη στιγμή που η Met θα προσδεθεί σε ένα από τα δύο tRNA ένα ειδικό ένζυμο που ονομάζεται **formyl transferase, και το οποίο αναγνωρίζει μόνο το εναρκτήριο tRNA-fMet προσθέτει μια φορμυλομάδα στο άζωτο του αμιδίου**. Επειδή το N του αμιδίου είναι τώρα μπλοκαρισμένο για οποιαδήποτε περαιτέρω αντίδραση το αμινοξύ αυτό μπορεί τώρα να τοποθετηθεί μόνο στην αρχή της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

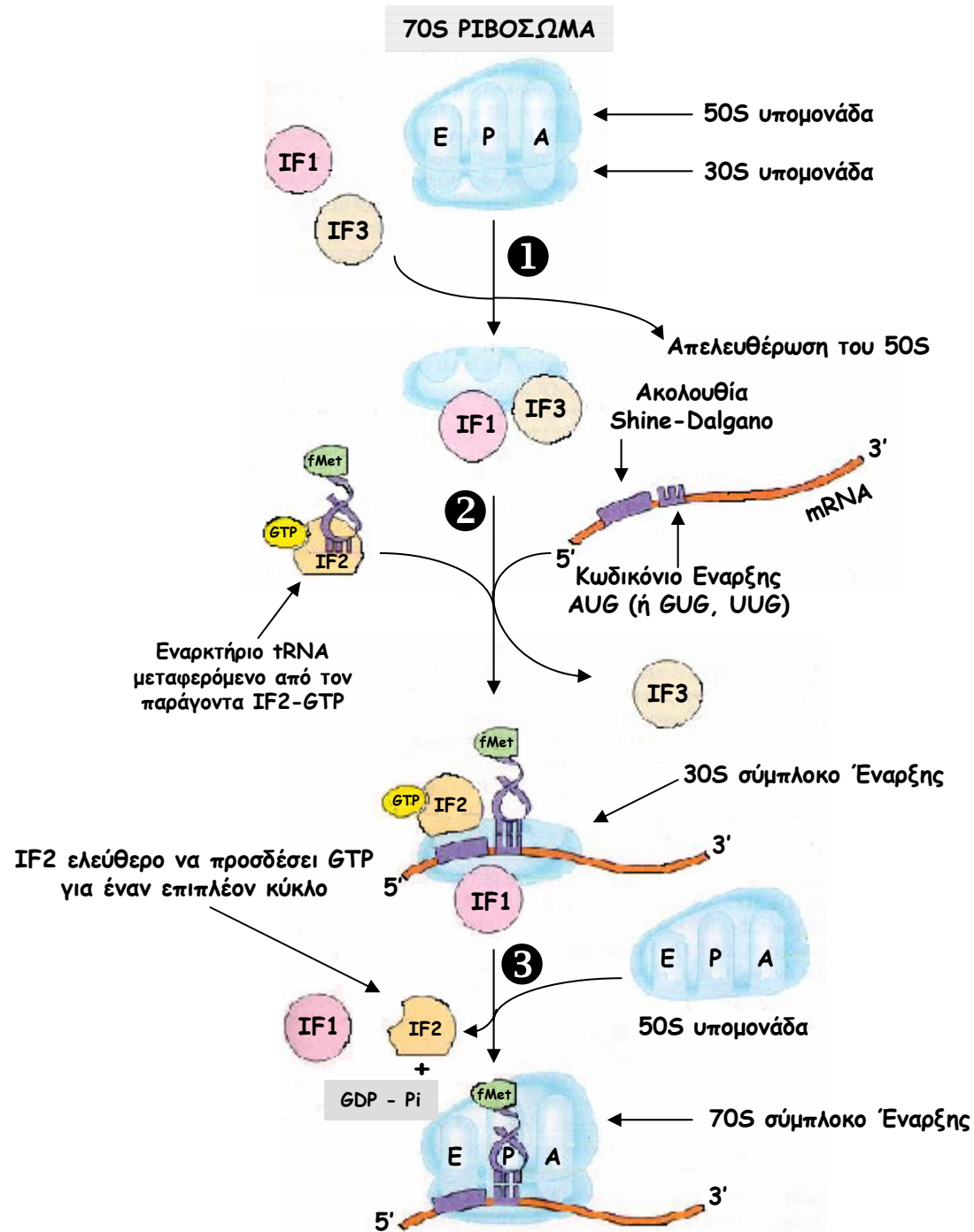


N-Formylmethionine-tRNA_f^{Met} (fmet-tRNA_f^{Met})

Χημική δομή του εναρκτήριου tRNA f-Met-tRNA^{fMet} στα βακτηριακά κύτταρα.

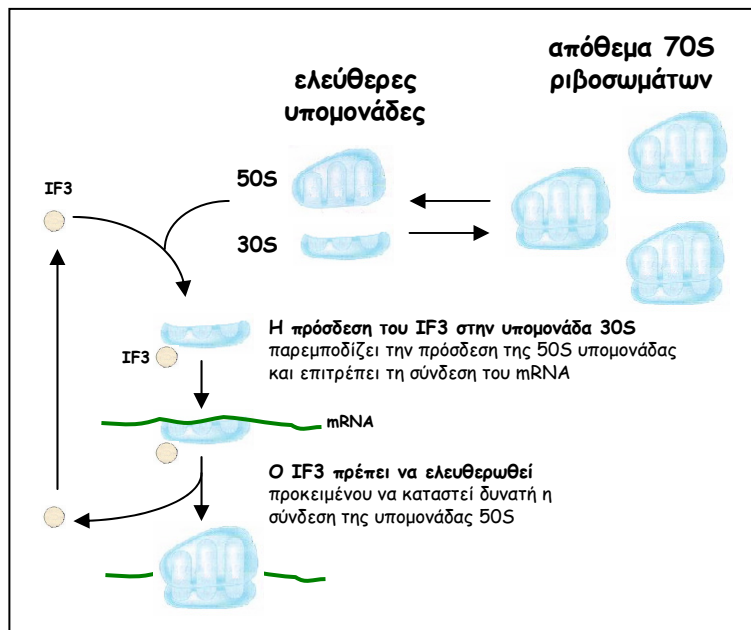
Κατά τη διαδικασία έναρξης της πρωτεϊνοσύνθεσης στα προκαρυωτικά κύτταρα:

1. Η πρόσδεση των IF1 και IF3 σε ένα άδειο 70S ριβόσωμα το αποσυνδέει στις υπομονάδες 50S και 30S.
2. (α). Η 5' περιοχή του mRNA που πρόκειται να μεταφραστεί προσδένεται στην ελεύθερη 30S ριβοσωμική υπομονάδα και ο IF3 απελευθερώνεται. (β) Το εναρκτήριο fMet-tRNA^{fMet} που μεταφέρεται από τον παράγοντα IF2-GTP προσδένεται στη θέση P της ριβοσωμικής υπομονάδας 30S.
3. Η ελεύθερη ριβοσωμική υπομονάδα 50S προσδένεται στο σύμπλοκο 30S και οι παράγοντες IF1 και IF2-GDP+P_i απελευθερώνονται. Θα πρέπει να αναφέρουμε ότι αρκετές λεπτομέρειες της διαδικασίας έναρξης της πρωτεϊνοσύνθεσης στα προκαρυωτικά παραμένουν άγνωστες για παράδειγμα η σειρά πρόσδεσης των IF1, IF2, IF3, tRNA, και mRNA.



Σχηματική αναπαράσταση της δημιουργίας του συμπλόκου **ΕΝΑΡΞΗΣ** στα προκαρυωτικά κύτταρα.

❶ Οι IF1 (initiation factor 1) και IF3 (initiation factor 3) παράγοντες προσδένονται στην 30S υπομονάδα, προκαλώντας την αποσύνδεση του 50S συμπλόκου. ❷ Προσελκύεται το mRNA και το εναρκτήριο tRNA που μεταφέρεται από το IF2-GTP τα οποία προσδένονται στην 30S υπομονάδα προκαλώντας την αποδέσμευση του IF3. ❸ Υδρόλυση του GTP και επαναπροσέγγιση της 50S υπομονάδας. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι συγκεκριμένες λεπτομέρειες παραμένουν άγνωστες αφού για παράδειγμα η ακριβής σειρά πρόσδεσης των IF1, IF2, IF3, tRNA και mRNA δεν είναι γνωστή.



Τα βακτηριακά ριβοσώματα εμπλέκονται στην πρωτεϊνοσύνθεση αποκλειστικά ως 70S σωματίδια.

Μετά τη λήξη της πρωτεϊνοσύνθεσης απελευθερώνονται από το mRNA ως ελεύθερα ριβοσώματα. Στα βακτήρια που αναπτύσσονται ταχέως η πλειοψηφία των ριβοσωμάτων συνθέτουν πρωτεΐνες. **Μόνο ένα ποσοστό περίπου 20% των ριβοσωμάτων του κυττάρου απαντώνται ως ελεύθερα ριβοσώματα.** Τα ελεύθερα ριβοσώματα μπορούν να διαχωριστούν στις δύο υπομονάδες 30S και 50S και είναι σε δυναμική ισορροπία με τις ελεύθερες 30S και 50S υπομονάδες. **Η έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης δεν αποτελεί λειτουργία των 70S ριβοσωμάτων αλλά επιτυγχάνεται από τις διαχωρισμένες 30S και 50S υπομονάδες που επανασυνδέονται κατά την αντίδραση Έναρξης της πρωτεϊνοσύνθεσης.**

Ευκαρυωτικά κύτταρα

Ομοιότητες:

- Όπως στα προκαρυωτικά κύτταρα, έτσι και στα ευκαρυωτικά κύτταρα υπάρχουν δυο διαφορετικές Met tRNAs.
- Όπως και στα βακτήρια η έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης αρχίζει με τη δημιουργία του προ-εναρκτήριου συμπλέγματος πριν από την πρόσδεση του mRNA.
- Το tRNA-iMet μπορεί να αρχίσει τη μετάφραση ενώ το tRNA-Met όχι αφού μόνο το πρώτο μπορεί να συνδεθεί στη θέση P, ενώ το *tRNAMet* μπορεί να συνδεθεί μόνο στη θέση A.
- Θα πρέπει να σημειωθεί ότι αν και η ίδια αμινοακυλο-τρανσφεράση φορτίζει και τα δύο tRNA, μόνο το tRNA που περιέχει την ενεργοποιημένη Met tRNA-iMet μπορεί να προκαλέσει έναρξη.

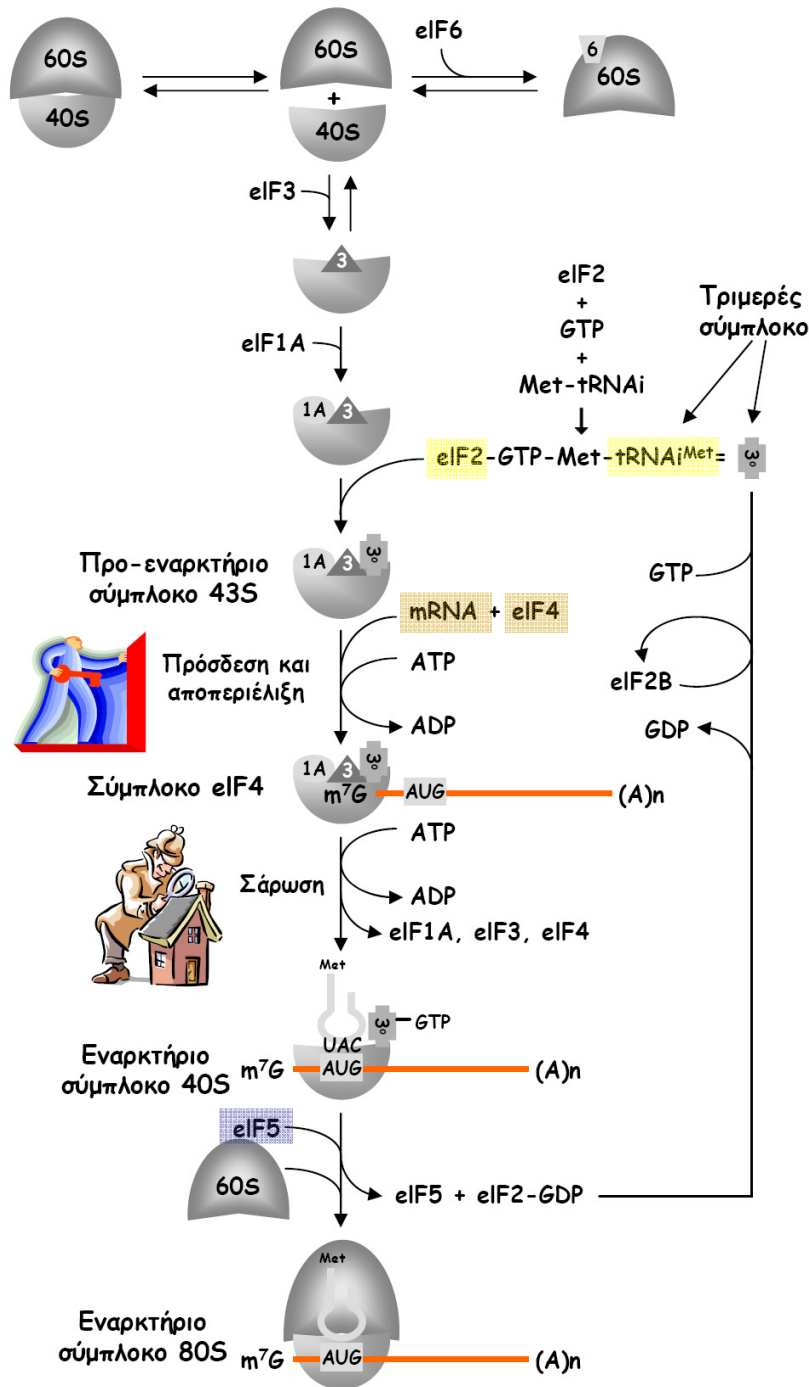
Διαφορές:

- Στα ευκαρυωτικά κύτταρα η αμινο ομάδα της μεθιονίνης tRNA-iMet δεν τροποποιείται με την πρόσδεση μιας φορμυλομάδας όπως στα προκαρυωτικά αν και μερικές φορές αναφέρεται σαν fMet-tRNAiMet.

