

ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России
Кафедра химии

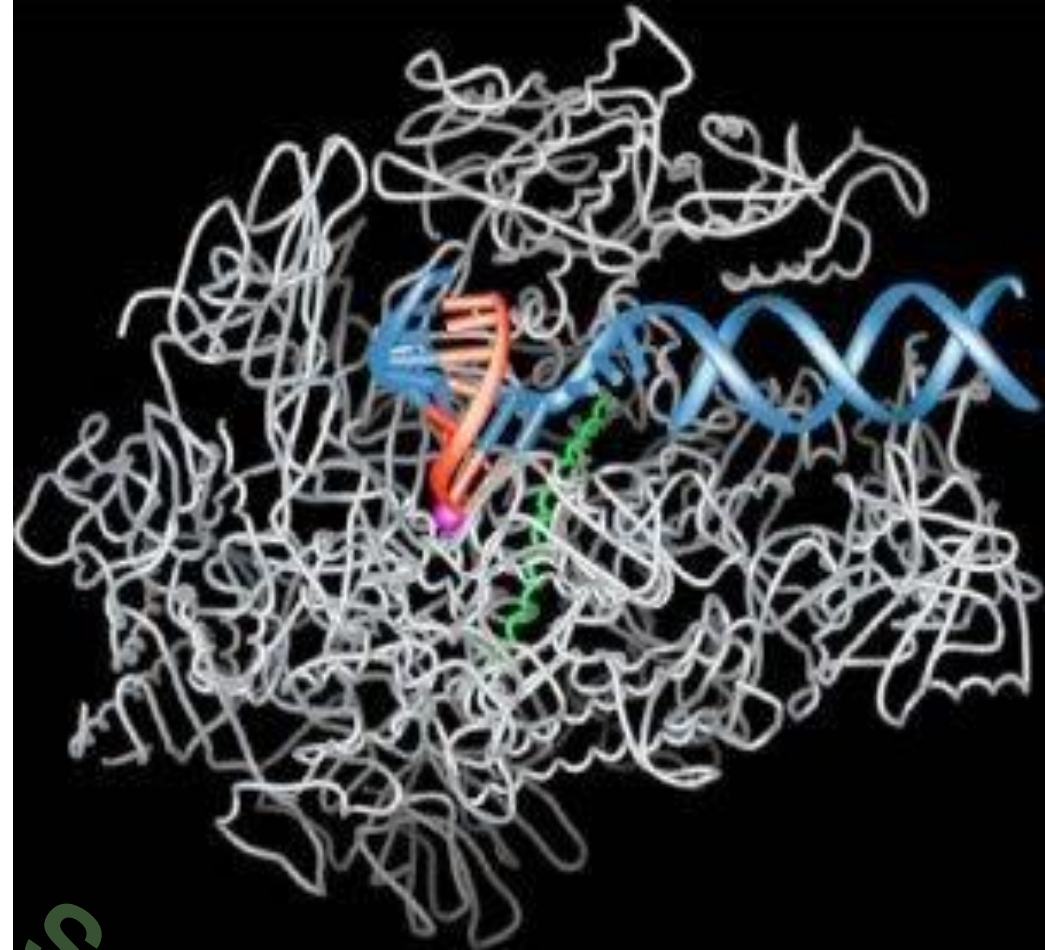
Матричные биосинтезы. Синтез РНК

Д.б.н. Сгибнев А.В.

- В 2006 году была присуждена Нобелевская премия по химии за исследование транскрипции ДНК у эукариот
- Из **10 000 литров** культуры дрожжей (**150 кг** самих дрожжей) выделено **2 гр** чистой РНК-полимеразы.
- Корнберг сумел получить кристаллографическую картину различных состояний аппарата транскрипции, установить молекулярную структуру РНК-полимераз и других белков, участвующих в синтезе мРНК, а также выявить механизмы, регулирующие процесс транскрипции



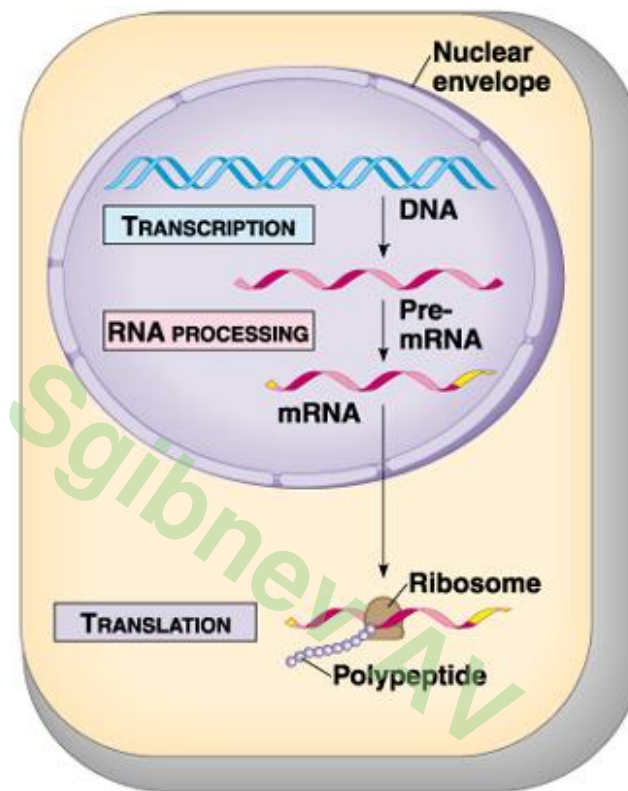
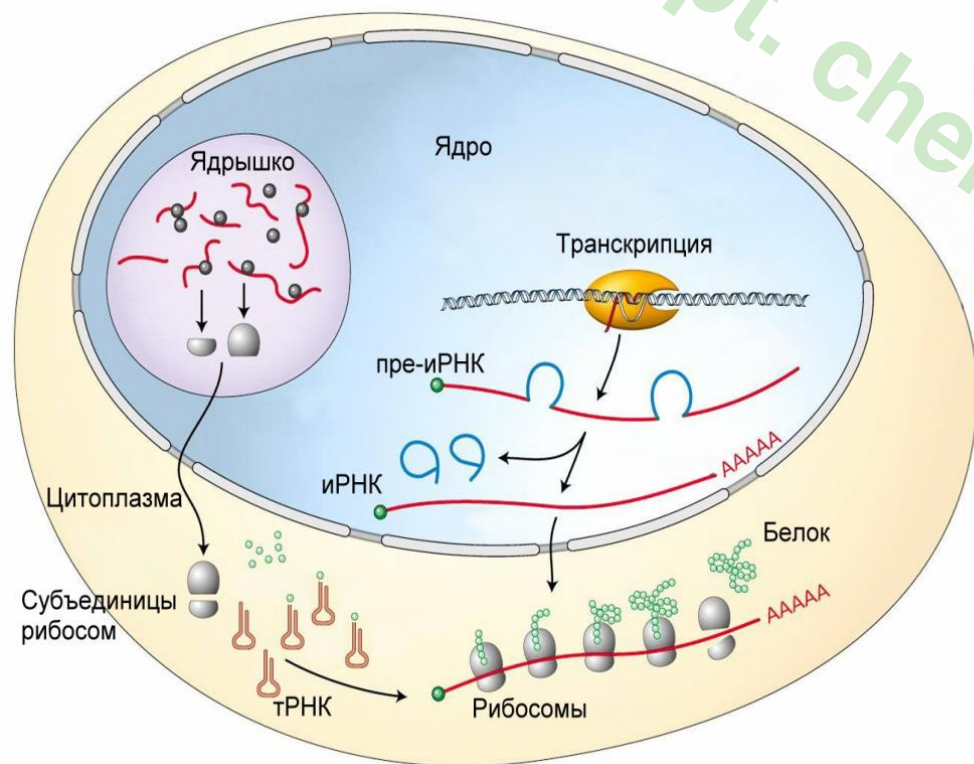
Роджер
Корнберг



Структура транскрибирующего комплекса РНК-полимеразы II (синяя спираль - ДНК, красная - синтезируемая мРНК)

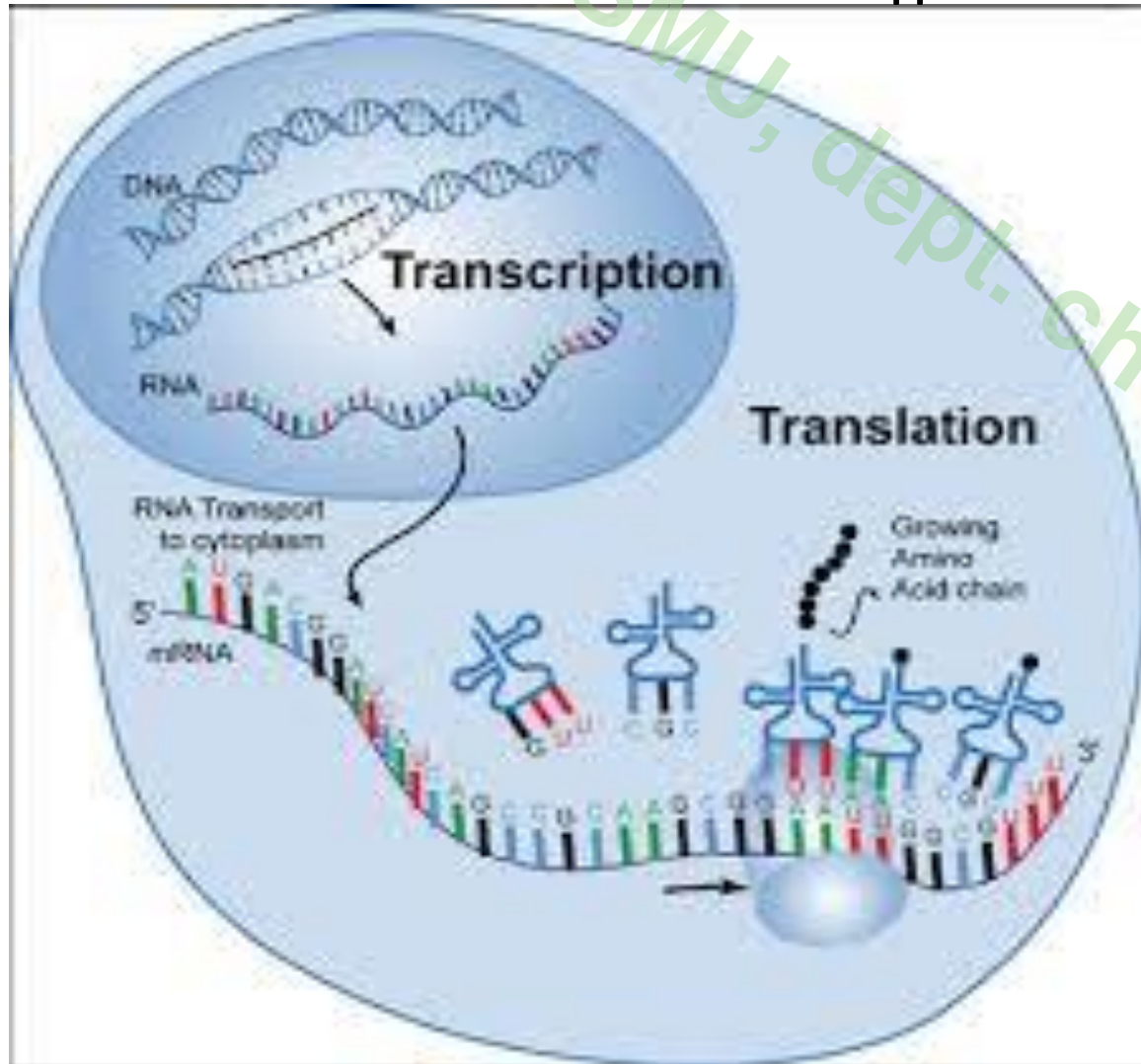
Реакции матричного синтеза – особая категория химических реакций, происходящих в клетках живых организмов. На одной матрице может быть синтезировано неограниченное количество молекул-копий.

К ним относятся репликация, транскрипция, трансляция и обратная транскрипция (образование на РНК ДНК).



Что такое «реализация генетической информации»?

Это перенос информации, записанной в последовательности нуклеотидов в ДНК, в последовательность аминокислот в белке.



«ЦЕНТРАЛЬНАЯ ДОГМА молекулярной биологии»

Информация передаётся от
нуклеиновых кислот к белку, но не в
обратном направлении!

Центральная догма включает три процесса

1. Репликация

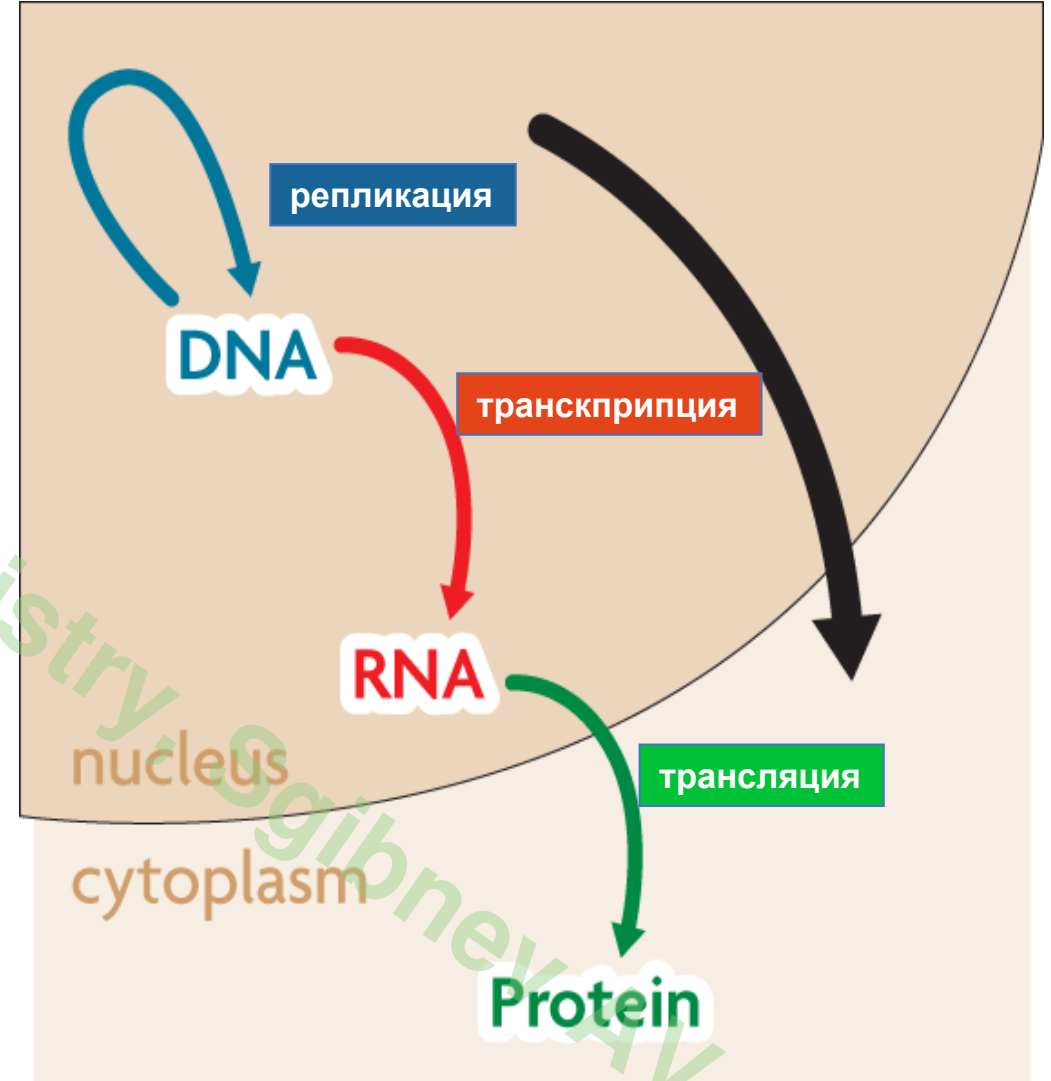
- копирование **ДНК**

2. Транскрипция

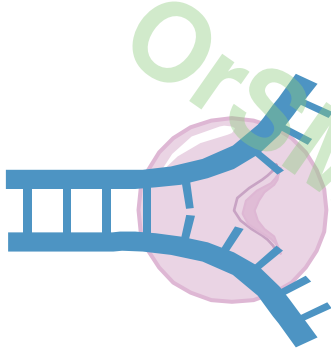
- Синтез на основе матрицы ДНК молекул **РНК**
- РНК - это связь между ДНК и белками

3. Трансляция

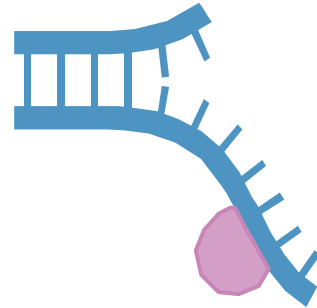
- Интерпретирует информацию РНК в последовательность аминокислот, которые будут составлять **белок**



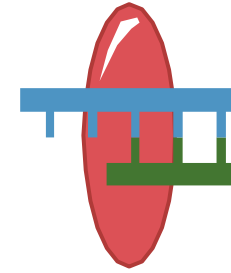
Ферменты, участвующие в репликации ДНК



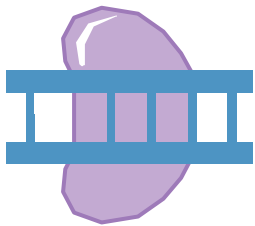
Геликаза раскручивает
родительскую
двойную спираль



Связывающие
белки
стабилизируют
отдельные цепи



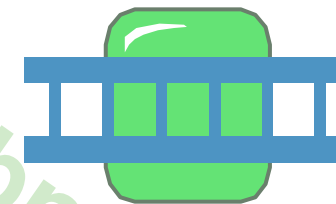
Праймаза добавляет
короткий праймер к
цепи



ДНК-полимераза
связывает нуклеотиды с
образованием новых
цепей



ДНК-полимераза
(экзонуклеаза) удаляет
праймер РНК и вставляет
«правильные» основания



Лигаза соединяет
фрагменты Окадзакис.

Точность репликации ДНК

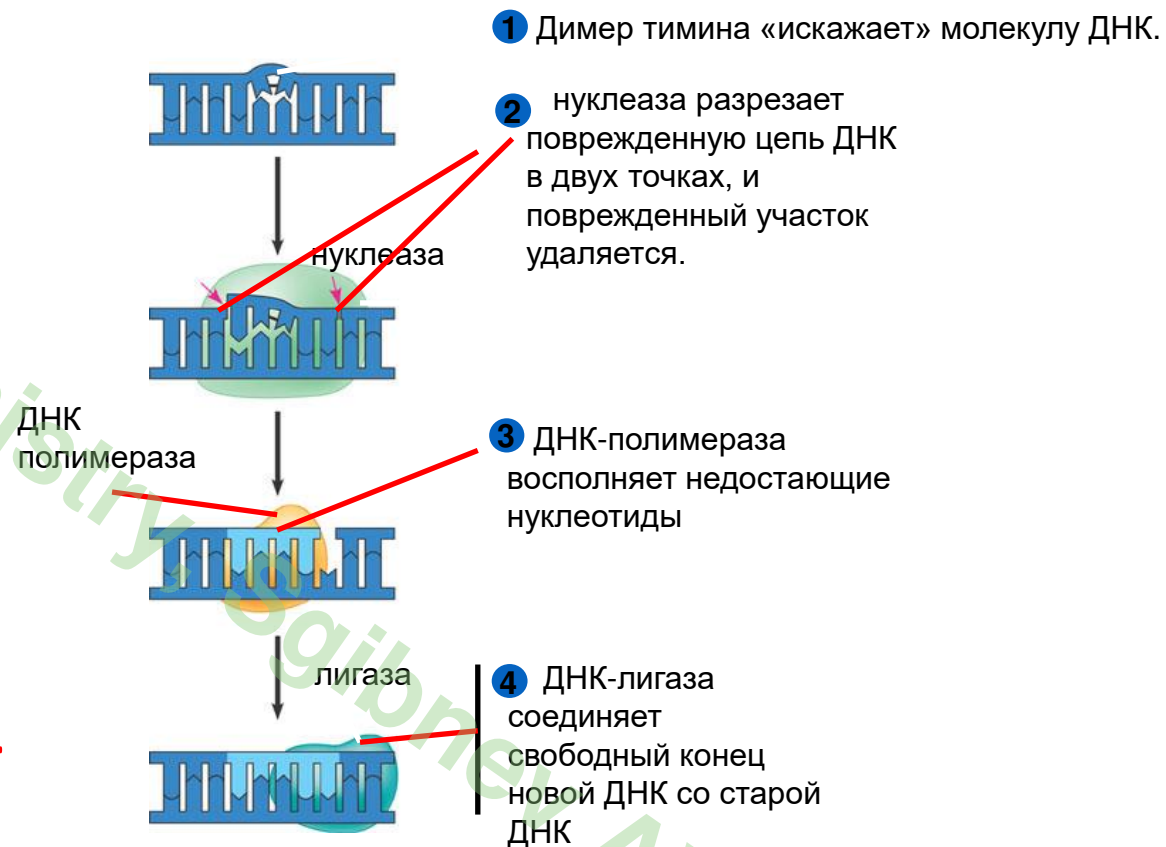
- Кольцевая хромосома бактерий *E. coli* содержит около **5 миллионов** пар азотистых оснований.

