เอกสารประกอบรายวิชา 104203

Genetics

อาจารย์ ดร.พงษ์ฤทธิ์ ครบปรัชญา

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

สาขาวิชาชีววิทยา

การแปลรหัส

Translation

Dr. Pongrit Krubphachaya

กระบวนการแปลรหัส (Translation)

- กระบวนการแปลรหัสหรือการสังเคราะห์โปรตีนเกิดขึ้นบนไรโบโซม
- ไรโบโซมเข้าเกาะที่บริเวณใกล้ปลายด้าน 5’ ของสาย mRNA และมีการเคลื่อนที่ไปทางปลายด้าน 3’ เกิดการแปลรหัส (codon) ขณะที่มีการเคลื่อนที่ไปของไรโบโซม
- การสังเคราะห์โปรตีนเริ่มต้นจากปลายด้านอะมิโนของสายโพลีเปปไทด์ และการสังเคราะห์เกิดขึ้นต่อเนื่องโดยการเติมกรดอะมิโนแต่ละตัวเข้าไปทางด้านปลายคาร์บอกซิล (carboxyl end)

กระบวนการแปลรหัส (Translation)

- การสังเคราะห์โปรตีนสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ระยะดังนี้

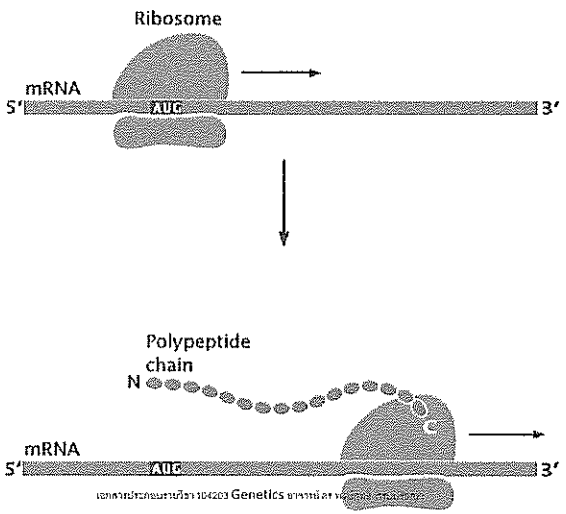
  (1) การจับของกรดอะมิโนเข้ากับ tRNAs

  (2) ระยะเริ่มต้น (initiation) เป็นระยะที่มีการประกอบกันเข้าขององค์ประกอบต่างๆ ที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์โปรตีนที่ไรโบโซม

  (3) ระยะต่อเนื่อง (elongation) เป็นระยะที่กรดอะมิโนแต่ละตัวมาเชื่อมต่อกันทีละตัวในสายของโพลีเปปไทด์ที่กำลังสังเคราะห์อยู่

  (4) ระยะสิ้นสุด (termination) เป็นระยะที่การสังเคราะห์โปรตีนหยุดชะงักลงที่รหัสหยุดการสังเคราะห์ (stop codon) และองค์ประกอบที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์โปรตีนถูกปลดปล่อยออกจากไรโบโซม

