บทที่ 14
การสังเคราะห์โปรตีนหรือกระบวนการทรานสเลชัน

วัตถุประสงค์ เมื่อนักศึกษาเรียนจบบทนี้แล้ว ควรจะมีความสามารถในการ

1. อธิบายความสำคัญของไรโบโซม tRNA mRNA เอ็นไซม์ aminoacyl tRNA synthetase และชีวโมเลกุลอื่น ๆ ที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์โปรตีน

2. อธิบายวิธีการอ่านรหัสพันธุกรรมและ สมมุติฐาน wobble

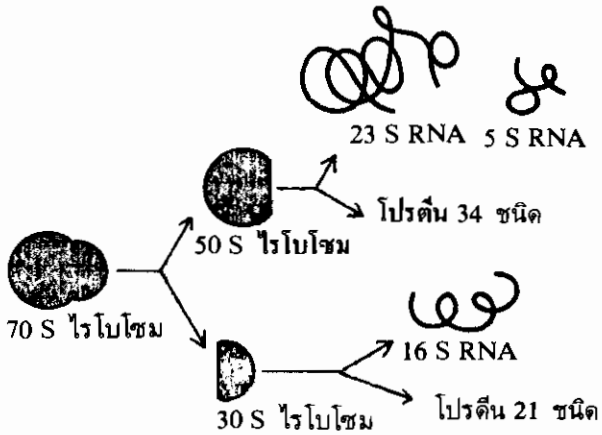
3. เรียบเรียงขั้นตอนของกระบวนการทรานสเลชันตามลำดับ

4. เขียนวิธีการดัดแปลงโมเลกุลโปรตีนที่ได้จากกระบวนการทรานสเลชันในลักษณะต่าง ๆ

5. ยกตัวอย่างยาปฏิชีวนะที่มีผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนเฉพาะในยูคาริโอท เฉพาะโปรคาริโอท และยาที่มีผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนทั้งในโปรคาริโอทและยูคาริโอท เขียนกลไกการยับยั้งเท่าที่ทราบในปัจจุบัน

บทนำ

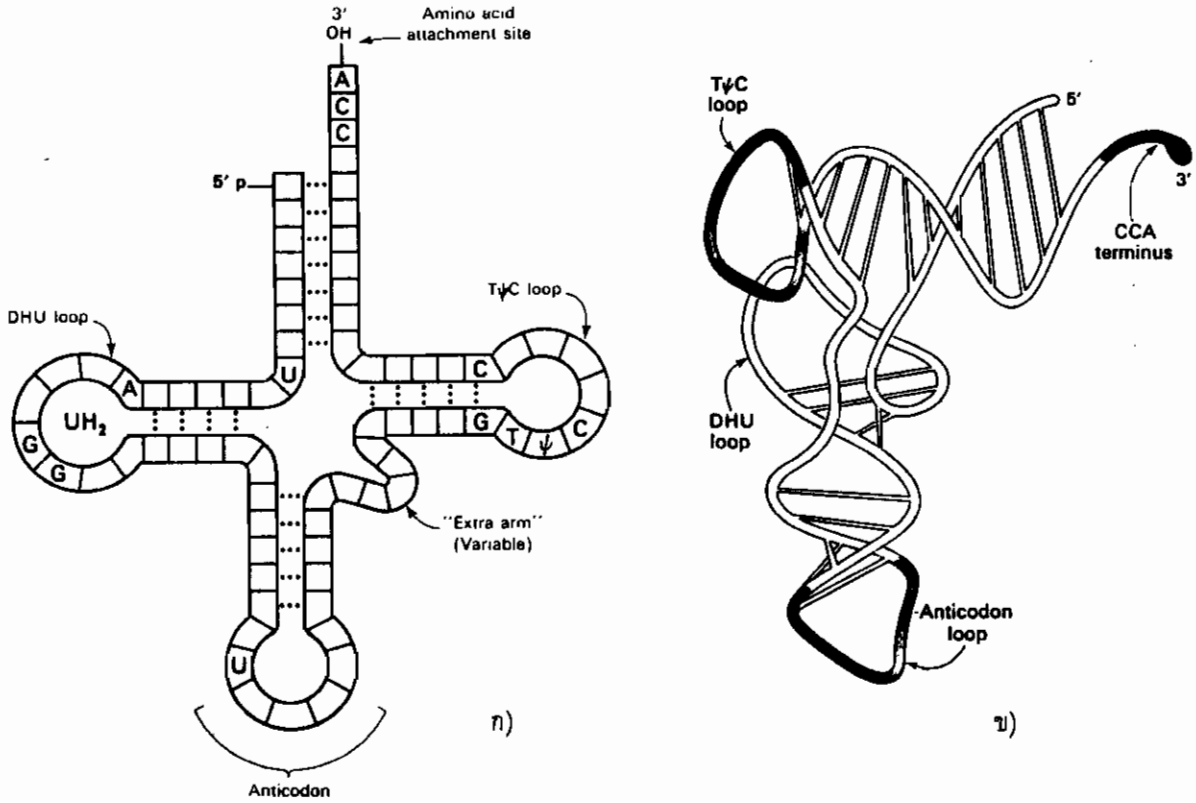
ข้อมูลทางพันธุกรรมใน DNA ถูกถ่ายทอดมายัง RNA โดยกระบวนการเรพลิเคชันและทรานสคริปชัน ข้อมูลดังกล่าวบน RNA จะแปลรหัสไปเป็นกรดอะมิโนและโปรตีนอีกต่อหนึ่งโดยกระบวนการทรานสเลชัน กระบวนการนี้สลับซับซ้อนและยุ่งยากกว่าสองกระบวนการแรก มีชีวโมเลกุลเกี่ยวข้องมากมาย อาทิเช่น mRNA tRNA ATP GTP โปรตีน เอ็นไซม์และแฟคเตอร์ต่าง ๆ ฯลฯ กระบวนการนี้เกิดขึ้นที่ไรโบโซม ซึ่งเป็นออร์กาเนลล์อย่างหนึ่งภายในเซลล์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 200 Å ไรโบโซมของ E.Coli และเซลล์โปรคาริโอทจะมีค่าสัมประสิทธิ์การเซดิเมนต์ (sedimentation coefficient) เท่ากับ 70 S 70 S ไรโบโซมจะแตกตัวได้อีกเป็น 2 หน่วยย่อยเล็ก คือ 50 S ไรโบโซมและ 30 S ไรโบโซม 50 S ไรโบโซมประกอบด้วยโปรตีน 34 ชนิด และ RNA อีก 2 ชนิดคือ 23 S RNA และ 5 S RNA ส่วน 30 S ไรโบโซมประกอบด้วยโปรตีน 21 ชนิดและ 16 S RNA (รูปที่ 14-1) ถ้าเป็นไรโบโซมของเซลล์ยูคาริโอทจะเป็น 80 S ไรโบโซมแตกตัวให้ 60 S ไรโบโซม และ 40 S ไรโบโซม 60 S ไรโบโซมประกอบด้วย RNA 3 ชนิดคือ 28 S, 7 S และ 5 S ส่วน 40 S ไรโบโซมประกอบด้วย 18 S RNA



รูปที่ 14-1 การแตกตัวของ 70 S ไรโบโซม ให้โปรตีน 55 ชนิด และ RNA อีก 3 ชนิด

tRNA เป็น RNA ที่มีบทบาทสำคัญมากเพราะเป็นโมเลกุลที่จะนำเอากรดอะมิโนไปสังเคราะห์เป็นโปรตีนที่ไรโบโซม โมเลกุลtRNA เป็นสายเดี่ยวประกอบด้วย 73-93 ไรโบนิวคลีโอไทด์ ภายในแต่ละโมเลกุลจะมีเบสแปลก ๆ ซึ่งไม่ค่อยจะพบบ่อยนักประมาณ 7-15 เบส เบสเหล่านี้มักจะเป็นอนุพันธ์ของเบส A, G, C, U ที่เกิดปฏิกิริยาเมธิลเลชัน ทางปลาย 5 จะ

เป็น pG เสมอ ทางปลาย 3′ จะเป็น CCA เสมอเช่นกัน กรดอะมิโนที่จะถูกนำไปสังเคราะห์เป็นโปรตีนจะจับกับปลาย 3′ ของ tRNA ตรงหมู่ 3′-OH ของอะดีนีนไรโบนิวคลีโอไทด์ที่อยู่ปลายสุด (รูปที่ 14-2)



รูปที่ 14-2 ก) ลักษณะ cloverleaf ของโมเลกุล tRNA DHU loop คือ dihydrouracil loop, TψC loop คือ ribothymine-pseudouracil-cytosine loop

ข) โครงสร้างสามมิติของ tRNA จะเป็นรูปตัว L

โมเลกุล tRNA จะมี 3 loop คือ DHU loop, anticodon loop และ TψC loop บางโมเลกุลอาจมีแขนพิเศษ (extra arm) ยื่นออกมาระหว่าง anticodon loop และ TψC loop การเรียงตัวของเบสตรงแอนไทโคดอน (anticodon) บน anticodon loop จะเข้าคู่กันกับรหัสตติยะ (triplet code) ซึ่งก็คือการเรียงตัวของเบสต่อเนื่องกันสามตัวบน mRNA นั่นเอง รหัสตติยะบน mRNA อาจเรียกง่าย ๆ ว่าโคดอน (codon)

ถ้าโคดอนบน mRNA เป็นรหัสสำหรับกรดอะมิโนซีสเตอีนคือ UGC tRNA ที่จำเพาะสำหรับ cys ($tRNA^{cys}$) และมีแอนไทโคดอนเป็น ACG ก็จะเข้าไปจับกับ mRNA โดยที่โคดอนและแอนไทโคดอนนั้นจะยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจน $tRNA^{cys}$ นั้นจะมีซีสเตอีนเกาะอยู่ที่หมู่-OH ของอะดินีนไรโบนิวคลีโอไทด์ที่ปลาย 3′ ด้วย อาจเขียนเป็นสัญลักษณ์ว่า cys-$tRNA^{cys}$ เป็น tRNA ที่เตรียมพร้อมจะเอาซีสเตอีนไปสังเคราะห์เป็นโปรตีน ถ้ามีความผิดพลาดของ $tRNA^{cys}$ ไปจับเอากรดอะมิโนอะลานีนไว้ที่ปลาย 3′ แทนเป็น ala-$tRNA^{cys}$ แทนที่จะเป็นซีสเตอีนคือ cys-$tRNA^{cys}$ ปรากฏว่าอะลานีนก็จะถูกนำไปสังเคราะห์เป็นโปรตีนได้เช่นกัน แสดงว่าความสัมพันธ์ระหว่างโคดอนบน mRNA กับแอนไทโคดอนบน tRNA มีมากกว่าความสัมพันธ์ระหว่างแอนไทโคดอนกับกรดอะมิโนที่เกาะอยู่ที่ปลาย 3′ ของ tRNA โมเลกุลเดียวกันนั้น แอนไทโคดอนมีความจำที่แม่นยำมากต่อโคดอนบน mRNA