- Δυο παράγοντες ο **eIF3** (μεγάλη πολυμερής πρωτεΐνη με περίπου 8 υπομονάδες) και ο **eIF6** αποτρέπουν την ένωση των 60S και 40S ριβοσωμικών υπομονάδων. Προκειμένου να δημιουργηθεί το προ-εναρκτήριο σύμπλοκο ένας ενεργός **eIF2** που φέρει προσδεμένο ένα μόριο GTP και ένα Met-tRNAiMet συνδέεται με τη 40S ριβοσωμική υπομόναδα ή οποία είναι ήδη συνδεδεμένη με τους παράγοντες eIF3 και **eIF1A** που σταθεροποιούν περαιτέρω τη πρόσδεση του συμπλόκου. **Τα κύτταρα μπορούν να ρυθμίζουν τη πρωτεϊνοσύνθεση μέσω φωσφορυλίωσης ενός καταλοίπου Ser της υπομονάδας eIF2B που είναι προσδεμένη σε GDP.** Το σύμπλοκο αυτό δε μπορεί στη συνέχεια να προσδέσει tRNAiMet οπότε επάγεται αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης.

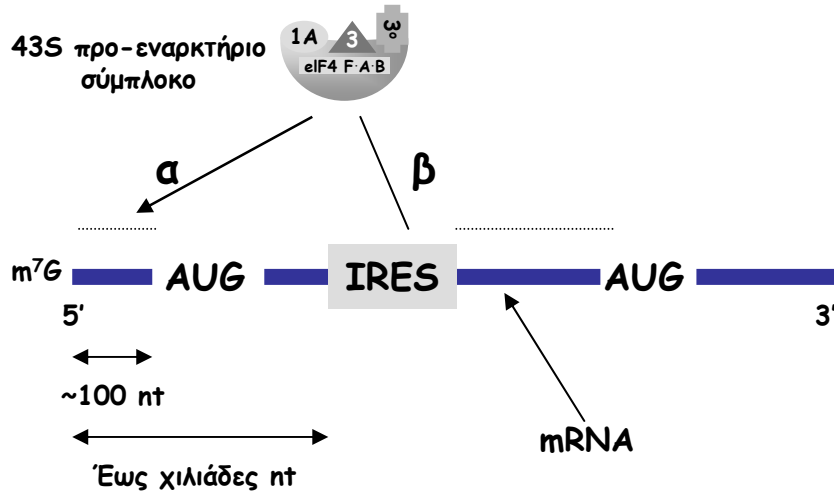
- **Η αναγνώριση του σημείου έναρξης της μετάφρασης** είναι διαφορετική στα ευκαρυωτικά κύτταρα σε σχέση με τα βακτήρια. Τα πιο πολλά ευκαρυωτικά mRNAs έχουν ένα μοναδικό σημείο έναρξης κοντά στο 5' καλυμμένο άκρο (capped end) του mRNA. Η αλληλεπίδραση της μικρής ριβοσωμικής υπομονάδας **με τη μεθυλιωμένη 5'-cap δομή που είναι παρούσα σε όλα τα ευκαρυωτικά mRNAs** απαιτεί μια σειρά από πρωτεΐνες που συνολικά ονομάζονται **eIF4**. Μετά την αναγνώριση της μεθυλιωμένης δομής του καλύμματος όλες οι δευτεροταγείς δομές στο 5' άκρο απομακρύνονται μέσω μιας δράσης ελικάσης. Τότε το ήδη προσδεμένο προ-εναρκτήριο σύμπλεγμα που περιέχει τις **eIF3** πρωτεΐνες πιθανότατα γλιστρά κατά μήκος του mRNA και σχεδόν πάντα σταματά στο πρώτο AUG.

- **Η επιλογή του εναρκτήριου AUG** επιτυγχάνεται μέσω ειδικών αλληλουχιών που περιβάλλουν το AUG και οι οποίες ονομάζονται **αλληλουχίες Kozak** (από την Marilyn Kozak που τις χαρακτήρισε) και οι οποίες είναι οι 5' – **ACCAUGG-3'**. Η A που προηγείται του κωδικονίου έναρξης AUG φαίνεται ότι είναι το πιο σημαντικό νουκλεοτίδιο όσον αφορά την αποτελεσματικότητα της έναρξης. **Κατά την επιλογή του κωδικονίου έναρξης υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ του eIF3 συμπλόκου της 40S ριβοσωμικής υπομονάδας και της eIF4G υπομονάδας του eIF4 συμπλόκου.** Η σάρωση του mRNA από το προ-εναρκτήριο σύμπλοκο τελικά δημιουργεί το 40S εναρκτήριο σύμπλοκο στο οποίο το tRNAiMet είναι σωστά τοποθετημένο στο σημείο έναρξης της μετάφρασης. Στη συνέχεια η προσέλκυση και η ένωση με τη μεγάλη 60S υπομονάδα ολοκληρώνει το σχηματισμό του 80S συμπλόκου έναρξης.



Σχηματική αναπαράσταση της δημιουργίας του συμπλόκου **ΕΝΑΡΞΗΣ** στα ευκαρυωτικά κύτταρα.

Για τη δημιουργία του συμπλόκου έναρξης ακολουθείται μια συγκεκριμένη σειρά γεγονότων ενώ οι ριβοσωμικές υπομονάδες (μικρή και μεγάλη) **θα πρέπει να παραμείνουν διαχωρισμένες σχεδόν σε όλα στάδια της διαδικασίας αυτής**. Δυο παράγοντες ο **eIF3** (μια μεγάλη πολυμερής πρωτεΐνη με περίπου 8 υπομονάδες) και ο **eIF6** εκπληρώνουν αυτήν την προϋπόθεση. Το 43S προ-εναρκτήριο σύμπλοκο σχηματίζεται όταν το τριμερές σύμπλοκο του **eIF2** που είναι προσδεμένος σε GTP και Met-tRNA^{iMet} συνδέεται με τη μικρή ριβοσωμική υπομονάδα πάνω στην οποία είναι ήδη προσδεμένοι οι παράγοντες eIF3 και **eIF1A**. Οι παράγοντες eIF3 και eIF1A συμμετέχουν στην περαιτέρω σταθεροποίηση του τριμερούς συμπλόκου (το ανενεργό σύμπλοκο eIF2-GDP δεν μπορεί να προσδέσει το Met-tRNA^{iMet}, ενώ είναι επίσης δυνατόν να είναι φωσφορυλιωμένο οπότε και πάλι αναστέλλεται η έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης). Το 5' κάλλυμα (m⁷G) του mRNA που πρόκειται να μεταφραστεί οδηγείται στο προ-εναρκτήριο σύμπλοκο μέσω μιας υπομονάδος της πολυμερούς πρωτεΐνης **eIF4** που μεταξύ των άλλων αποπεριελίσσει και όποια δευτεροταγή δομή υπάρχει στο 5' άκρο του mRNA. Η συνεπακόλουθη σάρωση του mRNA από τη μικρή ριβοσωμική υπομονάδα (υποβοηθούμενη από τους παράγοντες eIF3 και eIF4G) τοποθετεί το εναρκτήριο tRNA στο κωδικόνιο έναρξης AUG δημιουργώντας αφενός το εναρκτήριο σύμπλοκο 40S και αφετέρου απελευθερώνοντας τους παράγοντες eIF1A, eIF3 και eIF4. Με το Met-tRNA^{iMet} σωστά τοποθετημένο στο κωδικόνιο έναρξης ένας άλλος παράγων ο **eIF5** υποβοηθά την ένωση των υπομονάδων 40S και 60S, μέσω υδρόλυσης του GTP στον παράγοντα eIF2-GTP. Η υδρόλυση του GTP παρέχει την απαραίτητη ενέργεια για την ένωση των δύο ριβοσωμικών υπομονάδων. Οι παράγοντες eIF5 και eIF2-GDP στη συνέχεια ελευθερώνονται αφήνοντας πίσω το τελικό 80S σύμπλοκο με το Met-tRNA^{iMet} στη θέση P. Το σύμπλοκο μπορεί τώρα να δεχθεί το δεύτερο αμινοάκυλο-tRNA.



- Μερικά ιικά mRNAs τα οποία μεταφράζονται από τη μηχανή του ξεριστή (μολυσμένα ευκαρυωτικά κύτταρα) δεν έχουν 5'-κάλυμα. Η μετάφραση στη περίπτωση αυτή αρχίζει σε εσωτερικά σημεία εισόδου του ριβοσώματος [internal ribosome entry sites (IRESs)].

- Πρόσφατα δε βρέθηκε ότι και ορισμένα κυτταρικά mRNAs μπορεί να μεταφραστούν μέσω έναρξης σε θέσεις IRESs και παρόλο ότι πολλά από τα σύμπλοκα που περιγράφηκαν χρησιμοποιούνται στα IRESs ο ακριβής μηχανισμός αναγνώρισης των IRESs από το μηχανισμό μετάφρασης δεν είναι γνωστός.

Η έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης στα ευκαρυωτικά κύτταρα εκτός από το 5' καλυμμένο άκρο μπορεί να ξεκινήσει και σε εσωτερικές ριβοσωμικές θέσεις εισόδου (IRESs).

Στη πρώτη περίπτωση (α) το 43S προ-εναρκτήριο σύμπλοκο προσδένεται στη δομή του καλύμματος στο 5' άκρο (m⁷G) και στη συνέχεια γλιστρά (διακεκομμένη γραμμή) κατά μήκος του mRNA μέχρι να βρει ένα αποδεκτό AUG κωδικόνιο έναρξης συνήθως σε απόσταση περίπου 100 νουκλεοτιδίων (nt). Πολύ πιο σπάνια (β) το σύμπλοκο προσδένεται σε ένα IRES εντός της ακολουθίας του mRNA (το οποίο είναι πολύ μακριά από το 5' άκρο) και στη συνέχεια σαρώνει την ακολουθία προς το 3' άκρο μέχρι να "βρει" ένα κωδικόνιο έναρξης.

ΕΠΙΜΗΚΥΝΣΗ

Η επιμήκυνση της νεο-σχηματιζόμενης πολυπεπτιδικής αλυσίδας περιλαμβάνει τρία διακριτά στάδια για κάθε κωδικόνιο mRNA ή αμινοξύ που συνοπτικά είναι:

- 1. η μεταφορά του αμινο-ακυλο-tRNA από το κυτταρόπλασμα στη θέση A του ριβοσώματος**
- 2. Η ομοιοπολική σύνδεση των νέων αμινοξέων στην αυξανόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα (πεπτίδυλο-μεταφορά)**
- 3. Η μετακίνηση του tRNA από την A στη P θέση που συνδυάζεται με την ταυτόχρονη μετακίνηση του mRNA κατά 3 νουκλεοτίδια (μετατόπιση).**

Τα τρία αυτά στάδια λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια επιμήκυνσης μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας τόσες φορές όσα είναι τα κωδικόνια του mRNA. Ο κύκλος επιμήκυνσης είναι γενικά παρόμοιος σε προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά κύτταρα και προωθείται με σχετικά γρήγορο ρυθμό και πολύ μικρή συχνότητα λαθών. Ειδικότερα η μοναδική φάση περιορισμού όσον αφορά το ρυθμό μετάφρασης είναι η επιμήκυνση.

Μεταφορά του Αμινο-άκυλο-tRNA

Ένα μη-εναρκτηριο αμινο-άκυλο-tRNA τοποθετείται στη ριβοσωμική θέση A πάνω από το κωδικόνιο του mRNA με τέτοιο τρόπο ώστε να λάβει χώρα ζευγάρωμα βάσεων μεταξύ της λούπας αντι-κωδικονίου του tRNA και του κωδικονίου του mRNA.

Η μεταφορά του αμινο-άκυλο-tRNA καταλύεται από δύο διαλυτούς παράγοντες μεταφοράς που ονομάζονται **παράγοντες επιμήκυνσης** (*elongation factors*, **EF-Tu και EF-Ts** στα προκαρυωτικά).

Ειδικότερα ο EF-Tu προσδένει GDP και GTP και αποτελεί μια G πρωτεΐνη μοντέλο ενώ ο EF-Ts ανταλλάσσει το GDP για GTP στον EF-Tu.