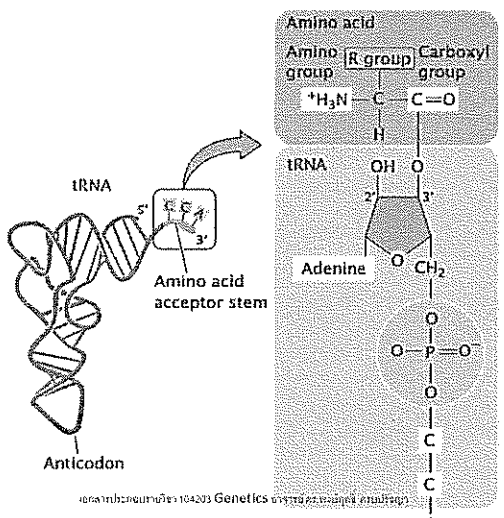
การแปลรหัส mRNA เกิดขึ้นบนไรโบโซม



การจับของกรดอะมิโนต่อ Transfer RNAs

- เซลล์โดยทั่วไปจะมี tRNA อยู่ประมาณ 30 ถึง 50 แบบโดย tRNAs แต่ละตัวก็จะจับอยู่กับกรดอะมิโนซึ่งมีอยู่ 20 ชนิดที่แตกต่างกัน
- โดย tRNAs ทุกตัวพบว่าที่ปลายด้าน 3’ จะมีลำดับนิวคลีโอไทด์เป็น -CCA โดยที่นิวคลีโอไทด์ adenine (A) จะมีกรดอะมิโนเกาะอยู่ โดยเอาปลายด้านหมู่คาร์บอกซิล (COO-) ของกรดอะมิโนเชื่อมเข้ากับตำแหน่ง 2’- หรือ 3’- OH ของนิวคลีโอไทด์ A

กรดอะมิโนเข้าจับที่ปลายด้าน 3’ ของ tRNA



การจับของกรดอะมิโนต่อ Transfer RNAs

- กุญแจสำคัญของความจำเพาะระหว่างชนิดกรดอะมิโนกับ tRNA คือเอนไซม์ที่มีชื่อว่า aminoacyl-tRNA synthetases
- ในเซลล์จะพบเอนไซม์ aminoacyl-tRNA synthetases อยู่ถึง 20 แบบที่แตกต่างกัน โดยแต่ละแบบก็จะจำเพาะต่อการเชื่อมต่อกรดอะมิโนแต่ละชนิดเข้ากับ tRNA ที่จำเพาะต่อมัน
- การจดจำชนิดของกรดอะมิโนด้วยเอนไซม์นั้นอาศัยขนาดประจุและหมู่ R ของกรดอะมิโนแต่ละชนิด

ระยะเริ่มต้นของการแปลรหัส (Initiation of Translation)

- ในระยะเริ่มต้น (initiation) ทุกองค์ประกอบที่จำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนจะมาประกอบกันซึ่งได้แก่

(1) mRNA

(2) ไรโบโซมขนาดเล็กและขนาดใหญ่

(3) ชุดของโปรตีนทั้ง 3 เรียกว่า initiation factors

(4) tRNA ตัวเริ่มต้น (initiator tRNA) ซึ่งมี *N*-formylmethionine (fMet-tRNA^{fMet}) เกาะอยู่

(5) guanosine triphosphate (GTP)

ระยะเริ่มต้นของการแปลรหัส (Initiation of Translation)

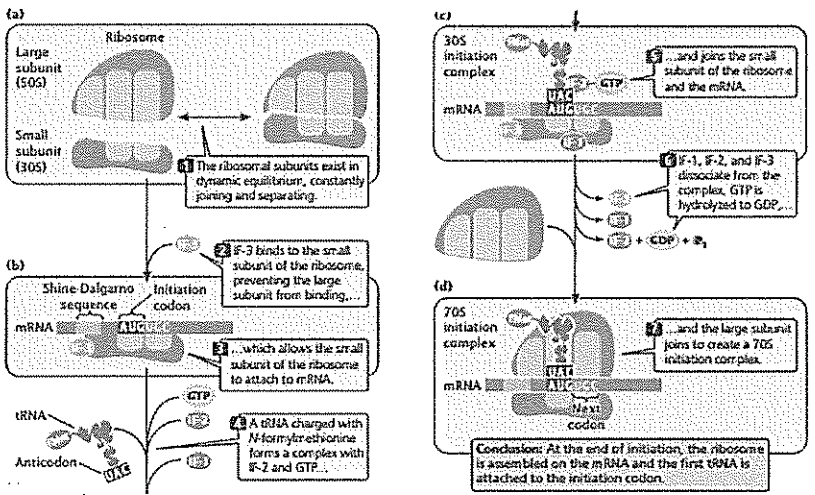
- ระยะเริ่มต้นประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักคือ
- ระยะที่ 1 mRNA เกาะกับไรโบโซมขนาดเล็ก
- ระยะที่ 2 tRNA ตัวเริ่มต้น (initiator tRNA) เข้าเกาะกับ mRNA โดยอาศัยการเข้าคู่กันของเบสระหว่าง codon และ anticodon.
- ระยะที่ 3 ไรโบโซมขนาดใหญ่เข้ามาประกอบรวมเป็น initiation complex

