

# Механизмы реализации наследственной информации

## Транскрипция

Транскрипция - это синтез всех видов РНК по матрице ДНК, осуществляемый ферментом ДНК-зависимой РНК-полимеразой.

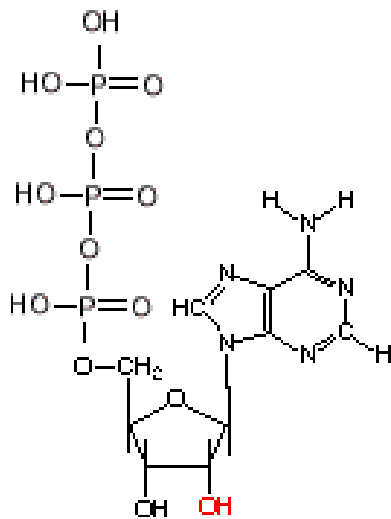
У прокариот синтез всех видов РНК осуществляется одним и тем же ферментом.

У эукариот – 3 вида РНК-полимераз:

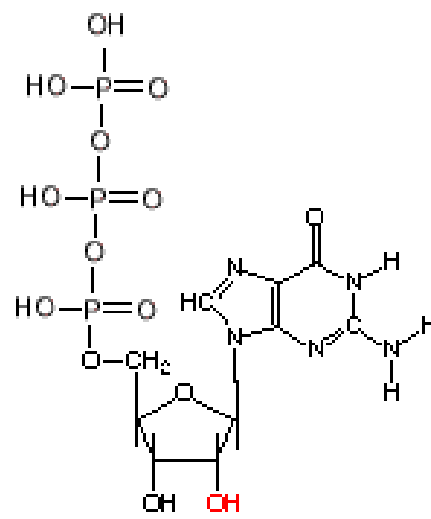
- ✓ ядерные
- ✓ митохондриальные
- ✓ хлоропластные

# Субстратами для РНК-полимераз служат рибонуклеозид-трифосфаты

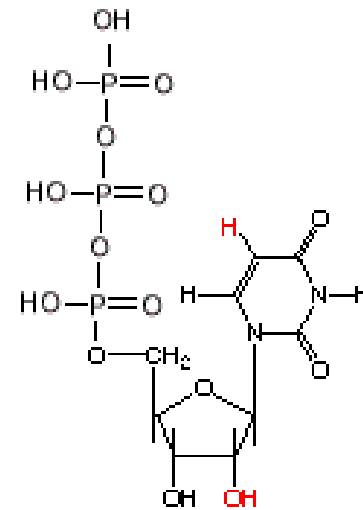
## Активированные рибонуклеотиды



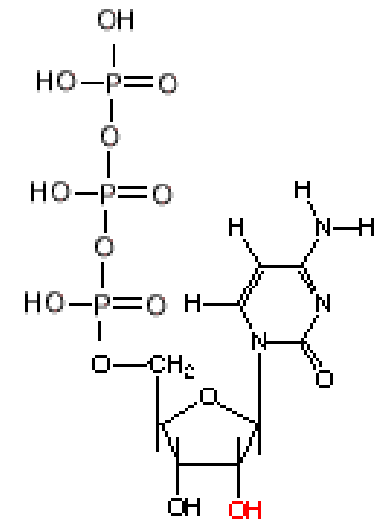
Аденозинтрифосфат  
(АТФ)



Гуанозинтрифосфат  
(GTP)



Уридинтрифосфат  
(UTP)



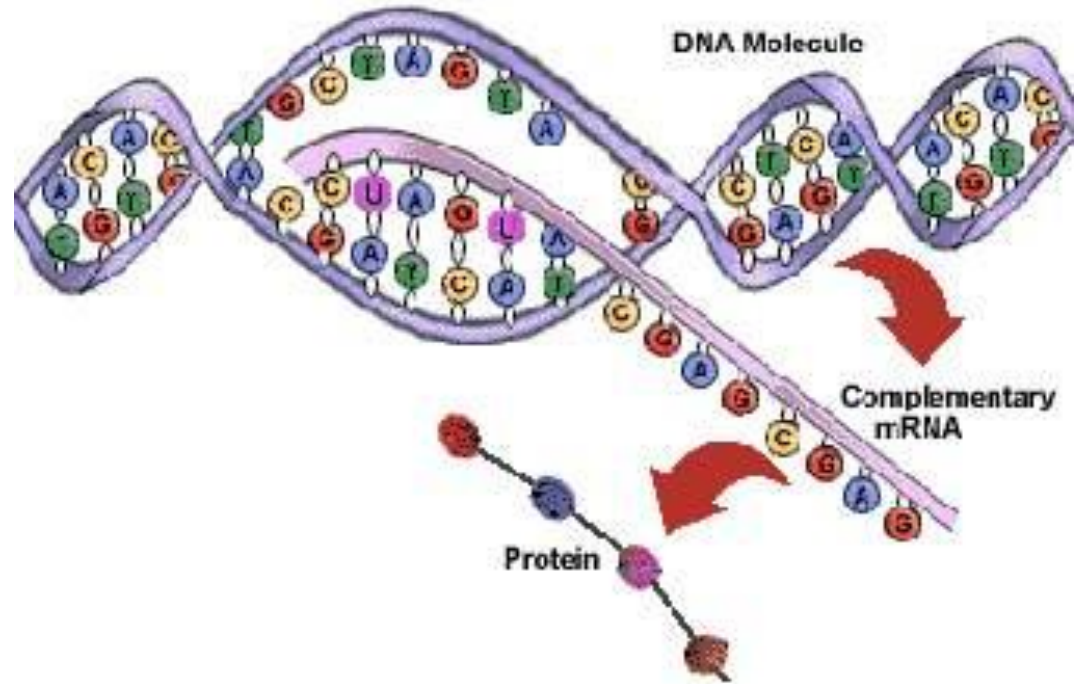
Цитидинтрифосфат  
(CTP)

Пуриновые

Пиримидиновые

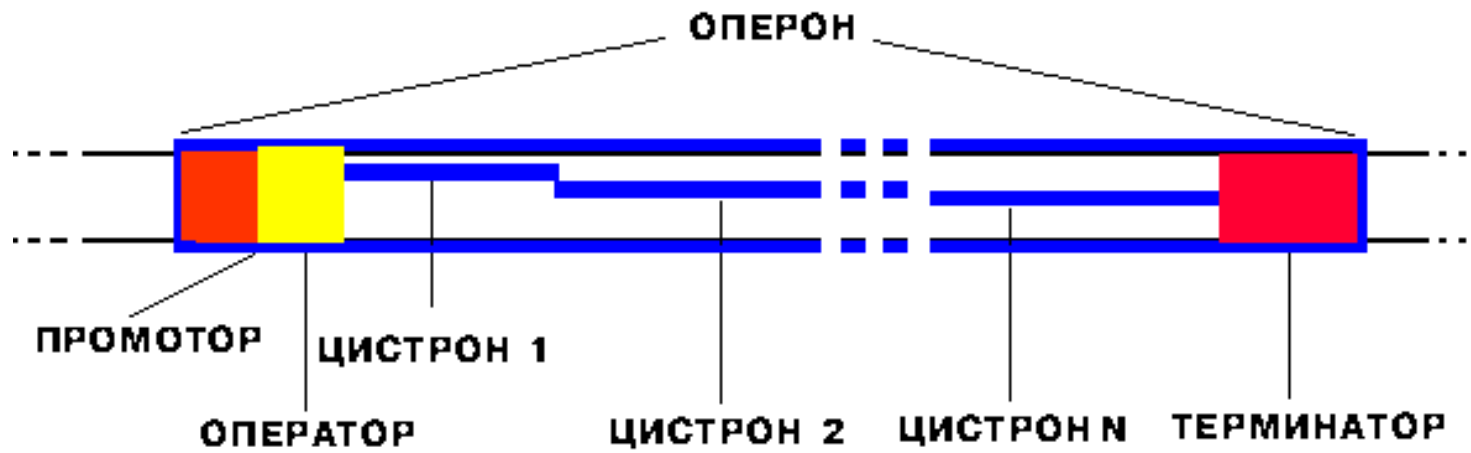
# Принципы транскрипции

1. *Комплементарность*
2. *Антипараллельность*
3. *Униполярность*
4. *Беззатравочность*
5. *Асимметричность*



# Транскрипция у прокариот

Единицей транскрипции у прокариот является оперон.



**Промотор**

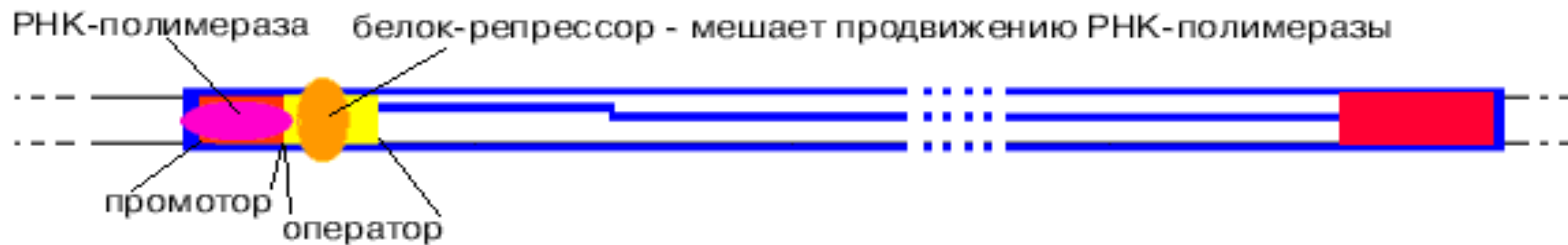
**Терминатор**

**Цистрон**

**Оператор**


У оператора диспетчерская функция - он разрешает или запрещает синтез РНК.

На операторе - белок репрессор. Оперон не транскрибируется.

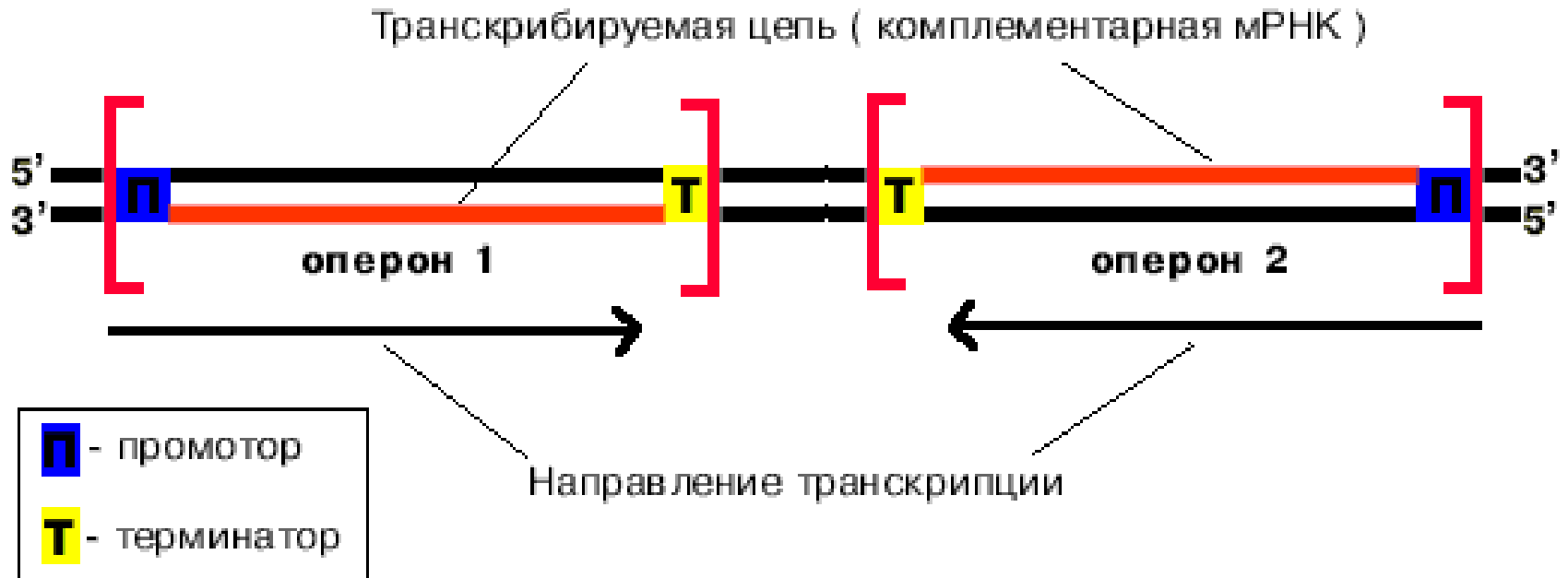


Оператор свободен. Оперон транскрибируется.