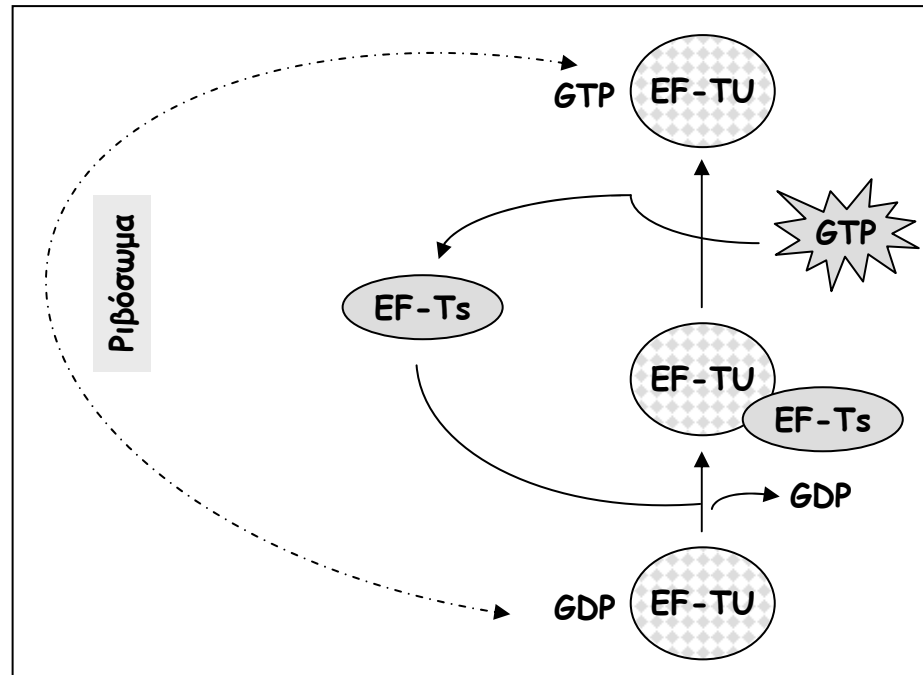
Οι παράγοντες επιμήκυνσης αυτοί είναι όμοιοι και στα ευκαρυωτικά κύτταρα, αν και αντί για δύο πρωτεΐνες στα κύτταρα αυτά υπάρχει ένα σταθερό τριμερές αποτελούμενο από τα eEF1-α, β, γ μόρια το οποίο φέρει σε πέρας την ίδια λειτουργία όπως και οι EF-Tu και EF-Ts. Ο παράγων eEF1-α είναι το ισοδύναμο στα ευκαρυωτικά του EF-Tu και ο eEF1-β-γ είναι το ισοδύναμο στα ευκαρυωτικά του EF-Ts.

Η μορφή EF-Tu-GDP είναι ανενεργή και ο EF-Ts ενεργοποιεί τον EF-Tu καταλύοντας την ανταλλαγή GDP για GTP. **Ο ενεργοποιημένος EF-Tu-GTP είναι η μορφή του μορίου που προσδένεται σε μη εναρκτηρία tRNAs στα οποία έχει ήδη προσδεθεί η αμινο-άκυλο ομάδα.** Στη συνέχεια το σύμπλοκο EF-Tu-GTP-αμινο-άκυλο-tRNA μεταφέρεται στο ριβόσωμα και το αμινο-άκυλο-tRNA προσδένεται στη θέση A. Η πρόσδεση αυτή στο ριβόσωμα διεγείρει την υδρόλυση του GTP σε GDP οπότε ο EF-Tu-GDP αποδεσμεύεται από το ριβόσωμα και παραμένει ελεύθερος να ανακυκλωθεί πολλαπλές φορές στο ίδιο βήμα επιμήκυνσης της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Όταν ένα φορτισμένο tRNA τοποθετείται στη θέση A το αντικωδικόνιο πρέπει να δημιουργήσει δεσμούς βάσεων με το κωδικόνιο του mRNA.

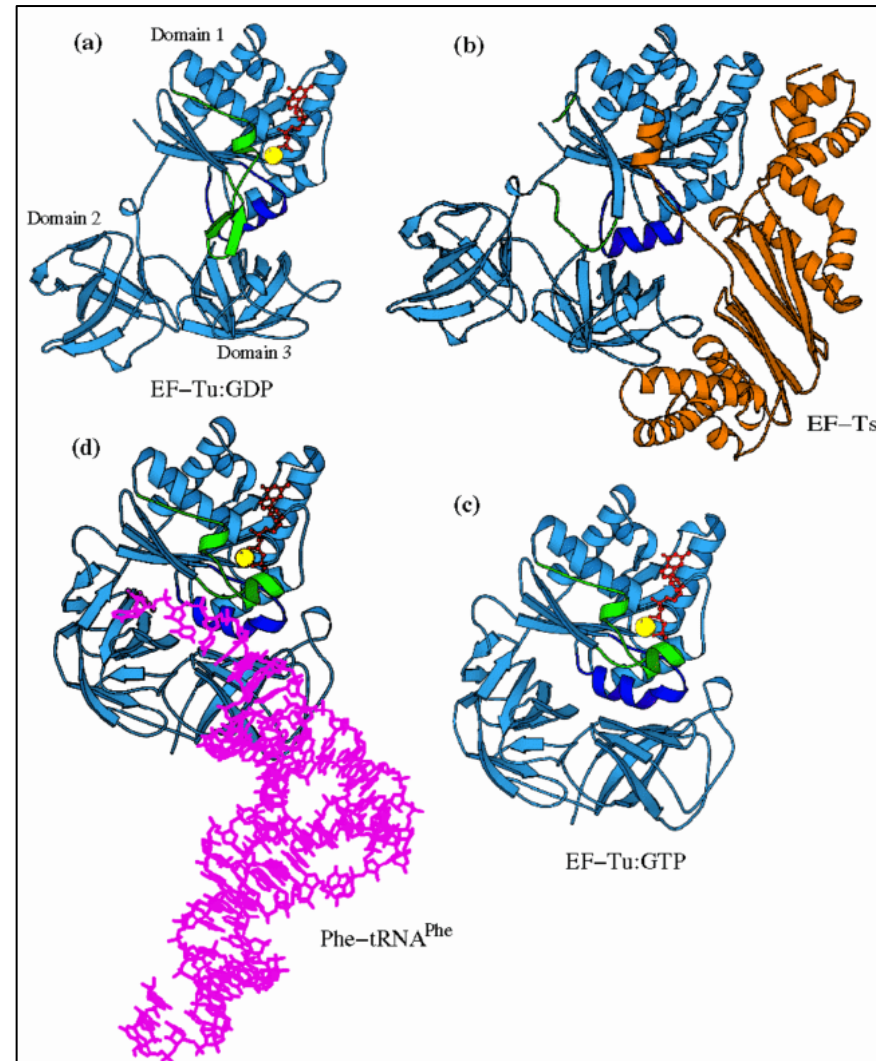
Εάν δημιουργηθεί μη σωστό ταίριασμα το λανθασμένο αμινο-άκυλο-tRNA αποδεσμεύεται από το ριβόσωμα πριν να λάβει χώρα η υδρόλυση του GTP.

Εάν όμως το ζευγάρωμα είναι σωστό το GTP υδρολύεται και ο EF-Tu-GDP αφήνει το ριβόσωμα πριν το σωστά ζευγαρωμένο αμινοάκυλο-tRNA μπορέσει να αποδεσμευτεί.

Θα πρέπει εδώ να σημειώσουμε ότι ο EF-Tu είναι μερικά υπεύθυνος για τη μεγάλη ακρίβεια της μετάφρασης μέσω ενός μηχανισμού που ονομάζεται **“κινητική πιστής ανάγνωσης”** που έχει σαν αποτέλεσμα **ο αριθμός λαθών να περιορίζεται σε 1 ανά 10.000 αμινοξέα που ενσωματώνονται σε κάθε πολυπεπτίδιο.** Ο EF-Tu είναι τόσο σημαντικός για την κυτταρική λειτουργία που είναι μια από τις πιο άφθονες πρωτεΐνες του κυττάρου (>5%), ενώ υπολογίζεται ότι υπάρχει ένα αντίγραφο της πρωτεΐνης EF-Tu για κάθε ένα μόριο tRNA του κυττάρου.



Ο κύκλος του παράγοντα EF-Tu. Η μορφή EF-Tu-GDP είναι ανενεργή. Οι EF-Ts ενεργοποιούν τον EF-Tu καταλύοντας την ανταλλαγή του GDP με GTP. **Ο EF-Tu-GTP είναι η ενεργή μορφή που προσδένει τα μη-εναρκτήρια tRNAs στα οποία έχει προσδεθεί μια αμινο-άκυλο ομάδα.** Το EF-Tu-GTP-αμινοάκυλο-tRNA στη συνέχεια μεταφέρεται στο ριβόσωμα. **Το σύμπλοκο προσδένεται στο ριβόσωμα με το αμινο-άκυλο tRNA στη θέση A.** Η πρόσδεση στο ριβόσωμα ενεργοποιεί την υδρόλυση του GTP και ο EF-Tu-GDP αποδεσμεύεται από το ριβόσωμα ελεύθερος να συμμετάσχει στους επόμενους κύκλους.



Ατομική δομή των συμπλόκων EF-Tu (a, c).

Η ομοιότητα της τεταρτοταγούς δομής του συμπλόκου EF-Tu:GDP με το σύμπλοκο EF-Ts (b) και του EF-Tu:GTP με το tRNA έναρξης Phe-tRNA^{Phe} (d) είναι εμφανής.

Πεπτιδυλο-μεταφορά ή Διαπεπτιδίωση

Στη συνέχεια η αυξανόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα που είναι προσδεμένη στο tRNA της θέσης P (peptidyl tRNA) συνδέεται ομοιοπολικά με το αμινοξύ που φέρει το tRNA το οποίο έχει προσδεθεί στη θέση A.

Με τον τρόπο αυτό δημιουργείται ένας πεπτιδικός δεσμός.

Το tRNA της θέσης P είναι τώρα απο-ακυλιωμένο και το tRNA της θέσης A είναι συνδεδεμένο ομοιοπολικά με την αυξανόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα.

Ο ακριβής μοριακός μηχανισμός του βήματος αυτού [σύμπλοκο της πεπτιδυλο-μεταφοράσης (peptidyltransferase complex)] είναι ακόμη σχετικά άγνωστος **αλλά όπως βρέθηκε πρόσφατα σε βακτηριακά κύτταρα πιθανότατα καταλύεται από μια περιοχή της 50S ριβοσωμικής υπομονάδας που πιθανότατα περιλαμβάνει μόνο 23S rRNA το οποίο καταλύει ενεργά το βήμα της πεπτιδυλο-μεταφοράς αν και ο τρόπος δράσης του είναι ακόμη άγνωστος**. Η αντίδραση δημιουργίας του πεπτιδικού δεσμού δηλαδή στην σχηματιζόμενη αλυσίδα πιθανότατα καταλύεται από rRNA. Βάσει της παρατήρησης αυτής προτάθηκε ότι το rRNA μπορεί να εμφανίσει ενεργότητα εντίστοιχη ενός ενζύμου και για αυτό ονομάστηκε ριβόζυμο (**ribozyme**).

Μετατόπιση

Το tRNA που βρίσκεται στη θέση-A μαζί με το αυξανόμενο πολυπεπτίδιο στη συνέχεια μετακινείται εντός του ριβοσώματος στη θέση P ενώ το απο-ακυλιωμένο tRNA της P θέσης μετακινείται στη θέση E.

Ταυτόχρονα το mRNA προχωρά ακριβώς 3 ριβονουκλεοτίδια ή κατά ένα κωδικόνιο.

Η διαδικασία απαιτεί την ύπαρξη ενός διαλυτού παράγοντα που ονομάζεται **παράγων επιμήκυνσης EF-G** ο οποίος είναι όμοιος αλλά πολύ μεγαλύτερος από τον EF-Tu.