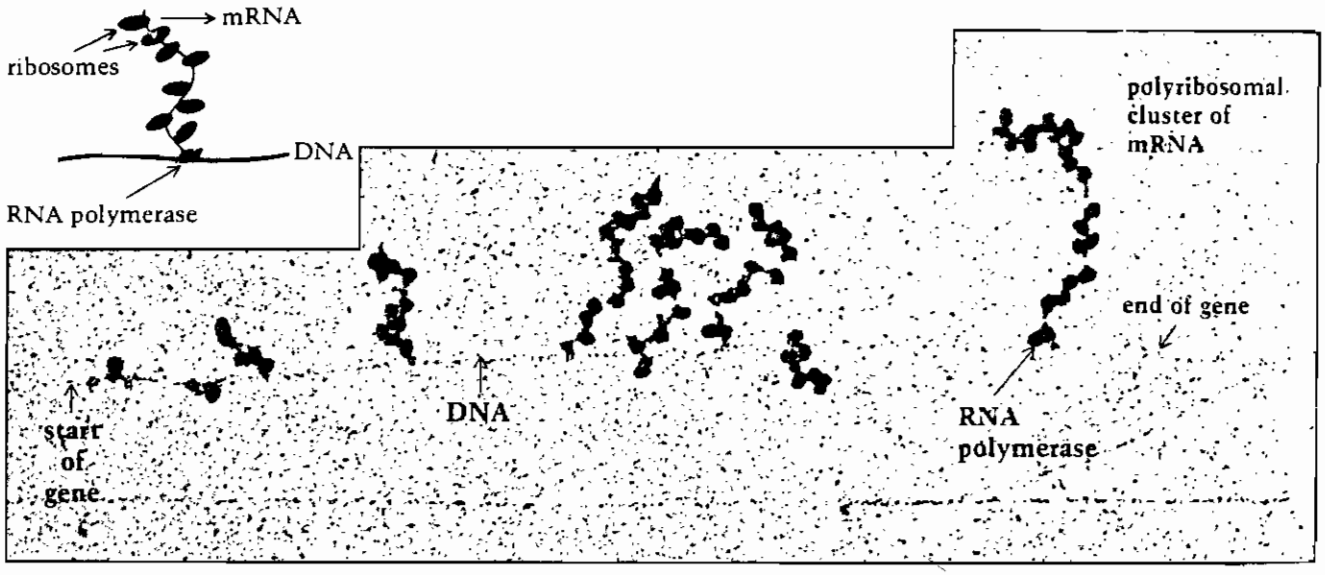
$$\text{cysteine} + tRNA^{cys} \xrightarrow[\text{ATP} + H_2O \;\curvearrowright\; \text{AMP} + 2P_i]{\text{cysteine tRNA synthetase}} \text{cys-}tRNA^{cys}$$

การที่กรดอะมิโนใดจะเข้าไปจับที่ปลาย 3′ ของ tRNA ที่จำเพาะนั้น ต้องมีเอ็นไซม์ aminoacyl tRNA synthetase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เอ็นไซม์นี้มีความสามารถสูงในการที่จะเลือกกรดอะมิโนและ tRNA ที่จำเพาะต่อกัน เอ็นไซม์แก้ไขข้อผิดพลาดของตนเองได้ สามารถที่จะไฮโดรไลซ์กรดอะมิโนที่ผิดตัวออกจาก tRNA แล้วเร่งปฏิกิริยาการจับกรดอะมิโนใหม่ที่ถูกต้องแทน จะเห็นว่าการทำงานของเอ็นไซม์ aminoacyl tRNA synthetase นี้มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์โปรตีนเป็นอย่างมาก

ทิศทางการสังเคราะห์สายโปรตีนเริ่มจากปลาย N(N_t) ไปยังปลาย C(C_t) ทั้งนี้ติดตามได้โดยใช้สารกัมมันตภาพรังสี จะพบว่าเมื่อใช้กรดอะมิโนที่ติดฉลาก (labelled ด้วย ^3H) แล้วนำไปสังเคราะห์โปรตีน สายโปรตีนที่ได้จะมีกัมมันตภาพรังสีทาง N_t อยู่น้อย แล้วค่อย ๆ เพิ่มมากขึ้นตามลำดับไปทาง C_t แสดงว่า N_t สังเคราะห์นานแล้วแต่ C_t เพิ่งจะสังเคราะห์เสร็จใหม่ ๆ จึงมีกัมมันตภาพรังสีมากที่สุด

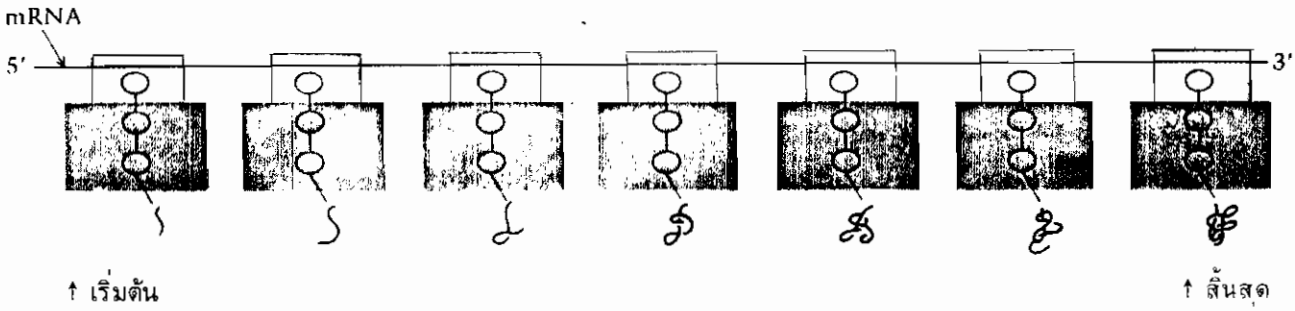
ใน E.Coli และโปรคาริโอท ระหว่างที่เกิดกระบวนการทรานสคริปชันให้ mRNA ออกมาที่เราเรียก nascent mRNA กระบวนการทรานสเลชันหรือการสังเคราะห์โปรตีนจะเกิดควบคู่ไปกับกระบวนการทรานสคริปชันเลยโดยที่การสร้าง mRNA นั้นยังไม่เสร็จสิ้น ไรโบโซมจำนวนมากจะไปเกาะอยู่ที่ nascent mRNA แล้วสร้างสายโปรตีนขึ้นมาดังรูปที่ 14-3 แต่ถ้าเป็น

พวกยูคาริโอท mRNA ต้องมีการตัดแปลงโมเลกุลก่อน จึงจะออกมานอกนิวเคลียส เพื่อทำหน้าที่เป็นแม่พิมพ์ในการสังเคราะห์โปรตีนที่ไรโบโซมต่อไป



รูปที่ 14-3 การสังเคราะห์ mRNA และการสังเคราะห์โปรตีนซึ่งเกิดขึ้นพร้อม ๆ กัน ในภาพนี้จะไม่เห็นสายโพลีเปปไทด์

ไรโบโซมจำนวนมากที่เกาะบนสาย mRNA เราเรียกว่าโพลีไรโบโซม หรือโพลีโซม (polyribosome หรือ polysome) แต่ละหน่วยของ 70 S ไรโบโซมจะสังเคราะห์โพลีเปปไทด์หนึ่งสายให้เสร็จสิ้นโดยสมบูรณ์และไม่เกี่ยวข้องกับ 70 S หน่วยอื่น ๆ ความหนาแน่นของไรโบโซมบนสาย mRNA โดยประมาณจะเท่ากับ 80 นิวคลีโอไทด์ต่อหนึ่งไรโบโซม ไรโบโซมที่อยู่ใกล้ทางปลาย 5′ ของ mRNA มากที่สุดจะมีสายเปปไทด์สั้นที่สุด ไรโบโซมใดที่อยู่ใกล้ทางปลาย 3′ ของ mRNA มากที่สุดจะมีสายโพลีเปปไทด์ยาวที่สุด แสดงว่าเป็นไรโบโซมแรกที่มาเกาะที่ปลาย 5′ ของ mRNA และกำลังจะเสร็จสิ้นการสังเคราะห์สายโพลีเปปไทด์ 70 S ไรโบโซมจะแตกออกเป็น 50 S และ 30 S ไรโบโซมหลังจากสายโพลีเปปไทด์หรือสายโปรตีนนั้นหลุดออกไป (รูปที่ 14-4)



รูปที่ 14-4 แผนภาพของโพลีโซม แสดงการเคลื่อนที่ของไรโบโซมจากปลาย 5′ → ปลาย3′ ของสายmRNA แต่ละไรโบโซมสังเคราะห์เปปไทด์ของตนเองโดยไม่เกี่ยวข้องกับไรโบโซมอื่น เปปไทด์ทั้ง 7 สาย ในรูปเป็นเปปไทด์ชนิดเดียวกัน แต่ระยะเวลาการสังเคราะห์ไม่เท่ากันจึงสั้นยาวต่างกัน

14.1 รหัสพันธุกรรม (genetic code)

รหัสพันธุกรรม คือ รหัสที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเรียงตัวของเบสใน DNA หรือการเรียงตัวของเบสใน RNA ที่สังเคราะห์มาจาก DNA นั้น ๆ กับการเรียงตัวของกรดอะมิโนในโมเลกุลโปรตีน F.Crick ได้สรุปไว้ว่าข้อมูลทางพันธุกรรมจะถูกบรรจุไว้ในรหัสดติยะ ซึ่งหมายถึงการเรียงตัวของเบสสามตัวติดต่อกัน รหัสดติยะแต่ละรหัสจะแปลความหมายได้เป็นกรดอะมิโนหนึ่งชนิดเท่านั้น กรดอะมิโนแต่ละชนิดอาจมีรหัสดติยะได้มากกว่าหนึ่งรหัส ซึ่งอาจจะเป็น 2, 3, 4 หรือ 6 รหัสก็แล้วแต่ ยกเว้นกรดอะมิโนทริปโตแฟนและเมไธโอนีนจะมีรหัสดติยะเพียง 1 รหัสเท่านั้น รหัสพันธุกรรมมีทั้งหมด 64 รหัส (ตารางที่ 14-1) AUG เป็นรหัสเริ่มต้น (initiation code) UAA, UAG และ UGA เป็นรหัสหยุด (termination code or stop signal) การอ่านรหัสบน mRNA หรือโคดอนนั้นจะอ่านทีละสามเบสต่อเนื่องกันไม่มีเว้นวรรคตอน (commaless) แต่ก็ไม่ซ้ำซ้อนหรือคาบเกี่ยวกัน (nonoverlap)