ระยะเริ่มต้นของการแปลรหัส (Initiation of Translation)

- การที่ mRNA นั้นสามารถจับกับไรโบโซมได้ก็ต่อเมื่อไรโบโซมนั้นยังแยกกันระหว่างไรโบโซมขนาดใหญ่กับขนาดเล็ก
- Initiation factor 3 (IF-3) จะจับอยู่กับไรโบโซมขนาดเล็กในระยะเริ่มต้นเพื่อปกป้องไม่ให้ไรโบโซมขนาดใหญ่เข้ามาจับกับไรโบโซมขนาดเล็กก่อนที่ mRNA จะเข้ามาจับนั้นเอง
- บริเวณที่ไรโบโซมขนาดเล็กเข้าจับกับ mRNA นั้นพบว่าจะมีลำดับนิวคลีโอไทด์สั้นๆ เรียกว่า Shine-Dalgarno consensus sequence ซึ่งจะมีลำดับเบสคู่สมพอดีกับปลายนิวคลีโอไทด์ด้าน 3' ของ 16S rRNA ซึ่งเป็นองค์ประกอบในไรโบโซมขนาดเล็ก

ระยะเริ่มต้นของการแปลรหัส (Initiation of Translation)

- ต่อจากนั้น initiator fMet-tRNA^{fMet} จะเข้าจับกับรหัสเริ่มต้น (initiation codon) ขั้นตอนนี้ต้องอาศัยโปรตีนinitiation factor 2 (IF-2) ซึ่งจะรวมตัวอยู่กับ GTP
- องค์ประกอบที่ 3 คือ initiation factor 1 (IF-1) ซึ่งจะช่วยให้ไรโบโซมขนาดใหญ่และขนาดเล็กแยกออกจากกัน
- องค์ประกอบทั้งหมดรวมเรียกว่า 30S initiation complex



ระยะเริ่มต้นของการแปลรหัสในเซลล์แบคทีเรียต้องการ initiation factors หลายชนิดและ GTP

ระยะเริ่มต้นของการแปลรหัส (Initiation of Translation)

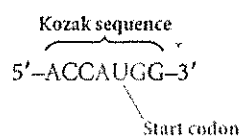
- ในขั้นตอนสุดท้าย IF-3 แยกตัวออก ปล่อยให้ไรโบโซมขนาดใหญ่เข้ามาประกอบกับไรโบโซมขนาดเล็กเป็น initiation complex
- จากนั้นโมเลกุล GTP แตกตัวออกเป็น GDP และ IF-1 และ IF-2 หลุดออก เมื่อไรโบโซมขนาดใหญ่เข้ารวมตัวเป็น initiation complex แล้วทั้งหมดรวมเรียกว่า 70S initiation complex

ระยะเริ่มต้นของการแปลรหัส (Initiation of Translation)

- เหตุการณ์นี้เกิดขึ้นเหมือนกันในการเริ่มต้นการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์พวกยูแคริโอท
- แต่ในพวกยูแคริโอทนั้นไม่พบว่ามี Shine-Dalgarno consensus sequence ใน mRNA
- ไรโบโซมขนาดเล็กของพวกยูแคริโอทจะมีการจดจำ 5' cap และจะเข้าจับแล้วเริ่มเคลื่อนที่ไปบน mRNA เพื่อสแกนหารหัสเริ่มต้น (AUG codon)

ระยะเริ่มต้นของการแปลรหัส (Initiation of Translation)