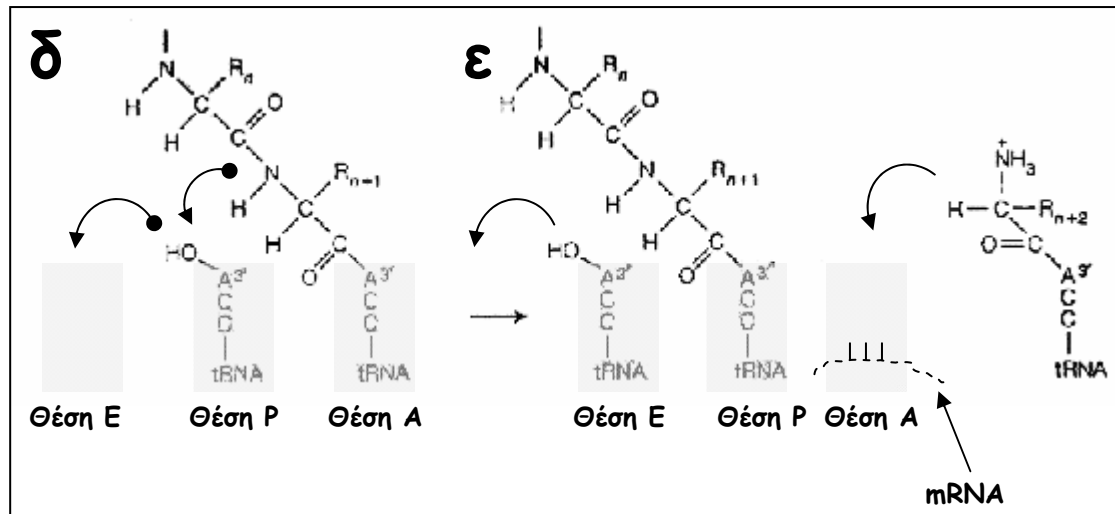
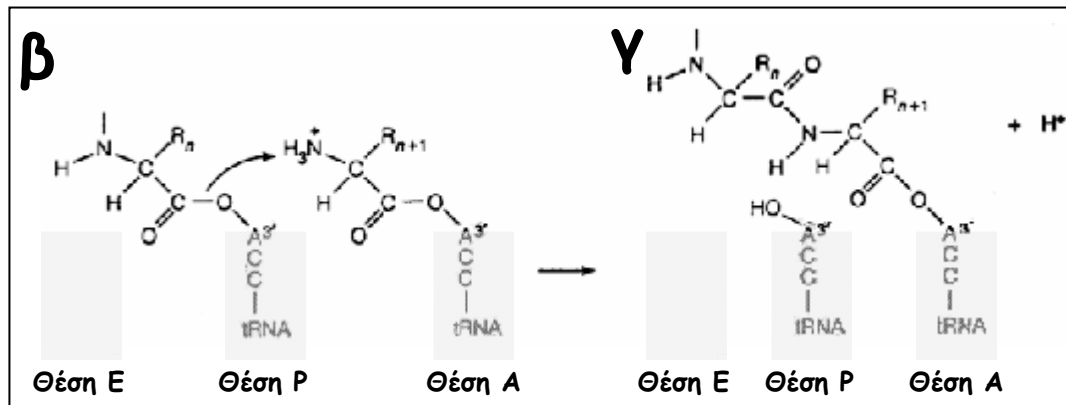
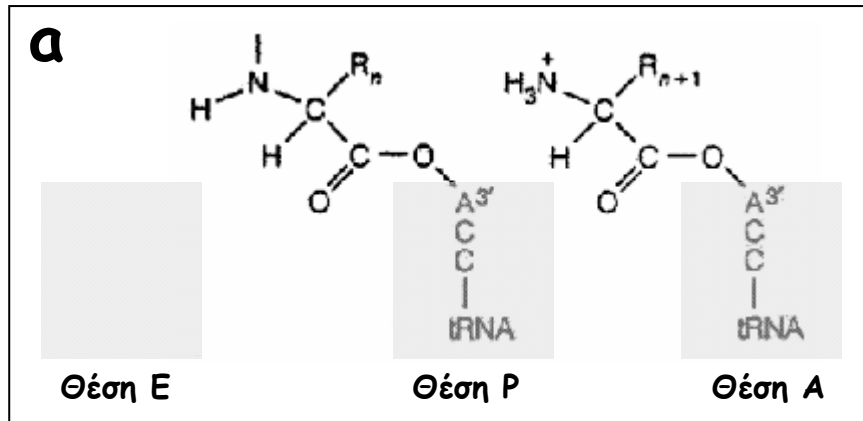
Ο EF-G είναι επίσης ενεργός όταν συμπλέκεται με GTP και η απαιτούμενη ενέργεια για τη μετατόπιση προκύπτει από την υδρόλυση του GTP.

Μετά την υδρόλυση του GTP ο EF-G-GDP απελευθερώνεται από το ριβόσωμα ενώ το tRNA που μεταφέρει την πολυπεπτιδική αλυσίδα είναι στη θέση P και το επόμενο κωδικόνιο mRNA είναι στη θέση A.

Το ριβόσωμα τώρα είναι έτοιμο να αρχίσει τον επόμενο κύκλο επιμήκυνσης για μια ακόμη φορά και να δεχθεί το επόμενο αμινο-άκυλο-tRNA (aa-tRNA) προκειμένου να προσθέσει ένα νέο αμινοξύ στην αυξανόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα μέχρι να εμφανιστεί μια τριπλέτα λήξης.

Είναι λοιπόν φανερό ότι η επιμήκυνση του πολυπεπτιδίου λαμβάνει χώρα σαν κύκλος. Φαίνεται ότι ο EF-G καταλύει τη δική του ανταλλαγή GDP και GTP αφού δεν έχουν βρεθεί μέχρι σήμερα διαλυτοί παράγοντες ανταλλαγής νουκλεοτιδίων γουανιδίνης.

Το ισοδύναμο του EF-G στα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι ο παράγων eEF2.

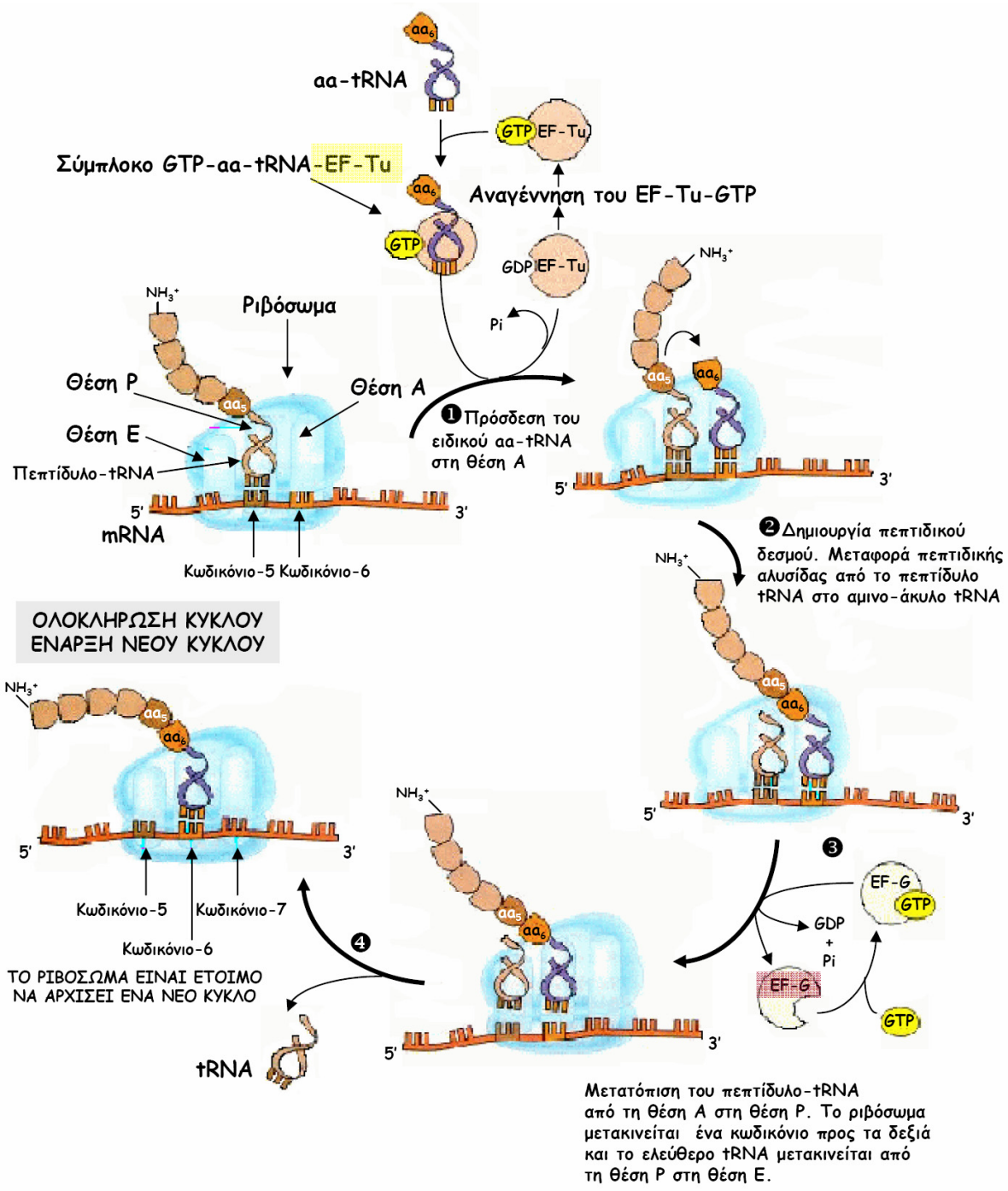


(α) Το σύμπλοκο **EF-Tu-GTP-αμινοακυλο-tRNA** μεταφέρεται στη θέση A του ριβοσώματος.

(β, γ) Η αυξανόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα πάνω στο tRNA της θέσης P συνδέεται ομοιοπολικά με το αμινοξύ της θέσης A (δηλαδή σχηματίζεται ένας πεπτιδικός δεσμός).

(δ) Το tRNA της θέσης A με την αυξανόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα στη συνέχεια μετακινείται εντός του ριβοσώματος στη θέση P ενώ το απο-ακυλιωμένο tRNA της P θέσης μετακινείται στη θέση E. Παράλληλα το mRNA μετακινείται κατά ακριβώς 3 νουκλεοτίδια ή ένα κωδικόνιο.

(ε) Μετά την υδρόλυση του GTP ο **EF-G-GDP** απελευθερώνεται από το ριβόσωμα, το tRNA που μεταφέρει τη πολυπεπτιδική αλυσίδα είναι στη θέση P και το επόμενο mRNA κωδικόνιο στη θέση A. Το ριβόσωμα τώρα μπορεί να επαναλάβει τον κύκλο μέχρι να βρεθεί ένα κωδικόνιο λήξης.



Η διαδικασία επιμήκυνσης της πολυπεπτιδικής αλυσίδας στο **προκαρυωτικό κύτταρο** αποτελεί έναν επαναλαμβανόμενο κύκλο.

Μετά από τη μετατόπιση ③ και την απελευθέρωση του άδειου tRNA ④ το ριβόσωμα είναι έτοιμο να δεχθεί το επόμενο αμινο-άκυλο tRNA (aa-tRNA) οπότε ο κύκλος μπορεί να επαναληφθεί μέχρι να εμφανιστεί ένα κωδικόνιο λήξης (δες κείμενο).

ΛΗΞΗ

Συμβαίνει μόνο μια φορά ανά πολυπεπτιδική αλυσίδα και περιλαμβάνει ανάγνωση του τελικού κωδικονίου mRNA (κωδικόνιο ΛΗΞΗΣ) και αποδέσμευση του πολυπεπτιδίου από το ριβόσωμα.

Το σινιάλο στο mRNA είναι τα κωδικόνια λήξης UAA, UAG, ή UGA ενώ δεν υπάρχουν tRNAs που να αναγνωρίζουν τα κωδικόνια αυτά.

Απαιτούνται επίσης μια σειρά από διαλυτούς παράγοντες απελευθέρωσης.

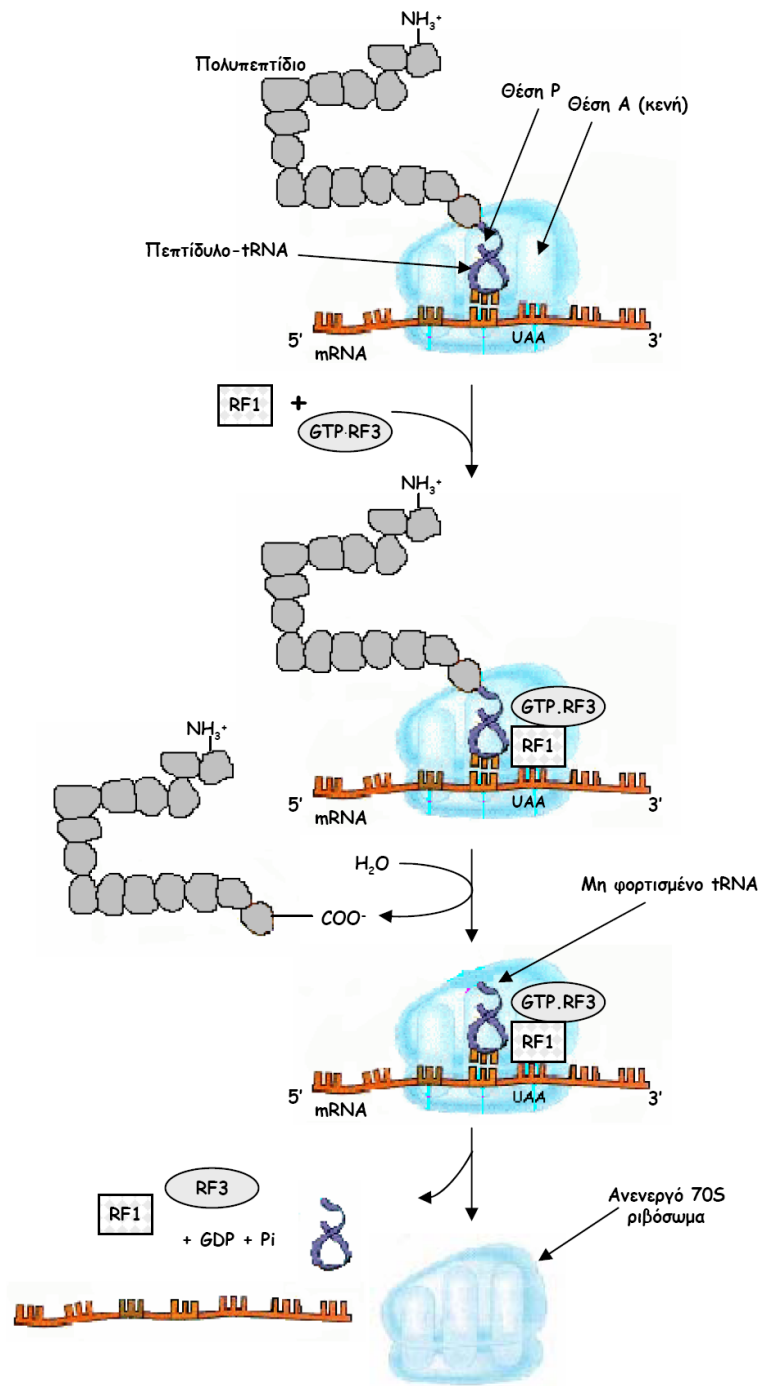
Οι παράγοντες αυτοί στα ριβοσώματα της *E. Coli* είναι ο **RF1** που αντιστοιχεί στα κωδικόνια λήξης UAA ή UAG και ο **RF2** που αντιστοιχεί στα κωδικόνια UAA ή UGA ενώ παράλληλα απαιτείται και ο παράγων **RF3**. **Ο RF3 είναι όπως και ο EF-Tu μια GTPase που προσδέεται στη θέση A και έχει όμοιο σχήμα με τα σύμπλοκα EF-Tu-GTP-αμινο-ακυλο-tRNA ή το EF-G.**

Το σύμπλοκο RF1/RF2 αλληλεπιδρά με το σύμπλοκο RF3-GTP και η υδρόλυση του GTP καθοδηγεί τη κίνηση του mRNA κωδικονίου ΛΗΞΗΣ εντός της θέσης P, μετακινώντας το τελευταίο tRNA στη θέση E και τελικά εκτός του ριβοσωματος.