Base sequence

ส่วนหนึ่งของสาย DNA	→ AAATTTGGGCCCAATTGGCCC
	↓ transcription
mRNA	→ UUUAAACCCGGGUUAACCGGG
การอ่านรหัสที่ไม่ต่อเนื่อง	→ UUUAAACCCGGGUUAACCGGG
	↑ comma
การอ่านรหัสที่ซ้ำซ้อน	→ UUUAAACCCGGGUUAACCGGG
	overlap
การอ่านรหัสที่ต่อเนื่องและไม่ซ้ำซ้อน	→ UUUAAACCCGGGUUAACCGGG

ตารางที่ 14-1 รหัสพันธุกรรมซึ่งประกอบด้วยรหัสตติยะทั้งหมด 64 รหัส สัญลักษณ์ · หมายถึงรหัสที่แตกต่างไปจากรหัสในไมโตคอนเดรีย

(5′) . . . pNpNpN . . . (3′) ใน mRNA

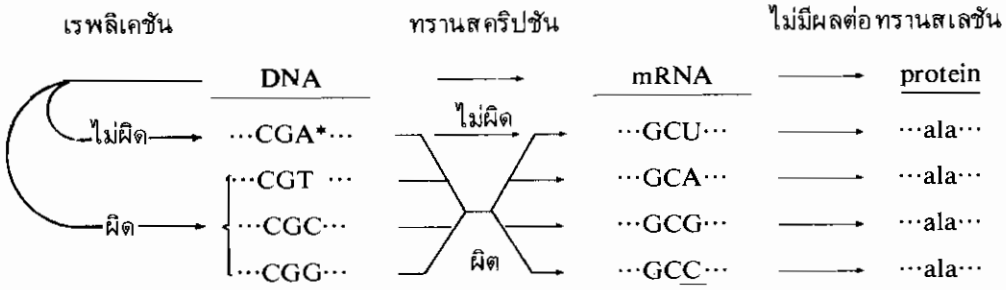
	เบสตัวกลางในโคดอน →				
เบสทางปลาย 5′ ↓	U	C	A	G	เบสทางปลาย 3′ ↓
U	phe (UUU)	ser	tyr	cys	U
	phe	ser	tyr	cys	C
	leu	ser	termination	termination	A
	leu	ser	termination	trp	G
C	leu	pro	his	arg	U
	leu	pro	his	arg	C
	leu	pro	gln	arg	A
	leu	pro	gln	arg	G
A	ile	thr	asn	ser	U
	ile	thr	asn	ser	C
	· ile	thr	lys	arg ·	A
	met (and initiation)	thr	lys	arg ·	G
G	val	ala	asp	gly	U
	val	ala	asp	gly	C
	val	ala	glu	gly	A
	val	ala	glu	gly	G

การอ่านรหัสให้อ่านจากปลาย 5′ ไปทางปลาย 3′ AUG นั้นนอกจากจะเป็นรหัสเริ่มต้นแล้ว ยังเป็นรหัสสำหรับเมไธโอนีนภายในสายโปรตีนอีกด้วย รหัสพันธุกรรมในตารางที่ 14-1 นี้เป็นรหัสสากล ใช้เหมือนกันหมดทั้งในยูคาริโอท โปรคาริโอทและไวรัส ยกเว้นในไมโตคอนเดรีย DNA ในไมโตคอนเดรียจะมีโคดอนหรือรหัสตติยะที่แตกต่างไปจากรหัสสากลบ้างเล็กน้อยดังในตารางที่ 14-2

ตารางที่ 14-2 ความแตกต่างระหว่างโคดอนในรหัสสากลและรหัสในไมโตคอนเดรีย

โคดอน	UGA	AUA	AGA	AGG	AUU
รหัสสากล	termination	ile	arg	arg	ile
รหัสใน ไมโตคอนเดรีย	trp	met and initiation	termination	termination	ile and possibly initiation

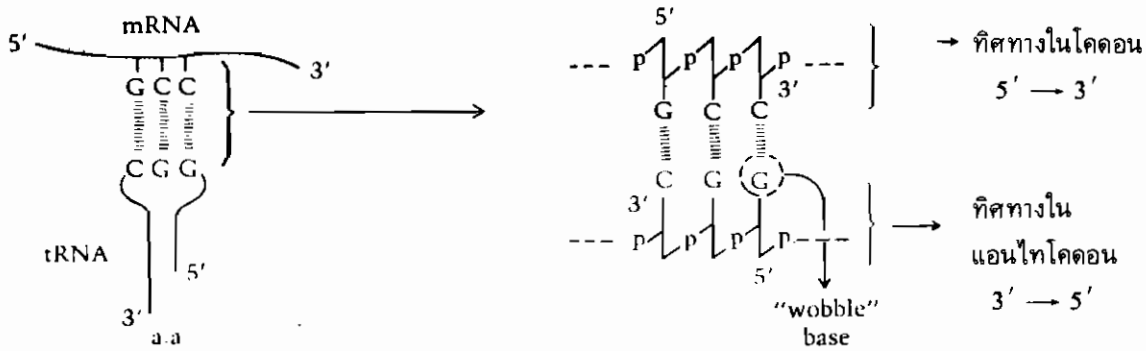
บางครั้งความผิดพลาดเนื่องจากเรพลิเคชันหรือทรานสคริปชันของ DNA อาจจะไม่มีผลแสดงออกในสายโปรตีนที่สังเคราะห์ ตัวอย่าง เช่น DNA แม่พิมพ์มีรหัสเป็น CGA เมื่อสังเคราะห์เป็น mRNA ก็จะได้โคดอนเป็น GCU ซึ่งเป็นรหัสสำหรับกรดอะมิโนอะลานีน ในกรณีที่มีความผิดพลาดของเบสตัวที่สามบนรหัสของ DNA เบส A อาจเปลี่ยนเป็น T หรือ C หรือ G ก็ได้ ซึ่งมีผลทำให้โคดอนบน mRNA เปลี่ยนตามไปเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามโคดอนเหล่านั้นยังคงเป็นรหัสสำหรับกรดอะมิโนอะลานีนเช่นเดิม



ถ้าความผิดพลาดเกิดขึ้นตรงเบสตัวที่หนึ่งหรือตัวที่สองหรือทั้งสองตัวของรหัสบนแม่พิมพ์ DNA ข้อมูลทางพันธุกรรมที่ปรากฏออกมาบนสายโปรตีนจะถูกเปลี่ยนแปลงไป กรดอะมิโนตรงตำแหน่งนั้น ๆ บนโมเลกุลโปรตีนจะกลายเป็นกรดอะมิโนตัวอื่น

14.2 สมมุติฐาน wobble (wobble hypothesis)

F.Crick เป็นผู้ตั้งสมมุติฐานนี้ขึ้นมา อธิบายเกี่ยวกับการจับคู่เบสระหว่างโคดอนของ mRNA และแอนไทโคดอนของ tRNA ในขั้นตอนการสังเคราะห์โปรตีน ว่าเป็นไปอย่างยืดหยุ่นกว่าการจับคู่เบสในสาย DNA การสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างเบสคู่ที่หนึ่งและคู่ที่สองนั้นเป็นไปอย่างเข้มงวดไม่ค่อยจะผิดพลาด แต่เบสคู่ที่สามซึ่งจับกันระหว่างเบสที่ปลาย 3′ ของ mRNA และเบสที่ปลาย 5′ ของ tRNA นั้นค่อนข้างจะมีอิสระกว่าเบสของคู่แรก Crick เรียกเบสของแอนไทโคดอนของ tRNA ทางปลาย 5′ นั้นว่า wobble base



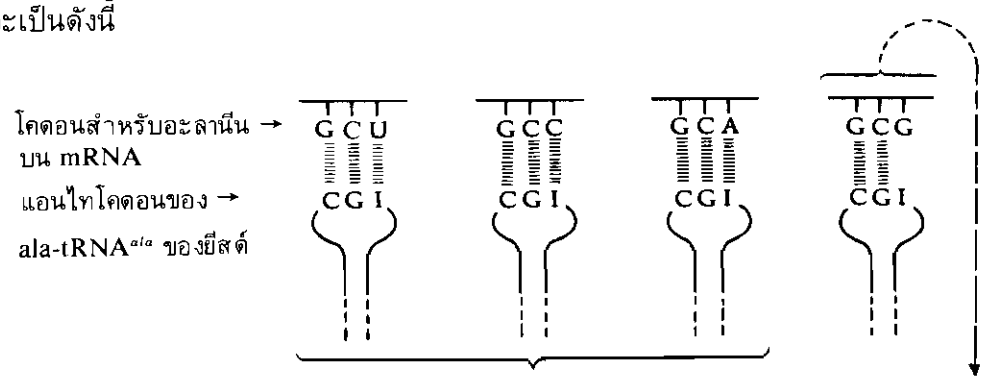
wobble base ในแอนไทโคดอนสามารถจับคู่กับเบสอื่นได้หลายตัว เป็นผลทำให้แอนไทโคดอนหนึ่งรหัสจับคู่กับ mRNA ได้มากกว่าหนึ่งโคดอน การจับคู่ของ wobble base นี้จะไม่เป็นไปตามแบบแผนเดิม คือ A-T, G-C หรือ A-U ดังที่พบใน DNA หรือ RNA wobble base ได้แก่ U; G และ I I ในที่นี้คือ อิโนซีน (inosine) ซึ่งเป็นไรโบนิวคลีโอไทด์ของเบสไฮโปแซนธีน (hypoxanthine) เมื่อ wobble base เป็น I แอนไทโคดอนนั้นมีโอกาสจับกับ mRNA ได้ถึงสามโคดอน ถ้า wobble base เป็น G หรือ U แอนไทโคดอนนั้น ๆ มีโอกาสจับกับสองโคดอน (ตารางที่ 14-3)

ตารางที่ 14-3 การจับคู่ระหว่างเบสในโคดอนและแอนไทโคดอนตามสมมุติฐาน wobble ของ F.Crick

เบสทางปลาย5′ ของแอนไทโคดอน	เบสทางปลาย3′ ของโคดอน
I	A, C, or U
G	C or U
U	A or G
A*	U
C*	G

A* และ C* เป็น wobble base ที่มิได้ทำให้เกิดการจับคู่ของเบสที่ไหม่ไปจากเดิม

ala-tRNA^{ala} ของยีสต์มีแอนไทโคดอนเป็น (3′)CGI(5′) โคดอนของอะลานีนบน mRNA (ดูตารางที่ 14-1) จะเป็น GCU, GCC, GCA และ GCG การจับคู่เบสตามสมมติฐาน wobble จะเป็นดังนี้



ala-tRNA^{ala} ตัวเดียวกันสามารถจับกับโคดอนของอะลานีนบน mRNA ได้ถึงสามโคดอน

tRNA มีความจำที่ไม่สมบูรณ์ จึงไม่มีการสร้างพันธะไฮโดรเจนตรงเบสคู่ที่สาม โคดอน GCG ควรจับกับ tRNA ที่มีแอนไทโคดอนปรกติเป็น CGC หรือจับกับ wobble แอนไทโคดอนเป็น CGU