 — неактивный репрессор  
или отсутствие репрессора

Транскрибируются обе цепи ДНК, но в каждом отдельном опероне только одна из них (определяется положением промотора и терминатора).



# Субъединичный состав РНК-полимеразы *E.coli*

$(2\alpha)\beta\beta'\sigma$

- *holo*-фермент (полный фермент).



$(2\alpha)\beta\beta'$

*core*-фермент

обладает высоким  
сродством к промотору

Осуществляет  
элонгацию и  
терминацию

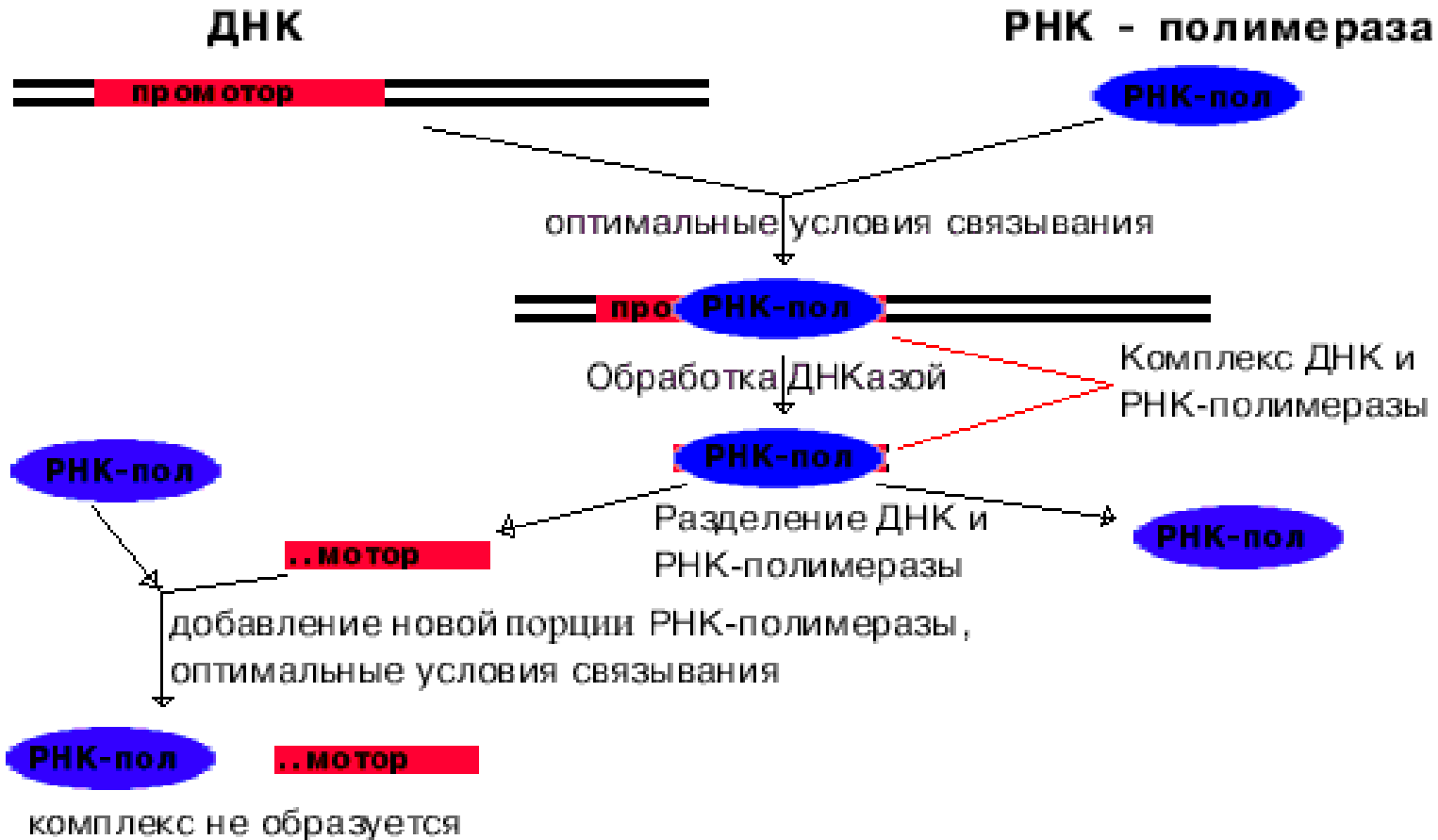
$\sigma$

сменный фактор  
специфичности

придает *holo*-ферменту  
конформацию,  
обладающую повышенным  
сродством к промотору

Нужен для инициации

# Особенности структуры промотора

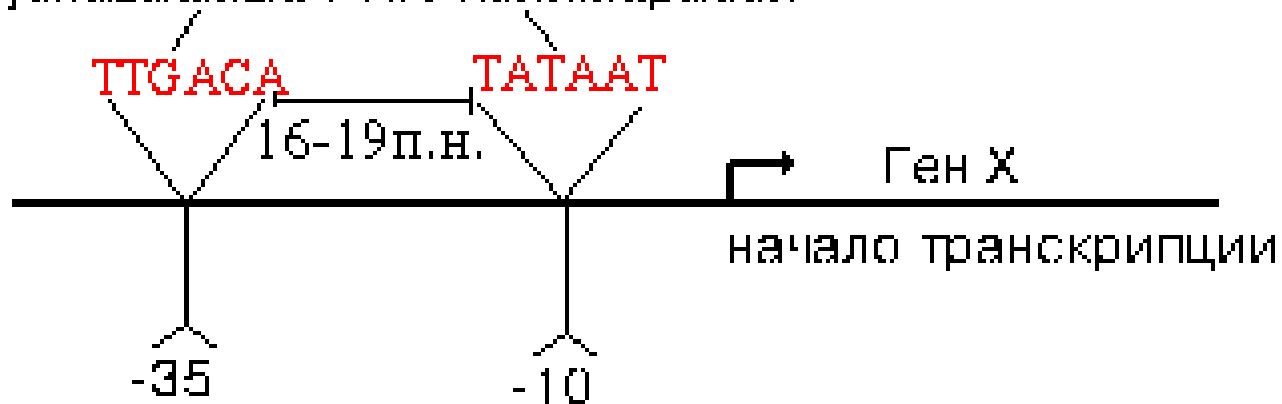


Узнавание и прочное связывание происходит на разных участках ДНК.



## Особенности структуры промотора

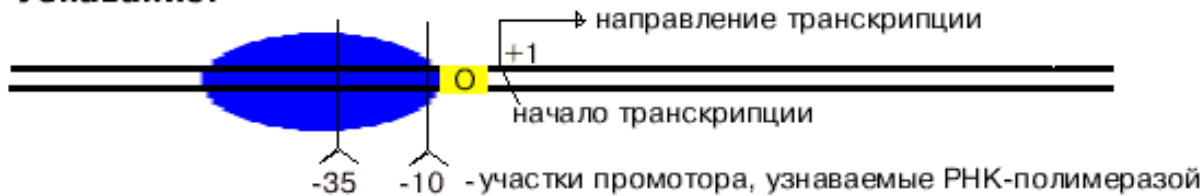
консенсусные АТ-богатые последовательности,  
узнаваемые РНК-полимеразой



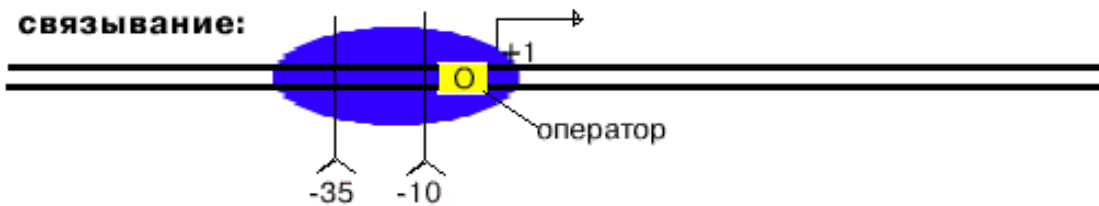
# Этапы транскрипции

## 1. Узнавание и прочное связывание

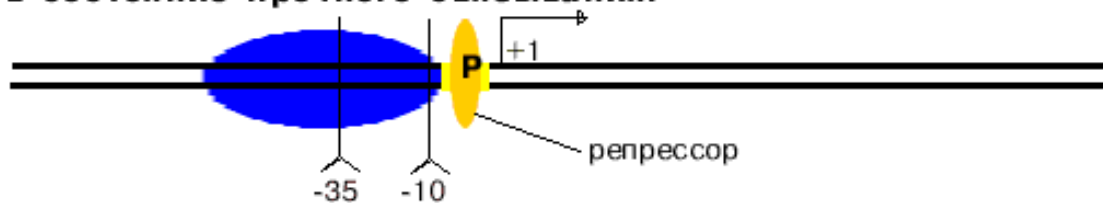
**Узнавание:**



**Прочное связывание:**



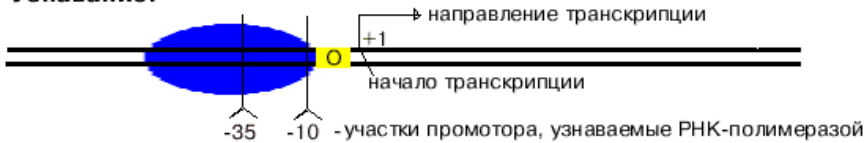
**Белок-репрессор мешает  
переходу из состояния узнавания  
в состояние прочного связывания:**



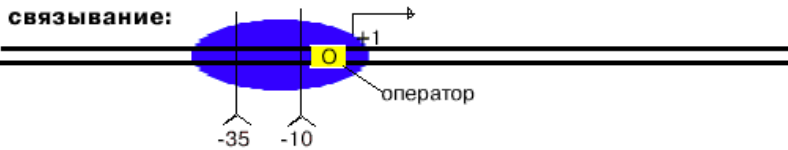
# Этапы транскрипции

## 1. Узнавание и прочное связывание

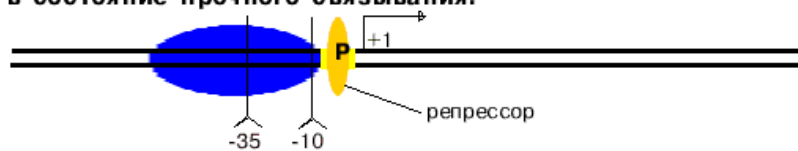
Узнавание:



Прочное связывание:



Белок-репрессор мешает переходу из состояния узнавания в состояние прочного связывания:



Словесные палиндромы:

КАЗАК  
А РОЗА УПАЛА НА ЛАПУ АЗОРА

Палиндромы в нуклеиновых кислотах:



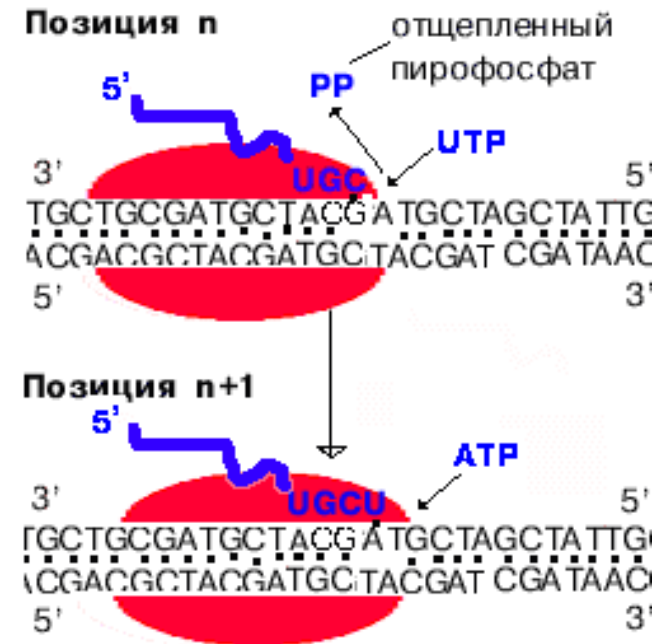
# Этапы транскрипции

## 2. Инициация

Закljučается в образовании первой фосфодиэфирной связи между пурин-трифосфатом (АТФ или ГТФ) и следующим нуклеотидом.