Την ίδια στιγμή η πολυπεπτιδική αλυσίδα ελευθερώνεται μετά την υδρόλυση του δεσμού tRNA-πεπτίδιο.

Στα **ευκαρυωτικά κύτταρα** μόνο ένα παράγων απελευθέρωσης είναι απαραίτητος.

Ο παράγων αυτός ονομάζεται eRF, αναγνωρίζει και τα τρία κωδικόνια λήξης και αλληλεπιδρά με GTP.



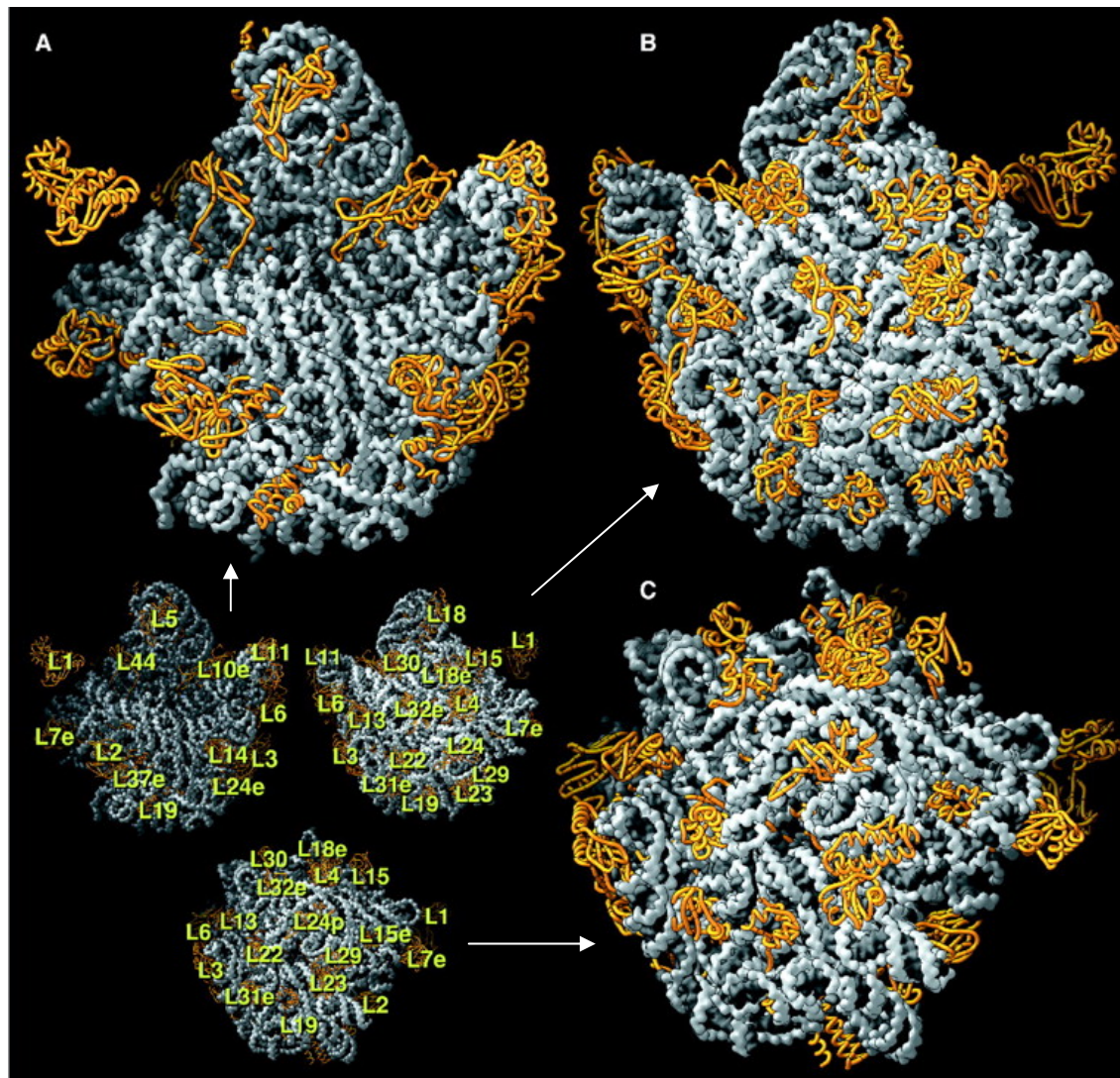
Το μονοπάτι ΛΗΞΗΣ στα ριβοσώματα της *E. coli*.

Από τους “παράγοντες ελευθέρωσης” ο **RF-1** αναγνωρίζει τα κωδικόνια λήξης UAA και UAG ενώ ο **RF-2** τα κωδικόνια UAA και UGA.

Στα ευκαρυωτικά κύτταρα η ΛΗΞΗ ακολουθεί ένα ανάλογο μονοπάτι αλλά απαιτεί μόνο ένα παράγοντα απελευθέρωσης, τον eRF, που αναγνωρίζει και τα 3 κωδικόνια λήξης.

Αν στη θέση θέση Α εμφανιστεί τριπλέτα λήξης τότε αντί για tRNA στη θέση αυτή δεσμεύεται ο παράγων ελευθέρωσης και η πεπτιδυλο-μεταφοράση αντί για πεπτιδικό δεσμό μεταφέρει ένα μόριο νερού στο καρβοξυτερματικό άκρο του τελευταίου αμινοξέως το οποίο απελευθερώνεται από το ριβόσωμα.

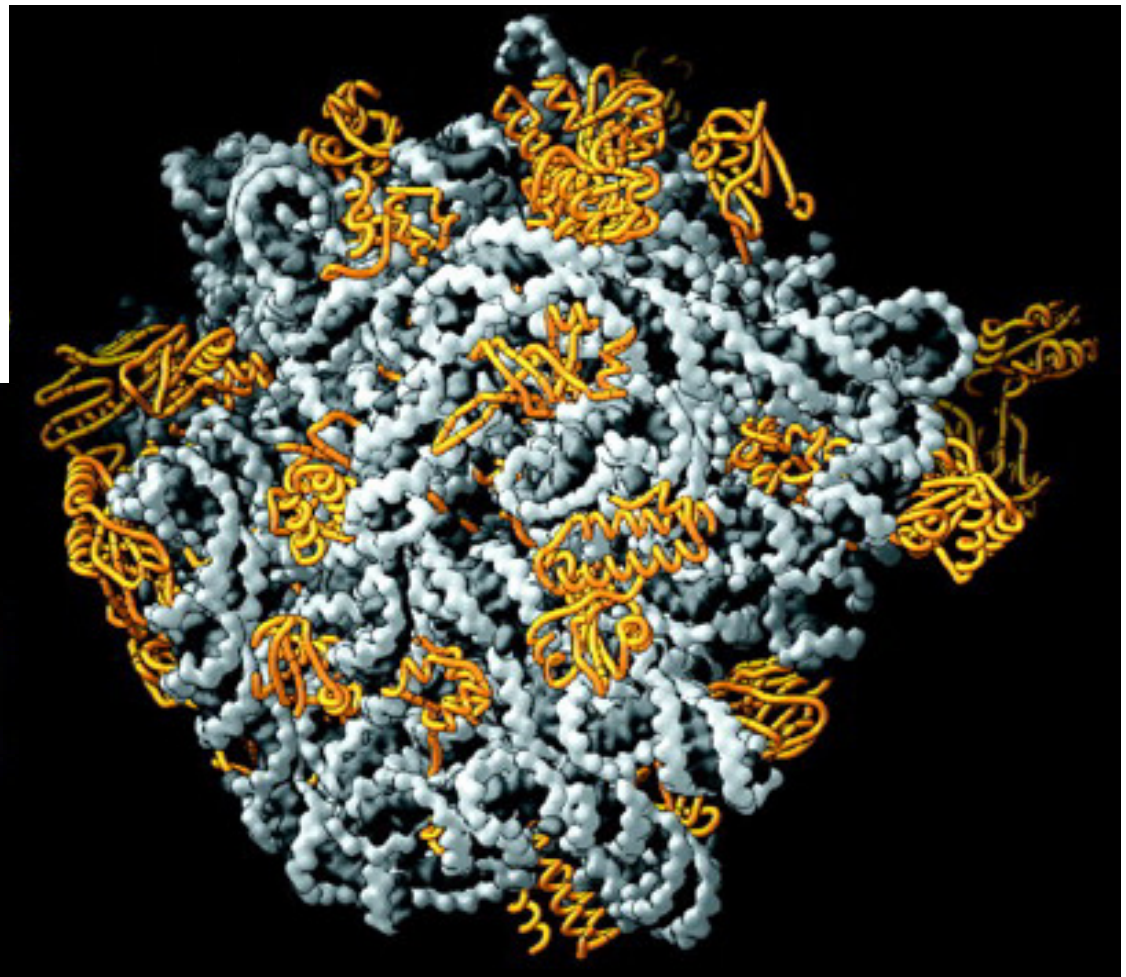
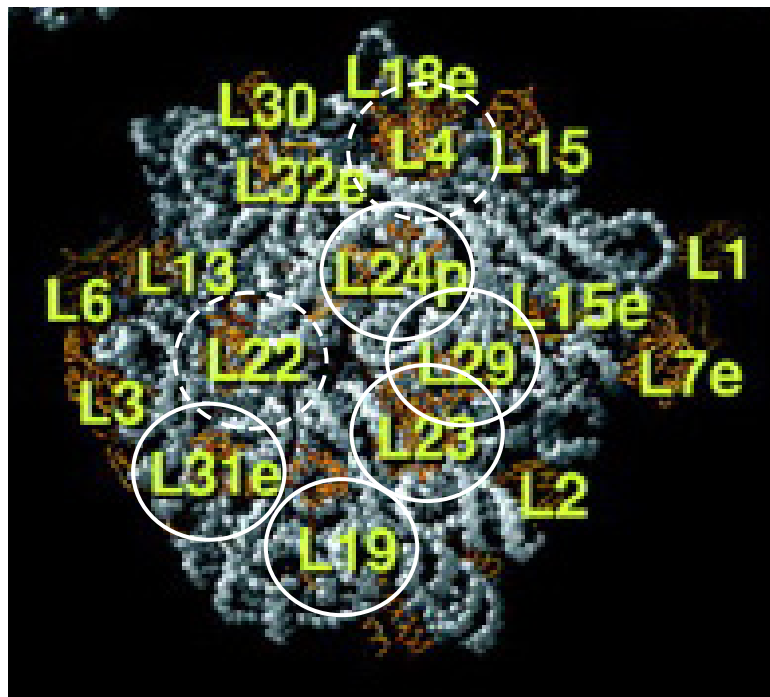
Η απελευθέρωση και των υπολοίπων συστατικών του μεταφραστικού συμπλόκου έχει σαν αποτέλεσμα την απενεργοποίηση του 70S ριβοσώματος.