E. coli способна скопировать эту ДНК в идеальных условиях за 15-20 минут.

- 46 хромосом человеческой клетки содержат около **6 МИЛЛИАРДОВ** пар оснований ДНК.

Человеческой клетке требуется несколько часов, чтобы скопировать эту ДНК

- Репликация ДНК происходит с поразительной точностью - в среднем **1 ошибка на миллиард нуклеотидов.**

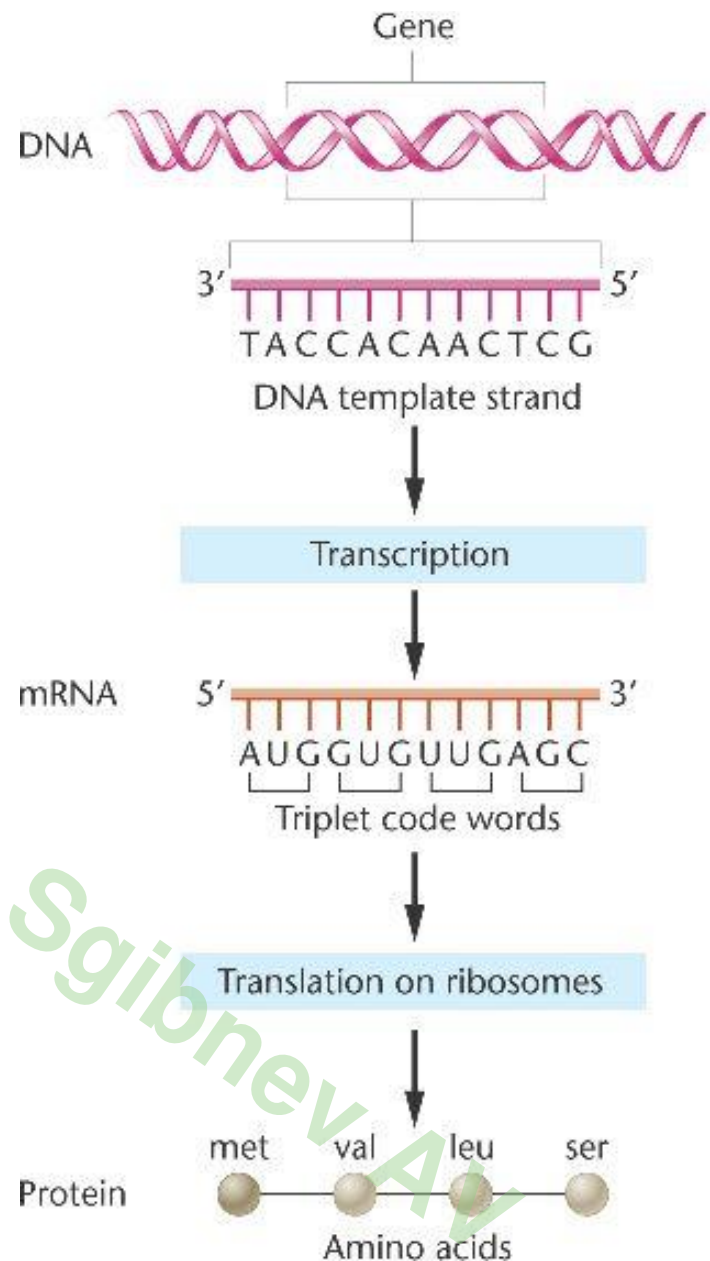


Центральная догма

Генетическая информация закодирована в виде последовательности ДНТ на одной из двух цепей ДНК (**матричной цепи**).

Транскрипция производит РНК-«посредника" (**мРНК**), комплементарного **матрице**.

Трансляция происходит на **рибосомах** в цитоплазме, где информация на мРНК определяет последовательность **аминокислот**, которые собираются в **белки**.



экспрессия генов!

Экспрессия генов

- **Экспрессия генов** — процесс, в ходе которого наследственная информация от гена (последовательности нуклеотидов ДНК) преобразуется в функциональный продукт — РНК или белок.
 - Белки являются связующим звеном между генотипом и фенотипом.
 - Экспрессия генов происходит в два этапа - транскрипция и трансляция.
 - В классической генетике: **ген** (др.-греч. γένος — род) — **наследственный фактор**, который несёт информацию об определённом признаке или функции организма, и который является структурной и функциональной единицей наследственности.
 - После открытия нуклеиновых кислот в качестве носителя наследственной информации: **ген** - участок ДНК (у некоторых вирусов — участок РНК), задающий **последовательность** полипептида либо функциональной РНК.
- В настоящее время не существует универсального определения гена, которое удовлетворило бы всех исследователей.

Транскрипция и трансляция

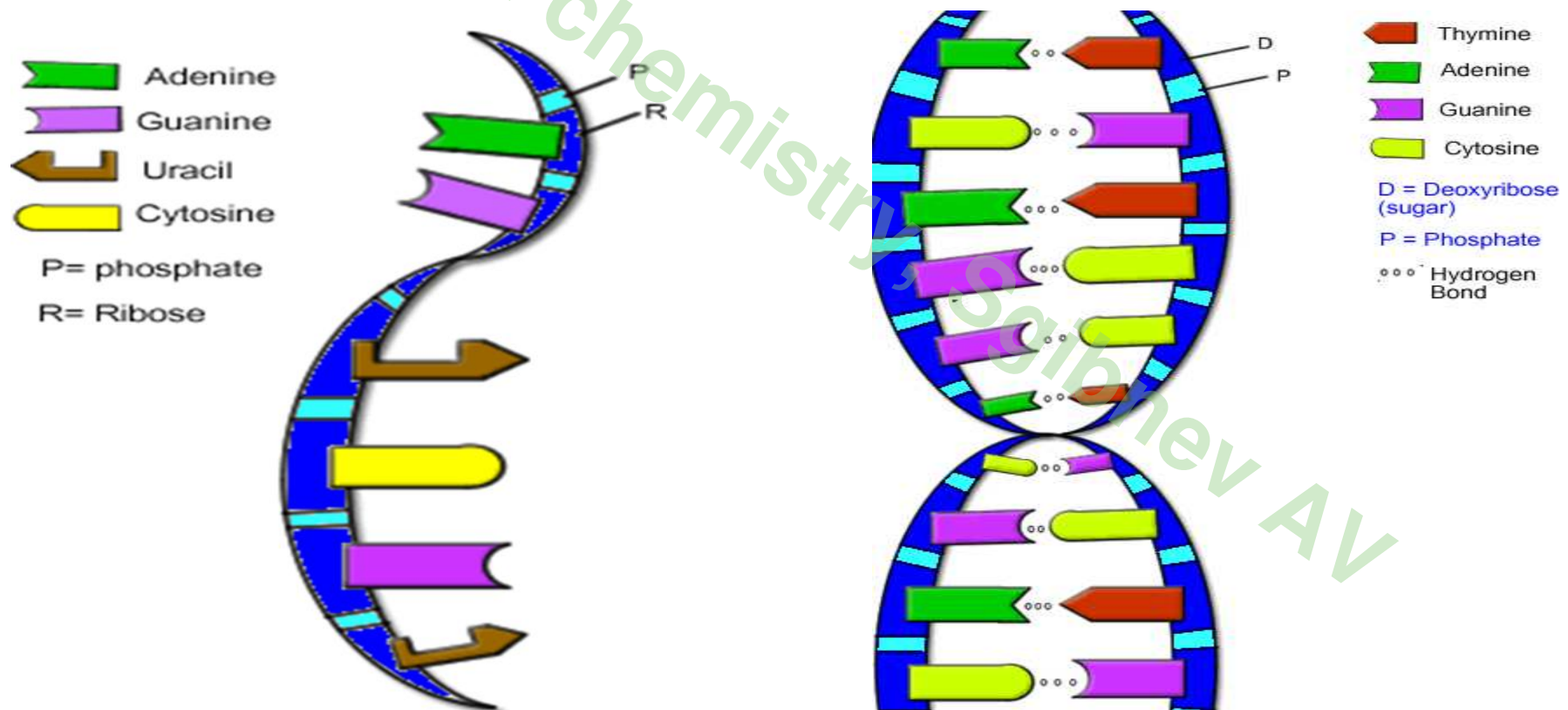
- **Транскрипция** – синтез РНК на основе информации, содержащейся в ДНК.
 - Происходит в ядре (у эукариот).
- **Трансляция** - синтез белка на основе информации, содержащейся в РНК.
 - Происходит на рибосомах

Гены предоставляют инструкции по производству белков, но ген не строит белок напрямую. Мостом между ДНК и белком является РНК. Подобно ДНК, за исключением основания, однонитевой цепи и сахара. Гены обычно состоят из сотен или тысяч нуклеотидов, каждый из которых имеет определенную последовательность оснований (первичная структура белков). * конкретно мРНК, хотя транскрипция в целом относится к любому типу РНК.

Все типы РНК образуются в результате реакции матричного синтеза, в большинстве случаев матрицей служит одна из цепей ДНК. Синтез РНК на матрице ДНК – этот процесс называется транскрипцией, в котором участвуют фермент РНК-полимеразы (транскриптазы).

РНК во многом похожа на ДНК

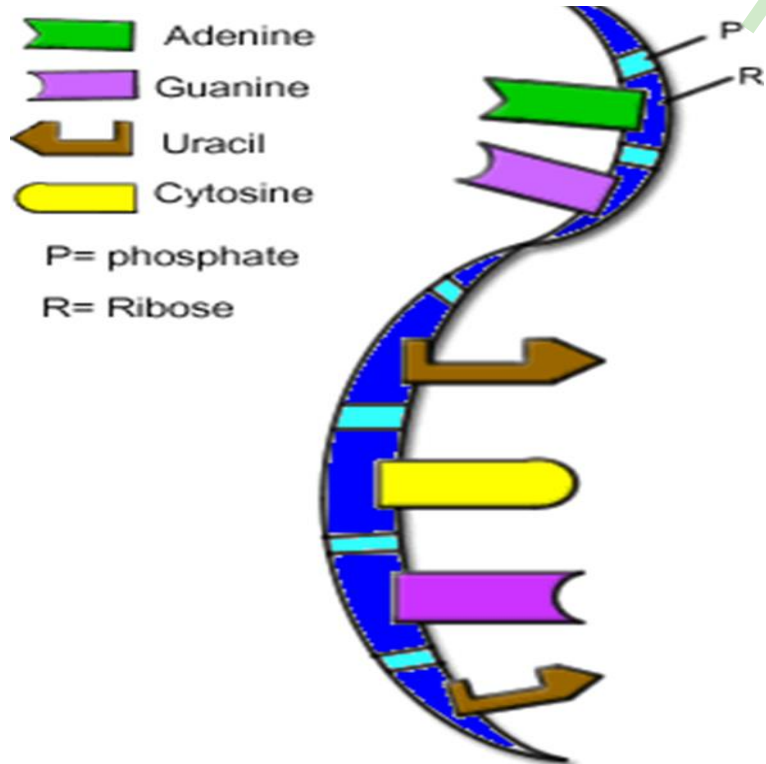
- Обе представляют собой цепочку нуклеотидов
- Каждая содержит в своем составе углевод пентозу, фосфатные группы и азотистые основания
- В состав обеих входят основания А, С и G



РНК отличается от ДНК по трем основным моментам

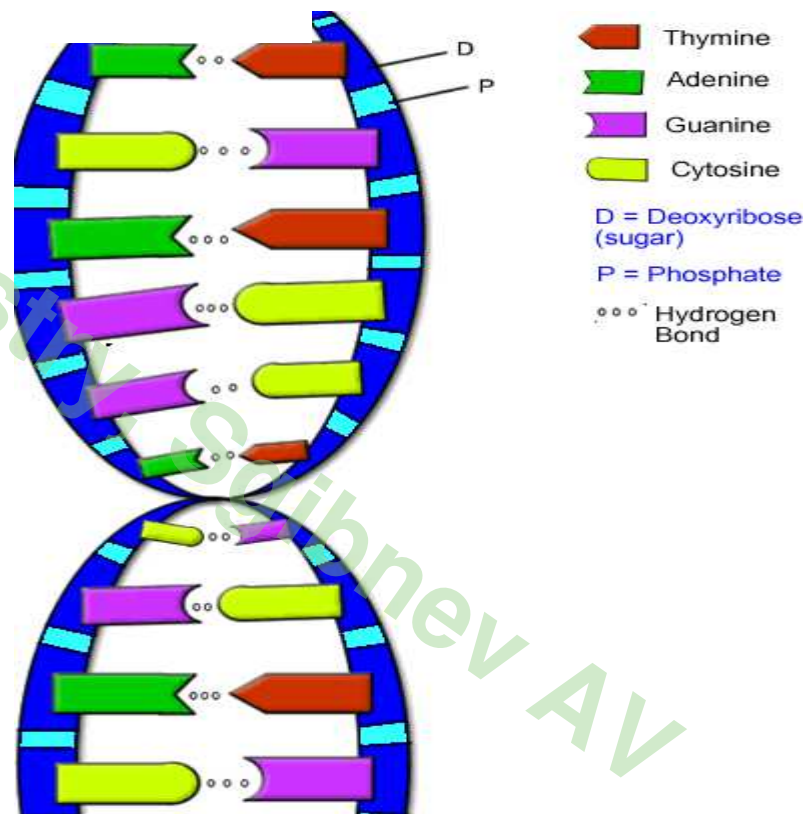
РНК

Рибоза
Урацил (U)
одноцепочечная



ДНК

Дезоксирибоза.
Тимин (Т),
двухцепочечная



ДНК vs. РНК

	ДНК	РНК
углевод	дезоксирибоза	рибоза
основания	аденин, цитозин, гуанин, тимин	аденин, цитозин, гуанин,, урацил
цепь	двойная	одиночная
нахождение	ядро	Ядро и цитоплазма

Разнообразие РНК

Информационная/матричная (мессенджерная) РНК – содержит от нескольких 100-1000 нуклеотидов. Представляет незамкнутую цепочку, переносит информацию о структуре белка с ДНК на рибосому.

Гетерогенная ядерная РНК (гя-РНК) – (первичный транскрипт) является предшественником и-РНК превращается в и-РНК в результате процессинга.

Рибосомальная РНК – входит в состав рибосом и выполняет структурную функцию, принимает участие в синтезе полипептидов, составляет 85% всей РНК. У прокариот 3 вида **р-РНК**, а эукариот - 4 вида.

Транспортная РНК – переносит аминокислоты к месту синтеза белков на рибосомы, каждая молекула т-РНК содержит 80 нуклеотидов. Ее специфичность определяется структурой антикодона – это участок соединения с конкретным триплетом и-РНК.

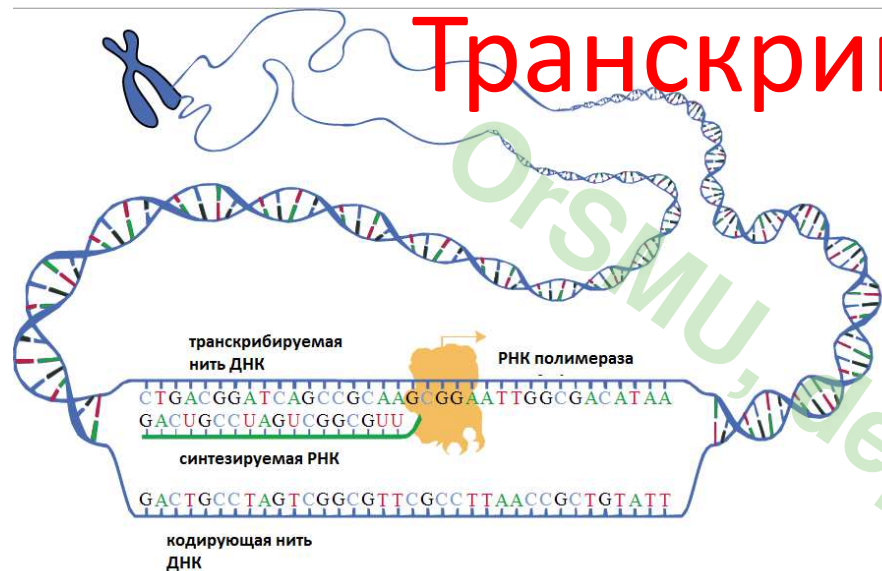
Малые РНК. Кодируются в ядре, но работают как в ядре (**small nuclear - SN**), так и в цитоплазме (**small cytoplasmic - SC**). В ядре **snРНК** входят в состав РНП (рибонуклеопротеидные комплексы), участвующих в полиаденилировании и сплайсинге.

Малая интерферирующая РНК (siRNA) обладает способностью "выключать" гены.