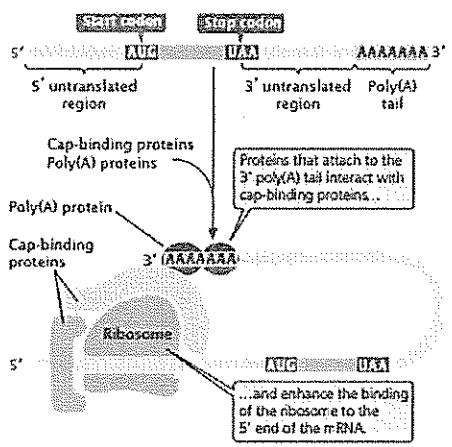
- รหัสเริ่มต้นนั้นพบว่าจะมีช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์เรียกว่า Kozak sequence อยู่ครอบรหัสเริ่มต้น ซึ่งลำดับดังกล่าวไม่มีการเปลี่ยนแปลง (consensus sequence)



ระยะเริ่มต้นของการแปลรหัส (Initiation of Translation)

- อีกอย่างหนึ่งที่แตกต่างจากโพแคริโอทคือในยูแคริโอทต้องการ initiation factors มากชนิดกว่า
- ส่วน poly(A) tail ที่ปลายด้าน 3' ใน mRNA ของยูแคริโอทมีส่วนสำคัญในการเริ่มการสังเคราะห์โปรตีน โดยจะมีโปรตีนที่จับกับ poly(A) tail เกิดปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนที่เกาะอยู่ที่ปลายด้าน 5' cap เพื่อช่วยในการเข้าจับของไรโบโซมขนาดเล็กกับปลายด้าน 5' ของmRNA

mRNA ส่วนปลาย 3' (poly(A) tail) ในยูแคริโอท มีส่วนสำคัญในการเริ่มต้นการแปลรหัส



ระยะต่อเนื่อง (Elongation)

- เป็นระยะต่อเนื่องที่กรดอะมิโนแต่ละตัวถูกเชื่อมต่อเข้าไปในสายโพลีเปปไทด์ที่กำลังสังเคราะห์อยู่
- สิ่งที่จำเป็นสำหรับระยะนี้ได้แก่

  (1) 70S initiation complex

  (2) tRNAs ที่มีกรดอะมิโนจำเพาะเกาะอยู่

  (3) โปรตีน elongation factors (EF-Ts, EF-Tu, และ EF-G)

  (4) GTP

ระยะต่อเนื่อง (Elongation)

- ไรโบโซมจะมี 3 บริเวณซึ่งเป็นตำแหน่งที่ tRNAs จะเข้าไปอยู่ ได้แก่บริเวณ aminoacyl site (A site), peptidyl site (P site) และ exit site (E site)
- ในระยะเริ่มต้น tRNA ตัวเริ่มต้นจะเข้าไปอยู่ที่ตำแหน่ง P site (ซึ่งเป็นบริเวณที่ fMet-tRNA^{fMet} สามารถจับได้เท่านั้น) แต่สำหรับ tRNAs ตัวอื่นๆ จะเข้าจับที่ตำแหน่ง A site เสมอ

สามขั้นตอนของระยะต่อเนื่องของการแปลรหัส

- ขั้นแรก การขนส่ง tRNA (tRNA ซึ่งมีกรดอะมิโนเกาะอยู่) ไปยังตำแหน่ง A site โดยขั้นตอนนี้ต้องอาศัย elongation factor Tu (EF-Tu), elongation factor Ts (EF-Ts), และ GTP
- ขั้นตอนที่สอง เป็นขั้นตอนที่มีการสร้างพันธะเปปไทด์ระหว่างกรดอะมิโน