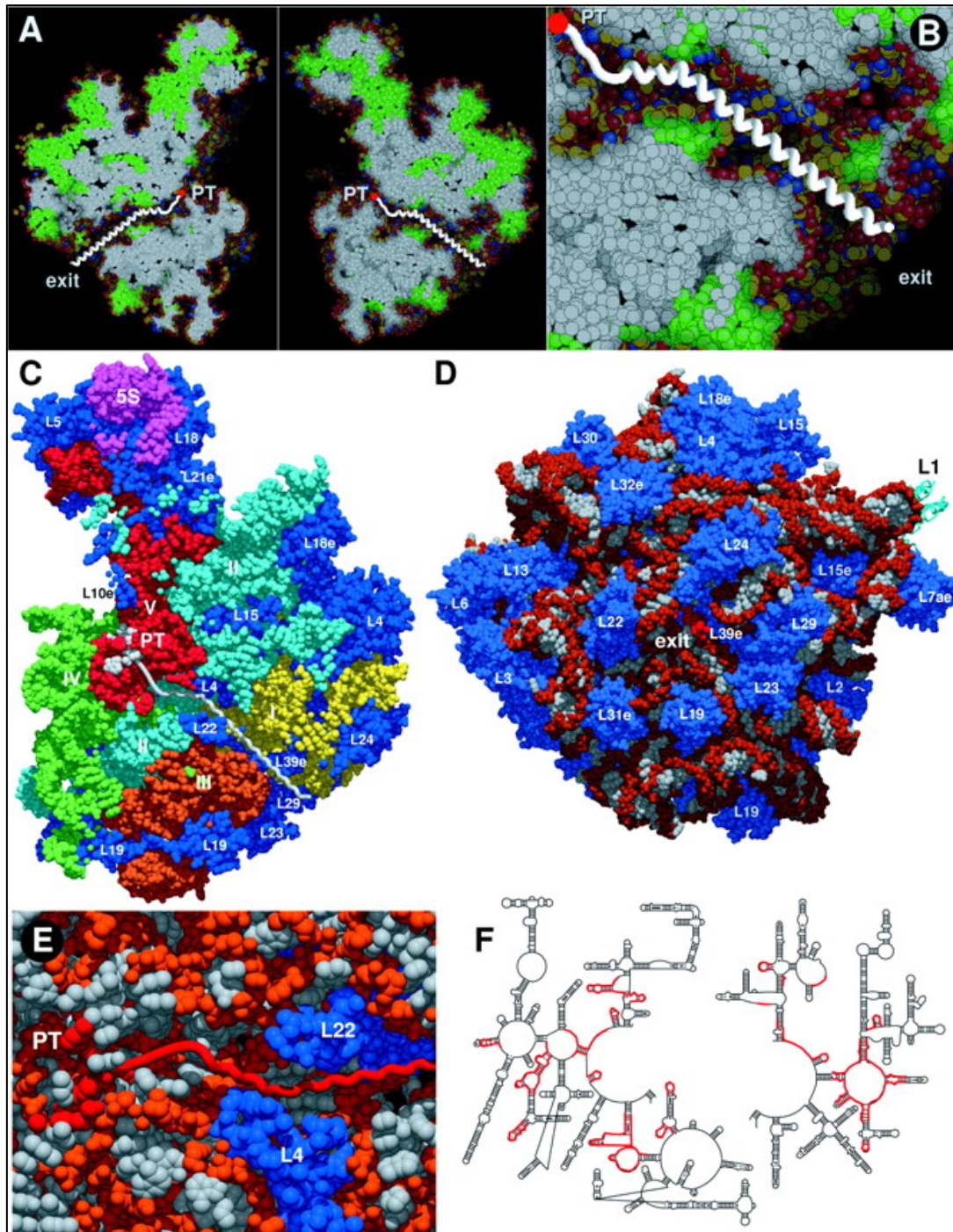
Η δομή του 50S ριβοσώματος της *Haloarcula marismortui* (κατά Pan et al., 2000; διακριτική ικανότητα 2.4 Å).

Το **rRNA (γκρι)** σχηματίζει τον πυρήνα του ριβοσώματος ενώ οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες κατανέμονται σχεδόν αποκλειστικά στην επιφάνεια του συμπλόκου. Από το τούνελ εξόδου χωρά να περάσει μόνο ένα πολυπεπτιδίο (είτε απόλυτα εκτατό είτε σε διαμόρφωση α-έλικας).

Οι πρωτεΐνες είναι άφθονες παντού και κυρίως στην επιφάνεια **αλλά όχι στο ενεργό κέντρο όπου λαμβάνει χώρα η δημιουργία του πεπτιδικού δεσμού και η επαφή με τη μικρή υπομονάδα**. Οι πιο πολλές πρωτεϊνικές υπομονάδες σταθεροποιούν τη δομή αλληλεπιδρώντας με αρκετά τμήματα του RNA συχνά χρησιμοποιώντας προεκτάσεις που φτάνουν έως το εσωτερικό των υπομονάδων.



Στη συγκεκριμένη εργασία δείχθηκε ότι ριβόσωμα στη πραγματικότητα είναι ένα ριβόζυμο (*ribozyme*) αφού χρησιμοποιώντας ανάλογα υποστρώματος έδειξαν ότι αυτά προσεγγίζονται αποκλειστικά από συντηρημένα κατάλοιπα rRNA από το τμήμα V της υπομονάδας 23S ενώ δεν υπάρχουν άτομα πλευρικών πρωτεϊνικών αλυσίδων εγγύτερα από 18 Å στο σημείο σχηματισμού του πεπτιδικού δεσμού. **(δηλαδή ο πεπτιδικός δεσμός καταλύεται από rRNA και όχι από πρωτεΐνες)**. Το τούνελ εξόδου του πολυπεπτιδίου σχηματίζεται επίσης από RNA αλλά συνεισφέρουν και οι πρωτεΐνες L4, L22, και L39e, ενώ κατά την έξοδο του το νεο-σχηματισθέν πολυπεπτιδίο περικυκλώνεται από τις πρωτεΐνες L19, L22, L23, L24, L29 και L31e.



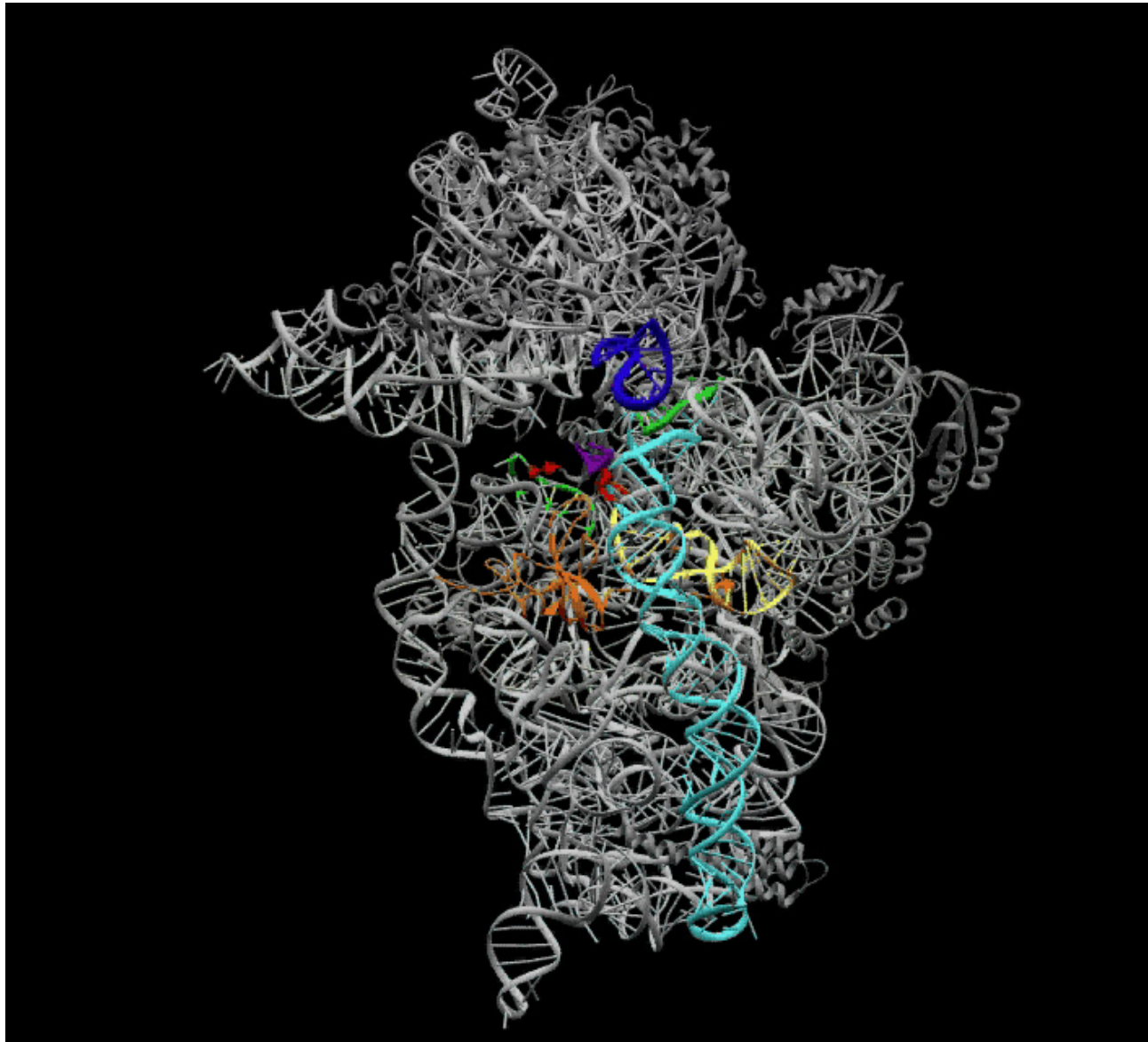
Ανάλυση της δομής του ριβοσώματος παρουσία υποστρώματος.

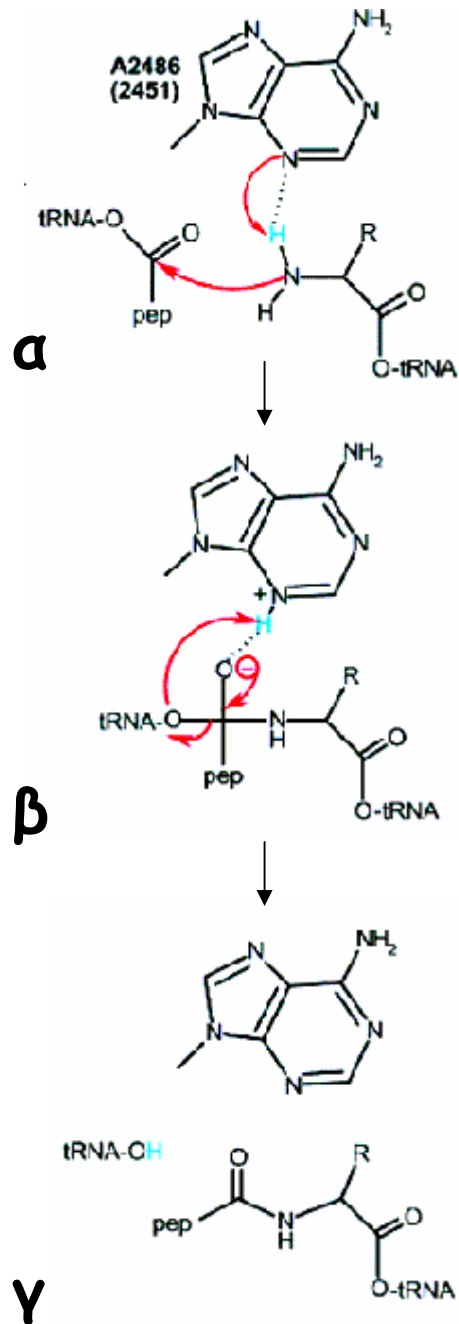
Φαίνεται ότι τα πρωτεϊνικά μόρια είναι απομακρυσμένα από το σχηματιζόμενο πολυπεπτίδιο γεγονός που σημαίνει ότι το rRNA παίζει κεντρικό ρόλο στη κατάλυση (ριβόζυμο, ribozyme) και ειδικότερα το κατάλοιπο A2486.

30S Ριβοσωμική Υπομονάδα



Πρόσδεση tRNA στην 30S Ριβοσωμική Υπομονάδα





Προτεινόμενο μοντέλο για τη δράση του ριβόζυμου.

(α) Το N3 του καταλοίπου A2486 προσελκύει ένα πρωτόνιο από την α-NH₂ ομάδα καθώς η τελευταία “επιτίθεται” στον καρβονυλικό άνθρακα του πεπτιδυλο-tRNA.

(β) Ένα πρωτονιομένο N3 σταθεροποιεί το τετραεδρικό ενδιάμεσο C μέσω δημιουργίας δεσμού υδρογόνου με το οξυανιόν.

(γ) Το πρωτόνιο μεταφέρεται από το N3 στο πεπτιδυλ-tRNA 3'-OH καθώς το νεο-σχηματιζόμενο πεπτίδιο αποακυλιώνεται.

Η παράλληλη μετάφραση ενός mRNA από πολλαπλά ριβοσώματα και η γρήγορη ανακύκλωση τους αυξάνουν την αποτελεσματικότητα της πρωτεϊνοσύνθεσης.

Δυο φαινόμενα μπορούν να αυξήσουν την αποτελεσματικότητα της πρωτεϊνοσύνθεσης.

- Η παράλληλη μετάφραση ενός mRNA από πολλά ριβοσώματα.
- Η ανακύκλωση των ριβοσωμάτων όταν αυτά απελευθερώνονται από το 3' άκρο του mRNA.

Ειδικότερα το ίδιο mRNA, μετά την σύνδεση 25 αμινοξέων χρησιμοποιείται για παράλληλη (αλλά εκτός φάσης) μετάφραση από άλλο ριβόσωμα **έτσι που ανάλογα και με το μέγεθος του mRNA μπορούν να «διαβάζουν» το ίδιο μήνυμα μέχρι και 20 ριβοσώματα** (αυτό αντιστοιχεί σε πολυπεπτιδική αλυσίδα που έχει $20 \times 2 + 20 \times 25 = 540$ αμινοξέα δηλ. M.B.=60.000 daltons). Το λειτουργικό αυτό σύμπλεγμα (όπως ήδη αναφέρθηκε) ονομάζεται **πολύσωμα ή πολυριβόσωμα**, και είναι ορατό με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο τόσο σε απομονωμένη μορφή όσο και σε τομές.