จากตัวอย่างดังกล่าว จะเห็นได้ว่าเมื่อการจับคู่ของเบสเป็นไปตามปรกติต้องใช้ ala-$tRNA^{ala}$ ถึงสี่ตัว แต่ถ้าเป็นไปตามสมมุติฐาน wobble จะใช้ ala-$tRNA^{ala}$ อย่างน้อยที่สุดสองตัวเท่านั้น ปรากฏการณ์ตามสมมุติฐานของ Crick นี้จะช่วยลดความผิดพลาดการถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมในขั้นตอนของการสังเคราะห์โปรตีน

14.3 การสังเคราะห์โปรตีน

การสังเคราะห์โปรตีน (ใน E.Coli) แบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอนคือ

1. ขั้นตอนแอคติเวชันของกรดอะมิโน (Activation of the amino acids)
2. ขั้นตอนเริ่มต้นการสังเคราะห์ (Initiation of synthesis)
3. ขั้นตอนเพิ่มความยาวสายโพลีเปปไทด์ (Elongation of polypeptide chain)
4. ขั้นตอนหยุดการสังเคราะห์ (Termination of synthesis)

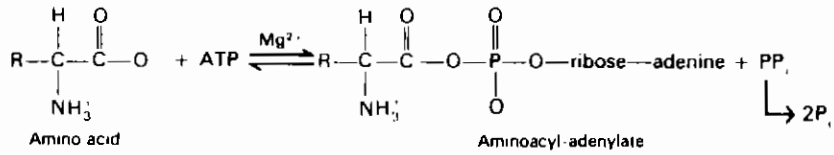
องค์ประกอบต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์โปรตีนแสดงไว้ในตารางที่ 14-4

ตารางที่ 14-4 องค์ประกอบต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์โปรตีนในแต่ละขั้นตอนของ E.Coli

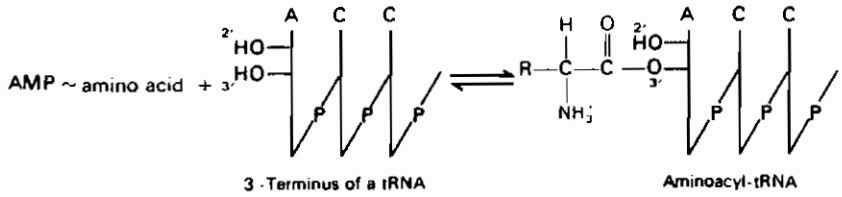
ขั้นตอน	องค์ประกอบที่จำเป็น
1. ขั้นตอนแอคติเวชันของกรดอะมิโน	กรดอะมิโน tRNA เอ็นไซม์ aminoacyl tRNA synthetase ATP, Mg^{+2}
2. ขั้นตอนเริ่มต้นการสังเคราะห์	fMet-tRNA (Met-tRNA สำหรับยูคาริโอท) รหัสเริ่มต้นคือ AUG ใน mRNA 30 S ไรโบโซม 50 S ไรโบโซม แฟคเตอร์เริ่มต้น (initiation factor, IF-1, IF-2, IF-3) GTP, Mg^{+2}
3. ขั้นตอนเพิ่มความยาวสายโพลีเปปไทด์	70 S ไรโบโซม aminoacyl-tRNA ที่จำเพาะต่อโคดอนบน mRNA elongation factor ($EF-T_u$, EF-T, และ EF-G)
4. ขั้นตอนหยุดการสังเคราะห์	70 S ไรโบโซม รหัสหยุดคือ UAA, UAG และ UGA ใน mRNA release factor (RF-1, RF-2) GTP, Mg^{+2}

I **ขั้นตอนแอคติเวชันของกรดอะมิโน** (Activation of the amino acids)

เร่งปฏิกิริยาโดยเอ็นไซม์ aminoacyl tRNA synthetase แบ่งปฏิกิริยาเป็นสองขั้นตอน



ขั้นตอนที่หนึ่งเป็นการสังเคราะห์ aminoacyl-adenylate ต้องการพลังงานเพื่อนำหมู่คาร์บอกซิลของกรดอะมิโนไปเชื่อมกับหมู่อัลฟาฟอสเฟตของ ATP พลังงานดังกล่าวได้จากการแตกสลายพันธะฟอสเฟตพลังสูง (high-energy phosphate bond) ถึงสองพันธะด้วยกัน โดยที่ตอนแรก ATP สลายให้ PP_i ก่อน จากนั้น PP_i ถูกไฮโดรไลซ์เป็น $2P_i$ อีกต่อหนึ่ง พลังงานบางส่วนถูกสะสมไว้ในพันธะแอนไฮดรายด์ ($-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-\overset{O}{\overset{\|}{P}}-$) ของโมเลกุล aminoacyl-adenylate

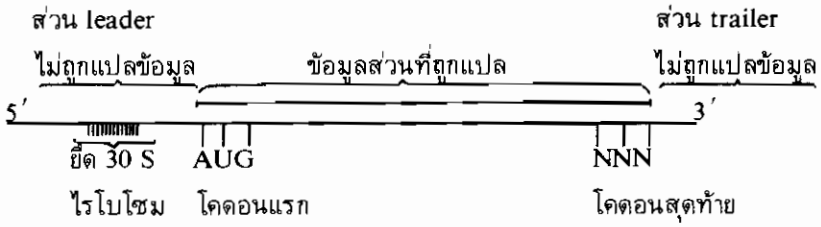


ขั้นตอนที่สองเป็นการโยกย้ายกรดอะมิโนจาก aminoacyl-adenylate ไปยังหมู่ 3′-OH ของอะดีนีนไรโบนิวคลีโอไทด์ที่ปลาย 3′ ของโมเลกุล tRNA สร้างพันธะเอสเทอร์ได้ aminoacyl-tRNA มีรายงานว่าการสร้างพันธะเอสเทอร์นี้ตอนแรกอาจจะสร้างกับหมู่ 2′-OH ของอะดีนีน-ไรโบนิวคลีโอไทด์ก่อน แล้วค่อยย้ายมาที่หมู่ 3′-OH อย่างรวดเร็ว การเคลื่อนที่ของหมู่แอซิลระหว่างหมู่ 2′-OH และหมู่ 3′-OH นี้เร็วมาก ยากแก่การติดตามรายละเอียดของปฏิกิริยาในช่วงนี้

เอ็นไซม์ aminoacyl tRNA synthetase มีความจำเพาะสูงมากในการเลือกกรดอะมิโนและ tRNA ทั้งยังสามารถไฮโดรไลซ์หรือแก้ไขสิ่งที่ผิดพลาดของตนเองดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น กรดอะมิโนแต่ละตัวจะมีเอ็นไซม์ aminoacyl tRNA synthetase ที่จำเพาะอย่างน้อยหนึ่งชนิด

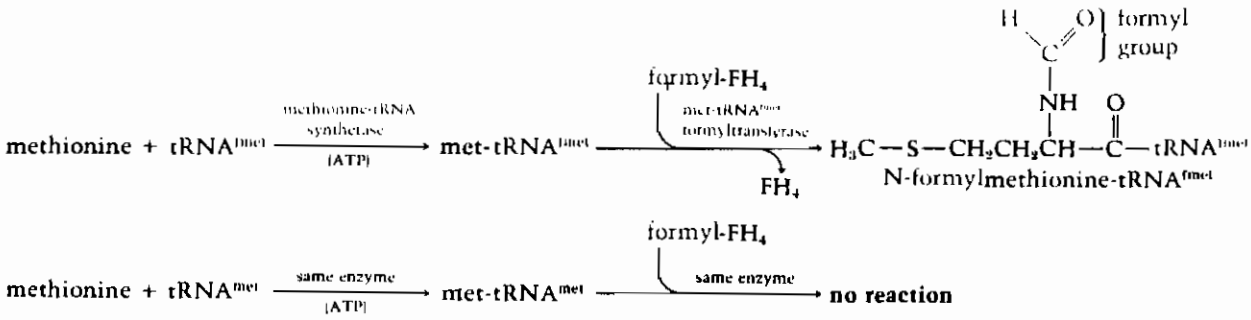
II **ขั้นตอนเริ่มต้นการสังเคราะห์** (Initiation of synthesis)

ปลาย 5′ ของ mRNA จะมีส่วนที่เรียกว่า leader และปลาย 3′ มีส่วนที่เรียกว่า trailer ทั้งสองส่วนที่อยู่หัวและท้ายสาย mRNA จะไม่ถูกแปลข้อมูลเป็นโปรตีน การเรียงตัวของเบสในช่วง leader บางตอนมีส่วนช่วยยึดโมเลกุล mRNA ให้ติดกับ 30 S ไรโบโซม

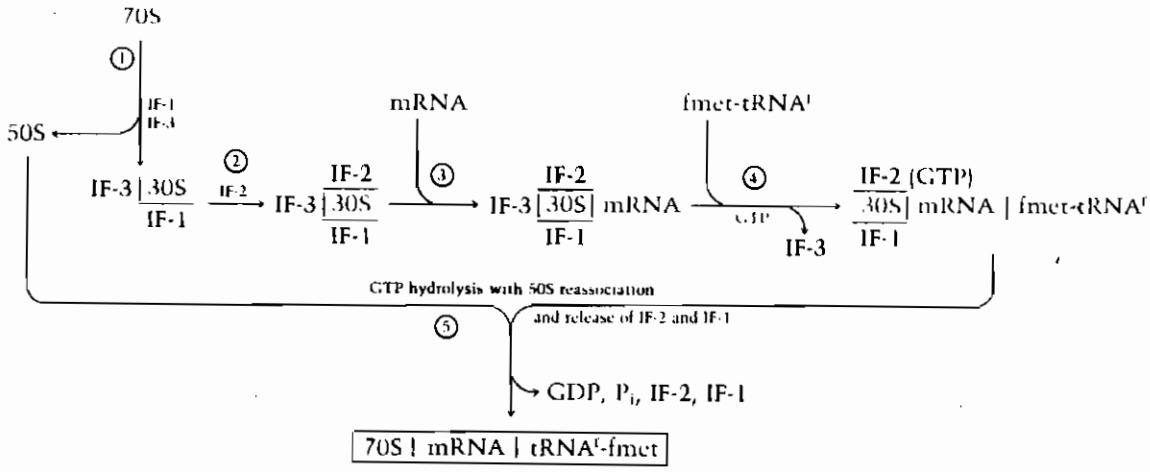


การแปลข้อมูลเริ่มต้นจากรหัส AUG ซึ่งเป็นโคดอนที่หนึ่งถัดจากช่วง leader ไปสิ้นสุดลงตรงรหัสหยุดซึ่งอยู่หน้าช่วง trailer เมื่อโคดอนอันแรกเป็น AUG tRNAที่จะมาจับคู่เบสก็ต้องมีแอนไทโคดอนเป็น UAC UAC เป็นแอนไทโคดอนใน tRNA ของฟอร์มิลเมไธโอนีน ($tRNA^{f^{met}}$ หรือ $tRNA^{f}$) และใน tRNA ของเมไธโอนีน ($tRNA^{m^{et}}$) tRNA ทั้งสองนี้มีการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ไม่เหมือนกันแต่มีแอนไทโคดอน UAC เหมือนกัน ใน E.Coli และโปรคาริโอท tRNA ที่จะไปจับคู่เบสกับโคดอนที่หนึ่ง AUG คือ $tRNA^{f^{met}}$ ส่วน $tRNA^{m^{et}}$ จะจับกับโคดอน AUG ภายในสาย mRNA ที่เป็นข้อมูลส่วนที่ถัดเข้าไป ในเซลล์ยูคาริโอทนั้น $tRNA^{m^{et}}$ จะไปจับกับโคดอน AUG เริ่มต้น