## 3. Элонгация

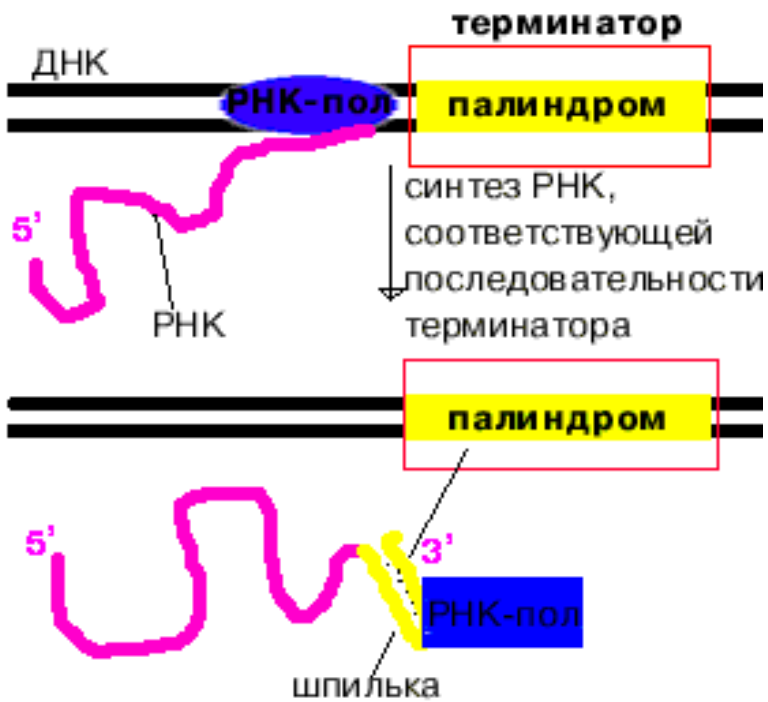
Последовательное наращивание цепи РНК.



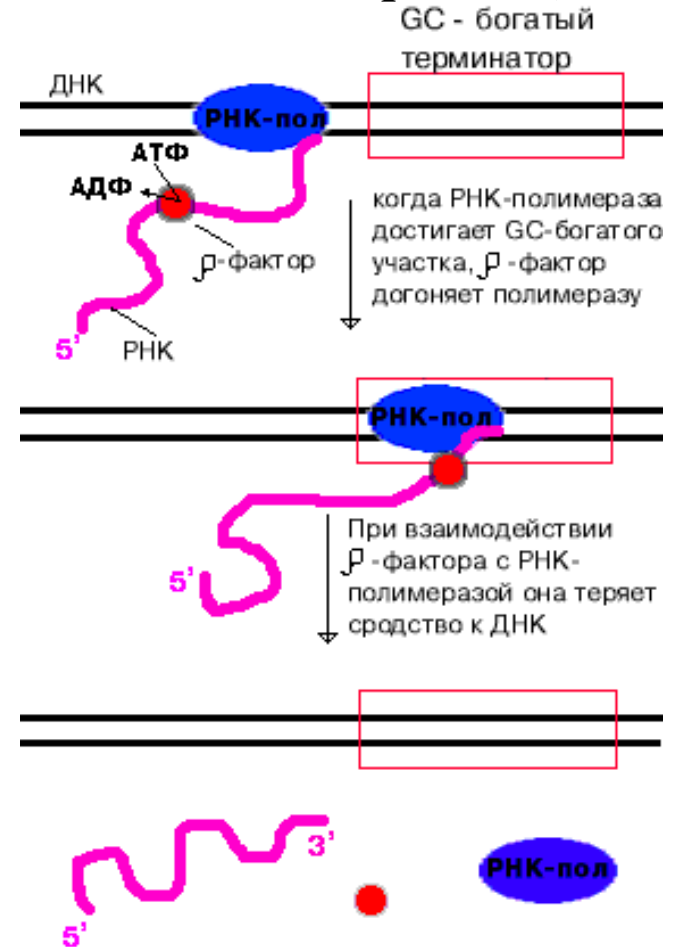
# Этапы транскрипции

## 4. Терминация

### *$\rho$ - независимая терминация*



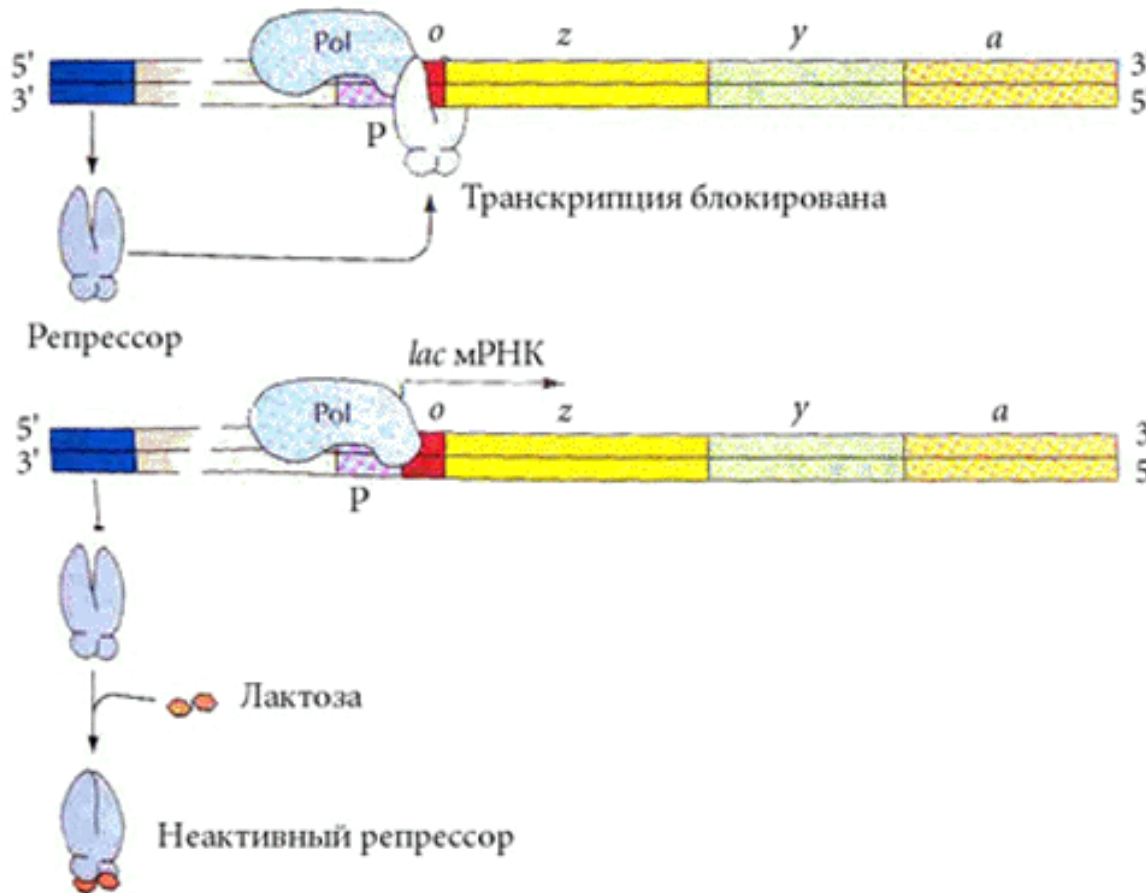
### *$\rho$ - зависимая терминация*



# Регуляция транскрипции у прокариот

## Схема негативной индукции Жакоба и Моно

### *lac*-оперон *E. coli*



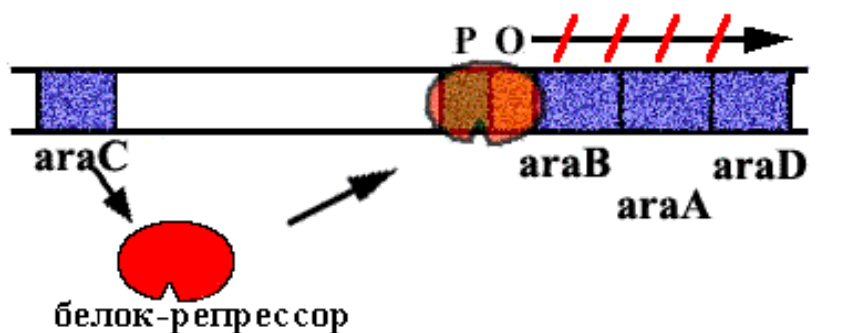
Контролирующим транскрипцию фактором является негативный фактор, "выключатель" - белок - репрессор.

Индукция (включение) происходит при потере сродства белка - репрессора к оператору.

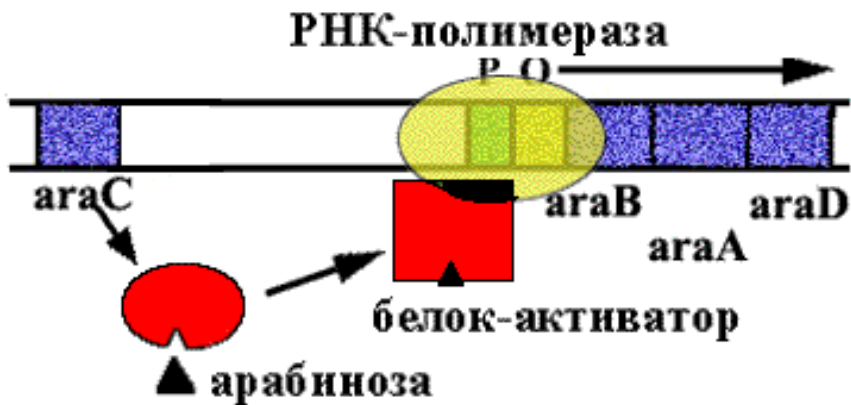
# Регуляция транскрипции у прокариот

## Схема позитивной индукции

### *Ara*-оперон *E. coli*



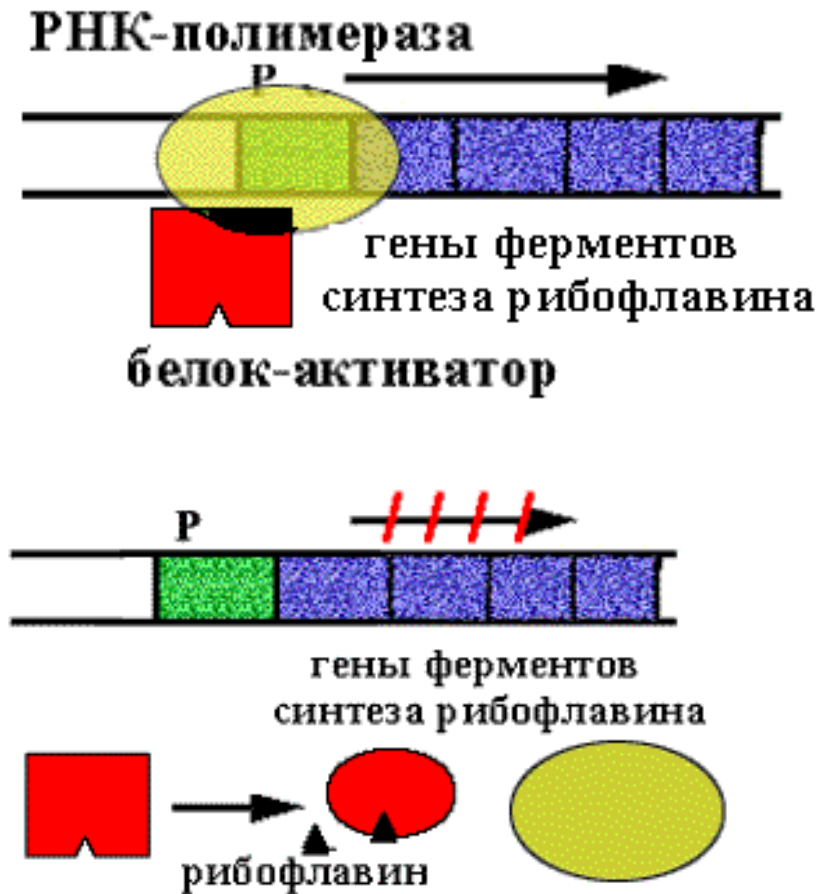
Контролирующий элемент - белок - активатор "включает" работу оперона