Τα πολυριβοσώματα ή πολυσώματα τα οποία σε ορισμένους ιστούς φαίνονται σαν να αποτελούν κυκλικές δομές. **Παράλληλα αρκετοί ερευνητές είχαν παρατηρήσει ότι η poly(A) ουρά στο 3' άκρο του ευκαρυωτικού mRNA διεγείρει την *in vitro* μετάφραση του μορίου.** Αυτή η παρατήρηση ήταν παράδοξη αφού η έναρξη λαμβάνει χώρα πολύ μακριά από το poly(A) άκρο του mRNA. Παράλληλα είχε δειχθεί στο σακχαρομύκητα ότι μεταλλαγές σε μια κυτταροπλασματική πρωτεΐνη προκαλούσε προβλήματα στην αποτελεσματικότητα της μετάφρασης. Η πρωτεΐνη αυτή στη συνέχεια απομονώθηκε από όλα τα ευκαρυωτικά κύτταρα και βρέθηκε ότι προσδένεται στο poly(A) άκρο. Για το λόγο αυτό ονομάστηκε **poly(A)-binding protein I (PABI)** ενώ παράλληλα δείχθηκε ότι η PABI και δύο επιπλέον πρωτεΐνες [eIF4 (4G και 4E)] μπορούν να αλληλεπιδράσουν με το mRNA προκαλώντας τη σύνδεση των δύο άκρων του μορίου.

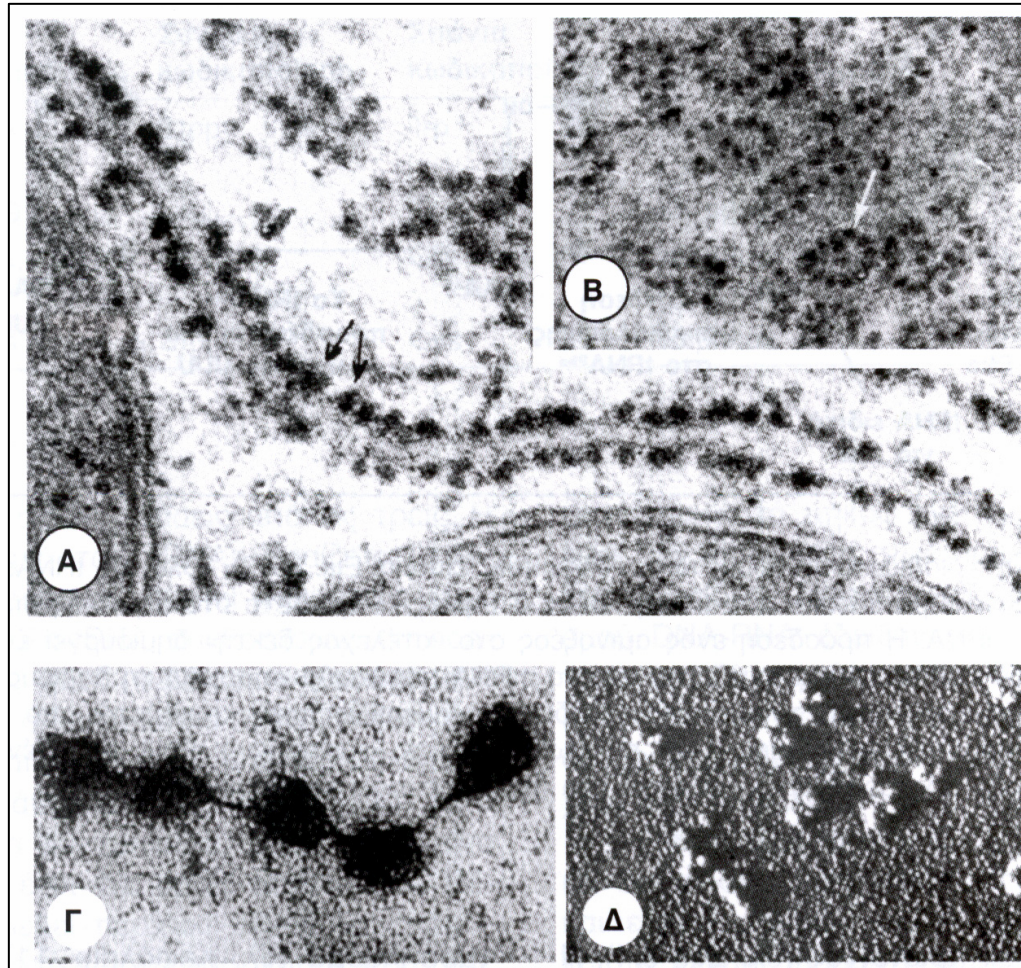
Συνδέοντας το poly(A) άκρο στο 5' άκρο η PABI τοποθετεί τα ελεύθερα ριβοσώματα κοντά στο σημείο έναρξης ενισχύοντας έτσι την είσοδο τους στη διαδικασία της πρωτεϊνοσύνθεσης αυξάνοντας την αποτελεσματικότητα της διαδικασίας αυτής. Έτσι είναι πιθανό ότι σε πολλά ευκαρυωτικά κύτταρα οι ριβοσωμικές υπομονάδες που βρίσκονται στα πολυσώματα πιθανότατα παραμένουν συνεχώς συνδεδεμένες με τη διαδικασία της πρωτεϊνοσύνθεσης.

Πως ένα ριβόσωμα αναγνωρίζει αν πρέπει να κολλήσει στη μεμβράνη του ΚΕΔ για να συνθέσει την πρωτεΐνη, ή πως το mRNA έχει την ικανότητα να καθοδηγεί το ριβόσωμα, ανάλογα με τον τελικό προορισμό της πρωτεΐνης που θα συντεθεί?

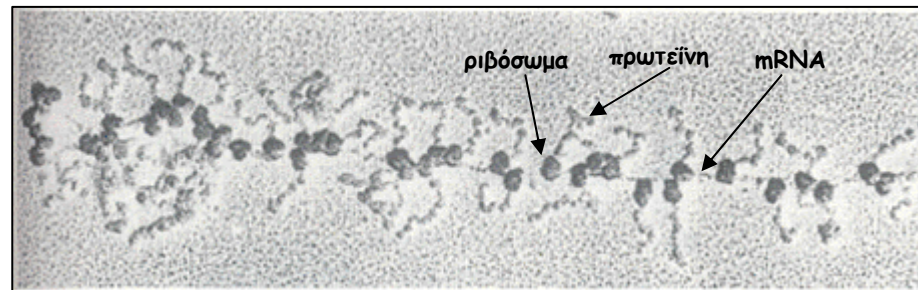
Πριν ολοκληρωθεί η «μετάφραση», του mRNA από το αρχικό ριβόσωμα, ένα δεύτερο ενώνεται στο 5' άκρο του μηνύματος, μετά από λίγο ένα τρίτο κ.ο.κ. ώστε να σχηματιστεί πολύσωμα. Οι πειραματικές παρατηρήσεις που υποστηρίζουν το παραπάνω σχήμα είναι πολλές. Μεταξύ αυτών είναι η παρατήρηση πως mRNA εκκριτικών πρωτεϊνών μεταφραζόμενο *in vitro* σε ακυτταρικό σύστημα (cell free system) χωρίς μεμβράνες ενδοπλασματικού δικτύου, οδηγεί στη σύνθεση πρωτεΐνης που είναι κατά 16 αμινοξέα περίπου μεγαλύτερη από εκείνη που μεταφράζεται από το ίδιο mRNA αλλά παρουσία μεμβρανών.

Η διαδικασία αυτή με την ύπαρξη «πεπτιδίου Οδηγητή» έχει βρεθεί πως ισχύει και στην περίπτωση της σύνθεσης διαμεμβρανικών πρωτεϊνών. Έτσι όταν η σύνθεση της πρωτεΐνης φθάσει στην περιοχή αμινοξέων που παρεμβάλλονται στη διπλοστοιβάδα λιπιδίων τότε το ριβόσωμα ξεκολλάει από τη μεμβράνη, καθώς η σύνθεση προχωρεί και τελειώνει. Έτσι η πρωτεΐνη παραμένει στη μεμβράνη του ΚΕΔ από όπου με μικρά κυστίδια μεταφέρεται στην πλασματική μεμβράνη.

Σε ηλεκτρονιογραφίες τα ριβοσώματα που συμμετέχουν ενεργά σε πρωτεϊνοσύνθεση διακρίνονται σαν σειρά από ηλεκτρονιόπυκνα κοκκία. Αυτό σημαίνει ότι κάθε mRNA μετάγραφο μεταφράζεται ταυτόχρονα από παραπάνω από ένα ριβοσώματα. Στη πραγματικότητα ένα δεύτερο, τρίτο ή τέταρτο ριβόσωμα αρχίζει να διαβάζει το mRNA μετάγραφο πριν το πρώτο ριβόσωμα ολοκληρώσει τη πλήρη σύνθεση μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας.



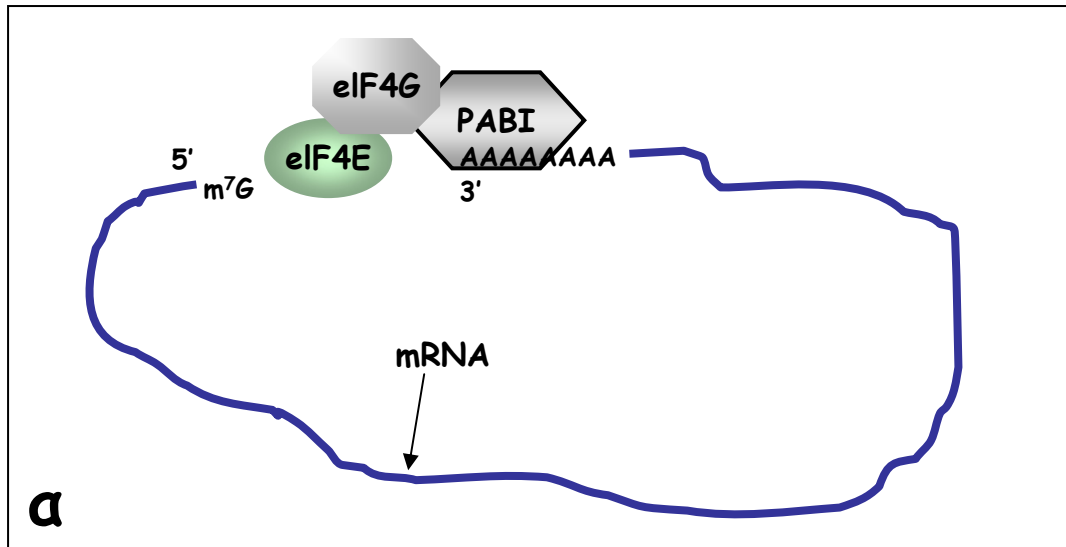
Ηλεκτρονιογραφίες τομής ηπατικών κυττάρων. Διακρίνονται ριβοσώματα σε κοκκιώδες ενδοπλασματικό δίκτυο (A) και ελεύθερα στο κυτταρόπλασμα με τη μορφή πολυσωμάτων (B) (βέλη). (Γ, Δ) Απομονωμένα πολυσώματα όπως φαίνονται με θετική χρώση (Γ) και σκίαση (Δ) στο Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Η σύνδεση των ριβοσωμάτων στην Εικ. Γ ενδεχόμενα αντιπροσωπεύει μόρια mRNA. A: X 100.000, B: X 60.000, Γ: X 200.000, Δ: X 100.000.



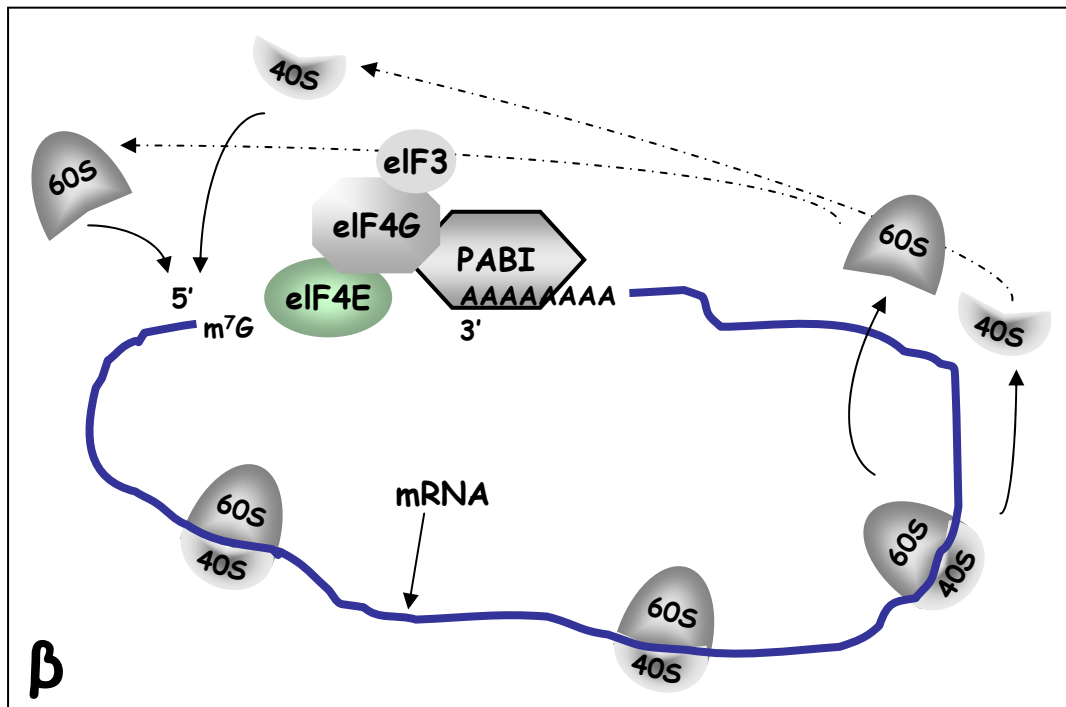
Σε ηλεκτρονιογραφία τα ριβοσώματα που συμμετέχουν σε πρωτεϊνοσύνθεση φαίνονται σαν χάντρες σε μια αλυσίδα. Αυτό σημαίνει ότι κάθε ένα από τα μεταγράφα του mRNA μεταφράζεται ταυτόχρονα από περισσότερα του ενός ριβοσώματα. Στην πραγματικότητα το δεύτερο, τρίτο, τέταρτο κτλ. ριβοσώματα αρχίζουν να διαβάζουν το mRNA πριν το πρώτο ριβόσωμα ολοκληρώσει τη σύνθεση μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

Τα πολλάπλά ριβοσώματα σε ένα μετάγραφο ονομάζονται πολυσώματα.