$tRNA^{f^{met}}$ จะจับกับกรดอะมิโนเมไธโอนีนตรงหมู่ 3′-OH ของอะดีนีนไรโบนิวคลีโอไทด์ตรงปลาย 3′ ของ tRNA ตามขั้นตอนแอคติเวชันก่อน เร่งปฏิกิริยาโดยเอ็นไซม์ methionine-tRNA synthetase จากนั้นจึงมีการเติมหมู่ฟอร์มิลเข้าที่หมู่อะมิโนของเมไธโอนีนโดย tetrahydrofolic acid (FH_4) เป็นตัวให้หมู่ฟอร์มิลเร่งปฏิกิริยาโดยเอ็นไซม์ met-$tRNA^{f^{met}}$ formyltransferase ได้ผลิตผลเป็น N-formylmethionine-$tRNA^{f^{met}}$(fmet-$tRNA^{f^{met}}$) ดังสมการที่แสดงไว้ ถ้าเป็น $tRNA^{m^{et}}$ จะจับกับกรดอะมิโนเมไธโอนีนก่อน โดยใช้เอ็นไซม์ methionine-tRNA synthetase เช่นกัน ได้ met-$tRNA^{m^{et}}$ แต่จะเติมหมู่ฟอร์มิลโดยใช้เอ็นไซม์ met-$tRNA^{f^{met}}$ formyltransferase ไม่ได้

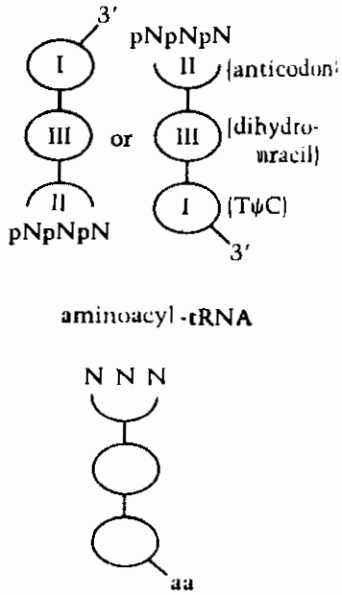


แผนผังแสดงการสร้าง initiation complex ซึ่งต้องเป็นไปตามลำดับขั้นตอน บางปฏิกิริยาก็ต้องใช้พลังงานจาก GTP IF คือ initiation factor เครื่องหมาย | และเครื่องหมาย – ในแผนผังหมายถึงการรวมตัวระหว่างโปรตีนกับกรดนิวคลีอิค ซึ่งยังไม่ทราบรายละเอียดของการรวมตัวมากนัก

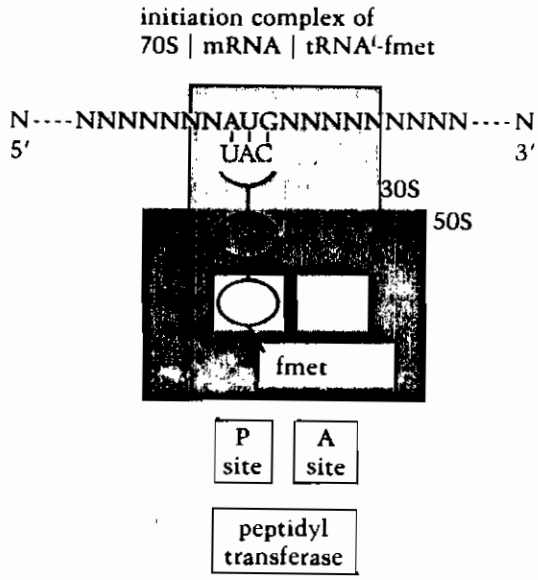


สัญลักษณ์ของ tRNA และองค์ประกอบของ initiation complex แสดงไว้ในรูปที่ 14-5

ก)



ข)



รูปที่ 14-5 ก) สัญลักษณ์ที่เขียนง่าย ๆ ของ tRNA และ aminoacyl tRNA

ข) initiation complex **ซึ่งประกอบด้วย** 70 S **ไรโบโซม** mRNA **และ** fmet-tRNA^{fmet}

ปัจจุบันมีรายละเอียดเกี่ยวกับการสร้าง initiation complex เพิ่มขึ้นกล่าวคือ

1. การรวมตัวกันระหว่าง mRNA กับ 30 S ไรโบโซมตอนแรกนั้นอาศัยการจับคู่เบสของ 6-10 นิวคลีโอไทด์ในช่วง leader ของ mRNA กับ 16 S rRNA บน 30 S ไรโบโซม

2. บน 50 S ไรโบโซมมีตำแหน่งจำเพาะ 2 แห่ง คือ peptidyl site (P-site) และ aminoacyl site (A-site) และมีเอ็นไซม์ peptidyl transferase ที่จะเร่งปฏิกิริยาการสร้างพันธะเปปไทด์ fmet-tRNA^{fmet} จับกับไรโบโซมโดยที่จะใช้ TψC loop ในโครงสร้าง tRNA วางตัวลงบน P site ของ 50 S ไรโบโซม

ขั้นตอนเริ่มต้นการสังเคราะห์ในเซลล์ยูคาริโอทจะต่างไปจากใน E.Coli และพวกโปรคาริโอทบ้างเล็กน้อย คือ

1. ในเซลล์ยูคาริโอทจะเป็น 80 S ไรโบโซม ที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยเล็กคือ 40 S และ 60 S ไรโบโซม

2. tRNA ที่จะไปจับคู่เบสกับโคดอนเริ่มต้น AUG คือ met-tRNA^{met}

3. initiation factor ในพวกยูคาริโอท (eIF) มีประมาณ 8-9 ชนิด

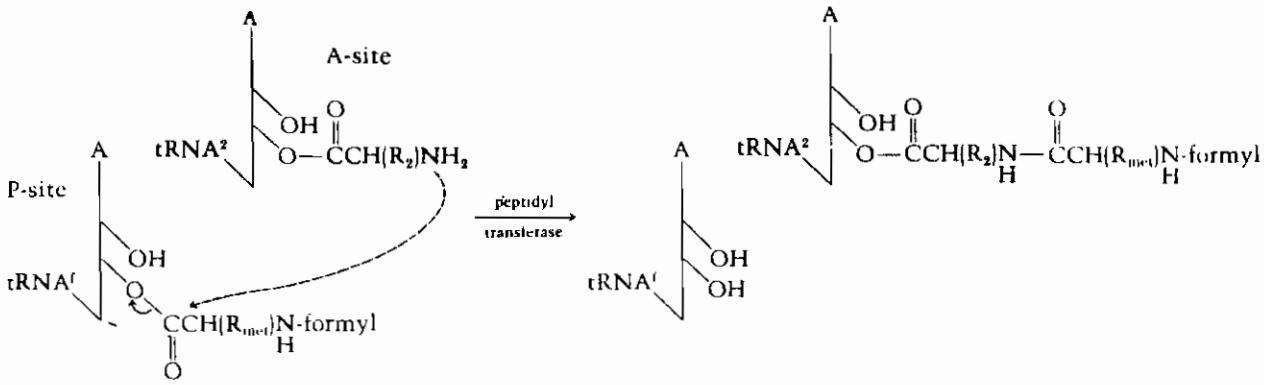
4. ปลาย 5′ ของ mRNA ซึ่งเป็น Gppp นั้นมีบทบาทสำคัญในการจับกับไรโบโซม

III ขั้นตอนเพิ่มความยาวสายโพลีเปปไทด์ (Elongation of polypeptide chain)

การต่อสายโพลีเปปไทด์ให้ยาวออกไป แบ่งเป็น 3 ขั้นตอนย่อยดังนี้ (ดูรูป 14-6 ประกอบ)