Подтверждение роли РНК как посредника между ДНК и белком:

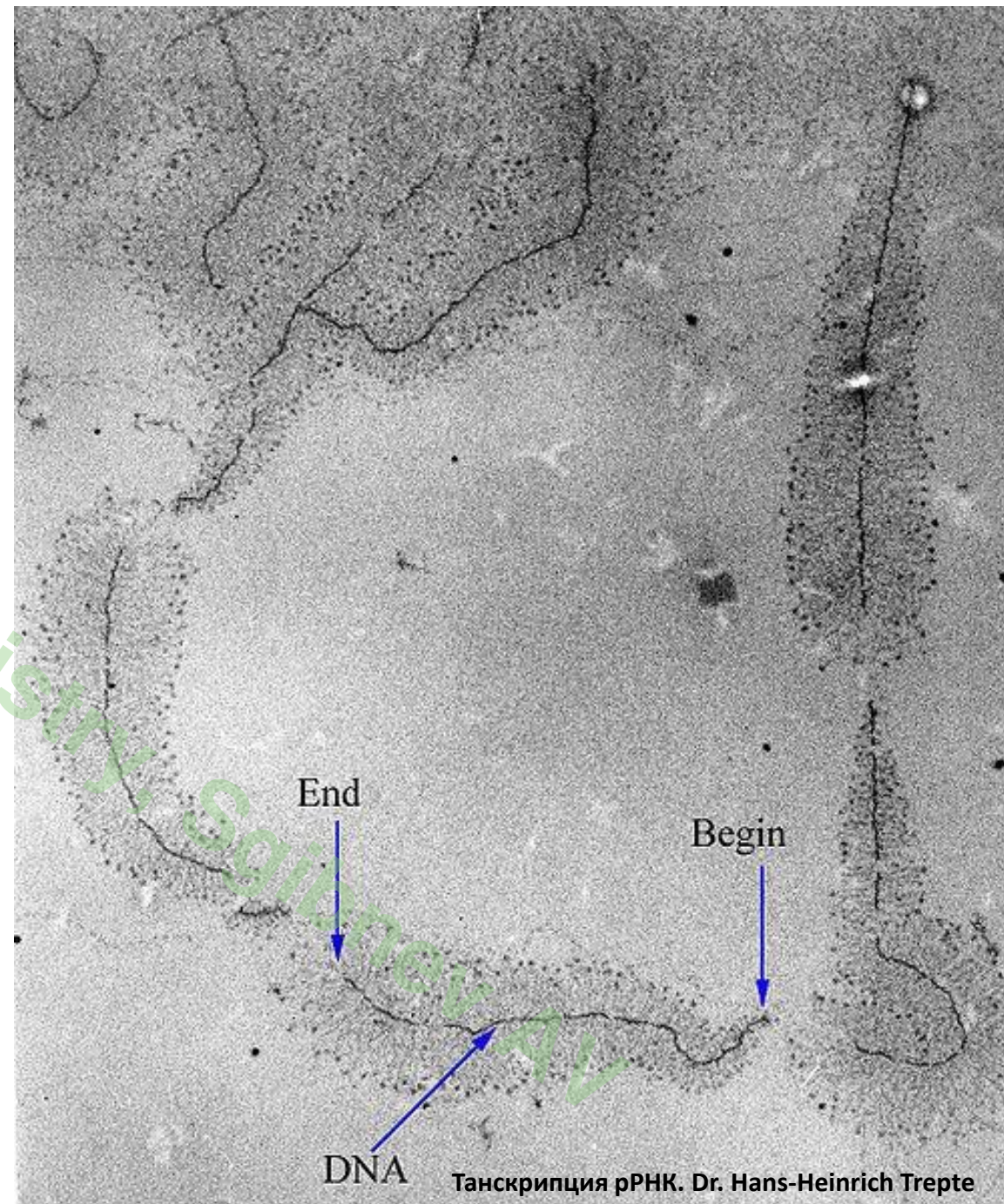
- ДНК в ядрах эукариотических клеток находится в хромосомах. Синтез белков – в рибосомах в цитоплазме. Поэтому ДНК непосредственно не может участвовать в синтезе белков
- РНК синтезируется в ядре, где находится ДНК и имеет сходный химический состав
- Обычно синтезированная РНК мигрирует в цитоплазму, где происходит синтез белков
- Общее количество РНК пропорционально количеству белка в клетке
- Все это говорит о том, что генетическая информация, записанная в ДНК, передается на РНК-посредник (мРНК), с которого и ведется синтез белков.
- При исследовании бактерий и фагов было показано, что во время инфекции фагов синтез РНК предшествует синтезу фаговых белков, и синтезированная РНК комплементарна фаговой ДНК
- Жакоб и Моно предложили эту схему еще в 1961 г. в своей модели регуляции работы генов у бактерий

Транскрипция



Синтез РНК на ДНК-матрице – последовательность синтезированной мРНК комплементарна последовательности одной из цепей двойной спирали ДНК, и каждый кодон иРНК комплементарен антикодону акцепторной тРНК, поэтому последовательность аминокислот в полипептиде соответствует кодирующей последовательности ДНК.

Транскрипция – первый этап реализации генетической информации в клетке

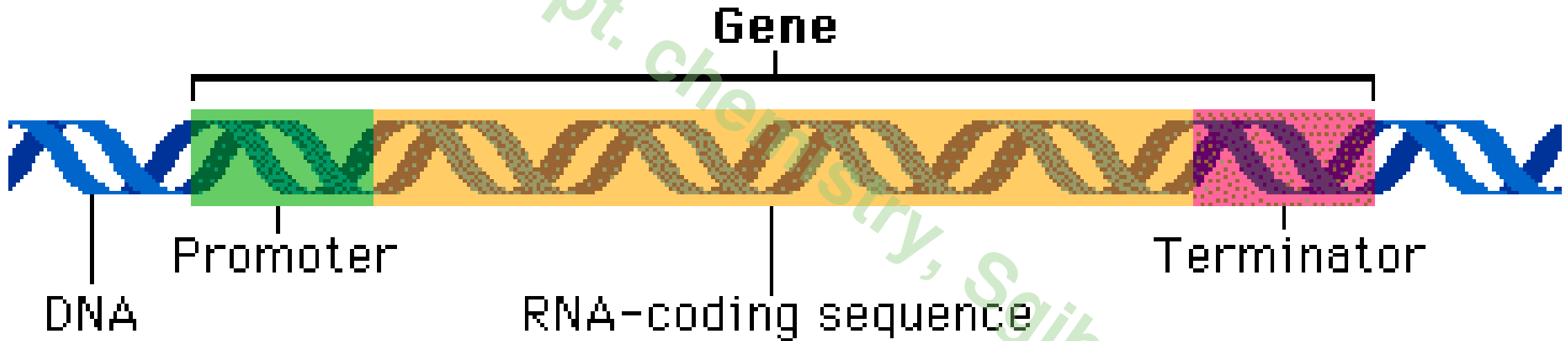


Транскрипция – общие представления

Единица транскрипции – **транскриптон**, участок ДНК, ограниченный промотором (зоной **начала транскрипции**) и **терминатором** (зоной **остановки транскрипции**).

Транскриптоны бактерий называют оперонами.

Транскрибируемые последовательности ДНК, которые кодируют определенные белки, называются **генами**.



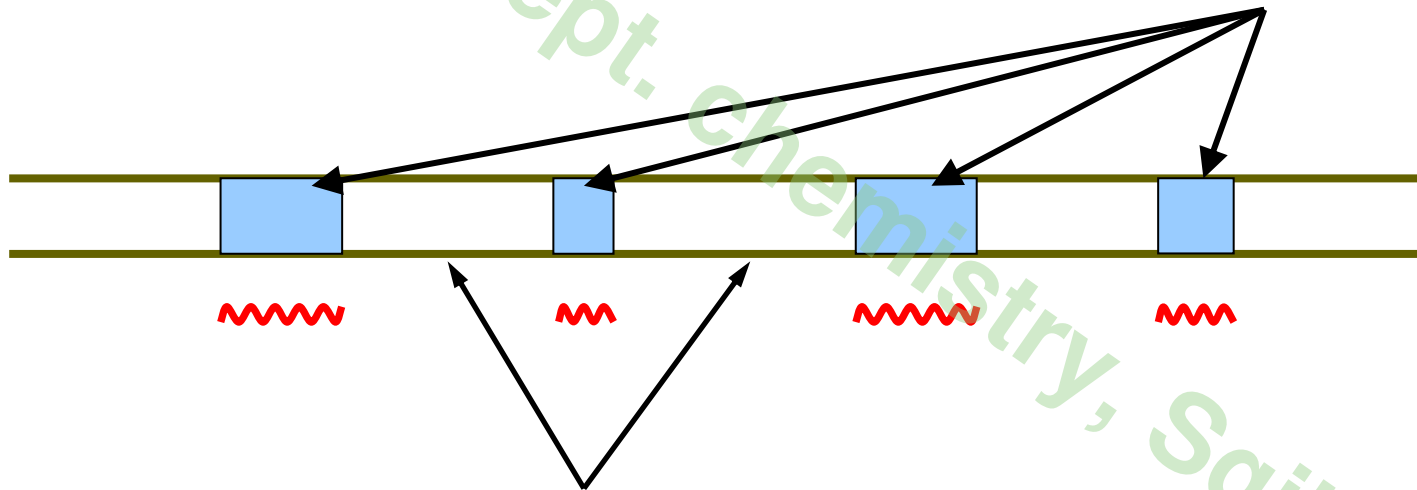
Последовательность ДНК, транскрибирующаяся в одну иРНК, начинающаяся промотором на 5'-конце и заканчивающаяся терминатором на 3'-конце, является **единицей транскрипции** и соответствует современному понятию "**ген**".

Гены – транскрибируемые участки ДНК

- У эукариот транскрибируется не вся ДНК, а лишь отдельные ее участки – **гены**.

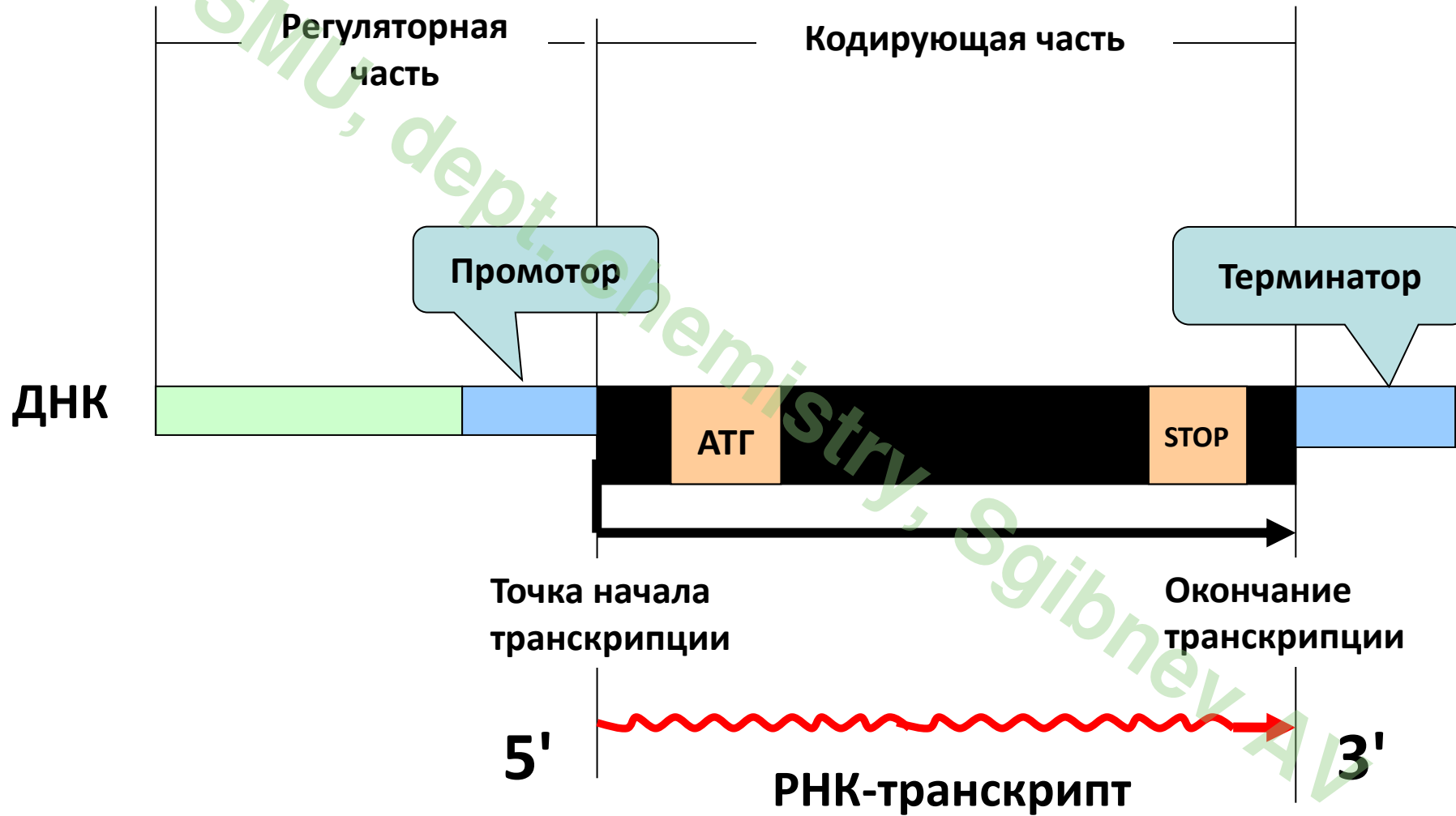
ДНК одной
хромосомы

РНК

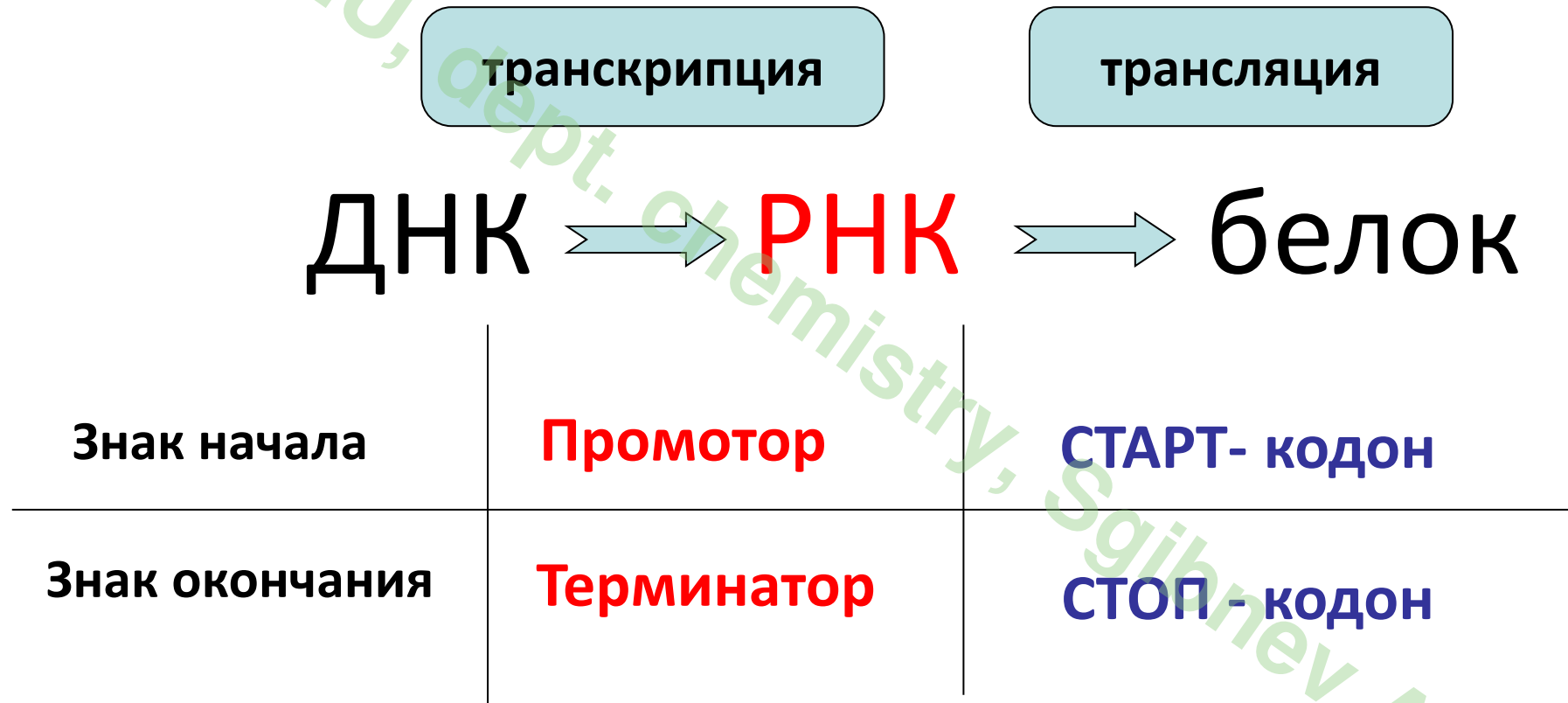


Некодирующая ДНК между генами

Строение гена



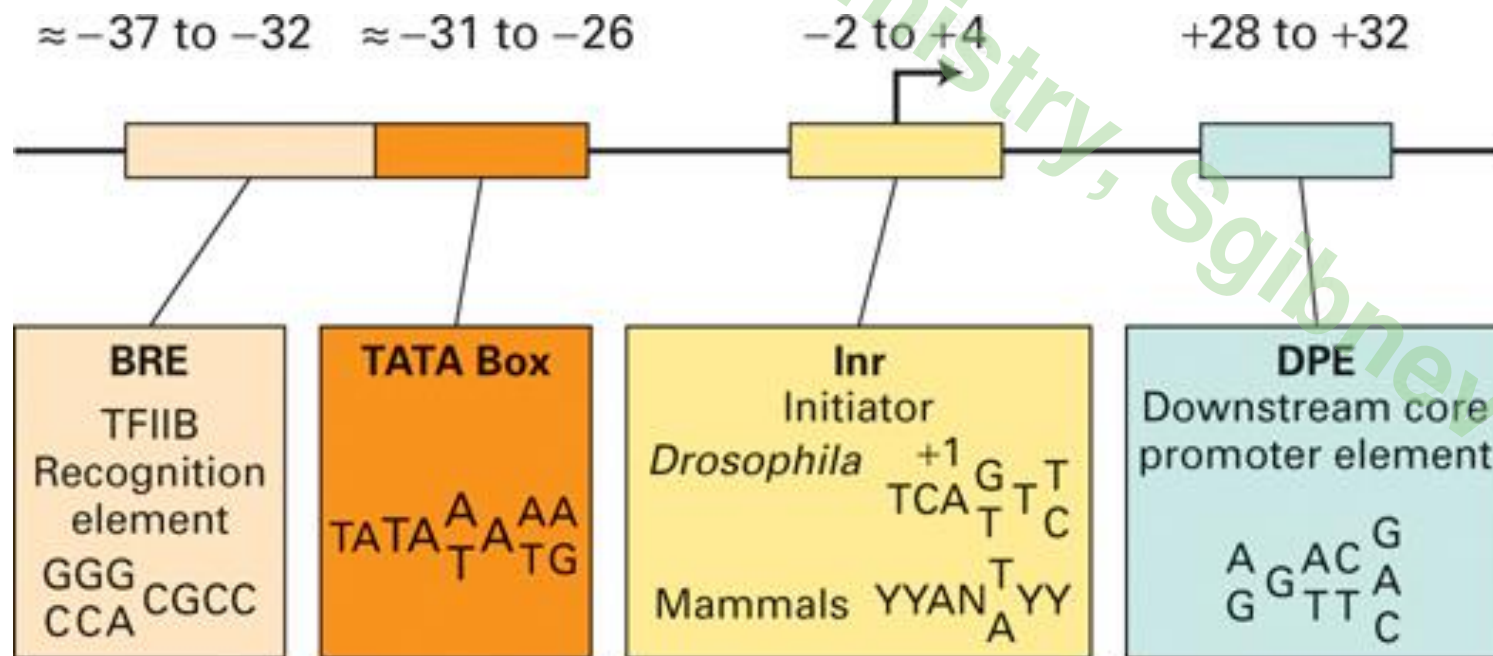
Знаки начала и окончания матричных синтезов



Промотор и терминатор – не кодоны, а более длинные последовательности (до 100 н.п.)

Эукариотические промоторы

Промотор эукариотического гена можно определить как последовательность, которая устанавливает сайт начала транскрипции для РНК-полимеразы. Сильные промоторы РНК Pol II содержат последовательность, богатую А / Т, известную как ТАТА-бокс, расположенную на 26–31 п.н. выше стартового сайта. Другие гены имеют элементы альтернативной последовательности, известные как инициаторы (Inr), которые также служат промоторами, которые устанавливают сайт старта Pol II РНК. Наконец, СG-богатые повторяющиеся последовательности (СpG-островки) используются РНК Pol II в качестве промоторов в 60-70% генов. Большинство этих генов выражены слабо.