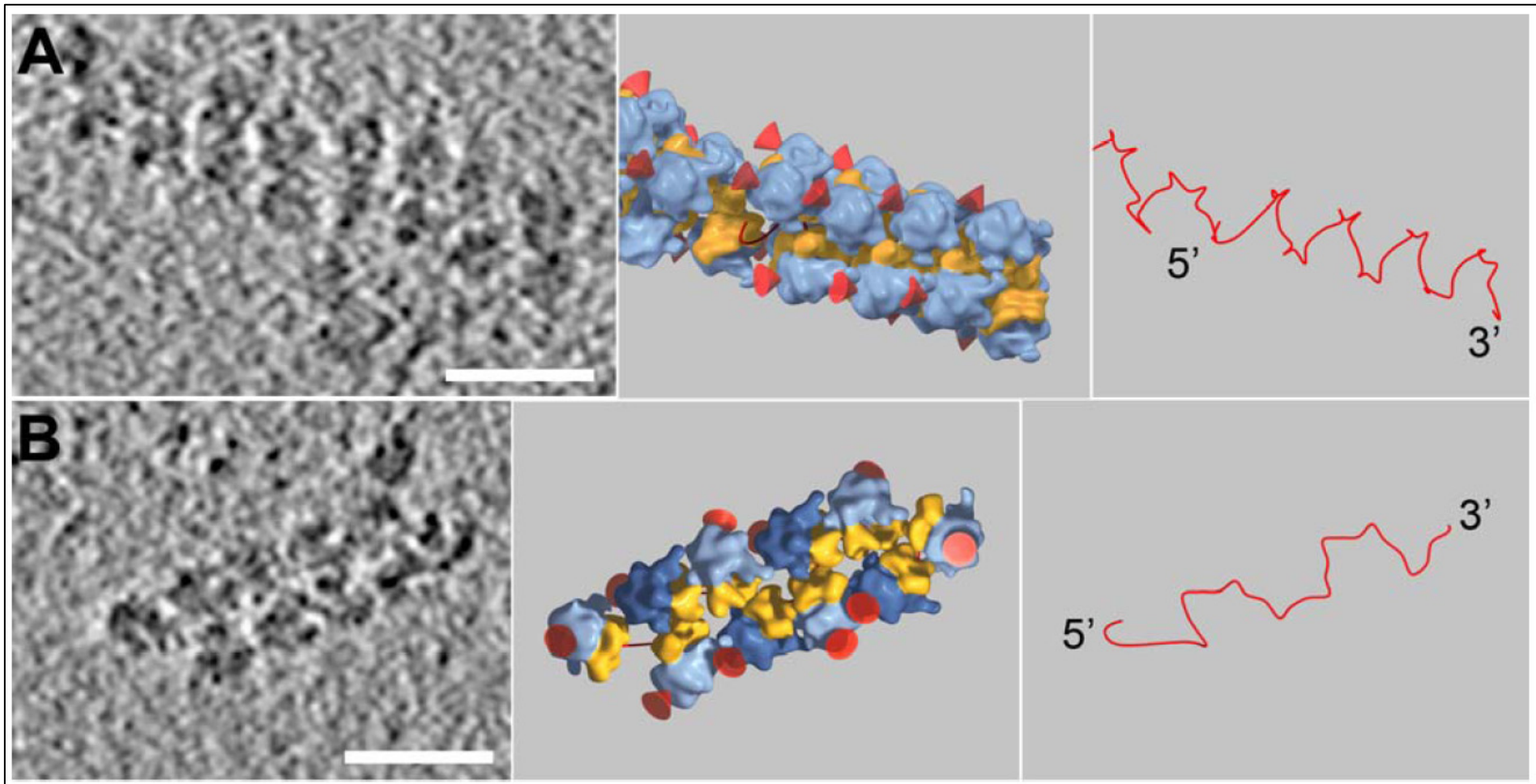
Τα ριβοσώματα απέχουν μεταξύ τους 50-150 Å και έτσι φαίνεται ότι υπάρχει ένα ριβόσωμα κάθε 80 νουκλεοτίδια.



(α) Η παράλληλη μετάφραση ενός ευκαρυωτικού mRNA από πολλαπλά ριβοσώματα καθίσταται δυνατή λόγω της σταθεροποίησης της κυκλικής δομής του mRNA μέσω πρωτεϊνών που προσδέονται στα 5' και 3' άκρα του μορίου.



(β) Όταν ένα ριβόσωμα ολοκληρώσει τη μετάφραση και αποδεσμευτεί από το 3' άκρο οι δύο υπομονάδες μπορούν πολύ εύκολα να “βρούν” το κοντινό 5' κάλυμα (m7G) και να ξεκινήσει έτσι ένας άλλος γύρος μετάφρασης. Η γοργή αυτή ανακύκλωση των ριβοσωμικών υπομονάδων πάνω στο ίδιο mRNA συνεισφέρει καθοριστικά στο σχηματισμό των πολυσωμάτων και αυξάνει την αποτελεσματικότητα της μετάφρασης.



Η τρισδιάστατη δομή του πολυσώματος (Τομογραφία Κρυο-Ηλεκτρονικής μικροσκοπίας) (2008)

Πολυσώματα (αριστερά), σχηματική απεικόνιση της δομής τους (κέντρο) και το «μονοπάτι» του mRNA εντός του πολυσώματος (δεξιά).

Οι **μικρές υπομονάδες (κίτρινο)** «βλέπουν» το εσωτερικό του πολυσώματος, ενώ οι **μεγάλες υπομονάδες (μπλέ)** και η νεοσχηματιζόμενη πεπτιδική αλυσίδα το κυττοσόλιο. Παρατηρείται είτε μια ψευδοελικοειδής δομή του πολυσώματος (μέσο πάνω) είτε μια «πακεταρισμένη» δομή (μέσο κάτω). Και στις δύο περιπτώσεις το mRNA διανύει την μικρότερη απόσταση από το ένα ριβόσωμα στο αμέσως επόμενο.

Στην κατανόηση των μηχανισμών της πρωτεϊνοσύνθεσης έχει συμβάλει η χρήση ουσιών που επηρεάζουν συγκεκριμένα στάδια της διαδικασίας - πολλές από τις ενώσεις αυτές χρησιμοποιούνται σαν αντιβιοτικά γιατί καταστέλλουν την πρωτεϊνοσύνθεση στα προκαρυωτικά κύτταρα μόνο.

Αναστολέας	Δράση	Προκαρυωτικά	Ευκαρυωτικά
Ερυθρομυκίνη	Εμποδίζει τη μετατόπιση του tRNA από τη θέση A στη θέση P	+	-
Στρεπτομυκίνη	Εμποδίζει τη μετάβαση από την αρχική δέσμευση tRNA - ριβοσώματος στην επιμήκυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας	+	-
Χλωραμφαινικόλη	Αναστέλει τη δράση της πεπτιδυλοτρανσφεράσης	+	-
Κυκλοεξαμίδιο	Ομοίως	-	+
Πουρομυκίνη	Προκαλεί πρόωρη ελευθέρωση πολυπεπτιδικής αλυσίδας επειδή είναι δομικό ανάλογο tRNA	+	-

Οι κυριότεροι αναστολείς της πρωτεϊνοσύνθεσης

ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗ της ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

1. Σχηματισμός του συμπλόκου Έναρξης (*initiation complex*).
2. Επιμήκυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας (*Elongation*) που για κάθε αμινοξύ που ενσωματώνεται στην πολυπεπτιδική αλυσίδα λαμβάνει χώρα μετά από την επανάληψη των παρακάτω σταδίων α , β και γ .
 α : Πρόσδεση του αμινο-ακυλο-tRNA
 β : Δημιουργία πεπτιδικού δεσμού
 γ : Μετατόπιση
3. Λήξη (*Termination*).

ΣΥΝΟΨΗ Ι

- Τα ριβοσώματα είναι μεγάλες και πολύπλοκες μοριακές μηχανές ακρίβειας.
- Τα ριβοσώματα βρίσκονται είτε ελεύθερα στο κυτταρόπλασμα είτε προσδεδμένα στο ER.
- Περιέχουν δύο υπομονάδες, μια μεγάλη και μια μικρή.
- Και οι δύο υπομονάδες αποτελούνται από μεγάλα rRNAs και αρκετές πρωτεΐνες.
- Τα rRNAs φτιάχνουν τον πυρήνα και σταθεροποιούνται μέσω εκτεταμένων δεσμών βάσεων.
- Οι πιο πολλές ριβοσωμικές υπομονάδες βρίσκονται στην επιφάνεια του ριβοσώματος.
- Η δημιουργία του πεπτιδικού δεσμού καταλύεται από μια βάση του 23S rRNA (ribozyme) στη μεγάλη υπομονάδα.
- Τα ριβοσώματα έχουν τούνελ, κανάλια και κοιλότητες που δέχονται τα διάφορα μόρια που συμμετέχουν στη πρωτεϊνοσύνθεση.

ΣΥΝΟΨΗ II

1. Η σύνθεση των πολυπεπτιδίων προχωρεί από το N προς το C άκρο.
2. Τα ριβοσώματα διαβάζουν το mRNA μόνο στη φορά 5'→3'.
3. Η ενεργή μετάφραση λαμβάνει χώρα στα πολυσώματα.
4. Η επιμήκυνση της αλυσίδας συνδέει το αυξανόμενο πολυπεπτίδιο με το εισερχόμενο αμινο-ακυλο-tRNA.
5. Τα στάδια σύνθεσης ενός πολυπεπτιδίου είναι η ΕΝΑΡΞΗ, η ΕΠΙΜΗΚΥΝΣΗ και η ΛΗΞΗ.
 - 5.1 Η **ΕΝΑΡΞΗ** στα προκαρυωτικά κύτταρα απαιτεί ένα άδειο 70S ριβόσωμα, τους 3 παράγοντες έναρξης IF1, IF2 και IF3, ένα mRNA με κωδικόνιο έναρξης (AUG) και την ακολουθία Shine-Dalgarno, ένα GTP και τέλος το εναρκτήριο fMet-tRNA^{fMet}. Η αυτοσυγκρότηση του ενεργού ριβοσώματος περιλαμβάνει τη τοποθέτηση του πρώτου mRNA κωδικονίου (AUG) κοντά στη θέση P και το ζευγάρωμα του με το εναρκτήριο tRNA, fMet-tRNA^{fMet}. Η ΕΝΑΡΞΗ στα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι παρόμοια αλλά πιο πολύπλοκη.
 - 5.2 Η **ΕΠΙΜΗΚΥΝΣΗ** περιλαμβάνει τρία διακριτά στάδια προκειμένου να προστεθεί στην αυξανόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα ένα αμινοξύ. (**α**) Μεταφορά του κατάλληλου αμινο-ακυλο-tRNA από το κυτταρόπλασμα στη A θέση του ριβοσώματος, (**β**) ομοιοπολική σύνδεση του νέου αμινοξέος στην αυξανόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα (πεπτιδυλική-μεταφορά) και (**γ**) μετακίνηση του tRNA από την A-θέση στη θέση P-και ταυτόχρονη μετακίνηση του mRNA κατά 3 νουκλεοτίδια (μετατόπιση). Επίσης απαιτεί 3 παράγοντες επιμήκυνσης (EF-Tu/EF-Ts και EF-G) και 2 GTPs ανά κύκλο. Τέλος ο κύκλος επιμήκυνσης είναι όμοιος στα προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά κύτταρα. Είναι γρήγορος αφού προστίθενται 15-20 αμινοξέα ανά δευτερόλεπτο και ιδιαίτερα ακριβής με συχνότητα λαθών 1 ανά 10.000 αμινοξέα.
 - 5.3 Η **ΛΗΞΗ** έχει σαν αποτέλεσμα την απελευθέρωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας και απαιτεί ένα από τα τρία κωδικόνια λήξης (UAA, UAG, ή UGA) τους παράγοντες RF1 ή RF2 και RF3 στα προκαρυωτικά (eRF στα ευκαρυωτικά) και ένα GTP.
 6. GTP απαιτείται σε όλες τις φάσεις της πρωτεϊνοσύνθεσης (έναρξη, επιμήκυνση και λήξη).