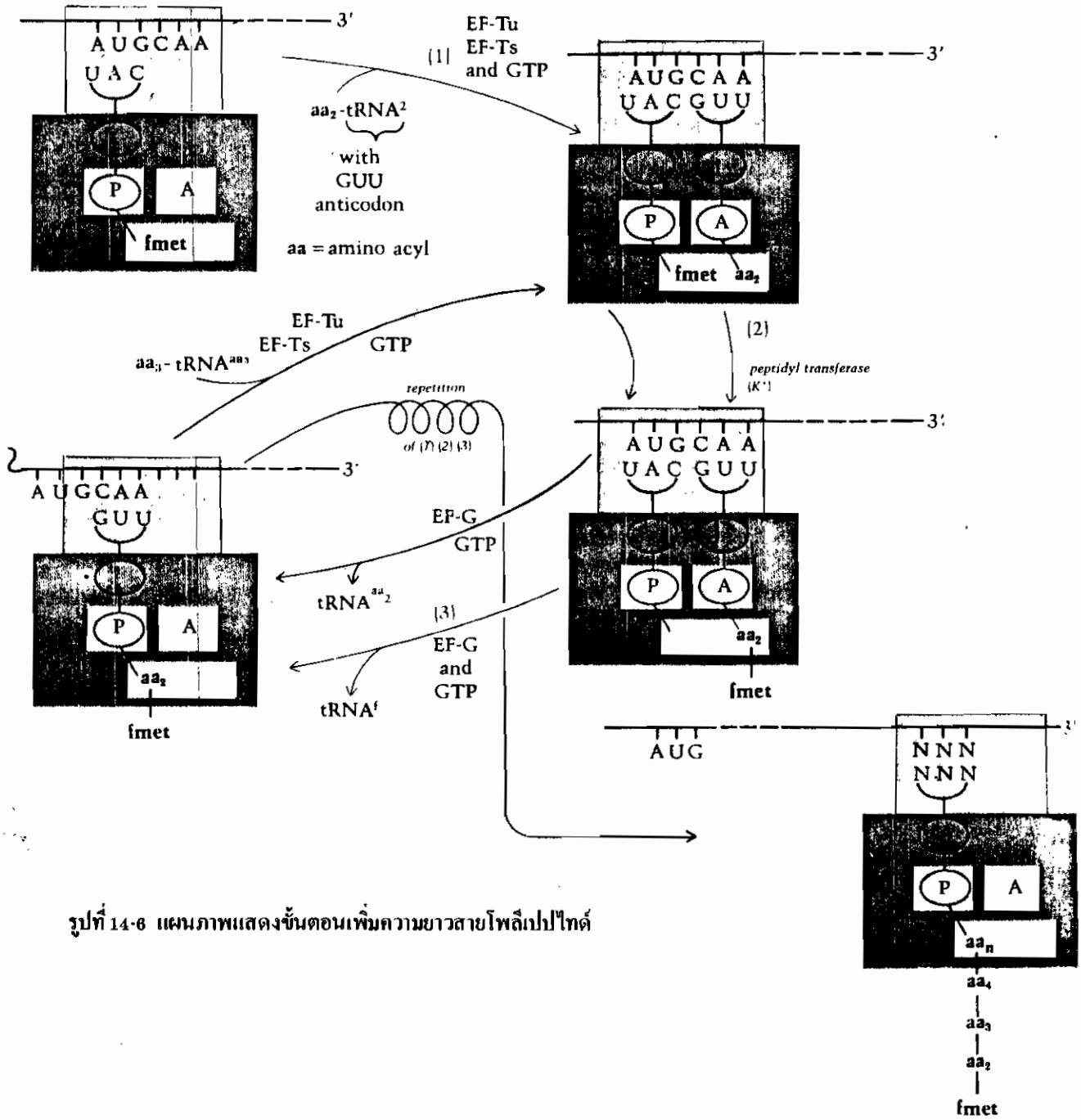
1. เมื่อได้ initiation complex โดยที่ fmet-tRNA^{fmet} จับอยู่บน P-site ของ 50 S ไรโบโซม aminoacyl tRNA ตัวที่สองจะนำกรดอะมิโนใดเข้าไปนั้น ขึ้นอยู่กับว่าโคดอนที่สองต่อจากรหัส AUG บน mRNA เป็นรหัสสำหรับกรดอะมิโนใดในรูป 14-6 โคดอนที่สองเป็น CAA ซึ่งเป็นรหัสของกลูตามีน (ดูตาราง 14-1) tRNA ซึ่งมีแอนไทโคดอนเป็น GUU จะนำเอากรดอะมิโนตัวที่สองคือกลูตามีนเข้าไปจับที่ A-site ของ 50 S ไรโบโซม ขั้นตอนนี้ต้องใช้พลังงานจาก GTP และอาศัยโปรตีน elongation factor (EF) ใน E.Coli แฟคเตอร์ดังกล่าวคือ EF-T$_u$ และ EF-T$_s$

2. fmet-tRNA^{fmet} อยู่ที่ P-site aa$_2$-tRNA^{aa_2} อยู่ที่ A-site เอ็นไซม์ peptidyl transferase ซึ่งอยู่ที่ 50 S ไรโบโซม จะเร่งปฏิกิริยาการสร้างพันธะเปปไทด์ระหว่าง fmet และ aa$_2$ โดยอาศัยไอออน K^+ เช่นนี้ทำให้ได้ไดเปปไทด์ fmet-aa$_2$ ติดอยู่กับหมู่ 3′-OH ของ tRNA^{aa_2} และอยู่ที่ A-site tRNA^{fmet} มีปลาย 3′ อิสระแล้วก็พร้อมที่จะหลุดออกไปจาก P site ของ 50 S ไรโบโซม



3. เมื่อ tRNA อิสระหลุดออกจาก P site ของ 50 S ไรโบโซมจะมีการโยกย้าย peptidyl tRNA ซึ่งมีไดเปปไทด์เกาะอยู่จาก A site ไปแทนที่ที่ P site ทำให้ที่ A site ว่างลง mRNAและไรโบโซมมีการเคลื่อนที่ที่สัมพันธ์ต่อกัน ขั้นตอนการโยกย้ายตำแหน่ง (translocation) จาก A site ไปที่ P site นี้อาศัย elongation factor EF-G และ GTP

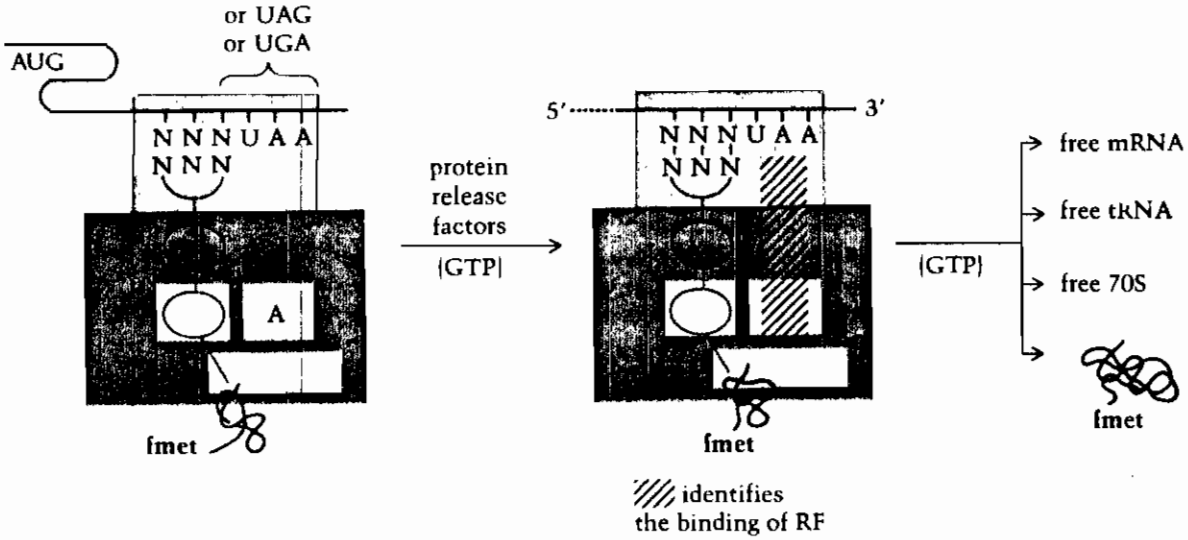
ขั้นตอน 1, 2, 3 จะเกิดเวียนเป็นวัฏจักร (cycle) ไปเรื่อยตามแต่รหัสหรือโคดอนบน mRNA จะเป็นรหัสของกรดอะมิโนใด ได้ผลิตผลเป็นสายเปปไทด์ จนกระทั่งถึงรหัสหยุดจึงจะสิ้นสุดการสังเคราะห์เปปไทด์นั้น ๆ



รูปที่ 14-6 แผนภาพแสดงขั้นตอนเพิ่มความยาวสายโพลีเปปไทด์

IV **ขั้นตอนหยุดการสังเคราะห์** (termination of synthesis)

เมื่อถึงรหัสหยุดซึ่งเหมือนกันทั้งในโปรคาริโอทและยูคาริโอทคือ UAA, UAG หรือ UGA release factor (RF) โปรตีนที่มีความจำ (recognition) ต่อรหัสหยุด จะเข้าไปจับที่ A site ของ 50 S ไรโบโซม กีดขวาง aminoacyl tRNA อื่นที่เข้ามาใน E.Coli แฟคเตอร์นี้คือ RF-1, RF-2 และ RF-3 บทบาทและหน้าที่ของ release factor ยังไม่เป็นที่กระจ่างนัก แต่คาดว่าเกี่ยวข้องกับการทำให้สายโพลีเปปไทด์ที่สังเคราะห์เสร็จแล้วหลุดออกจาก P site พร้อมกับแยกคอมเพล็กซ์ให้แตกออกเป็น mRNA, tRNA 70 S ไรโบโซมที่อิสระ เพื่อที่จะนำกลับไปใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนได้ใหม่ ขั้นตอนนี้ต้องใช้ GTP (รูปที่ 14-7)



รูปที่ 14-7 แผนภาพแสดงขั้นตอนหยุดการสังเคราะห์โปรตีน

14.4 การดัดแปลงโมเลกุลโปรตีนที่ได้จากกระบวนการทรานสเลชัน

โพลีเปปไทด์หรือโปรตีนที่เพิ่งจะสังเคราะห์เสร็จนั้นยังไม่ใช่ผลิตผลที่แท้จริง มีการดัดแปลงโมเลกุลโปรตีนในลักษณะที่แตกต่างกันออกไป เช่น

1. ฟอร์มิลเมไธโอนีนซึ่งเป็นกรดอะมิโนตัวแรกทางปลาย N, จะถูกเอ็นไซม์ deformylase ย่อยสลายหมู่ฟอร์มิลออกเหลือแต่เมไธโอนีนอิสระ บางทีกรดอะมิโนหนึ่งหรือสองตัวทางปลาย N, อาจถูกเอ็นไซม์ aminopeptidase ตัดทิ้งไป ทั้งในเซลล์โปรคาริโอทและยูคาริโอทเองก็มีบางเหมือนกันที่เมไธโอนีนถูกย่อยสลายไปทั้งที่เปปไทด์นั้นยังสังเคราะห์ไม่เสร็จ

2. การออกซิไดซ์หมู่-SH ของกรดอะมิโนซีสเตอีน 2 โมเลกุลเป็นพันธะไดซัลไฟด์

3. การรวมตัวของโมเลกุลโปรตีนกับโคแฟคเตอร์หรือโคเอ็นไซม์

4. การรวมตัวของโมเลกุลโปรตีนกับหมู่พรอสเธติค เช่น การที่น้ำตาลเข้าไปเกาะที่กรดอะมิโนแอสพาราจีน หรือเซอรีน หรือธริโอนีนของโมเลกุลโปรตีนเพื่อเป็นไกลโคโปรตีน หรือการที่ไลโปเอท (lipoate) เข้าไปสร้างพันธะโควาเลนท์กับโมเลกุลเอ็นไซม์

5. การตัดพันธะเปปไทด์บางส่วนออกไปบ้างเพื่อเปลี่ยนสารเริ่มต้น (precusor) ให้ไปเป็นผลิตผลสุดท้าย ตัวอย่างเช่น พรีโพรอินสุลิน → โพรอินสุลิน → อินสุลิน หรือโพรคอลลาเจน → คอลลาเจน หรือโปรตีนที่โปลิโอไวรัส (polio virus) สร้างขึ้นเป็นสายที่ยาวมาก แต่จะถูกไฮโดรไลซ์เป็นโปรตีนต่าง ๆ หลายตัวในภายหลัง

6. เกิดปฏิกิริยาขึ้นที่กรดอะมิโนจำเพาะ เช่น ปฏิกิริยาฟอร์มิเลชัน แอซิเลชัน แอมิเดชัน เมธิลเลชัน ฟอสฟอริเลชัน ไฮดรอกซิเลชัน ไอโอดิเนชัน และคาร์บอกซิเลชัน เป็นต้น