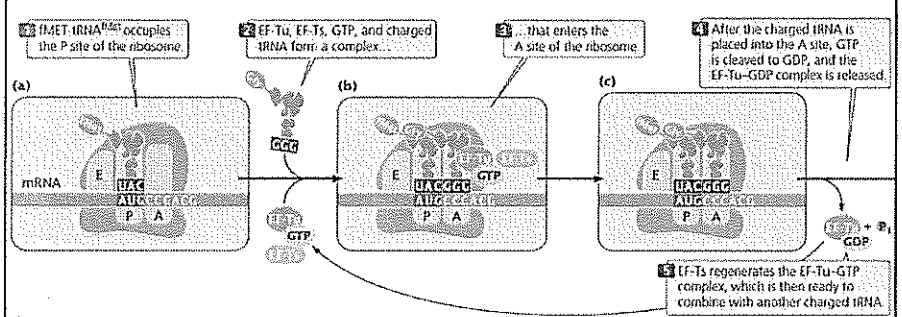
สามขั้นตอนของระยะต่อเนื่องของการแปลรหัส

- เมื่อพันธะเปปไทด์ถูกสร้างขึ้นแล้ว กรดอะมิโนที่เกาะอยู่กับ tRNA ที่ตำแหน่ง P site จะหลุดจาก tRNA ปฏิกิริยาที่ทำหน้าที่ในการสร้างพันธะเปปไทด์เป็นความรับผิดชอบของเอนไซม์ peptidyl transferase
- ขั้นตอนที่สาม คือ translocation เกิดการเคลื่อนที่ของไรโบโซมไปบน mRNA ในทิศทาง 5' ไป 3'

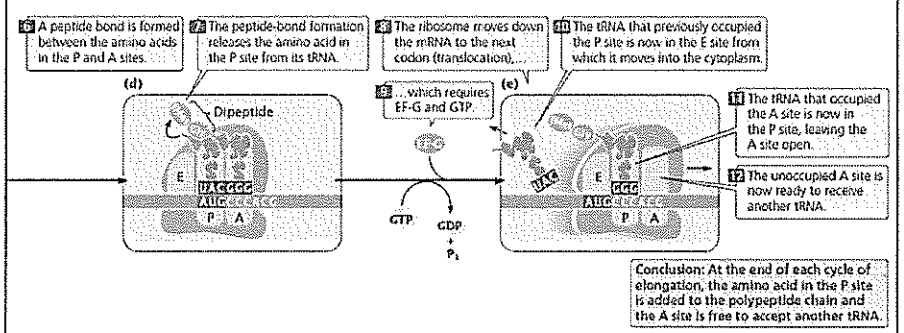
สามขั้นตอนของระยะต่อเนื่องของการแปลรหัส

- ในขั้นตอนนี้ไรโบโซมจะอยู่บนรหัส (codon) ถัดไปและต้องการ elongation factor G (EF-G) และมีการสลาย GTP เป็น GDP

สามขั้นตอนของระยะต่อเนื่องของการแปลรหัส



สามขั้นตอนของระยะต่อเนื่องของการแปลรหัส



ระยะสิ้นสุดการแปลรหัส (Termination)

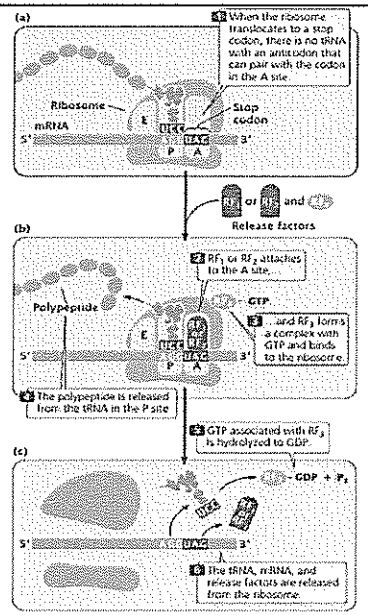
- ระยะสุดท้ายของการสังเคราะห์โปรตีนเกิดขึ้นเมื่อไรโบโซมเคลื่อนที่ไปถึงรหัสหยุด (termination codon หรือ stop codon)
- จะมีโปรตีนเรียกว่า release factors เข้าจับกับไรโบโซมที่รหัสหยุด
- ใน *E. coli* พบว่ามี release factors สามชนิดคือRF1, RF2, และ RF3 โดย RF1 จะจดจำรหัสหยุด UAA และ UAG, ส่วน RF2 จะจดจำ UGA และ UAA

ระยะสิ้นสุดการแปลรหัส (Termination)