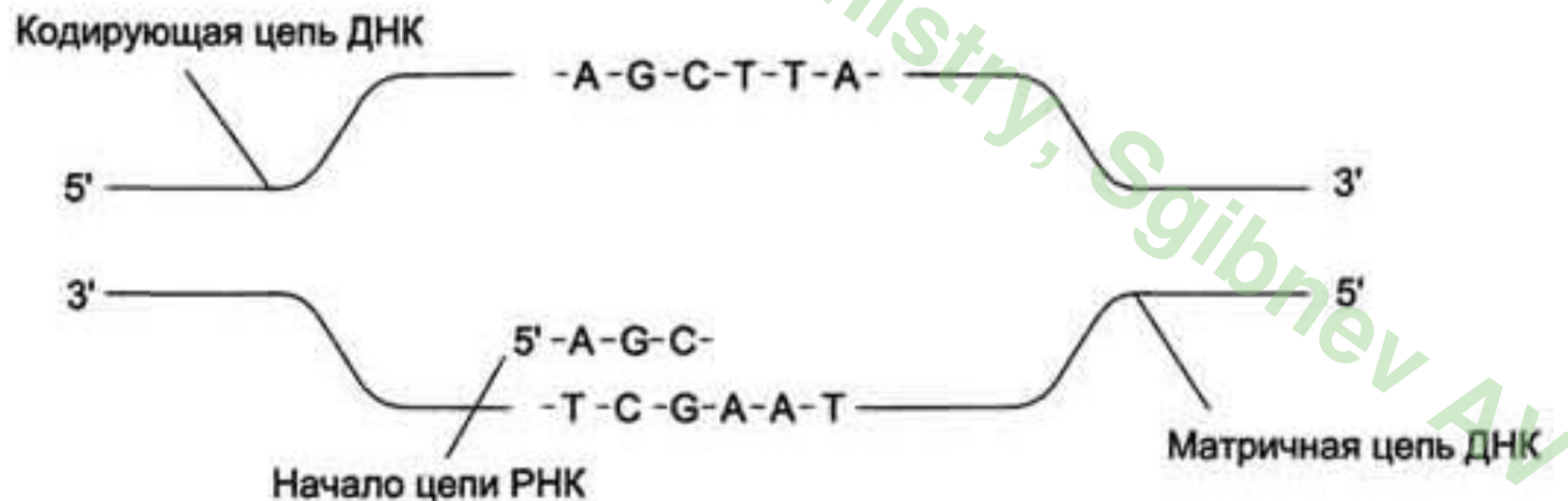


Транскрипция

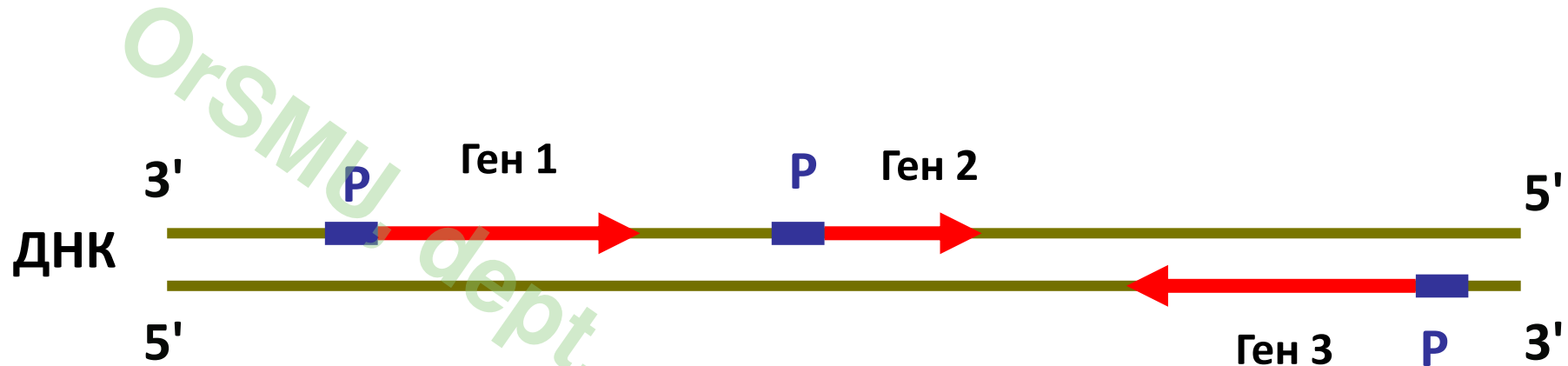
В транскрипционе транскрибируется только одна из двух цепей ДНК – **матричная**.

Вторая цепь, комплементарная ей цепь, называется **нематричная цепь (кодирующей)**.

Синтез цепи РНК идёт от 5'- к 3'-концу.



Транскрипция генов в хромосоме

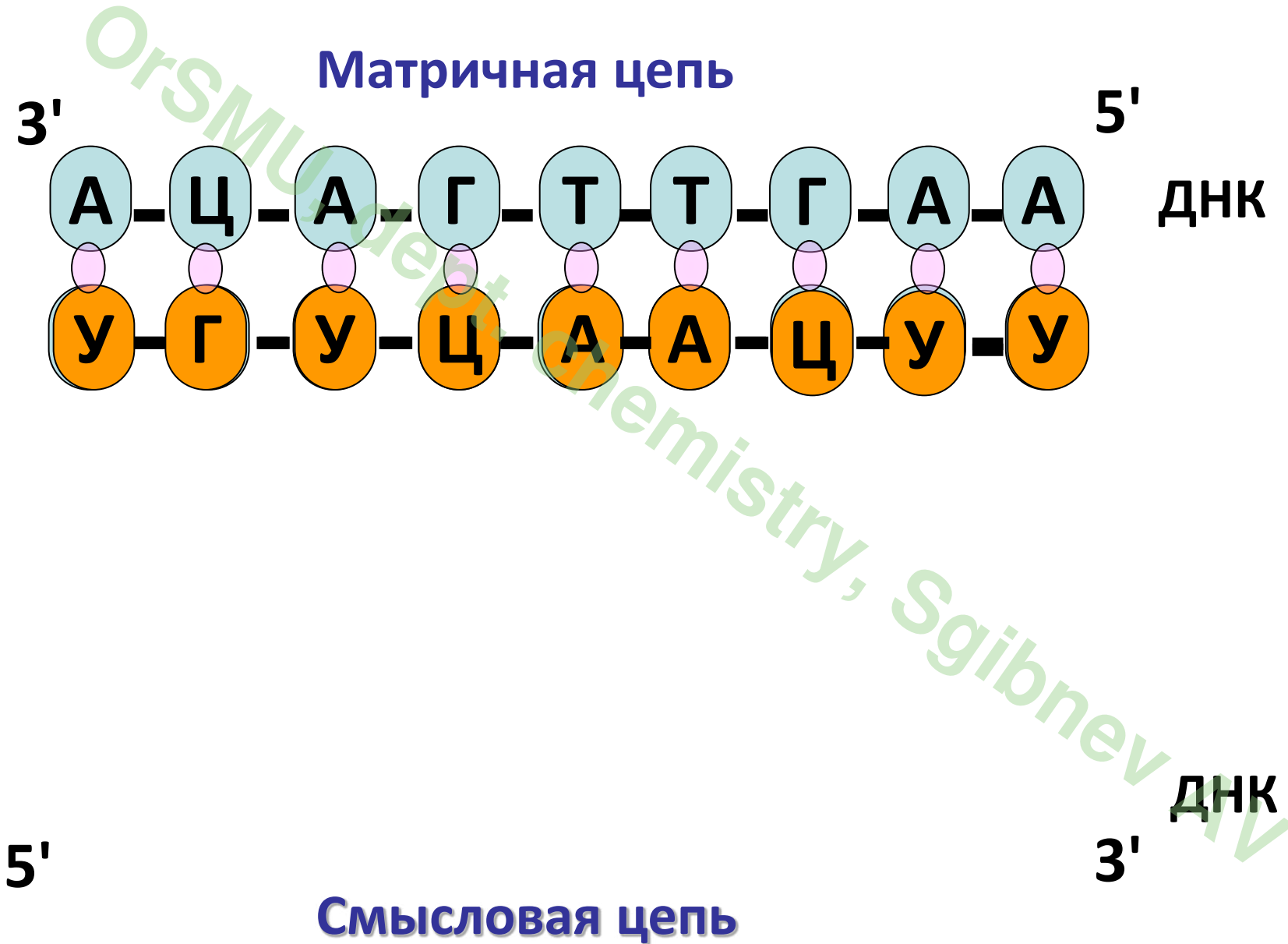


- Одна хромосома – одна молекула ДНК – около тысячи генов
- **Матричной** может быть любая из цепей.
- Но **в одном гене** матричная цепь всегда одна и та же – та, на которой промотор.

Принципы транскрипции

- **Комплементарность:** РНК-полимераза синтезирует комплементарную реплику с транскрибируемого участка (А-У, G-C, C-G, Т-А).
- **Отсутствие потребности в затравке:** транскрипция начинается с нуклеозидтрифосфата (АТР, либо GTP) и не требует затравочных олигонуклеотидов.
- **Антипараллельность:** синтезируемая цепь РНК направлена антипараллельно транскрибируемому участку.
- **Ассиметричность:** транскрибируется лишь одна из цепей ДНК - матричная цепь.
- **Униполярность:** синтез нуклеотидной цепи всегда направлен $5' \rightarrow 3'$.

Асимметричность



Общие параметры транскрипции

- Скорость – около 30 нуклеотидов/сек
- Частота ошибок – 1 на 10^4 нуклеотидов, т.е. на пять порядков выше, чем при репликации.
- Синтез РНК – гораздо менее точный процесс, чем синтез ДНК.

Что необходимо для транскрипции?

Рибонуклеозидтрифосфаты (ЦТФ, ГТФ, АТФ, УТФ)

- Источники энергии;
- Субстраты для синтеза молекулы РНК.

Цепь ДНК

- Матрица для синтеза новой цепи РНК.

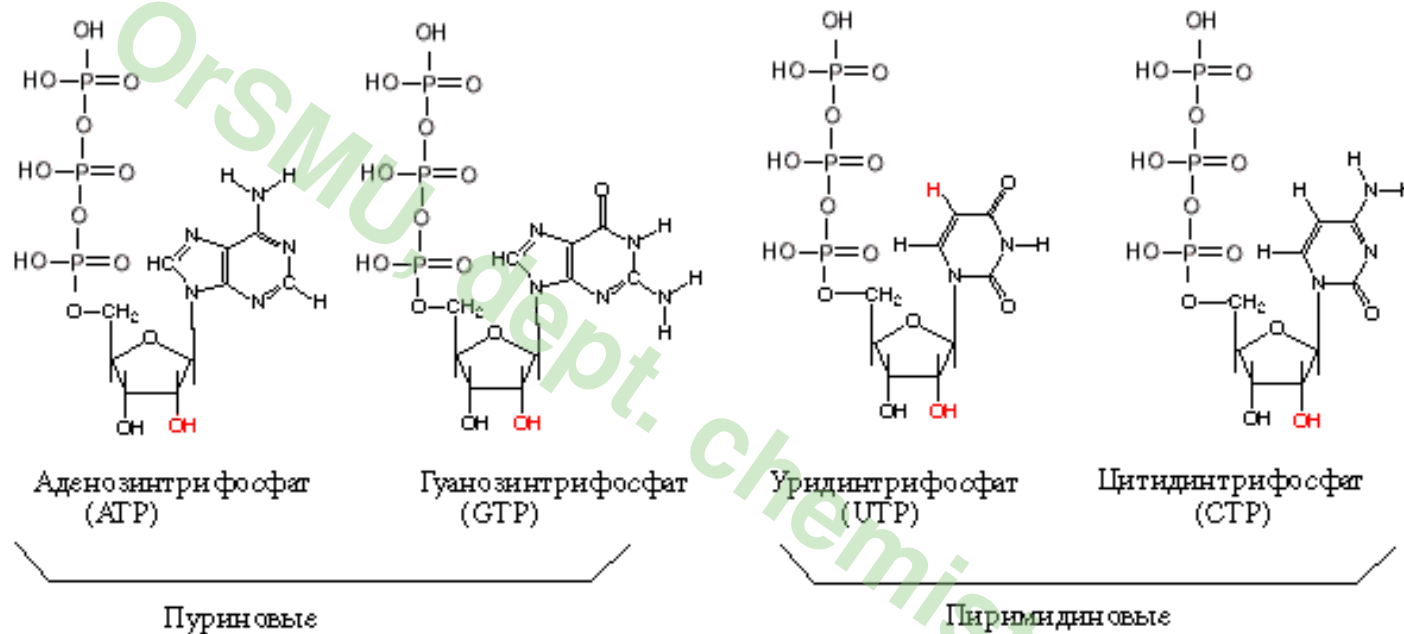
Транскрипционные факторы

- Белки, взаимодействующие с определёнными регуляторными сайтами

ДНК-зависимые РНК-полимеразы

- Катализируют реакцию синтеза цепи РНК на матрице ДНК

Субстраты для РНК-полимераз



- Субстратами для РНК-полимераз служат **рибонуклеозид-трифосфаты** (активированные нуклеотиды). Весь процесс транскрипции осуществляется за счет энергии макроэргических связей активированных нуклеотидов.
- В процессе транскрипции генов происходит биосинтез молекул РНК, комплементарных одной из цепей матричной ДНК, сопровождаемый полимеризацией четырех рибонуклеозидтрифосфатов (АТФ, GTP, CTP и UTP) с образованием 3'–5'-фосфодиэфирных связей и освобождением неорганического пирофосфата.

Бактериальные ДНК-зависимые РНК-полимеразы

У прокариот имеется 2 типа РНК-полимераз: одна из них синтезирует РНК-затравки для фрагментов Оказаки, а другая – все остальные виды РНК.

РНК-полимераза, участвующая в процессе транскрипции состоит из 5 типов субъединиц: α , β , β' , ω и σ .

Коровый фермент (кор-фермент): $2\alpha\beta\beta'\omega$
(α - каждая по 40 кДа), (β - 150 кДа), (β' - 155 кДа)

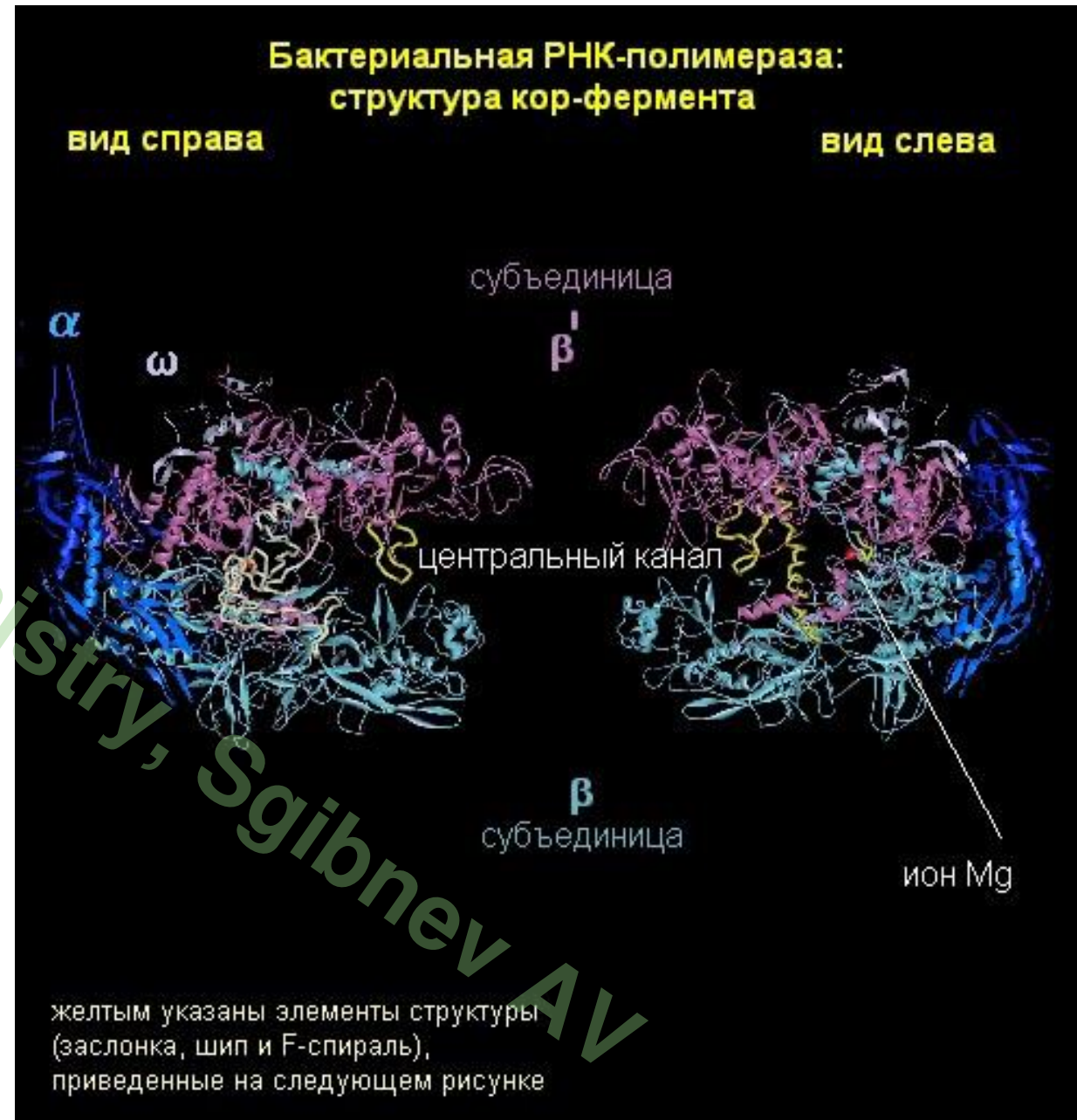
Холофермент (кор-фермент + σ): $2\alpha\beta\beta'\omega\sigma$
(σ – 70 кДа), (ω – 80 кДа)

РНК-полимераза бактерий

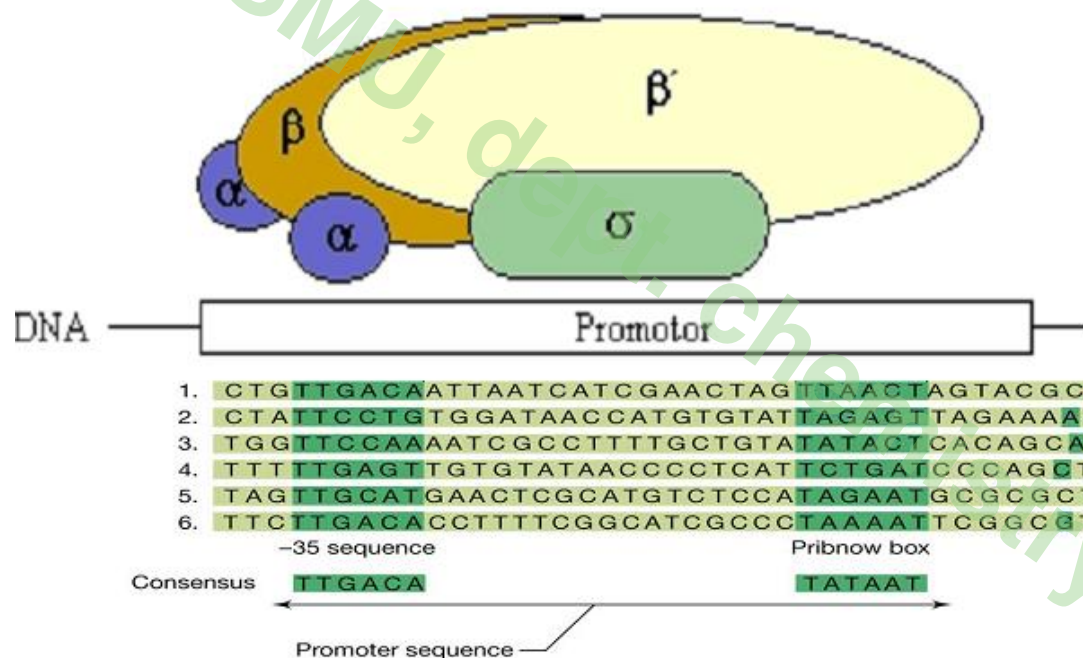
У бактерий один и тот же фермент катализирует синтез трех типов РНК: мРНК, рРНК и тРНК.