7. การรวมตัวของโมโนเมอร์เป็นโอลิโกเมอร์

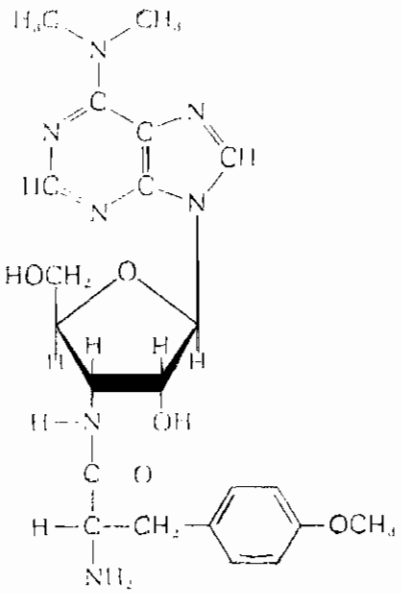
กระบวนการดัดแปลงต่าง ๆ เหล่านี้จะไปมีผลต่อโครงสร้างและแอคติวิตีของโมเลกุลโปรตีน

14.5 ตัวยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

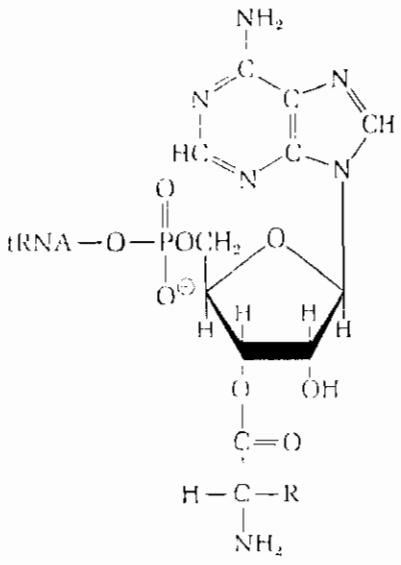
ตัวยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนส่วนใหญ่เป็นพวกยาปฏิชีวนะ ยาปฏิชีวนะต่าง ๆ มีผลยับยั้งขั้นตอนของกระบวนการทรานสเลชันด้วยกลไกที่ไม่เหมือนกัน ยาบางตัวมีผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ยูคาริโอท ยาบางตัวมีผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์โปรคาริโอทโดยไม่มีผลต่อเซลล์ยูคาริโอท ทำให้ใช้เป็นยารักษาโรคต่าง ๆ ได้ ยาบางตัวก็มีผลทั้งในเซลล์โปรคาริโอทและยูคาริโอท

ยาปฏิชีวนะเหล่านั้นได้แก่

1. **เพียวโรมัยซิน** (puromycin) มีผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนทั้งในเซลล์โปรคาริโอทและยูคาริโอท ที่ขั้นตอนเพิ่มความยาวสายเปปไทด์ระยะที่มีการโยกย้าย peptidyl tRNA ไปอยู่ที่ P site แล้ว

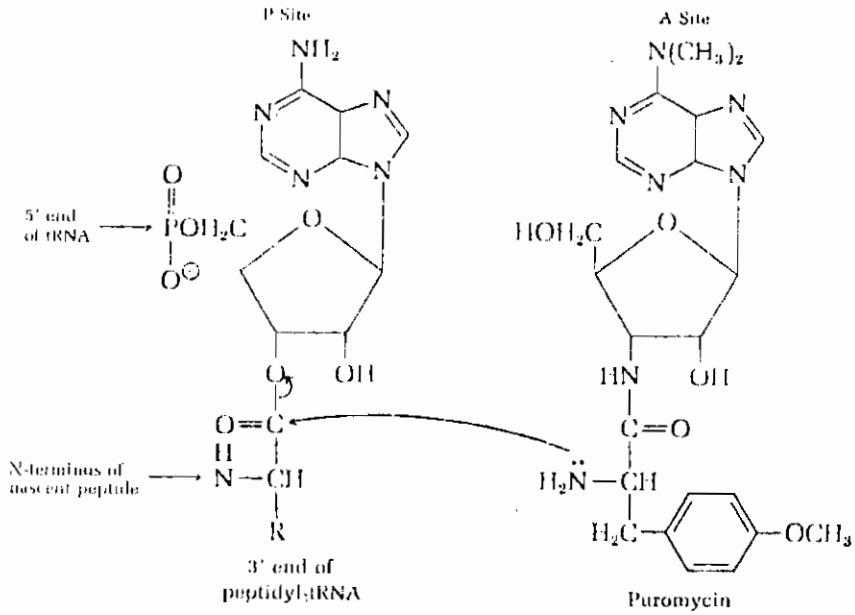


Puromycin

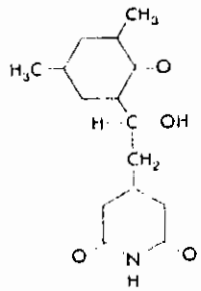


Aminoacyl-tRNA

เนื่องจากเพียวโรมัยซินมีโครงสร้างคล้ายคลึง aminoacyl tRNA มากโดยเฉพาะ tyrosyl tRNA จึงสามารถเข้าไปจับที่ A site ของไรโบโซม ในขณะที่ peptidyl tRNA อยู่บน P site เอ็นไซม์ peptidyl transferase จะเร่งปฏิกิริยาการสร้างพันธะเปปไทด์ระหว่างหมู่อะมิโนอิสระของเพียวโรมัยซินบน A site กับหมู่คาร์บอกซิลของสายเปปไทด์บน peptidyl tRNA ซึ่งอยู่บน P site ได้ผลิตผลเป็นเปปทิดิล-เพียวโรมัยซิน การสังเคราะห์สายเปปไทด์ดำเนินต่อไปไม่ได้ เปปทิดิล-เพียวโรมัยซินจึงหลุดออกจากไรโบโซมทั้ง ๆ ที่การสังเคราะห์เปปไทด์สายนั้นยังไม่เสร็จสิ้น เปปทิดิล-เพียวโรมัยซินมีความยาวได้ต่าง ๆ กันแล้วแต่ว่าเพียวโรมัยซินเข้าไปยับยั้งช่วงใด เปปไทด์ที่ได้เป็นเปปไทด์ที่ไม่สมบูรณ์เรียบร้อย ไม่สามารถทำหน้าที่ที่เฉพาะตัวได้



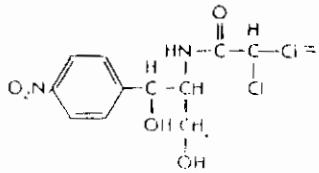
2. ไซคลอเฮกซิมีด (cycloheximide)



Cycloheximide

มีผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในพวกยูคาริโอท โดยยับยั้งแอคติวิตีของเอ็นไซม์ peptidyl transferase ที่ 60 S ไรโบโซม ซึ่งเป็นหน่วยย่อยของ 80 S ไรโบโซม

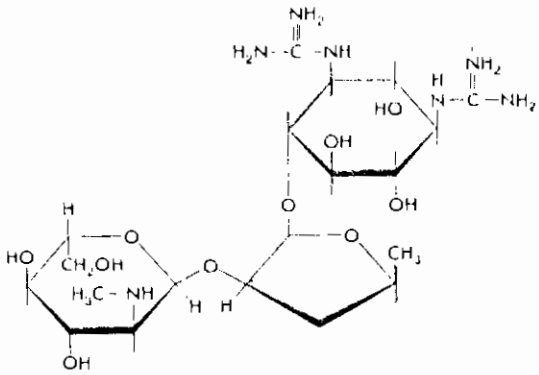
3. **คลอแรมเฟนิคอล** (chloramphenicol)



Chloramphenicol

ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในโปรคาริโอท โดยยับยั้งแอคติวิตีของเอ็นไซม์ peptidyl transferase ที่ 50 S ไรโบโซม ซึ่งเป็นหน่วยย่อยของ 70 S ไรโบโซม

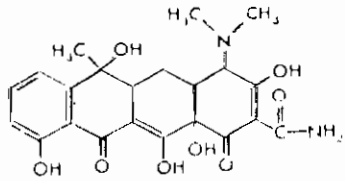
4. **สเตรปโตมัยซิน** (streptomycin)



Streptomycin

สเตรปโตมัยซินเป็นอะมิโนไกลโคไซด์ (aminoglycoside) ที่ค่อนข้างจะเป็นเบส ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในโปรคาริโอทโดยจะไปจับกับ 30 S ไรโบโซม ขัดขวางการสร้าง initiation complex และยังทำให้เกิดความผิดพลาดในการอ่านโคดอนบน mRNA อีกด้วย

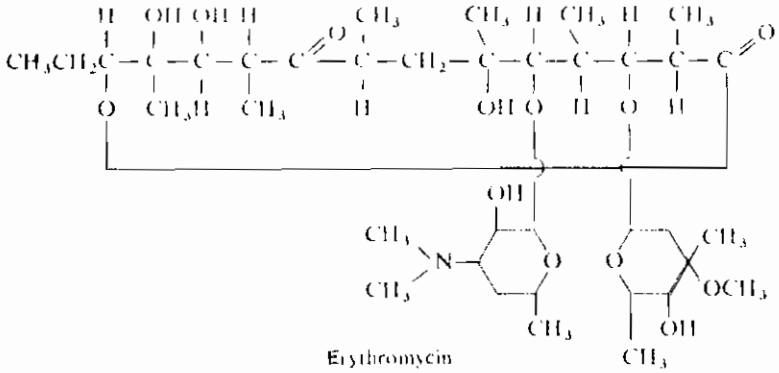
5. **เตทตราซัยคลิน** (tetracyclin)



Tetracyclin

ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในโปรคาริโอท โดยไปจับกับ 30 S ไรโบโซม ขัดขวางการเข้าไปยัง A site ของ aminoacyl tRNA

6. **อิริโธรมัยซิน** (erythromycin)



Erythromycin

ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในโปรคาริโอท โดยไปจับกับ 50 S ไรโบโซม ขัดขวางขั้นตอนการโยกย้ายตำแหน่ง (translocation) ระหว่าง A site และ P site

7. **ลินโคมัยซิน** (lincomycin) **และคลินดามัยซิน** (clindamycin)

ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในโปรคาริโอท โดยไปจับกับ 50 S ไรโบโซม ขัดขวางแอคติวิตีของเอ็นไซม์ peptidyl transferase ในการสร้างพันธะเปปไทด์

นอกจากยาปฏิชีวนะดังกล่าวแล้วยังมีกรดฟูซิดิค (fusidic acid) เป็นสารประเภทสเตียรอยด์ สามารถยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนขั้นตอนโยกย้ายตำแหน่งระหว่าง A site และ P site