# Регуляция транскрипции у прокариот

## Схема позитивной репрессии

### Оперон синтеза *рибофлавина* у *Bacillus subtilis*



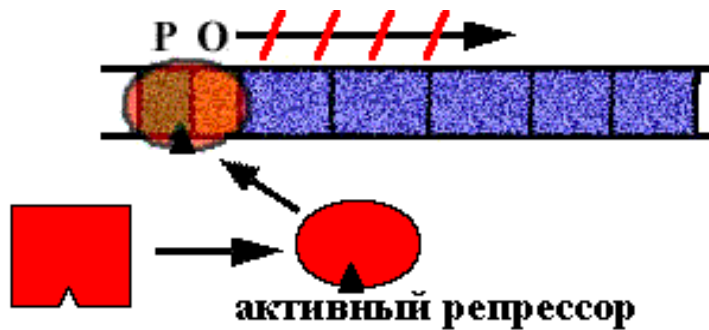
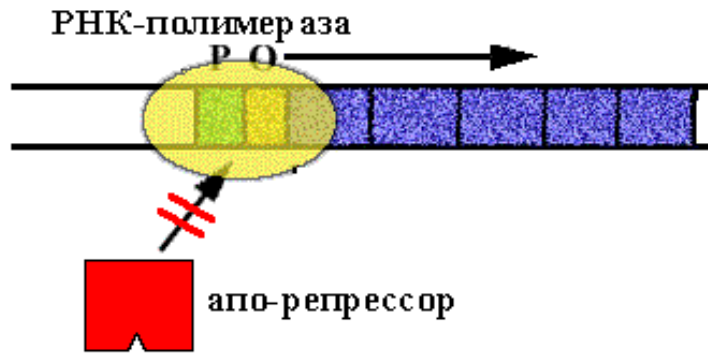
В регуляции участвует белок - активатор, а сама регуляция заключается в выключении транскрипции



# Регуляция транскрипции у прокариот

## Схема негативной репрессии

### Оперон синтеза *триптофана* у *E. coli*

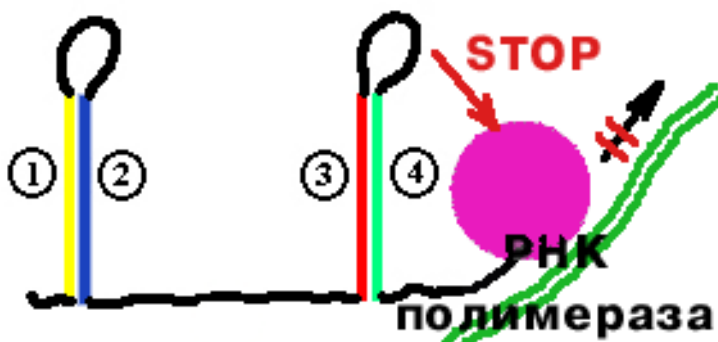


Белок  
репрессор  
"выключает"  
оперон.

# Регуляция транскрипции у прокариот

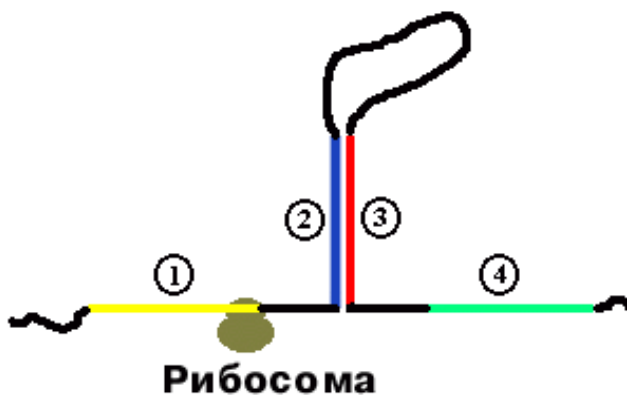
## Аттенуация (ослабление)

Оперон синтеза *триптофана* у *E. coli*



Последовательность  
Шайна-Дальгарно (162 п.н.)  
между промотором и  
цистроном. В ней  
закодирован пептид:

**Met-Lys-Ala-Ile-Phe-Val-  
Leu-Lys-Gly-Trp-Trp-Arg-  
Thr-Ser**



# Транскрипция у эукариот

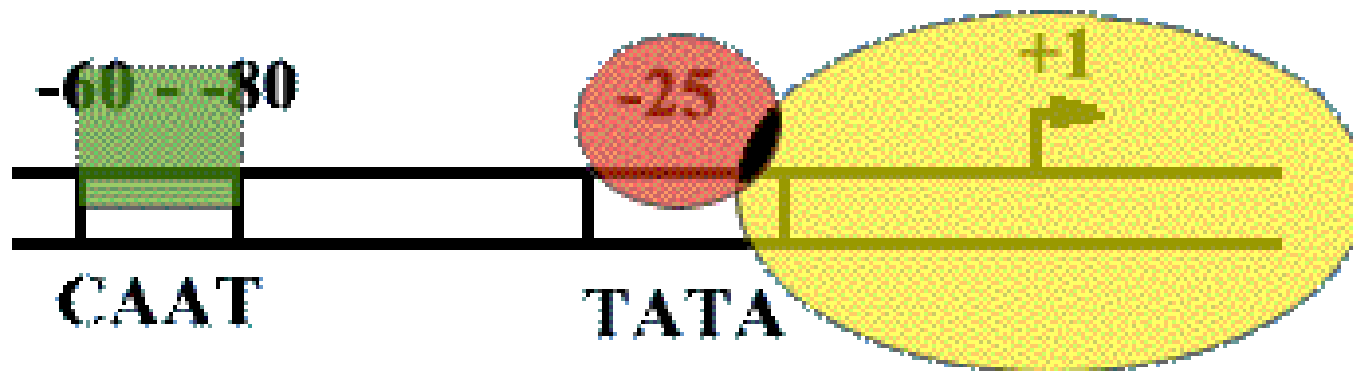
У эукариот процессы транскрипции и трансляции разобщены во времени и пространстве (транскрипция - в ядре, трансляция - в цитоплазме).

## В ядре выделяют 3 типа РНК-полимераз:

- ✓ РНК-полимераза I - синтезирует rРНК (кроме 5S rРНК)
- ✓ РНК-полимераза II - синтезирует mРНК и некоторые sРНК
- ✓ РНК-полимераза III - синтезирует tРНК, некоторые sРНК и 5SrРНК

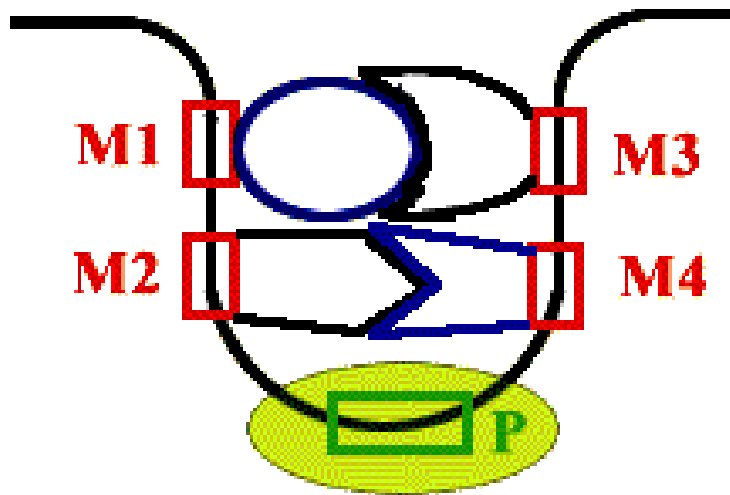
## Особенности транскрипции эукариот

- ✓ Единицей транскрипции у эукариот является отдельный ген, а не оперон, как у прокариот.
- ✓ Оператор, как таковой, отсутствует.
- ✓ Промотор есть, но он организован иначе.



## Особенности транскрипции эукариот

- ✓ *Есть базальные факторы транскрипции - белки, необходимые для инициации транскрипции.*
- ✓ *Есть энхансеры и сайленсеры*



Схематический пример  
энхансера

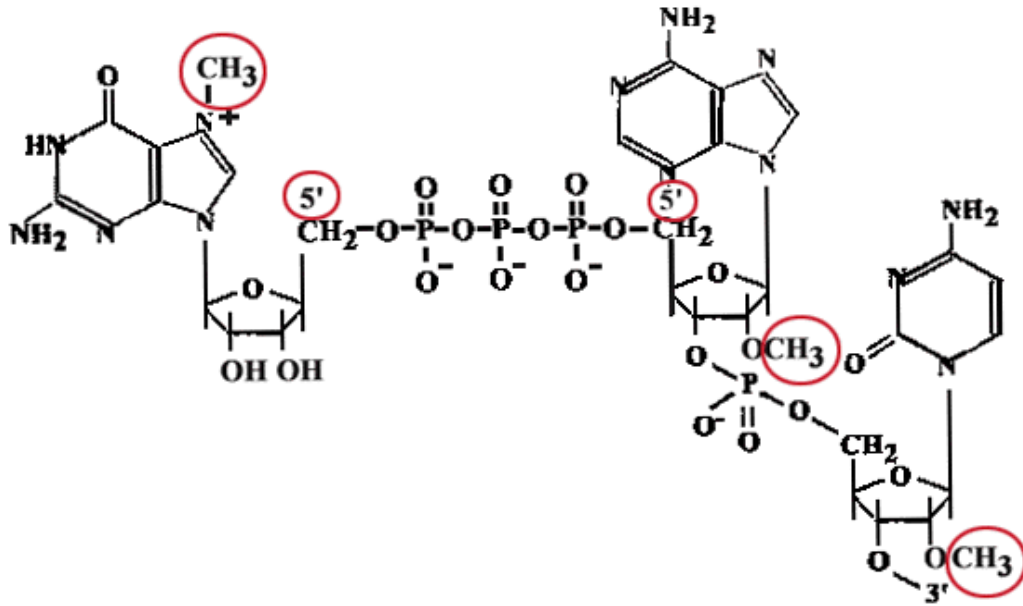
# Процессинг

Процессинг мРНК состоит из нескольких этапов:

1. *Кеширование* 100% мРНК
2. *Полиаденилирование* ~95% мРНК
3. *Сплайсинг* ~95% мРНК. Сплайсингу подвергаются только полиаденилированные мРНК.
4. *Редактирование*  
Показано лишь для нескольких мРНК.

Все стадии процессинга мРНК происходят в РНП-частицах (рибонуклеопротеидных комплексах).

# Кепирование

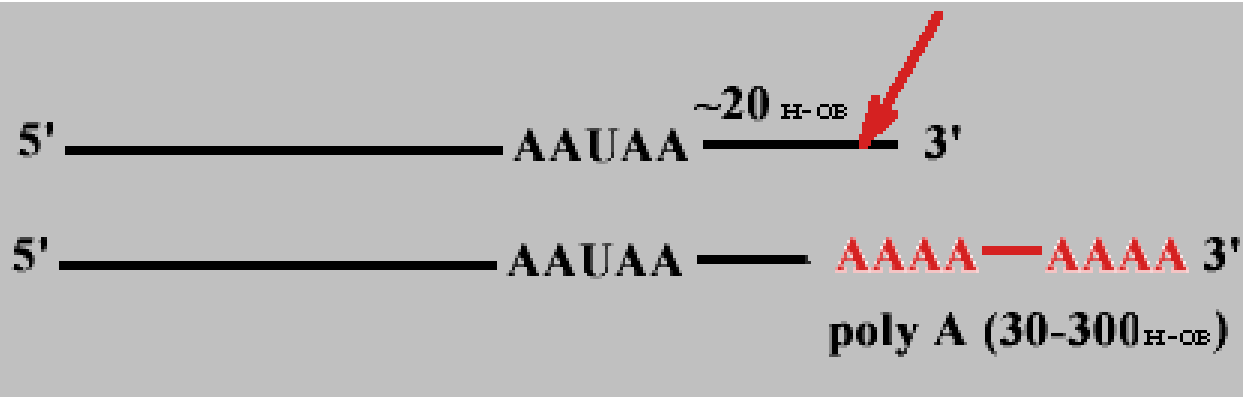


Кепирование - надевание "шапочки".

"Cap" – это метилированный ГТФ, присоединенный в необычной позиции 5'-5' и две метилированные рибозы в первых двух нуклеотидах мРНК

- ✓ "Cap" защищает 5'-конец мРНК от действия экзонуклеаз.
- ✓ За счет узнавания "Cap"-связывающими белками происходит правильная установка мРНК на рибосоме.