РНК-полимераза — крупная молекула. Состоит из пяти субъединиц (~400 кДа): $\alpha_2\beta\beta'\omega$ (корфермент)

Для связывания с промоторными областями ДНК необходима еще одна субъединица — сигма (σ). Сигма-фактор значительно снижает сродство РНК-полимеразы к неспецифичным областям ДНК, и повышает ее чувствительность к определенным промоторам. С его помощью транскрипция начинается с нужного участка ДНК



Бактериальная РНК-полимераза



Core: 2 α , β , β' , ω

Holo: Core + σ

Скорость

транскрипции:

30 н.о. /с

β – связывание нуклеотидфосфата и построение полинуклеотидной цепочки 150 кДа,

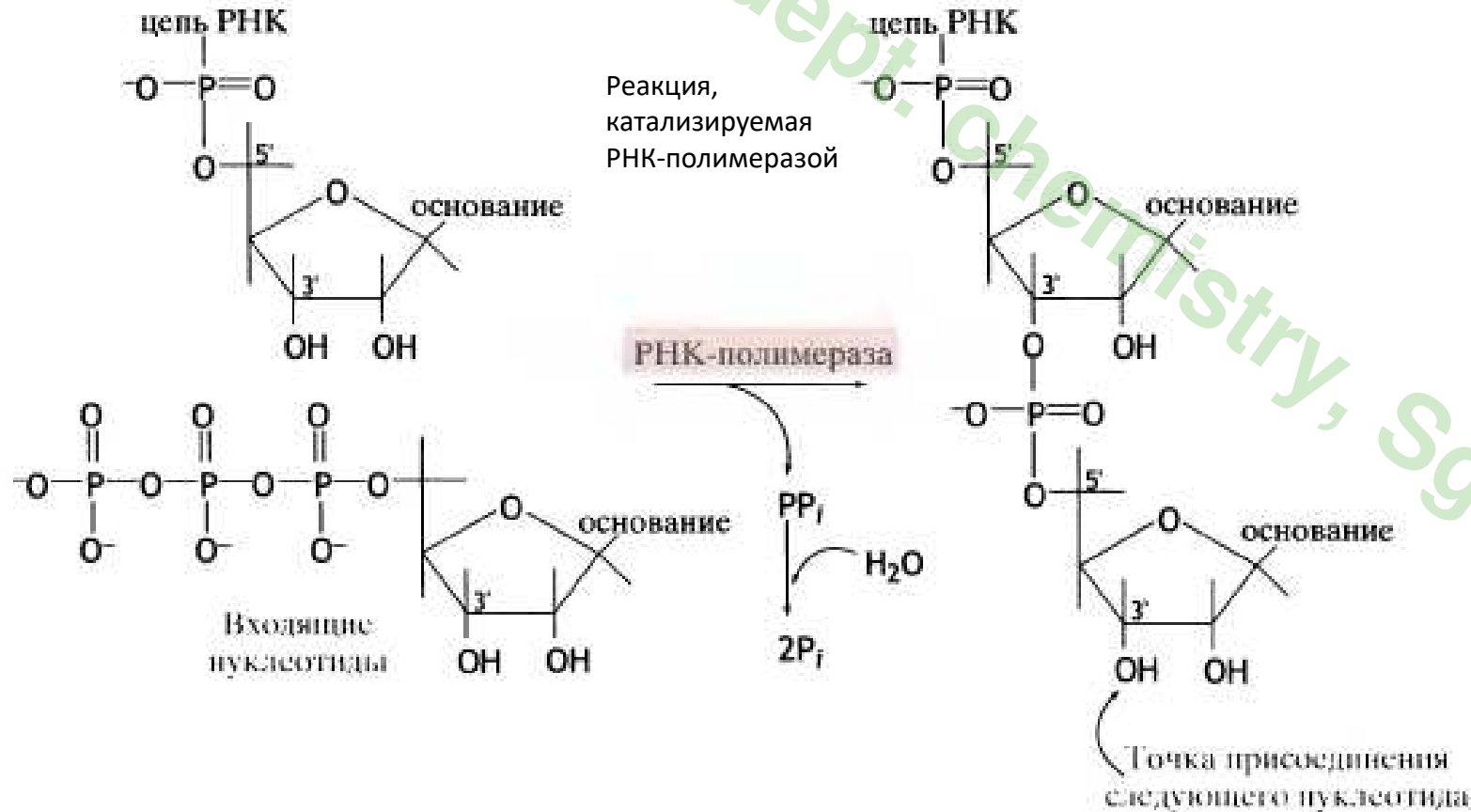
β' – связывание с ДНК, 155 кДа,

α – участвует в узнавании промотора, 36,5 кДа

σ^{70} – специфическая посадка на промотор, 70 кДа

Какие типы РНК-полимераз содержатся в клетках эукариот?

- ✓ РНК-полимераза I, катализирует синтез пре-рРНК трех типов;
- ✓ РНК-полимераза II, катализирует синтез гРНК, которые являются предшественниками мРНК, мяРНК;
- ✓ РНК-полимераза III, катализирует синтез пре-тРНК, 5S рРНК и некоторых пре-мяРНК.

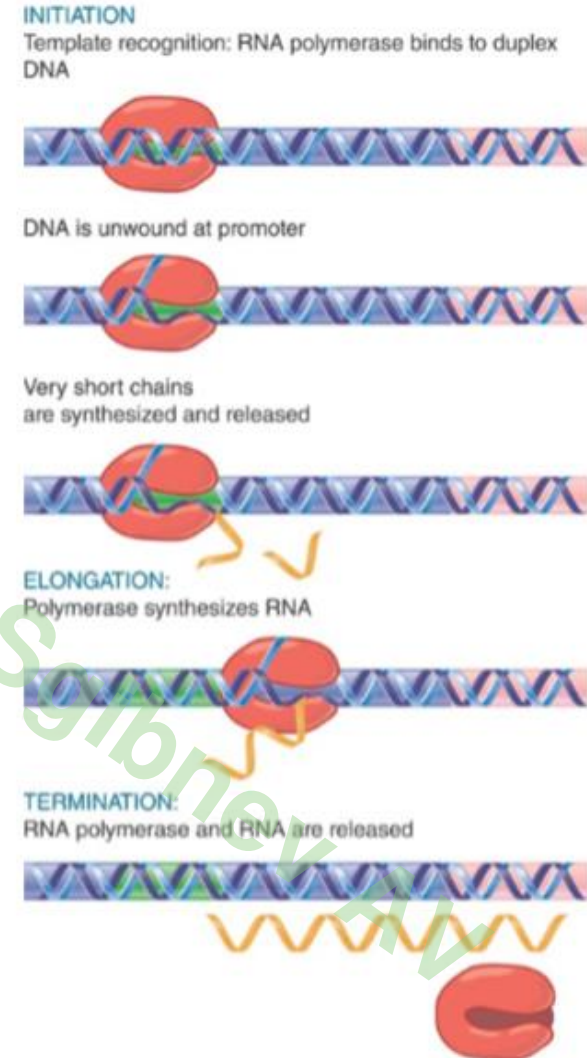


Стадии транскрипции

- ✓ Инициация,
- ✓ Элонгация,
- ✓ Терминация.

Этапы транскрипции

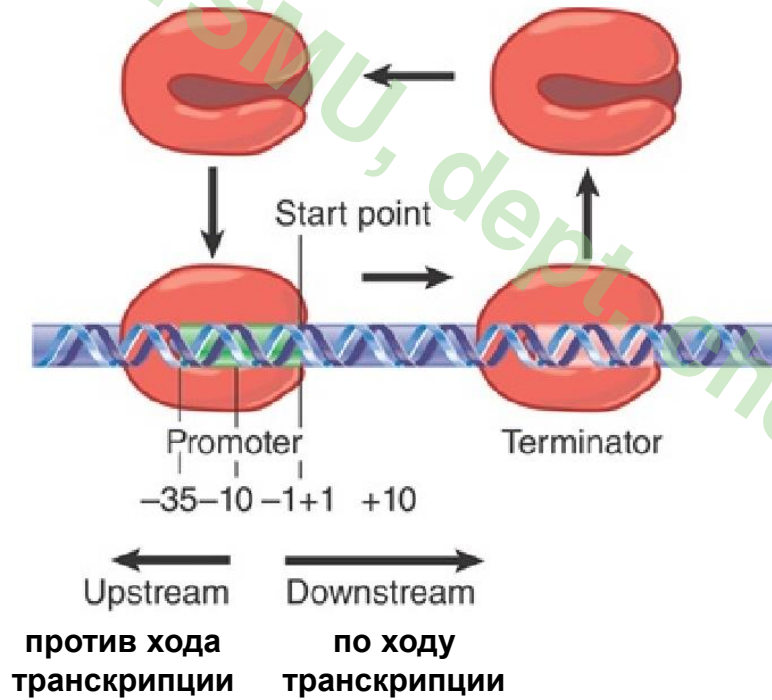
- **Инициация** — выбор фиксированного места начала транскрипции (специфическое связывание РНК-пол с матричной нитью), **промотор**
- **Элонгация** — синтез РНК после оставления РНК-пол промотора (очищение промотора)
- **Терминация** — окончание транскрипции, **терминатор**



Три этапа транскрипции

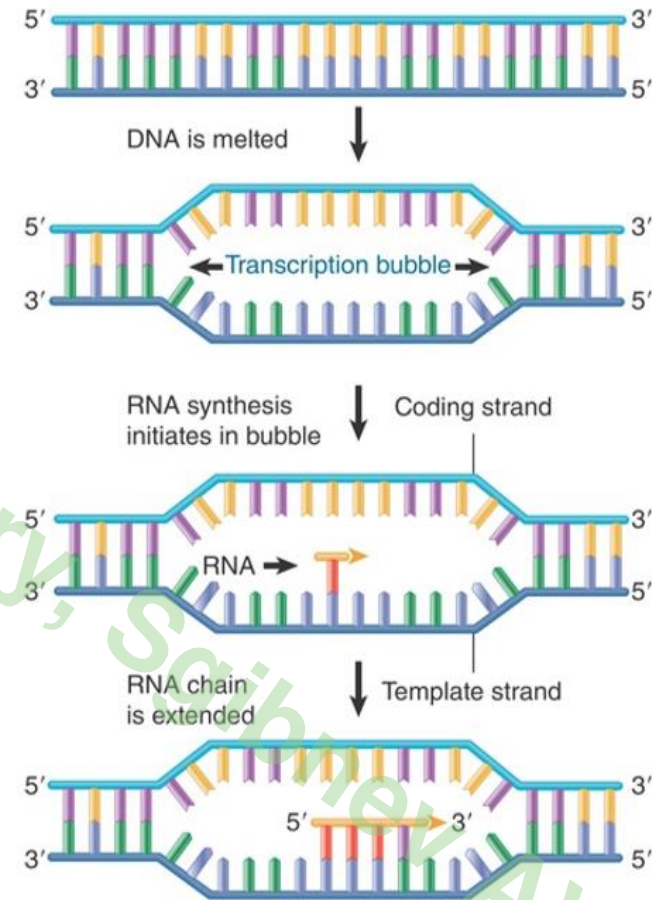
Инициация

Координаты транскрипции



Стартовая точка транскрипции, или TSS – transcription start site (+1)

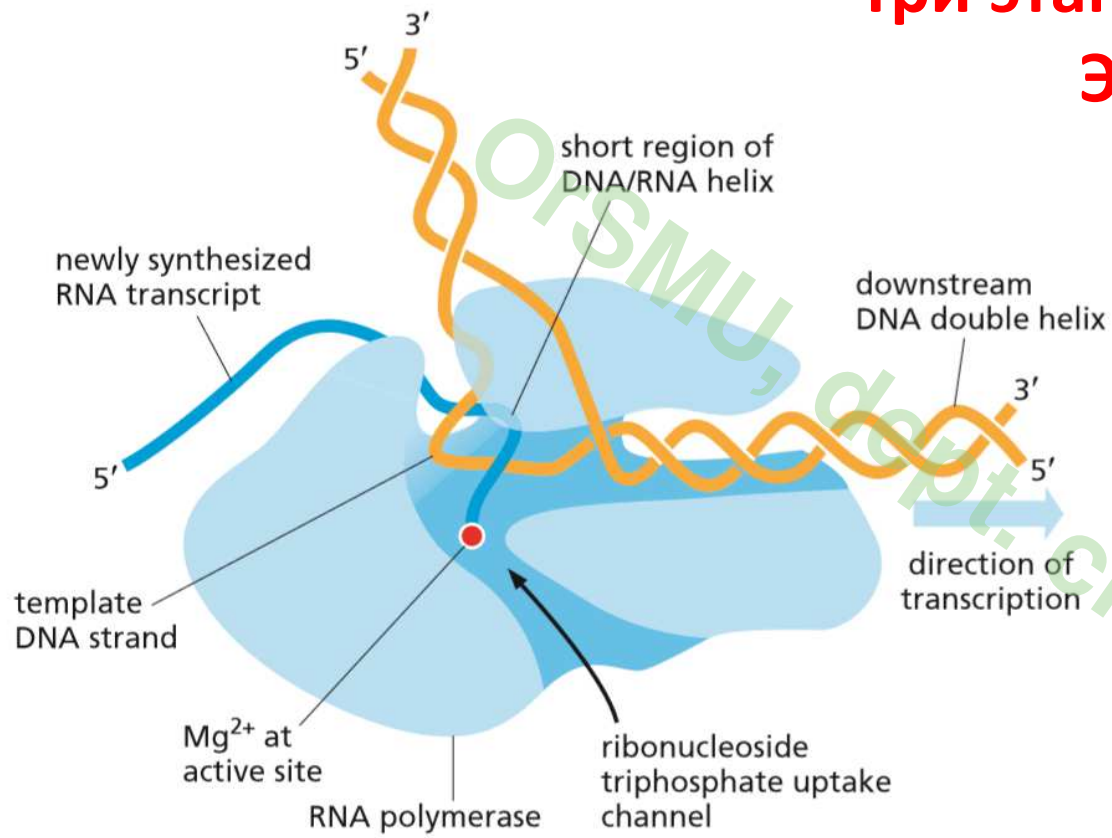
Формирование транскрипционного пузыря



- 12-14 п.н.
- Синтез РНК в направлении от 5'-конца к 3'-концу

Три этапа транскрипции

Элонгация



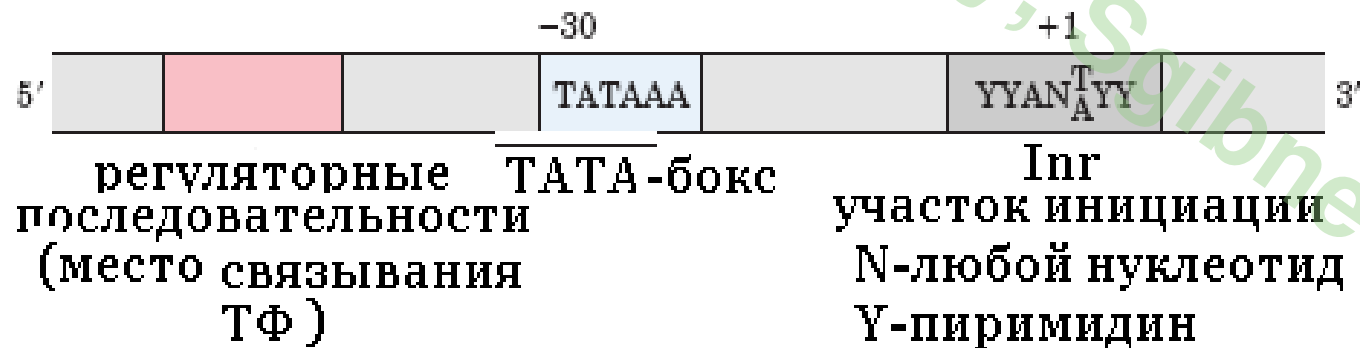
Нематричная нить – кодирующая
(кодогенная)

Матричная нить – транскрибируемая
РНК-пол движется по нити ДНК в
направлении 3'(ОН)→5'(РО4)

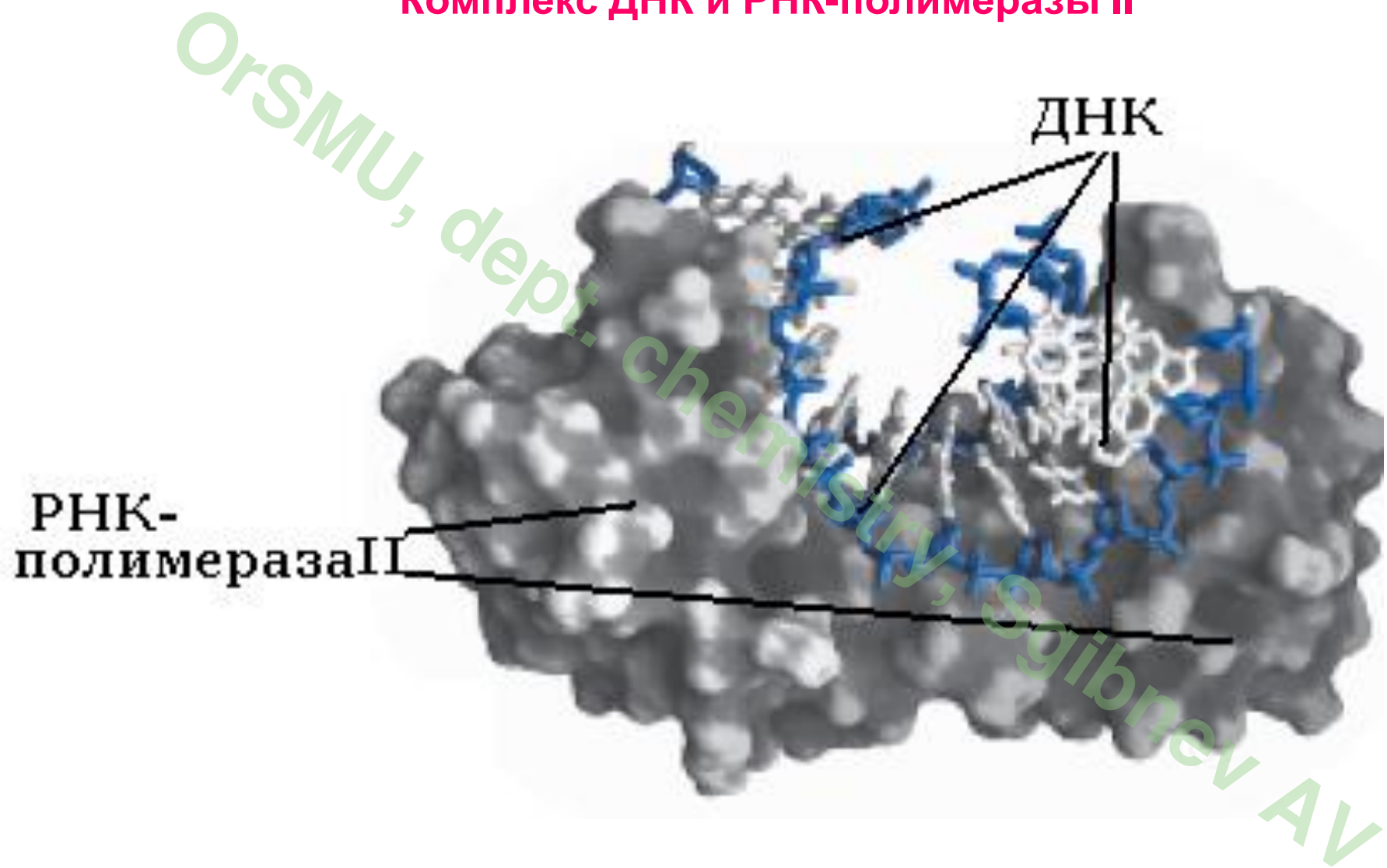
Записи в базах даны по кодирующей нити

Движение РНК-полимеразы по матрице со скоростью около 30 нуклеотидов в сек: впереди - происходит расплетание, а позади — восстановление двойной спирали ДНК. Одновременно освобождается очередное звено растущей цепи РНК из комплекса с матрицей и РНК-полимеразой. Высокая частота ошибок – 1 на 10⁴ нуклеотидов, т.е. на пять порядков выше, чем при репликации.

- РНК-полимераза II для осуществления своей работы требует много различных белковых факторов (транскрипционные факторы – ТФ).
- РНК-полимераза II состоит из 12 субъединиц, часть которых выполняют функции, подобные субъединицам РНК-полимеразы прокариотов.
- Самая большая субъединица на С-конце содержит много раз повторяющийся (консенсусный) гепта-повтор, очень важный для функции этого фермента.