บทสรุป

กระบวนการทรานสเลชันใน E.Coli และโปรคาริโอทเกิดขึ้นที่ 70 S ไรโบโซม ส่วนของยูคาริโอทเกิดขึ้นที่ 80 S ไรโบโซม tRNA จะเป็นตัวพากรดอะมิโนต่าง ๆ มาต่อกันเป็นสายของโปรตีนที่ไรโบโซม การที่จะพากรดอะมิโนตัวใดมานั้นขึ้นกับรหัสดิยะหรือโคดอนบน mRNA ซึ่งพาดผ่านอยู่บนไรโบโซม tRNA จะใช้หมู่ 3′-OH ของอะดีนีนไรโบนิวคลีโอไทด์ที่ปลาย 3′ ของโมเลกุลในการจับกรดอะมิโนเป็น a.a-tRNA เร่งปฏิกิริยาการจับกรดอะมิโนนี้โดยเอ็นไซม์ aminoacyl tRNA synthetase เมื่อ a.a-tRNA นำกรดอะมิโนไปที่ไรโบโซมจะมีการจับคู่เบสหรือการสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างแอนไทโคดอนของ tRNA กับโคดอนของ mRNA การสังเคราะห์โปรตีนนี้เริ่มจาก N, ไปทาง C, ไรโบโซมจะเคลื่อนที่จากปลาย 5′ → ปลาย 3′ ของโมเลกุล mRNA ถ้าการสังเคราะห์โปรตีนอยู่ในระยะที่ว่องไว จะปรากฏว่ามีไรโบโซมไปเกาะอยู่บนสาย mRNA เต็มไปหมดเรียกโพลีไรโบโซมหรือโพลีโซม แต่ละไรโบโซมจะสังเคราะห์ได้เปปไทด์แต่ละสายโดยไม่เกี่ยวข้องกับไรโบโซมอันอื่น

รหัสพันธุกรรมมีทั้งหมด 64 รหัส AUG เป็นรหัสเริ่มต้น UAA, UAG และ UGA เป็นรหัสหยุด ที่เหลือเป็นรหัสสำหรับกรดอะมิโน 20 ตัว กรดอะมิโนแต่ละตัวอาจมีรหัสได้ 2, 3, 4 หรือ 6 รหัสก็แล้วแต่ละชนิดกรดอะมิโน ยกเว้นกรดอะมิโนทริปโตแฟนและเมไธโอนีนเท่านั้นที่มีเพียง 1 รหัส การอ่านรหัสพันธุกรรมอ่านจากปลาย 5′ → ปลาย 3′ ของ mRNA ไปทีละสามเบสอย่างต่อเนื่องแต่ไม่ซ้ำซ้อน สมมุติฐาน wobble ที่อธิบายโดย F.Crick นั้นจะช่วยลดความผิดพลาดการถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมในขั้นตอนการสังเคราะห์โปรตีนได้ เพราะ wobble base ซึ่งอยู่ทางปลาย 5′ ของแอนไทโคดอนบน tRNA นั้นมีความยืดหยุ่นสามารถจับคู่กับเบสได้มากกว่าหนึ่งชนิด เป็นผลให้หนึ่งแอนไทโคดอนจับคู่กับเบสบน mRNA ได้มากกว่าหนึ่งโคดอน อาจเป็นสองหรือสามโคดอนแล้วแต่ชนิดของ wobble base

กระบวนการทรานสเลชันหรือการสังเคราะห์โปรตีนใน E.Coli แบ่งเป็น 4 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกเป็นการแอคติเวทกรดอะมิโนให้ไปจับที่หมู่ 3′-OH ของอะดีนีนไรโบนิวคลีโอไทด์ที่ปลาย 3′ ของโมเลกุล tRNA ให้เป็น a.a-tRNA มีเอ็นไซม์ aminoacyl-tRNA synthetase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา อาศัยพลังงานจาก ATP ขั้นตอนที่สองเป็นการสร้าง initiation complex โดยที่ fmet-tRNA$^{f^{met}}$ ใช้ TψC loop ไปจับ P site บน 50 S ไรโบโซม และใช้แอนไทโคดอน UAC จับกับโคดอน AUG บน mRNA ส่วน mRNA นั้นใช้เบสในช่วง leader จับกับ 16 S RNA บน 30 S ไรโบโซม ดังนั้น initiation complex จึงประกอบด้วย 70 S ไรโบโซม | mRNA | fmet-

$tRNA^{fmet}$ ขั้นตอนที่สามเป็นการต่อสายโพลีเปปไทด์ให้ยาวออกไป $a.a_2$-tRNA จะนำกรดอะมิโนตัวที่สองตามคำสั่งของโคดอนบน mRNA เข้าไปยัง A site ของ 50 S ไรโบโซม ต้องใช้พลังงานจาก GTP และ EF-T_u, EF-T_s เอ็นไซม์ peptidyl transferase บน 50 S ไรโบโซมจะเร่งปฏิกิริยาการสร้างพันธะเปปไทด์ระหว่าง f-met และ $a.a_2$ ได้เป็น fmet-$a.a_2$ อยู่บน A site จากนั้น $tRNA^{fmet}$ ซึ่งเป็นอิสระแล้วจะหลุดออกจากP site f-met-$a.a_2$ จาก A site เคลื่อนที่ไปอยู่ที่ P site แทน เป็นการโยกย้ายตำแหน่งที่อยู่ อาศัยพลังงานจาก GTP และ EF-G ที่ A-site จึงว่างลงรอให้ a.a-tRNA เข้ามาจับต่อไปใหม่ ขั้นตอนที่สี่เมื่อถึงรหัสหยุดซึ่งอาจเป็น UAA, UAG หรือ UGA RF จะเข้าไปจับที่ A site ของไรโบโซม เป็นผลทำให้คอมเพล็กซ์แตกออกเป็น mRNA, tRNA 70 S ไรโบโซมและเปปไทด์อิสระ ขั้นตอนที่สี่นี้อาศัยพลังงานจาก GTP เช่นกัน เปปไทด์นี้ต้องมีการดัดแปลงโมเลกุลเสียก่อนจึงจะสามารถทำหน้าที่เฉพาะตัวได้ การดัดแปลงเกิดขึ้นในลักษณะที่แตกต่างกันออกไป

ตัวยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนส่วนใหญ่เป็นยาปฏิชีวนะ ยาบางชนิดยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนเฉพาะในยูคาริโอท เช่น ไซคลอเฮกซิมีด ยาบางชนิดสามารถยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนทั้งในยูคาริโอทและโปรคาริโอทเช่นเพียวโรมัยซิน ยาบางชนิดยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนเฉพาะในโปรคาริโอท เช่น คลอแรมเฟนิคอล สเตรปโตมัยซิน เตทตราไซคลิน อิริโธรมัยซิน ลินโคมัยซิน คลินตามัยซิน เป็นต้น การที่ยาปฏิชีวนะเหล่านี้จะสามารถยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในโปรคาริโอทหรือยูคาริโอทนั้นขึ้นอยู่กับว่ายาเหล่านี้ไปจับกับ 30 S, 50 S ไรโบโซม หรือว่าจับกับ 40 S, 60 S ไรโบโซม

คำถามท้ายบท

1. ไรโบโซมของโปรคาริโอทมีค่าสัมประสิทธิ์การเซดิเมนท์เป็นเท่าใด แตกตัวให้หน่วยย่อยใดบ้าง
2. ไรโบโซมของยูคาริโอทมีค่าสัมประสิทธิ์การเซดิเมนท์เป็นเท่าใด แตกตัวให้หน่วยย่อยใดบ้าง
3. RNA ชนิดใดที่เป็นตัวพากรดอะมิโนไปที่ไรโบโซม กรดอะมิโนนั้น ๆ จับอยู่กับ RNA ในลักษณะอย่างไร
4. รหัสตติยะบน mRNA หรือบน anticodon loop ของ tRNA ที่เป็นตัวบ่งชี้ชนิดของกรดอะมิโน
5. รหัสตติยะบน mRNA เรียกว่าอะไร สัมพันธ์กับการเรียงตัวของเบสบน anticodon loop ของ tRNA อย่างไร
6. เอ็นไซม์ aminoacyl tRNA synthetase มีหน้าที่อะไรในขั้นตอนไหนของกระบวนการทรานสเลชัน
7. ไรโบโซมที่อยู่ทางปลาย 3′ หรือปลาย 5′ ของ mRNA จะมีเปปไทด์สายยาวที่สุด
8. รหัสพันธุกรรมคืออะไร มีทั้งหมดกี่รหัส
9. การอ่านรหัสพันธุกรรมอ่านอย่างไร
10. ความผิดพลาดขั้นตอนเรพลิเคชันหรือทรานสคริปชัน จำเป็นต้องมีผลถึงขั้นตอนทรานสเลชันหรือการสังเคราะห์โปรตีนเสมอหรือไม่ ยกตัวอย่างประกอบ
11. สมมุติฐาน wobble กล่าวไว้ว่าอย่างไร มีข้อดีอย่างไร
12. Wobble base คือเบสตัวใด อยู่ตรงตำแหน่งไหนของ tRNA
13. ในสาย mRNA มีส่วนใดบ้างที่ไม่ถูกแปลข้อมูลไปเป็นโปรตีน
14. การแปลข้อมูลบน mRNA เริ่มจากรหัสใด และหยุดที่รหัสใด
15. $tRNA^{fmet}$ จะจับกับฟอร์มิลเมไธโอนีนตรงตำแหน่ง 3′-OH ของอะดีนีนตั้งแต่แรกเลยใช่หรือไม่
16. Initiation complex ประกอบด้วยส่วนสำคัญอะไรบ้าง
17. ขั้นตอนเริ่มต้นการสังเคราะห์โปรตีนในยูคาริโอทต่างไปจากในโปรคาริโอทเล็กน้อยอย่างไรบ้าง
18. fmet-$tRNA^{fmet}$ ไปจับที่ A-site หรือ P-site ของ 50 S ไรโบโซม
19. Aminoacyl tRNA ตัวที่สองนำกรดอะมิโนไปที่ A-site หรือ P-site ของ 50 S ไรโบโซม
20. การสร้างพันธะเปปไทด์ระหว่าง fmet และ aa_2 โดยเอ็นไซม์ peptidyl transferase เกิดขึ้นที่ A-site หรือ P-site ของ 50 S ไรโบโซม

21. เขียนแผนภาพแสดงขั้นตอนการเพิ่มความยาวสายโพลีเปปไทด์พร้อมกับบอกแฟคเตอร์ต่าง ๆ ที่จำเป็น
22. ขั้นตอนหยุดการสังเคราะห์โปรตีนอาศัยแฟคเตอร์อะไร
23. การตัดแปลงโมเลกุลโปรตีนที่ได้จากกระบวนการทรานสเลชัน เป็นไปในลักษณะใด
24. เพียวโรมัยซินมีผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนที่ขั้นตอนใดและอย่างไร
25. บอกชื่อตัวยับยั้งเอ็นไซม์ peptidyl transferase ในยูคาริโอท
26. บอกผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยคลอแรมเฟนิคอล สเตรปโตมัยซิน เตทตราซัยคลิน อิริโธรมัยซิน ลินโคมัยซิน คลินดามัยซิน และกรดฟูซิดิค