# Полиаденилирование



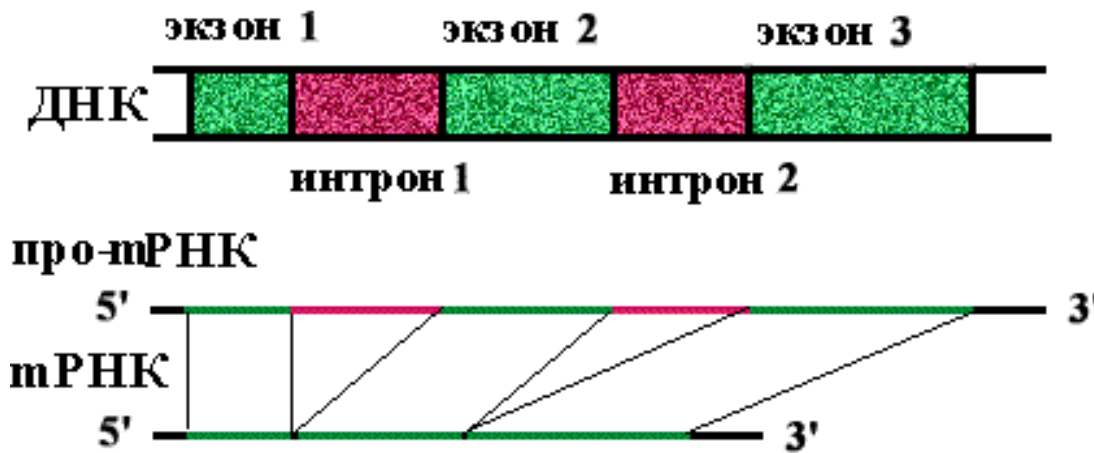
К 3'-концу  
присоединяется от  
30 до 300 остатков  
АМФ  
(безматричный  
синтез)

«Поли-А хвост» определенной длины защищает 3'-конец от гидролиза.



# Сплайсинг

Открыл Филипп Шарп (Массачусетский технологический институт) в 1978 г.



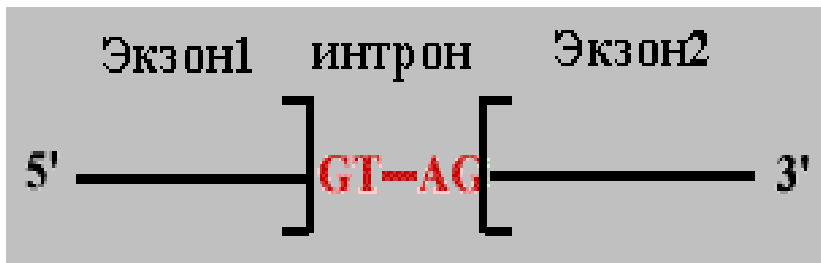
**Сплайсинг - вырезание копий интронов из про-мРНК и сшивание копий экзонов с образованием мРНК.**

*Экзоны - кодирующие участки генов.*

*Интроны - некодирующие участки генов.*

# Сплайсинг

Для мРНК высших организмов существуют обязательные правила сплайсинга



## *Правило 1.*

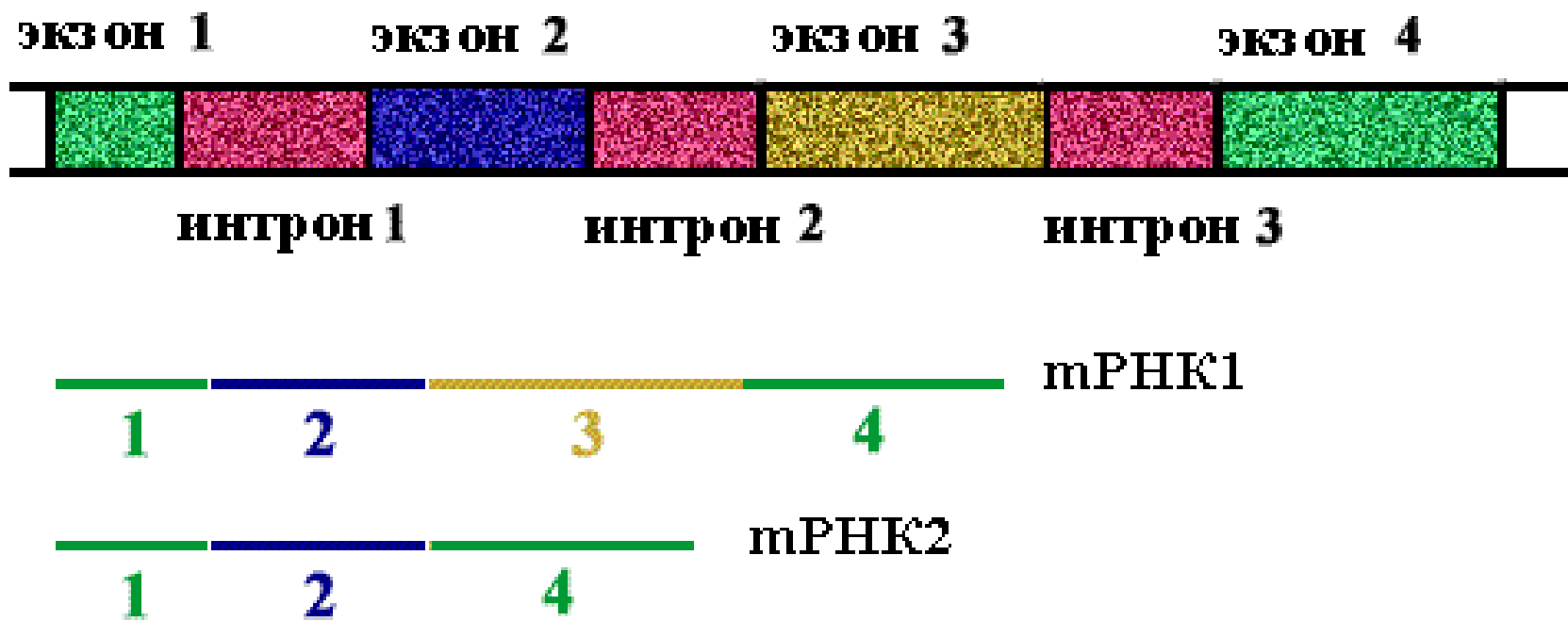
5' и 3' концы интрона очень консервативны:

5'(ГТ-интрон-АГ)3' .

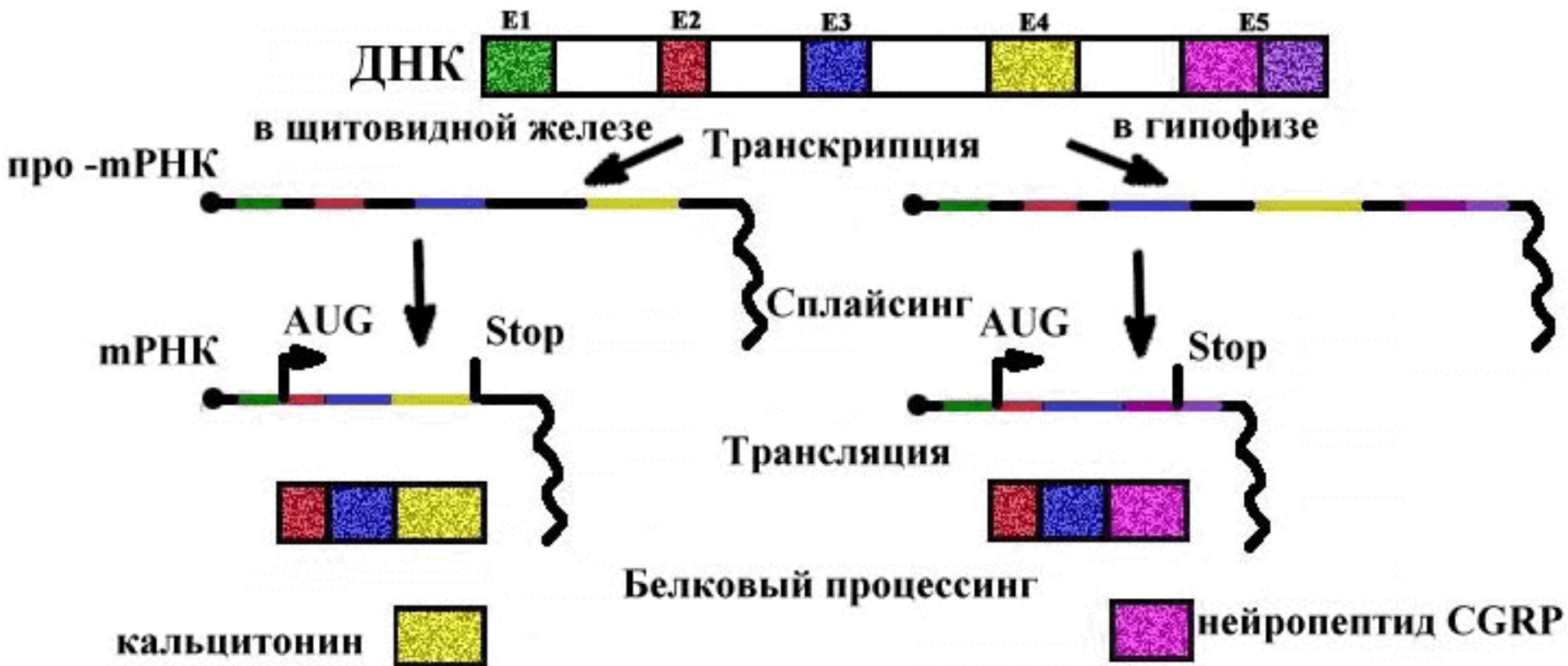
## *Правило 2.*

При сшивании копий экзонов соблюдается порядок их расположения в гене, но могут быть выброшены некоторые из НИХ

# Сплайсинг



# Альтернативный сплайсинг mРНК кальцитонинового гена у млекопитающих (крыса)



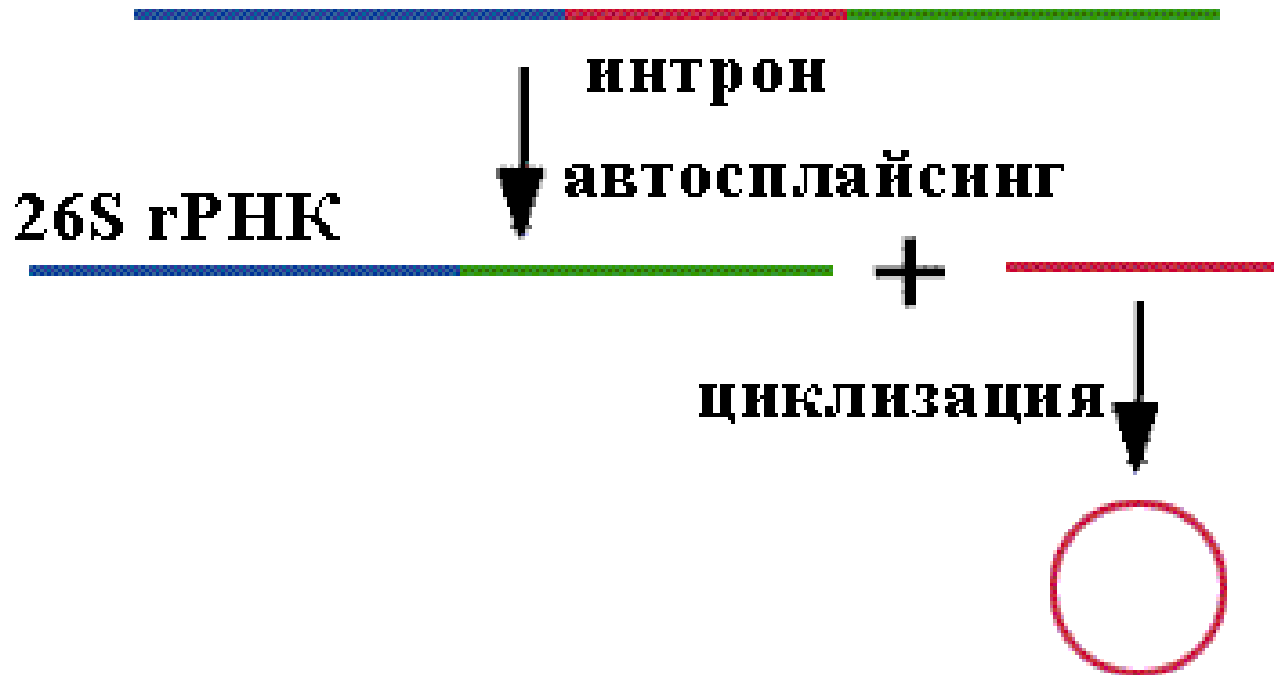
# Сплайсинг

- ✓ Сплайсинг осуществляется белковыми комплексами – сплайсосомами.
- ✓ В ряде случаев сплайсинг осуществляют ферменты-матюразы.
- ✓ В некоторых случаях в процессе сплайсинга участвуют sРНК.