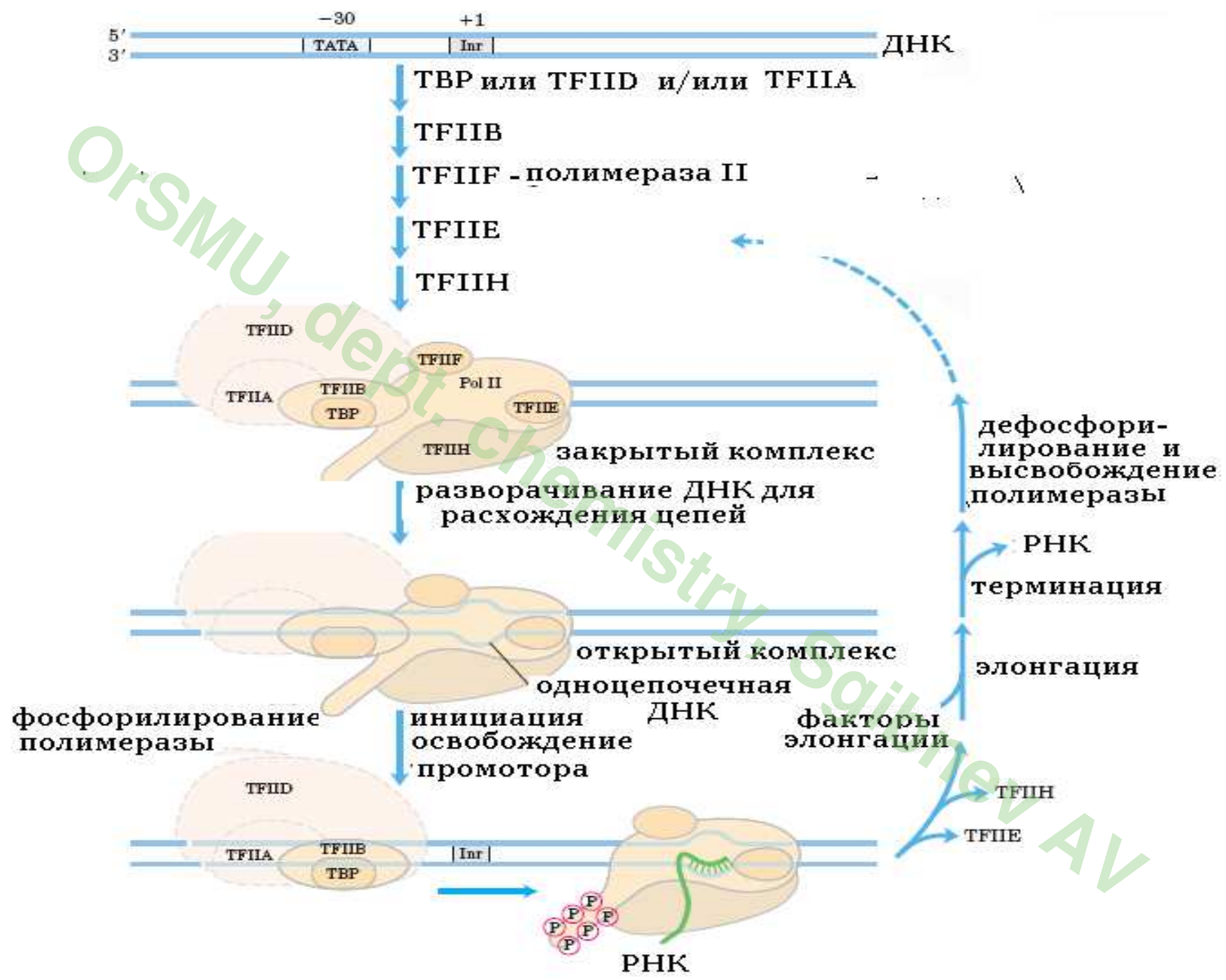


Комплекс ДНК и РНК-полимеразы II



Белки, необходимые для инициации транскрипции на эукариотических промоторах РНК-полимеразой II

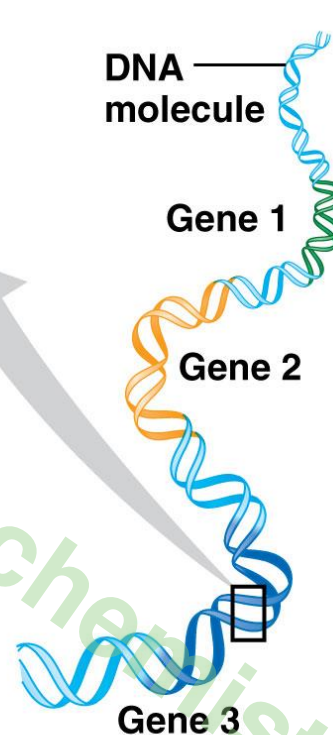
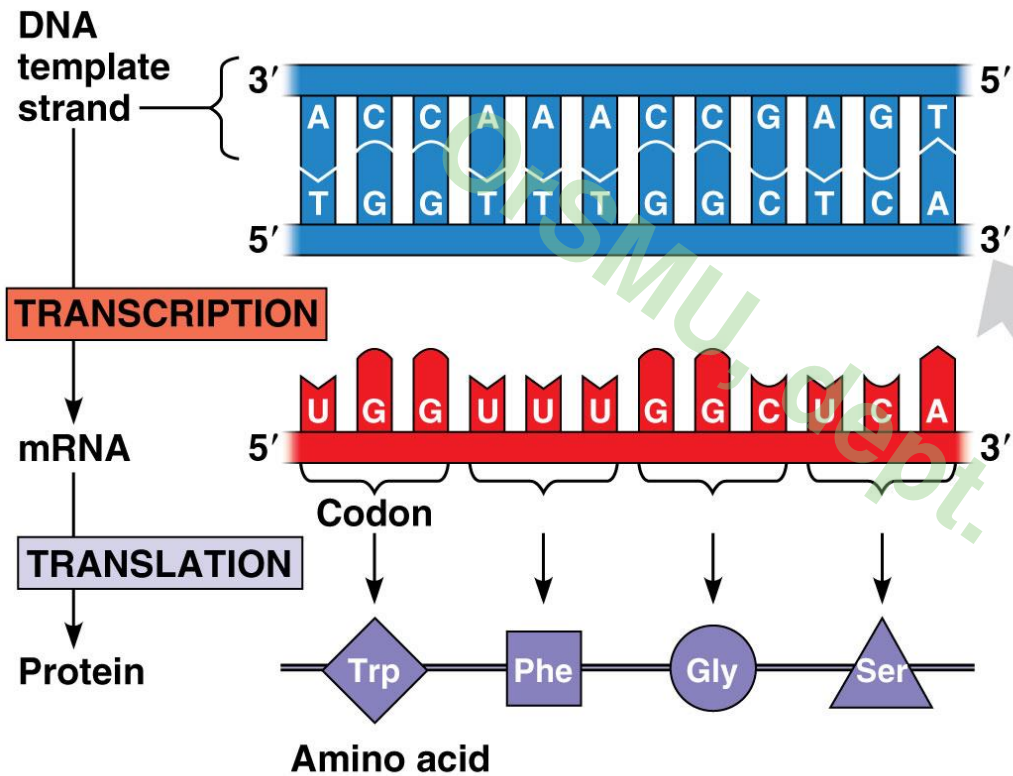
<i>Transcription protein</i>	<i>Number of subunits</i>	<i>Subunit(s) M_r</i>	<i>Function(s)</i>
Initiation			
Pol II	12	10,000–220,000	Catalyzes RNA synthesis
TBP (TATA-binding protein)	1	38,000	Specifically recognizes the TATA box
TFIIA	3	12,000, 19,000, 35,000	Stabilizes binding of TFIIIB and TBP to the promoter
TFIIB	1	35,000	Binds to TBP; recruits Pol II–TFIIF complex
TFIIE	2	34,000, 57,000	Recruits TFIIH; has ATPase and helicase activities
TFIIF	2	30,000, 74,000	Binds tightly to Pol II; binds to TFIIB and prevents binding of Pol II to nonspecific DNA sequences
TFIIH	12	35,000–89,000	Unwinds DNA at promoter (helicase activity); phosphorylates Pol II (within the CTD); recruits nucleotide-excision repair proteins
Elongation*			
ELL†	1	80,000	
p-TEFb	2	43,000, 124,000	Phosphorylates Pol II (within the CTD)
SII (TFIIS)	1	38,000	
Elongin (SIII)	3	15,000, 18,000, 110,000	



ИНГИБИТОРЫ РНК-ПОЛИМЕРАЗ

Актиномицин D и **акридин** – подавляют работу на стадии элонгации

α -аманитин (токсин бледной поганки) полностью подавляет работу РНК-полимеразы II в концентрации 10^{-8} М и РНК-полимеразы III (в концентрации 10^{-6} М). РНК-полимераза I фактически нечувствительна к этому токсину.



• Матричная цепь - одиночная цепь ДНК, с которой транскрибируется мРНК.

Триплетный код

- 4 основания считываются по 3 за раз, существует 4^3 или 64 возможных сочетаний, которые кодируют 20 АК, поэтому некоторые АК кодируются более одного раза.
- Из 64 кодонов 61 код для аминокислот.
- Есть 1 стартовый кодон и 3 стоп-кодона.

Транскрибируется только одна из двух нитей. Для конкретного гена одна и та же цепь используется в качестве матрицы каждый раз, когда ген транскрибируется. Для других генов в той же молекуле ДНК противоположная цепь может функционировать как матрица.

Транскрипция и трансляция

- Кодоны - серия из 3 оснований на мРНК, читаемых вместе, чтобы кодировать определенную аминокислоту.



(a) Tobacco plant expressing a firefly gene

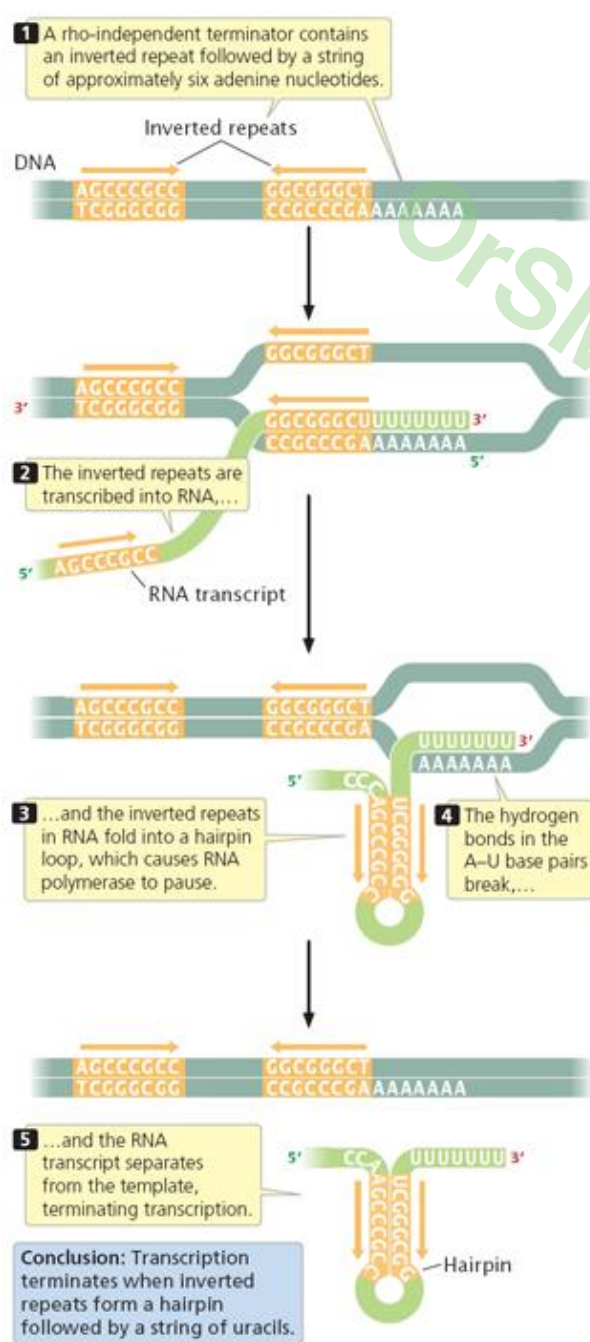


(b) Pig expressing a jellyfish gene

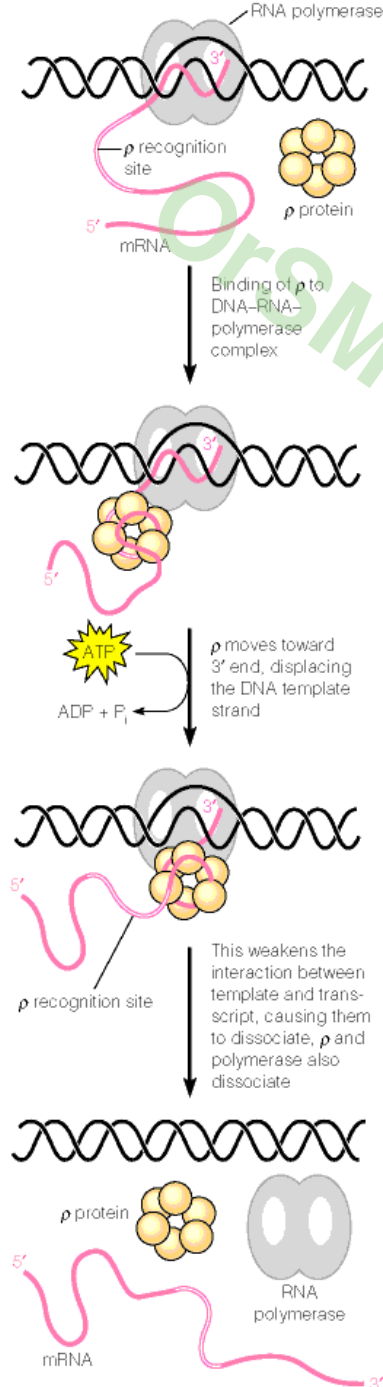
- Поскольку для кодирования аминокислоты требуется 3 основания (1 кодон), для синтеза полипептида из 100 аминокислот нужна мРНК длиной 300 нуклеотидов.
- Стартовый кодон AUG кодирует метионин.
- Не всем белкам метионин необходим в качестве первой аминокислоты, поэтому может присутствовать фермент, который удаляет его.

Генетический код одинаков для всех организмов, виды могут экспрессировать гены других видов. Важно для медицины: рекомбинантные штаммы, продуцирующие инсулин.

Терминация транскрипции



- Инвертированный повтор в области терминатора приводит к образованию петли на РНК;
- РНК-полимераза приостанавливается;
- Водородные связи АУ-тракта разрушаются;
- РНК транскрипт отделяется от матрицы.



Ро-зависимая терминация

Rho белок

- 419 ак
- ГЕКСАМЕР
- АТФаза
- геликаза

Ро связывается со специальными сайтами на РНК: 40 н свободные от шпилек, Ц-богатые

Ро не связывается с транслируемыми участками

Ро обычно осуществляет терминацию на конце генов

Ро движется к 3' концу РНК, смещая ее с матричной цепи ДНК

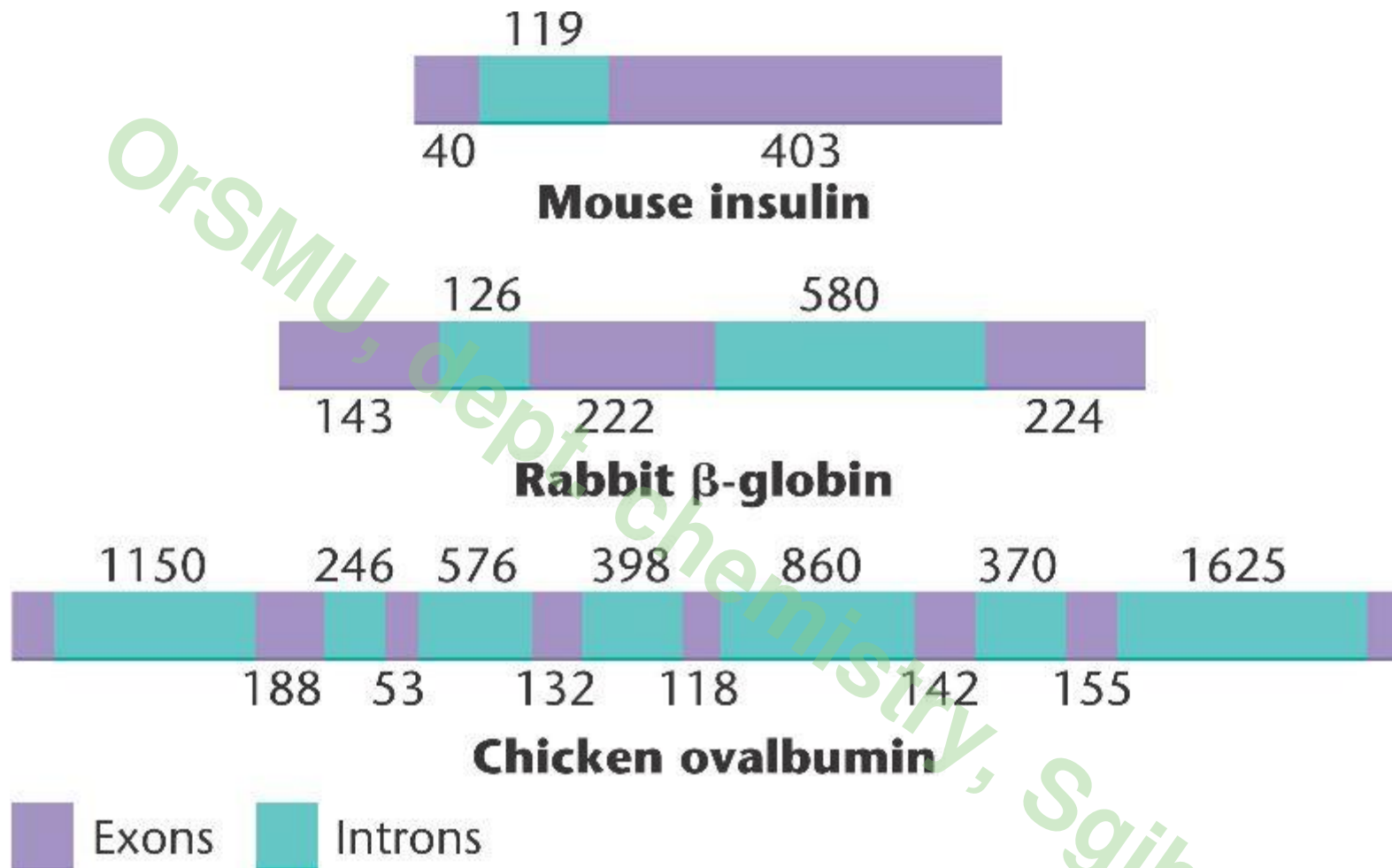
Весь комплекс разваливается

Интроны и прерывистые гены

В 1977 г. обнаружено, что гены вирусов, инфицирующие животные клетки, содержат внутренние последовательности, которые не обнаруживаются в зрелой иРНК. Они есть в молекулах предшественников иРНК, но удаляются до трансляции зрелых иРНК.

Такие последовательности назвали интервентными или **интронами**, а гены, содержащие интроны, – **прерывистыми**. Последовательности, которые транскрибируются в зрелые мРНК и с которых транслируются полипептиды, назвали **экзонами** (от expressed).

При **сплайсинге** происходит вырезание интронов и воссоединение экзонов.



Большинство эукариотических генов содержат интроны. Ген овальбумина кур в основном «молчащий», содержит семь интронов, которые вместе в два раза длиннее сегментов экзонов.

Подавляющее большинство эукариотических генов содержит интроны, есть всего несколько исключений. Экзоны составляют 15% длины коллагенового гена, в альбуминовом гене 8%, в гене дистрофине менее 1%. Отсутствие интронов только в гистоновых генах и, видимо, интерфероновых – причина этого не вполне понятна.