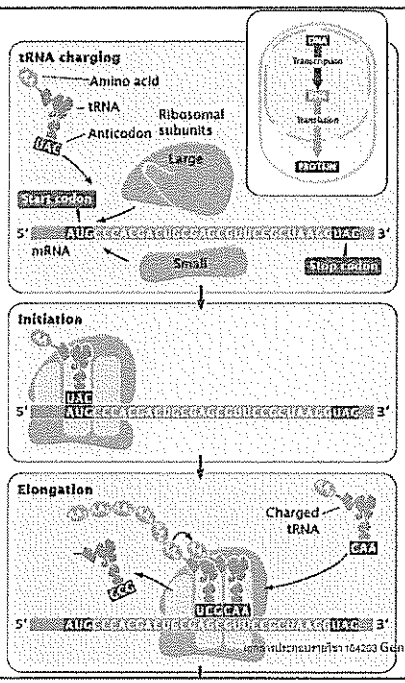
- ส่วน RF3 จะเกิดเป็นองค์ประกอบเชิงซ้อนกับ GTP และจับกับไรโบโซม โดย RF3 จะกระตุ้นการแยกตัวของ tRNA ที่ตำแหน่ง P site ออกจากสายโพลีเปปไทด์ GTP ถูกเปลี่ยนเป็น GDP มีการแยกตัวของ mRNA ออกจากไรโบโซม และทำให้ไรโบโซมแยกออกจากกันเป็นหน่วยย่อย

ระยะสิ้นสุดการแปลรหัส (Termination)

- การหยุดการสังเคราะห์โปรตีนในยูแคริโอทมีลักษณะคล้ายกับโพแคริโอท ยกเว้นในยูแคริโอทพบว่ามี release factors 2 ชนิดคือ eRF1 ซึ่งจดจำรหัสหยุดทั้ง 3 รหัส ส่วน eRF2 จะจับกับ GTP และกระตุ้นการปลดสายโพลีเปปไทด์ออกจากไรโบโซม



หยุดการสังเคราะห์โปรตีนเกิดขึ้นเมื่อไรโบโซมเคลื่อนไปถึงรหัสหยุด (stop codon)

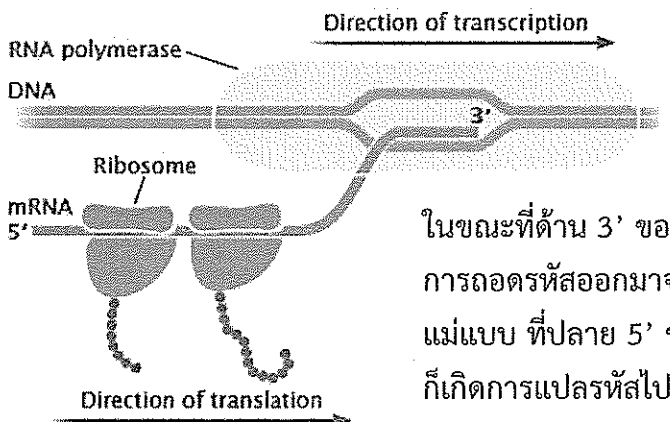


4 ขั้นตอนของการสังเคราะห์โปรตีน tRNA จับกับกรดอะมิโน, initiation, elongation, termination

Polyribosomes

- ภายในเซลล์ของทั้งโพแคริโอทและยูแคริโอท ไรโบโซมอาจเข้าเกาะกับ mRNA มากกว่าหนึ่งหน่วยก็ได้ ซึ่งหากเข้าเกาะเรียงกันหลายหน่วยบน mRNA เพียงสายเดียวจะเรียกว่า polyribosome หรือ polysome

ในเซลล์พวกโพแคริโอท การถอดรหัสและการแปลรหัสเกิดขึ้นควบคู่กัน



ในขณะที่ด้าน 3' ของ mRNA มีการถอดรหัสออกมาจาก DNA แม่แบบ ที่ปลาย 5' ของ mRNA ก็เกิดการแปลรหัสไปในเวลาเดียวกัน