# Автосплайсинг

Автосплайсинг открыт Томасом Чеком (США) в 1982 году у инфузории *Tetrachylena thermophyla*.

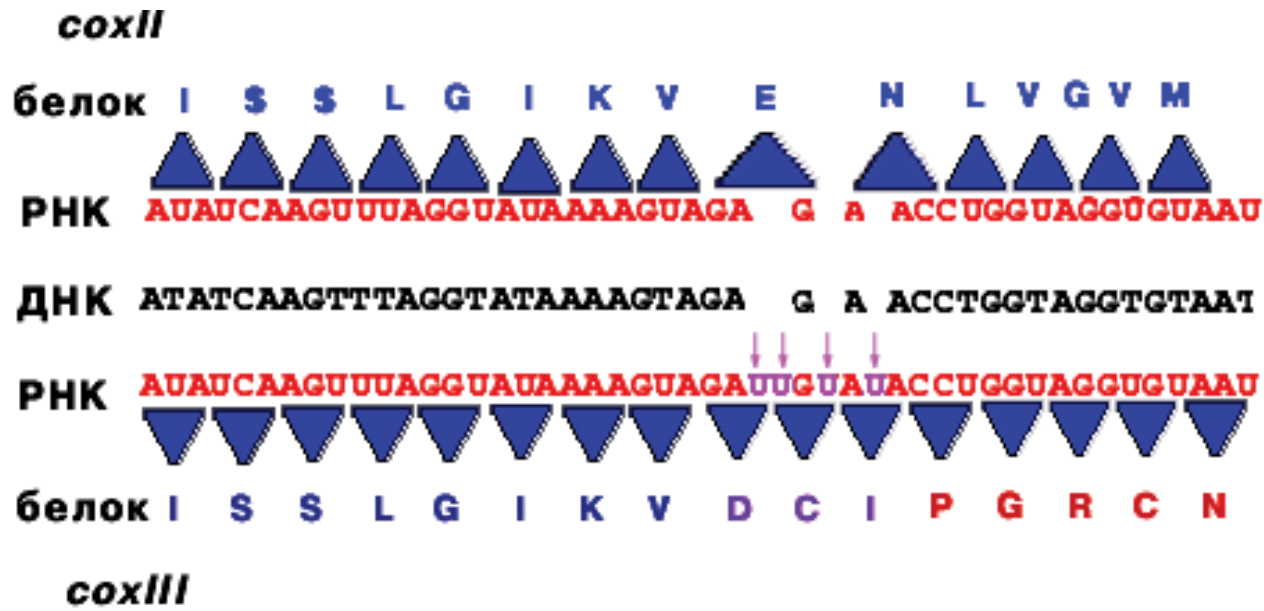
**пр о-гРНК**



# Редактирование

**Редактирование** - изменение генетической информации на уровне мРНК.

Пример: мРНК цитохромоксидазы у трипаносомы



# Синтез белка в клетке

## Трансляция

В трансляции участвуют:

- *транспортные РНК*
- *рибосомы*
- *матричная РНК*
- *аминокислоты*
- *регуляторные белки*
- *ГТФ*
- *аминоацил-тРНК-синтетазы*

Трансляция включает два этапа:

- *рекогницию*
- *собственно синтез полипептида на рибосоме*



# Таблица генетического кода

## Вторая позиция кодона

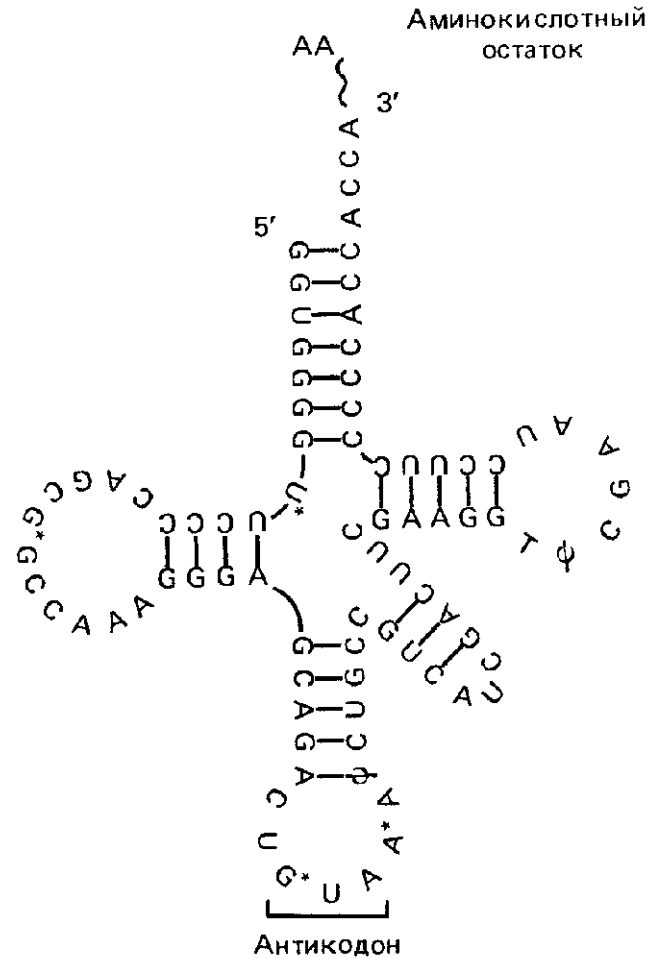
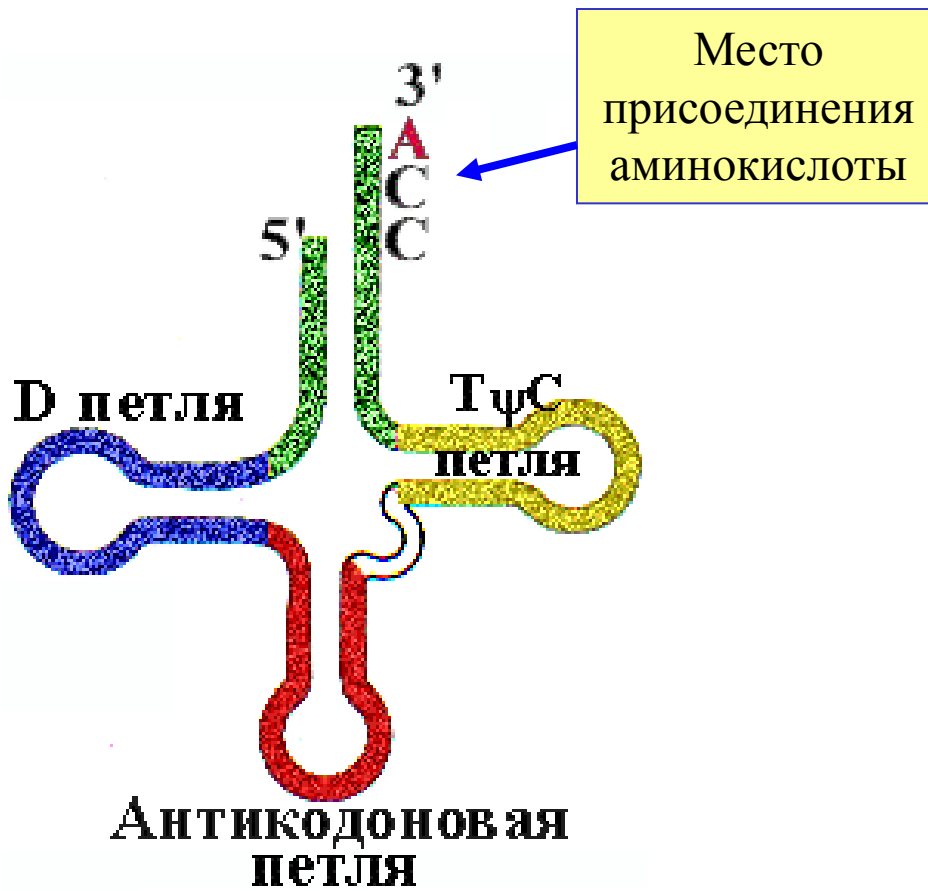
Первая позиция кодона

	U	C	A	G	
U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G
C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G

Третья позиция кодона

# Структура транспортной РНК

## Вторичная структура



# Структура транспортной РНК

## Третичная структура

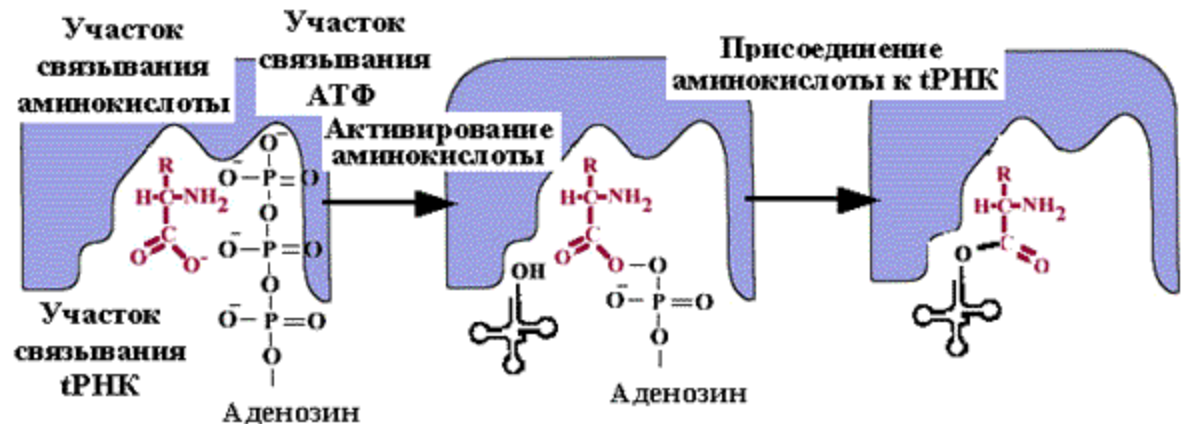


# Рекогниция

**Рекогниция** - это подготовительный этап трансляции, суть которого в образовании ковалентной связи между tРНК и соответствующей аминокислотой.

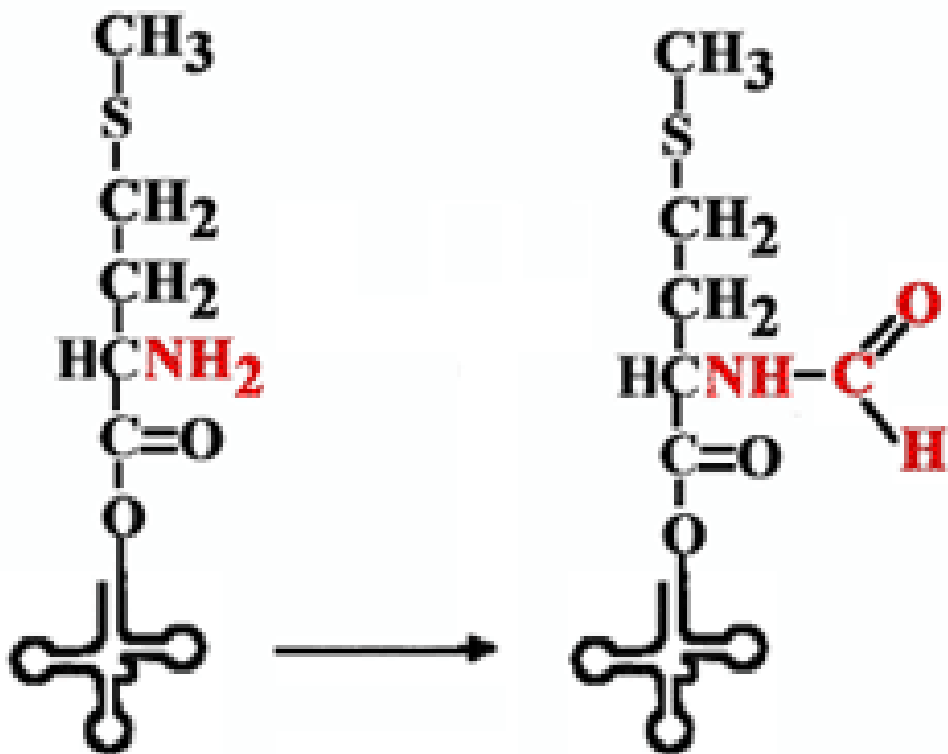
Состоит из двух стадий:

1. Активирование аминокислоты.
2. Присоединение аминокислоты к tРНК - аминоацилирование.