CONTRASTING HUMAN GENE SIZE, mRNA SIZE, AND THE NUMBER OF INTRONS

Gene	Gene Size (kb)	mRNA Size (kb)	Number of Introns
Insulin	1.7	0.4	2
Collagen [<i>pro-α-2(1)</i>]	38.0	5.0	50
Albumin	25.0	2.1	14
Phenylalanine hydroxylase	90.0	2.4	12
Dystrophin	2000.0	17.0	50

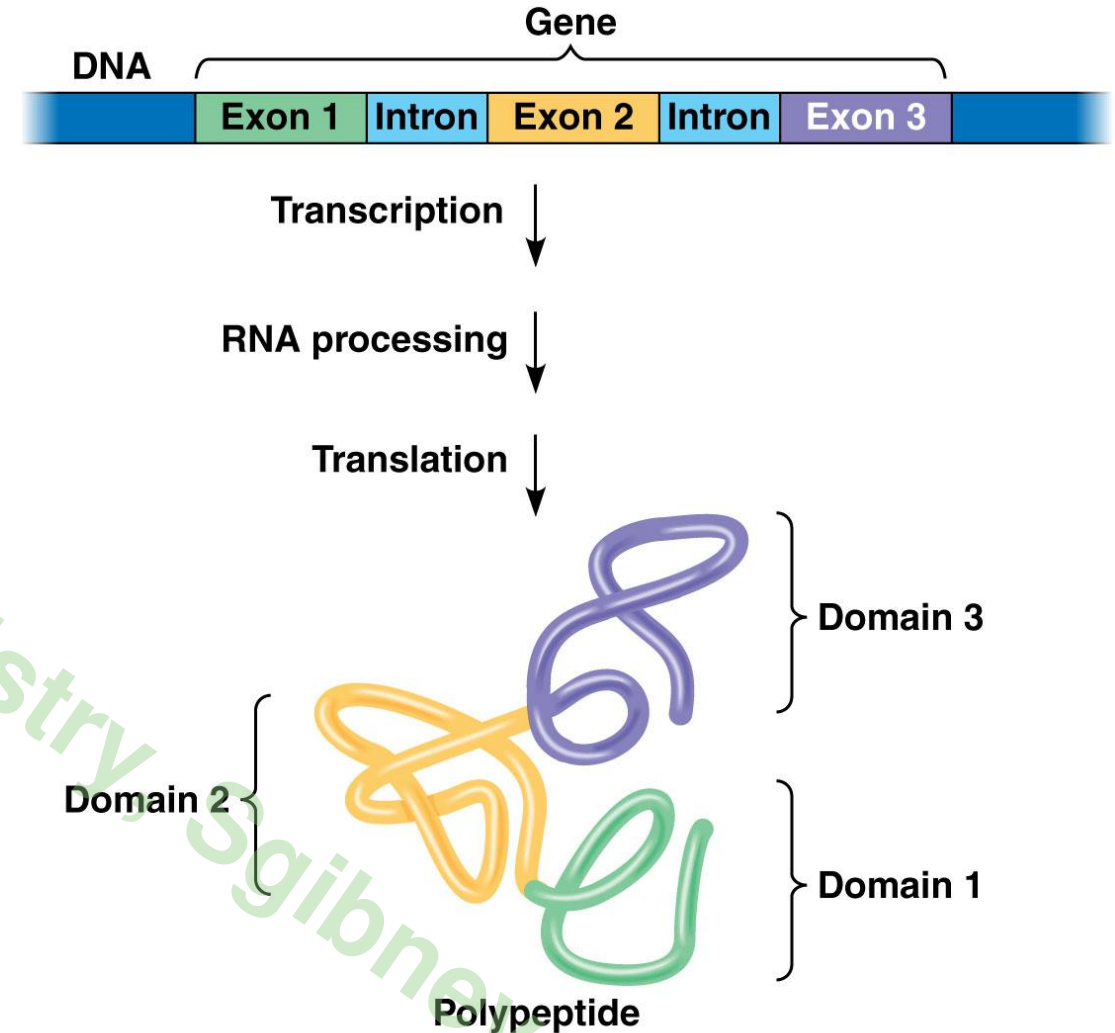
Модификация РНК после транскрипции

- Рибозимы - молекулы РНК, которые функционируют как ферменты. Домены - дискретная структурная и функциональная область белка, кодируемая определенным экзоном.

Почти все ферменты являются белками, кроме рибозимов.

Рибозимы иногда могут катализировать сплайсинг собственных интронов у некоторых видов. Тем не менее первичный транскрипт РНК имеет нуклеотидные последовательности, указывающие, где начинается сплайсинг.

Некоторые экзоны могут создавать активный сайт, другие могут позволять ферменту связываться с определенной местом.



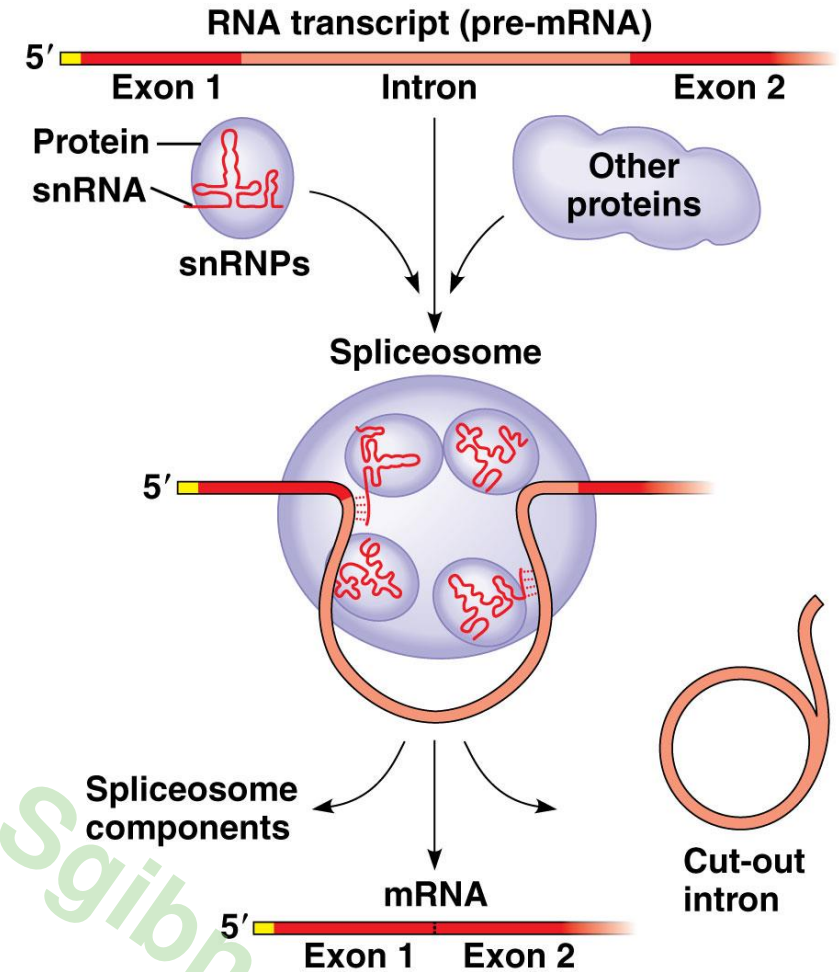
© 2011 Pearson Education, Inc.

Модификация РНК после транскрипции

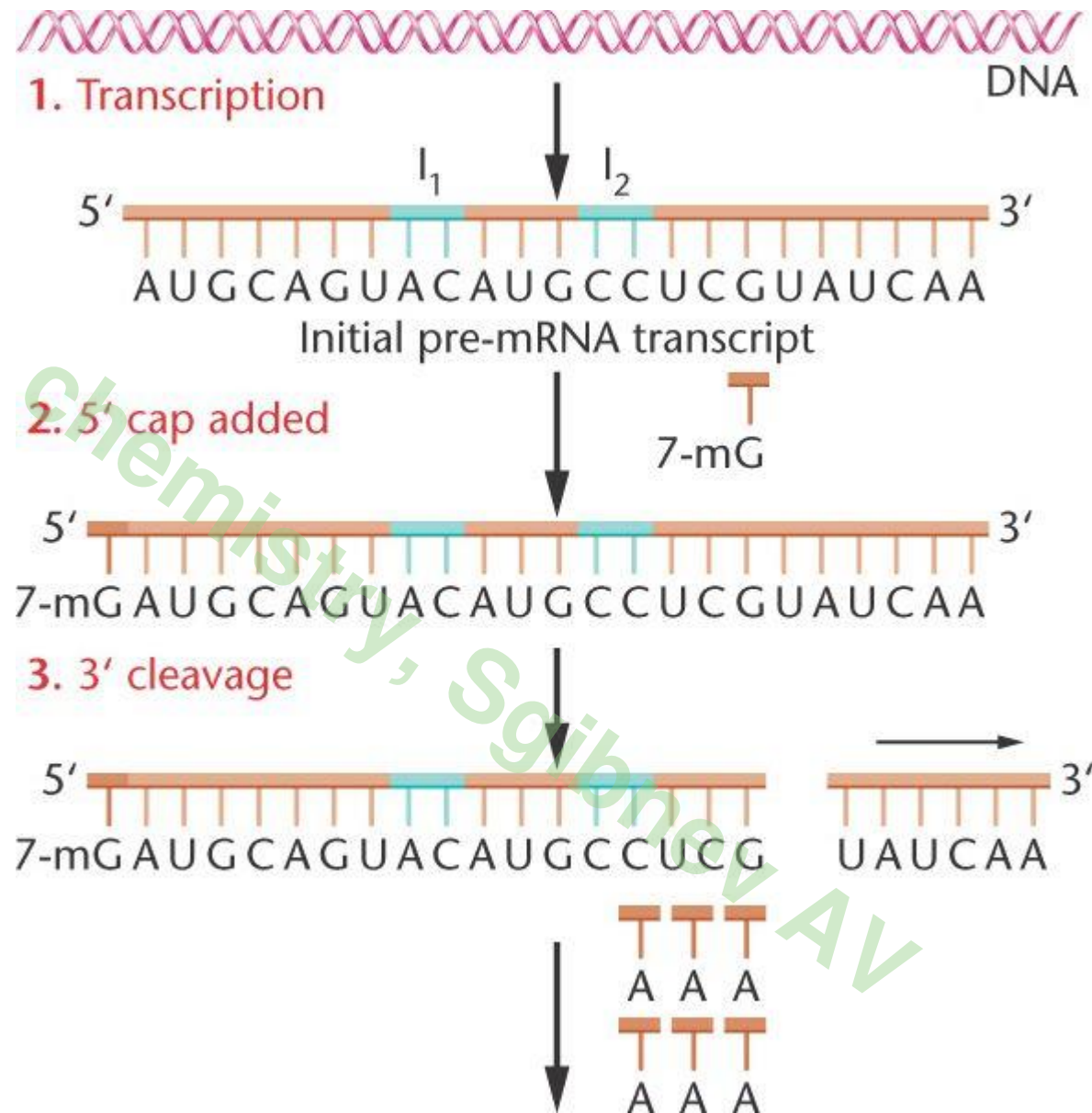
- snRNPs (snurps) - короткая нуклеотидная последовательность на конце интрона, распознающая сайты сплайсинга.
- Сплайсосома - несколько snRNP, соединенных вместе с белками. Взаимодействует с участками интрона, высвобождая интрон, который быстро деградирует, и присоединяется к экзонам.

Малые ядерные рибонуклеопротеины (Small nuclear ribonucleoproteins)- расположены в ядре клетки и состоят из молекул белка и РНК. Ее называют малой ядерной РНК, потому что ее длина составляет всего около 150 нуклеотидов.

- Сплайсосома взаимодействует с определенными участками интрона, высвобождая интрон, который быстро разрушается.
- мяРНК катализирует этот процесс и помогает собрать сплайсосому и помогает в распознавании сайтов сплайсинга.
- Основания мяРНК спариваются с нуклеотидами в определенных участках интрона
- Сплайсосомы разбираются.



У эукариот, начальный/первичный транскрипт называется гетерогенной ядерной РНК (**hnRNA**), или **пре-мРНК**, содержащей некодирующие участки, называемые промежуточными последовательностями (интронами).



Процессинг мРНК

Процессинг мРНК

Процессинг мРНК состоит из нескольких этапов.

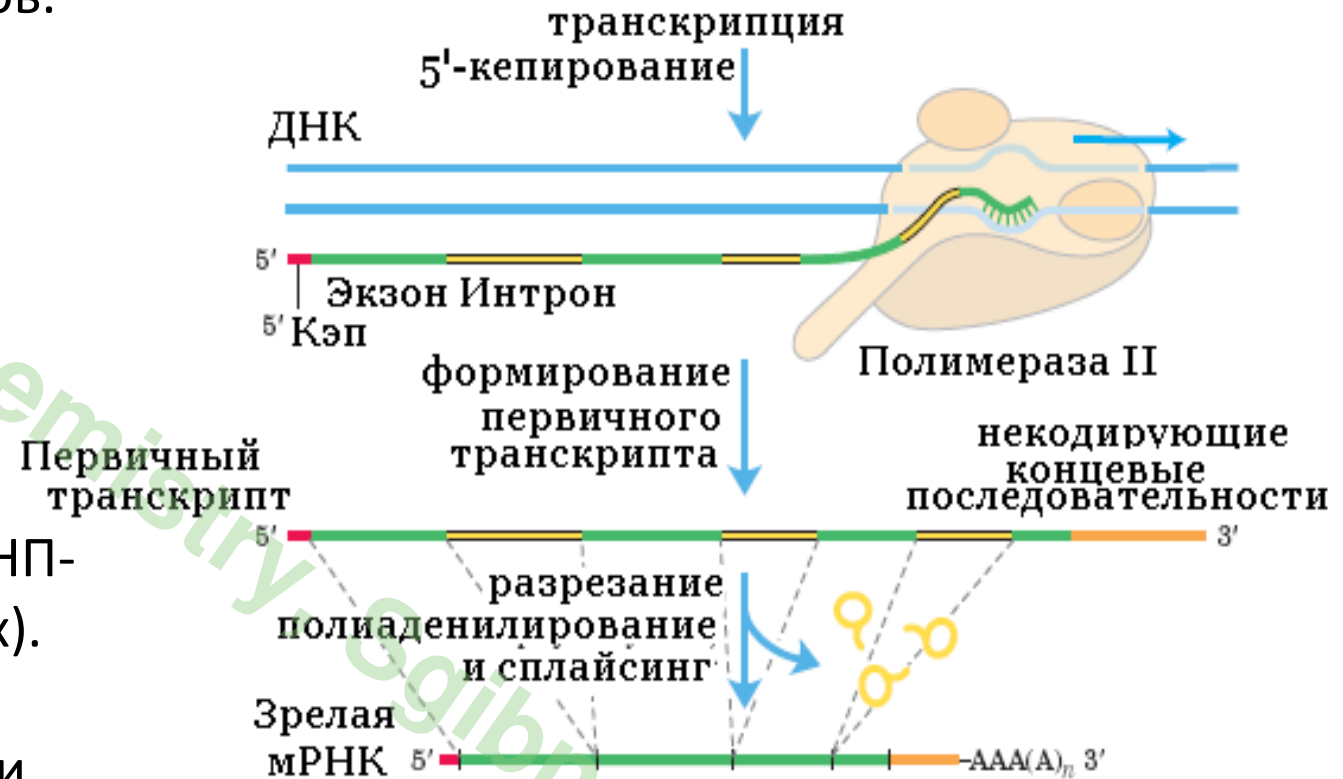
1. Кепирование 100% мРНК
2. Полиаденилирование ~95% мРНК
3. Сплайсинг ~95% мРНК. Сплайсингу подвергаются только полиаденилированные мРНК.
4. Редактирование. Показано лишь для нескольких мРНК.

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

мРНК не бывает свободной от белков.

Полисома - комплекс мРНК с несколькими или многими рибосомами.

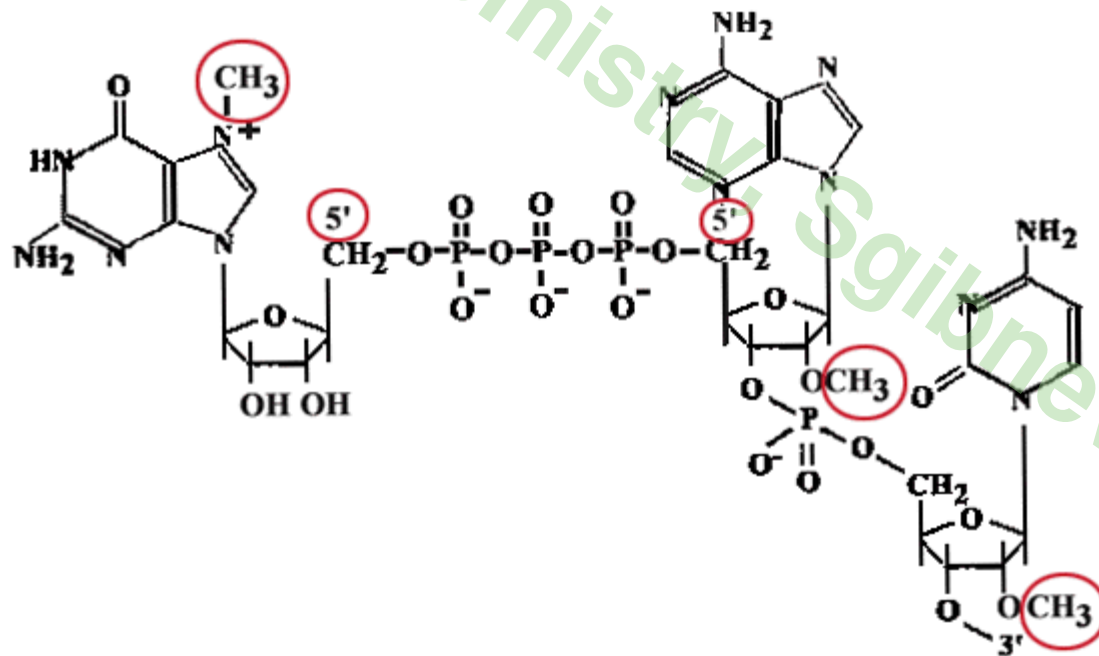
В составе информосом мРНК может жить от нескольких минут до нескольких дней, не подвергаясь действию нуклеаз



Кепирование

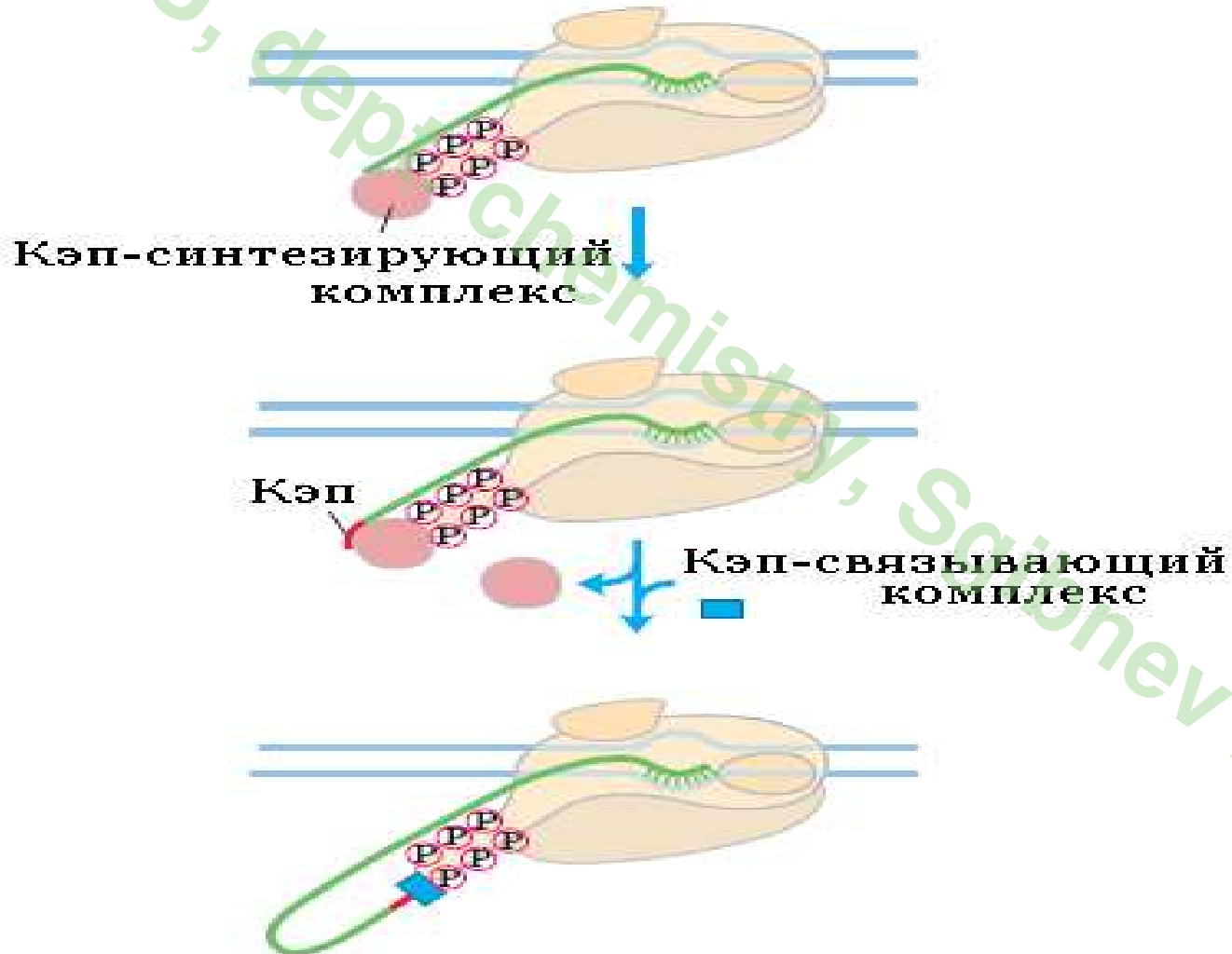
Кепирование - надевание "шапочки".