**Фермент рекогниции - аминоацил-tРНК-синтетаа (АРС-аза, кодаза).**

tРНК, имеющие разную первичную, но одинаковую третичную структуру, акцептируют одну и ту же аминокислоту и называются **изоакцепторными tРНК**.



**Формилметиониновая tРНК**

# Структура рибосом

**Выделяют четыре класса рибосом:**

1. *Прокариотические 70S.*
2. *Эукариотические 80S.*
3. *Рибосомы митохондрий (55S - у животных, 75S - у грибов).*
4. *Рибосомы хлоропластов (70S у высших растений).*

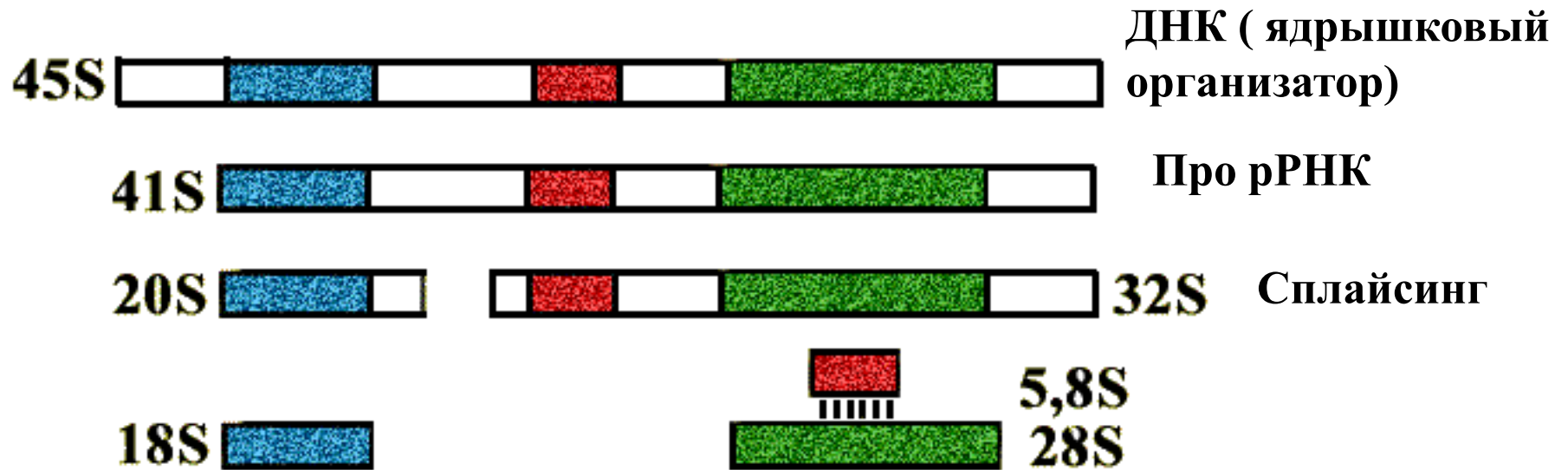
**S - коэффициент седиментации или константа Сведберга.**

Отражает скорость осаждения молекул или их компонентов при центрифугировании, зависящую от конформации и молекулярного веса.

Каждая рибосома состоит из 2-х субъединиц (большой и малой).

<i>Прокариотическая рибосома</i>		<i>Эукариотическая рибосома</i>	
<b>70S</b>		<b>80S</b>	
<b>50S</b>	<b>30S</b>	<b>60S</b>	<b>40S</b>
<b>5S rPHK</b> <b>23S rPHK</b>	<b>16S rPHK</b>	<b>5S rPHK</b> <b>5.8S rPHK</b> <b>28S rPHK</b>	<b>18S rPHK</b>
<b>34</b> молекулы белков, из них <b>31</b> разные	<b>21</b> белок	не менее <b>50</b> разных белков	не менее <b>33</b> разных белков

# Схема образования рРНК у эукариот



В малую с/е

В большую с/е



# Каталитические центры рибосом



➤ *Асп - центр специфического узнавания.*

Здесь происходит взаимодействие кодон-антикодон.

➤ *P-центр - пептидильный, донорный.*

Он является донором формилметионина при инициации, или пептидила при элонгации трансляции.

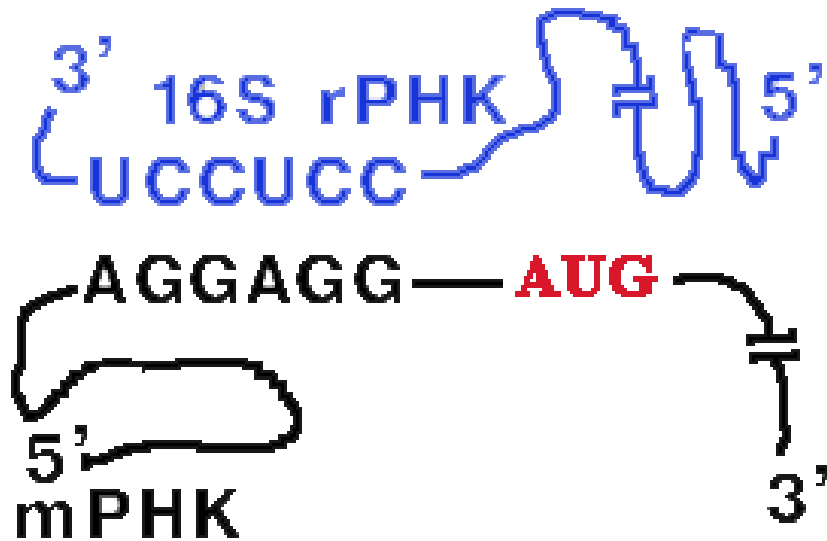
➤ *A-центр - аминокильный, акцепторный.*

Акцептирует формилметионин в самом начале или пептидил при элонгации трансляции.

➤ *K-центр - каталитический (фермент пептидилтрансфераза).*

В K-центре задействована 23S rРНК и несколько белков большой субъединицы.

# Синтез полипептидов на рибосоме

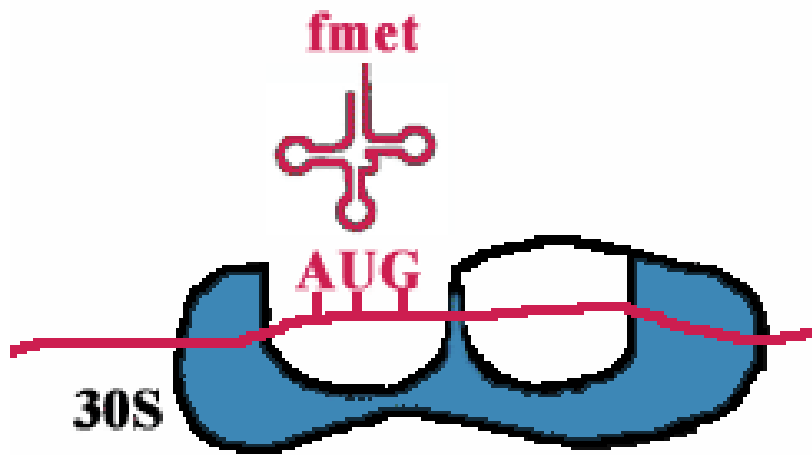


*Установка иницирующего  
кодона AUG на малой  
субъединице рибосомы*

У прокариот перед каждым геном (в мРНК перед копией каждого гена имеется) **лидерная последовательность.**

Она содержит *полипуриновую последовательность Шайна-Дальгарно*, которая комплементарна 3'-концевому участку 16S rPHK.

# Синтез полипептидов на рибосоме



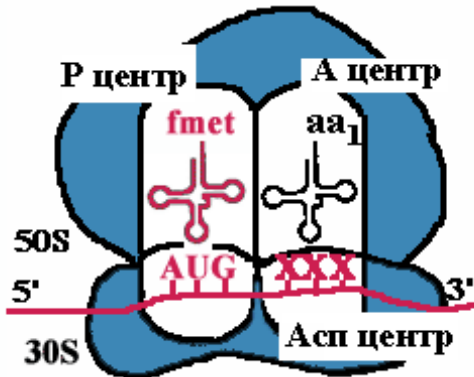
**Инициаторный комплекс:**

*30S субъединица рибосомы*

+ *mРНК*

+ *формилметионовая tРНК-  
формилметионин.*

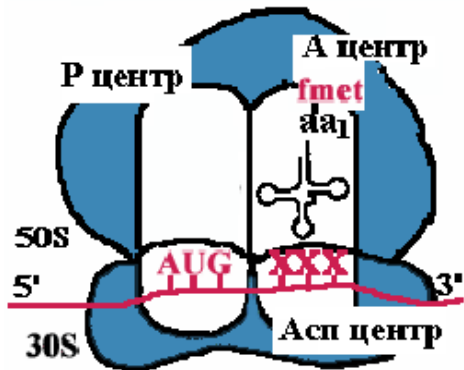
# Синтез полипептидов на рибосоме



Аминоацильный конец формилметиониновой tРНК – в Р-центре.

Второй кодон гена – в Асп-центре.

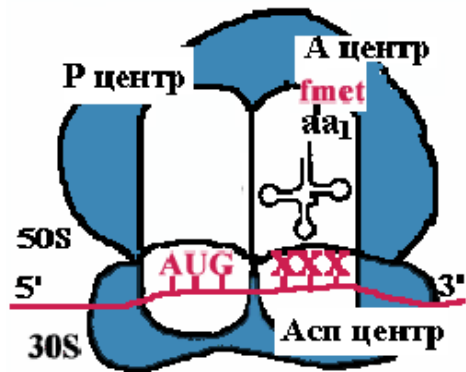
Соответствующая ему аминоацил-tРНК ориентируется так, что ее аминоацильный конец попадает в А-центр.



Пептидилтрансфераза отрывает формилметионин в Р-центре и переносит его в А-центр.

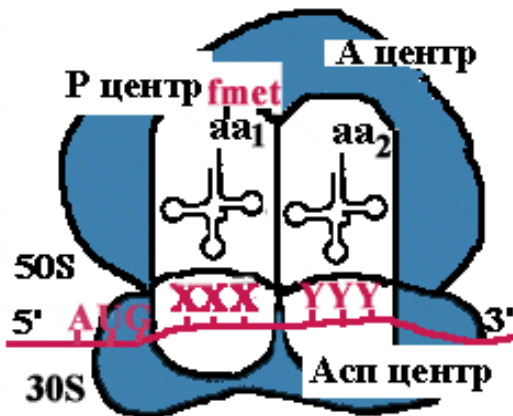
Образуется пептидная связь между формилметионином и аминоацил-tРНК.

# Синтез полипептидов на рибосоме



Пептидилтрансфераза отрывает формилметионин в Р-центре и переносит его в А-центр.

Образуется пептидная связь между формилметионином и аминоксил-тРНК.



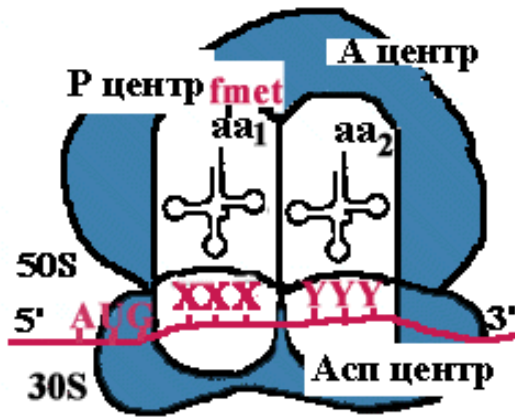
Рибосома претерпевает конформационные изменения и сдвигается на один кодон.

Формилметиониновая тРНК покидает рибосому.

Второй кодон оказывается напротив Р-центра. Сюда же переходит тРНК, несущая на хвосте дипептид.

В Асп-центр попадает третий кодон, а в А-центр очередная аминоксил-тРНК.

# Синтез полипептидов на рибосоме

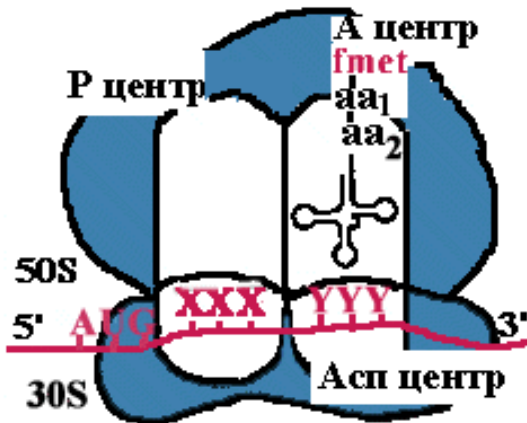


Рибосома претерпевает конформационные изменения и сдвигается на один кодон.

Формилметиониновая tРНК покидает рибосому.

Второй кодон оказывается напротив Р-центра. Сюда же переходит tРНК, несущая на хвосте дипептид.

В Асп-центр попадает третий кодон, а в А-центр очередная аминоксил-tРНК.

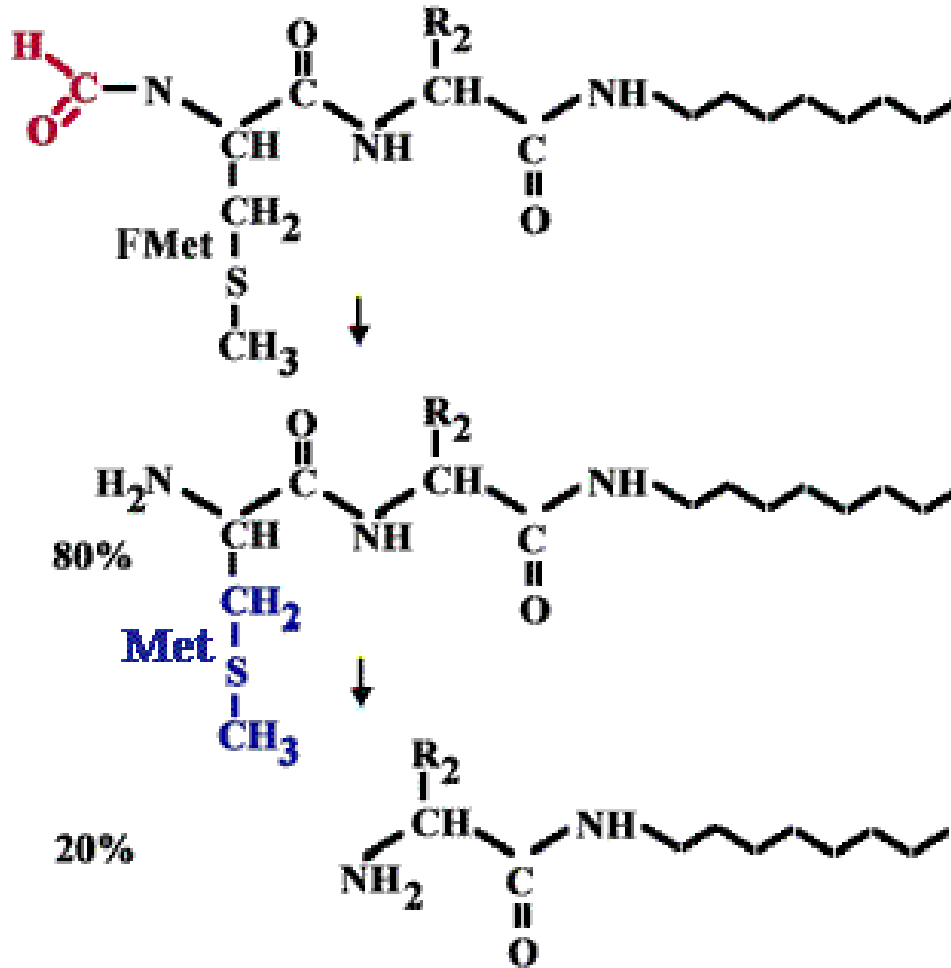


Теперь в Р-центре отрывается дипептид, переносится в А-центр и соединяется с третьей аминоксил-tРНК.

Так продолжается до тех пор, пока в Асп-центр не приходит терминирующий кодон. При этом оторвавшемуся из Р-центра присоединиться не к чему, он отваливается от рибосомы.

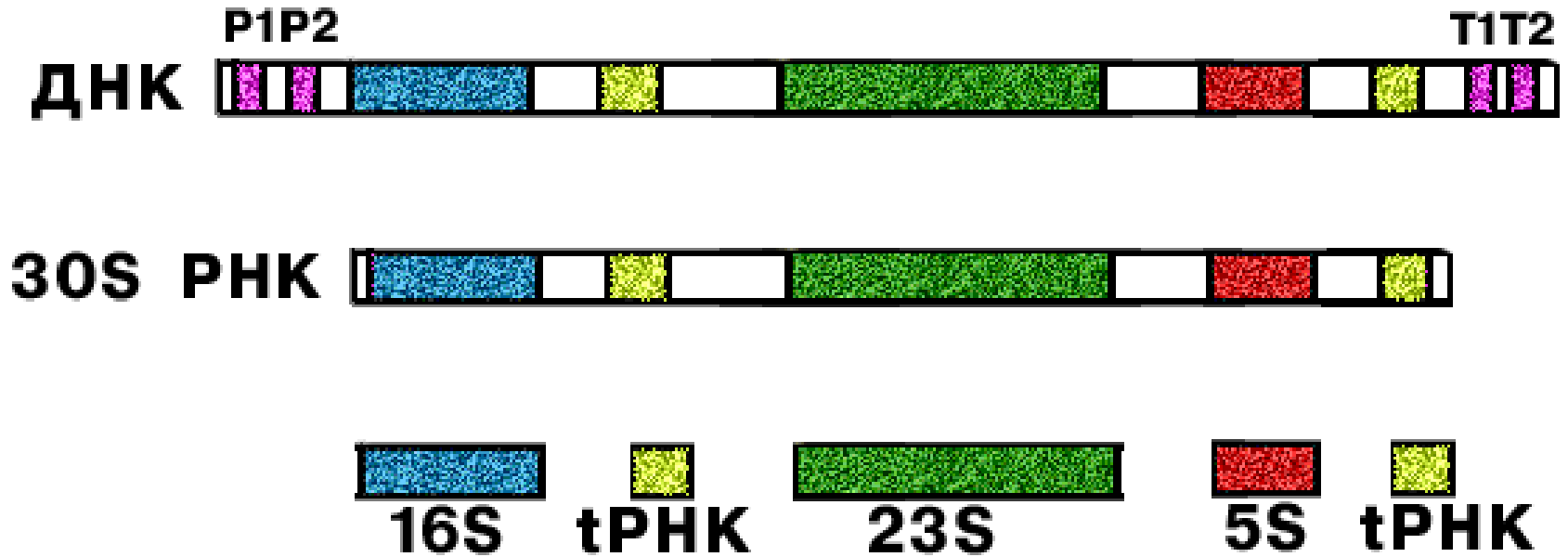
Рибосома диссоциирует и малая субъединица сканирует mРНК.

# Синтез полипептидов на рибосоме



Все синтезируемые полипептиды прокариот на N-конце несут формилметионин. В 20% случаев он отщепляется, а в 80% отщепляется только формильная группа и на N-конце остается метионин.

# Регуляция образования рибосомных РНК и белков рибосом *E.coli*

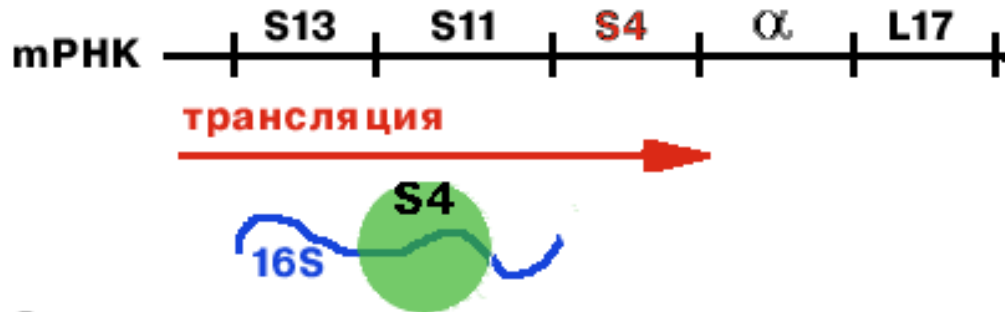


Имеется 7 разных оперонов, в которых закодированы рибосомные белки.

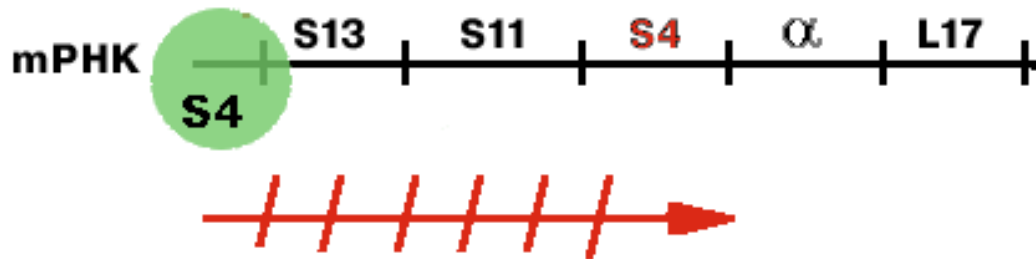


# $\alpha$ -оперон регулируется белком S4

1

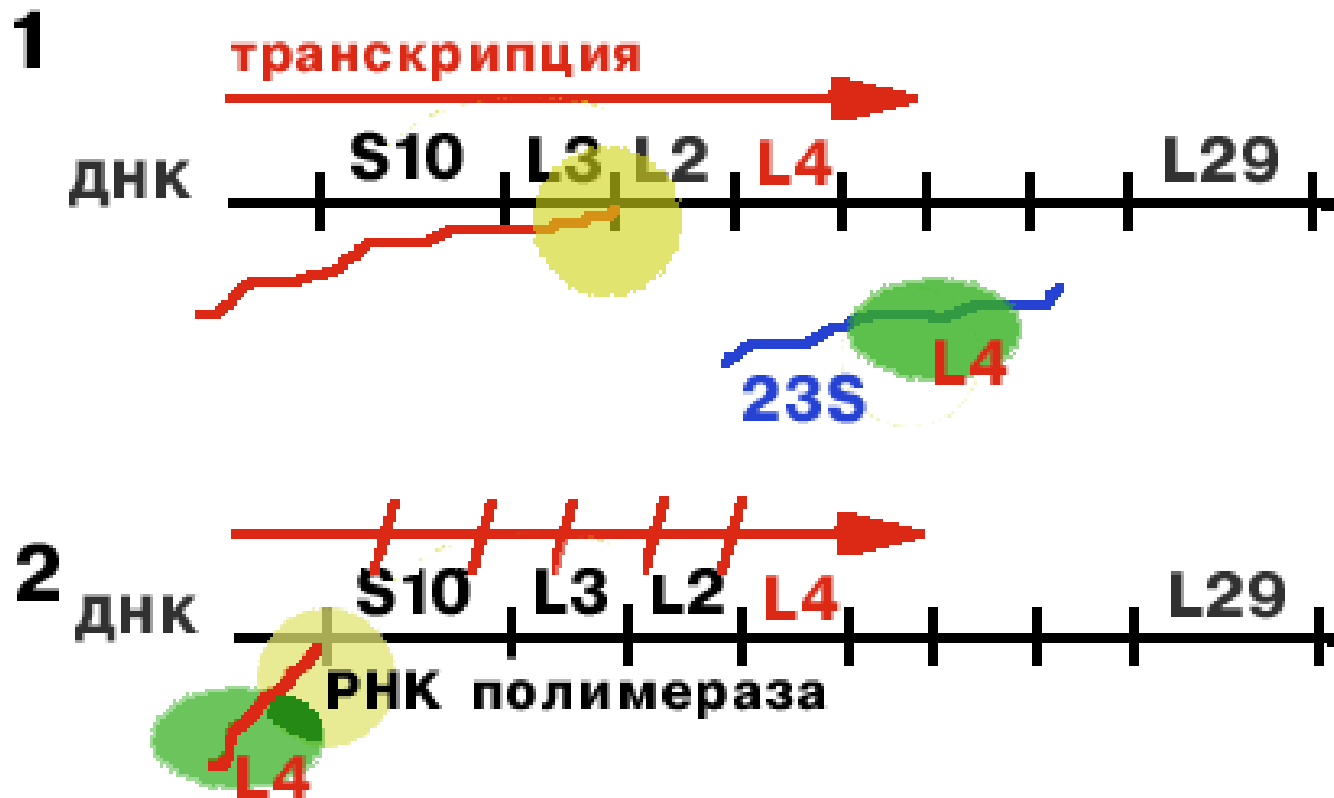


2



*Регуляция на уровне трансляции*

# Оперон S10 регулируется белком L4



Регуляция на уровне транскрипции