"Cap" представляет собой метилированный GTP, присоединенный в необычной позиции 5'-5' и две метилированные рибозы в первых двух нуклеотидах мРНК. По мере образования пре-мРНК (еще до 30-ого нуклеотида), к 5'-концу, несущему пуринтрифосфат, присоединяется гуанин, после чего происходит метилирование



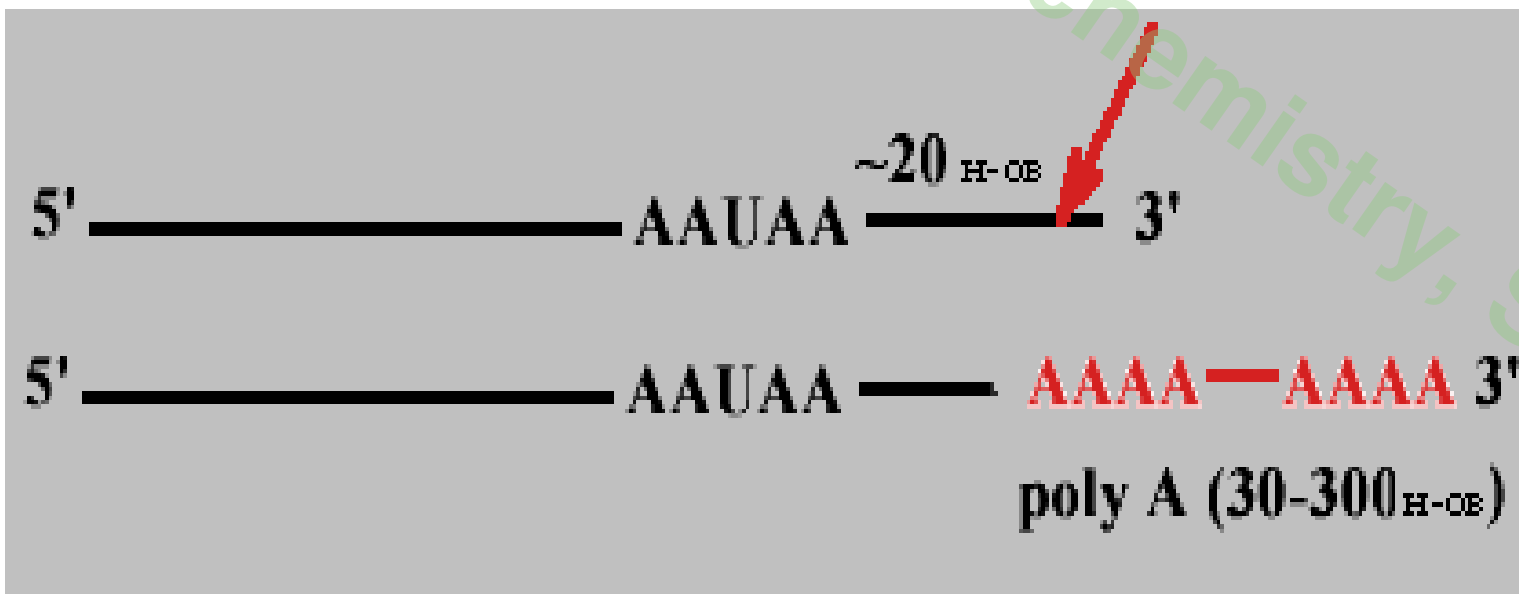
Назначение "Кэп"

- 1. Защита 5'-конца мРНК от действия экзонуклеаз.
- 2. За счет узнавания "Кэп" связывающими белками происходит правильная установка мРНК на рибосоме

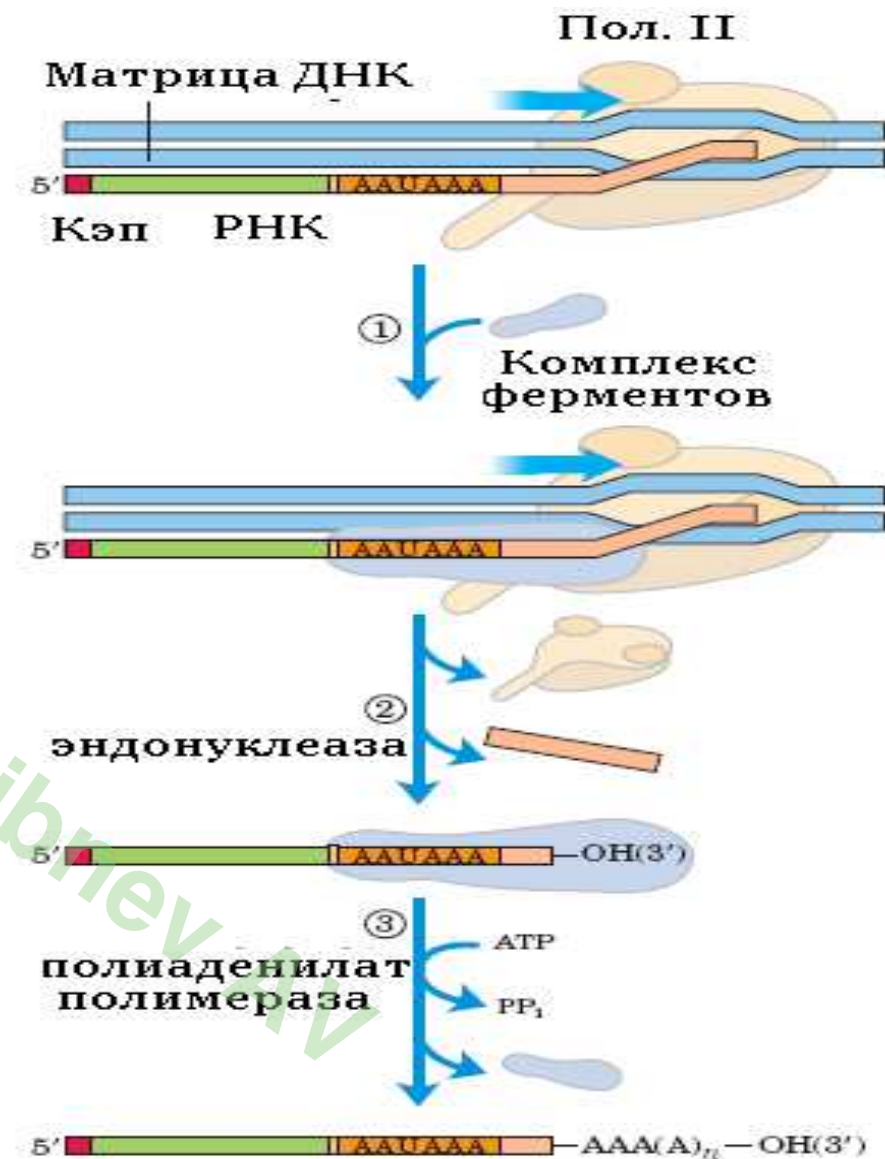


Полиаденилирование

Когда синтез пре-мРНК завершен, то на расстоянии примерно 20 нуклеотидов в направлении к 3' - концу от последовательности 5'-AAUAA-3' происходит разрезание специфической эндонуклеазой и к новому 3'-концу присоединяется от 30 до 300 остатков AMP (безматричный синтез).



мРНК ряда генов не полиаденилируется (например гистоновых генов).
Полиаденилированные пре-мРНК подвергаются сплайсингу.

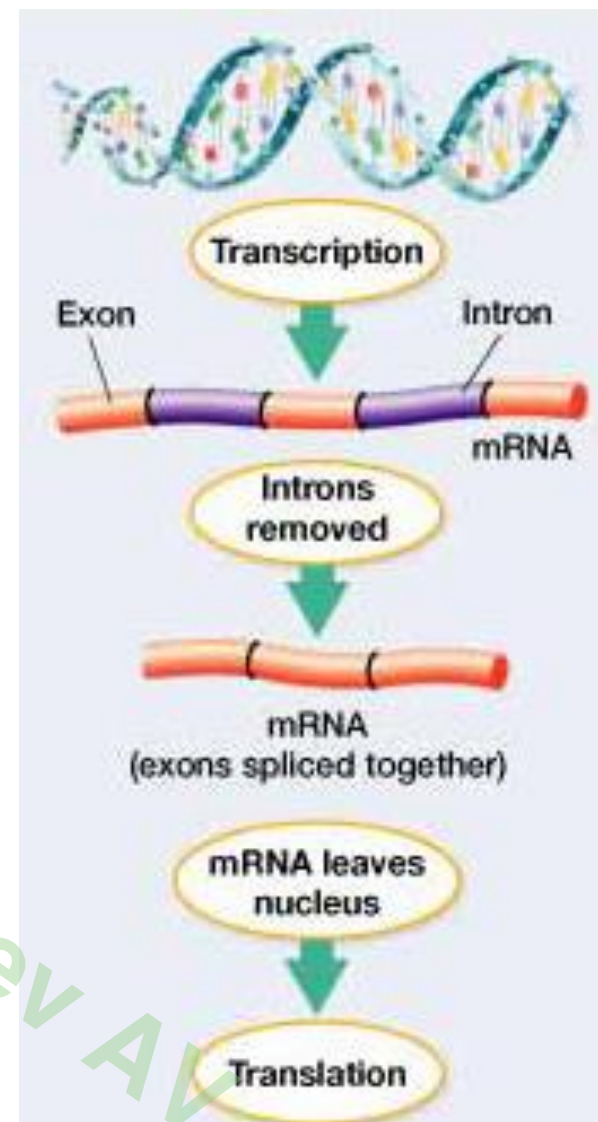
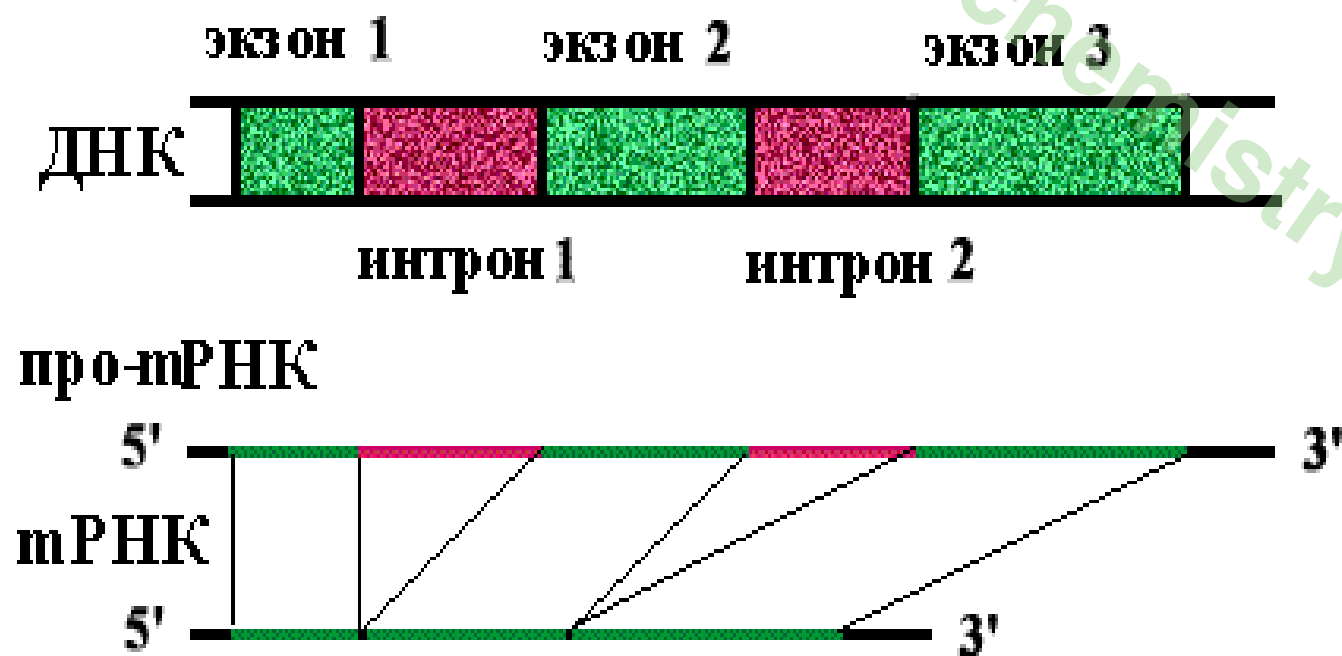


Сплайсинг

Экзоны - кодирующие участки генов.

Интроны - некодирующие участки генов.

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

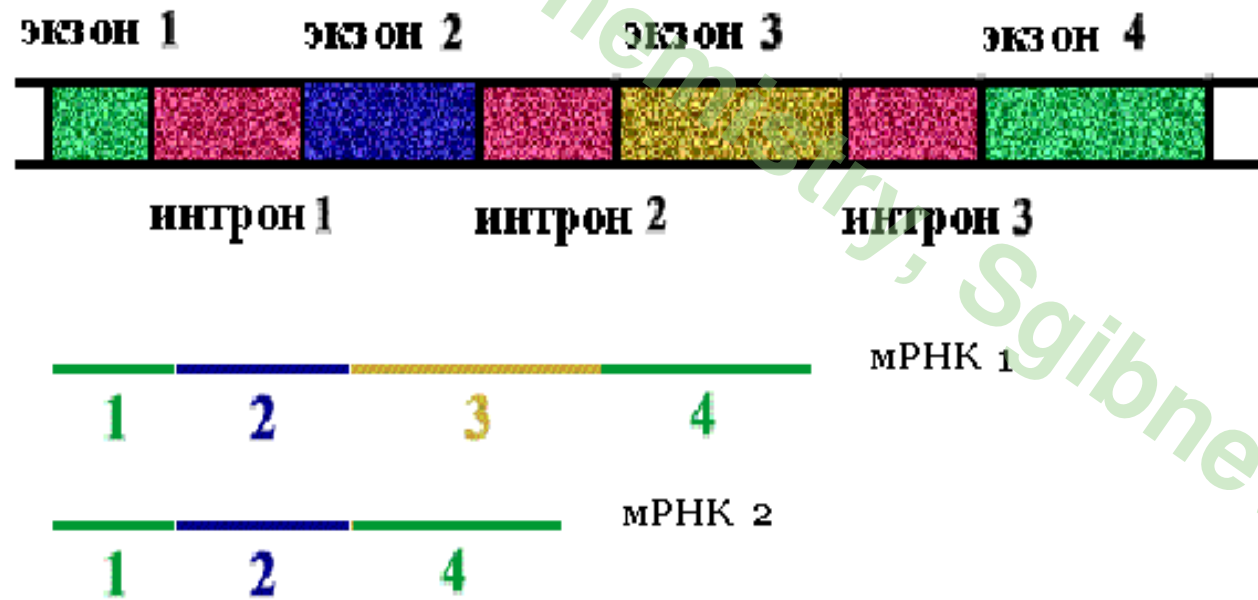


Для мРНК высших организмов существуют обязательные правила сплайсинга:

Правило 1. 5' и 3' концы интрона очень консервативны: 5'(GT-интрон-AG)3'.



Правило 2. При сшивании копий экзонов соблюдается порядок их расположения в гене, но могут быть выброшены некоторые ИЗ НИХ.



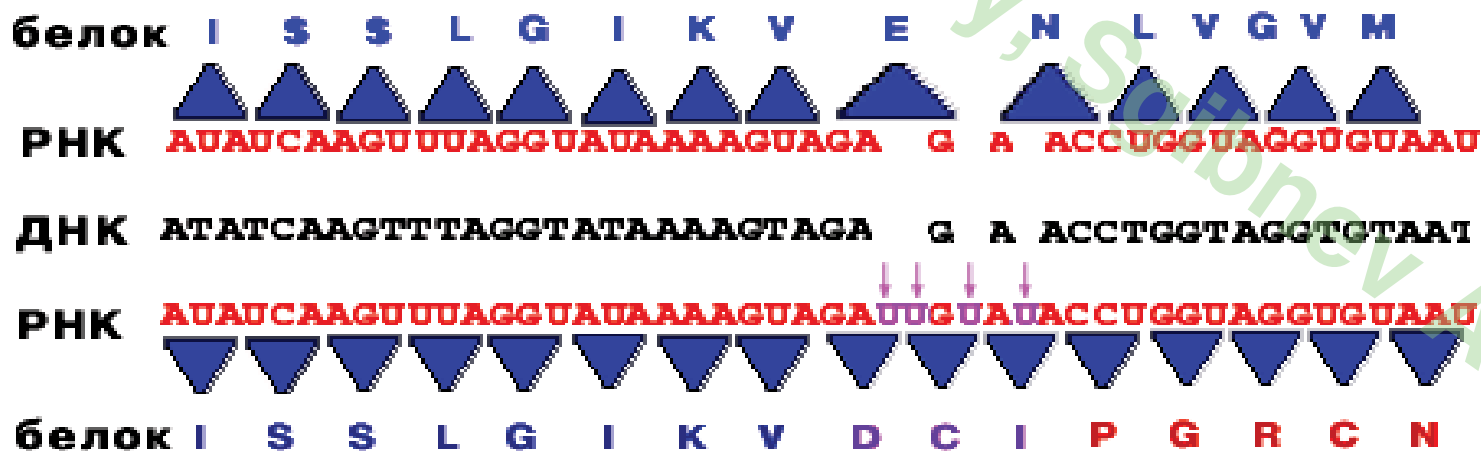
Сплайсинг осуществляется белковыми комплексами - **сплайсосомами**, в которых помимо ферментов, вырезающих и сшивающих участки пре-мРНК, имеются белки, придающие про-мРНК нужную конформацию, и несколько sРНК.

Сплайсосома непосредственно связана с ферментами, занимающимися полиаденилированием.

Редактирование

- **Редактирование** - изменение генетической информации на уровне мРНК.
- Пример- редактирование мРНК цитохромоксидазы у трипаносомы: когда трипаносома в человеке – синтезируется только две субъединицы цитохромоксидазы, в мухе – три.
- Происходит сдвиг рамки считывания и отредактированная мРНК кодирует новый полипептид - третью субъединицу

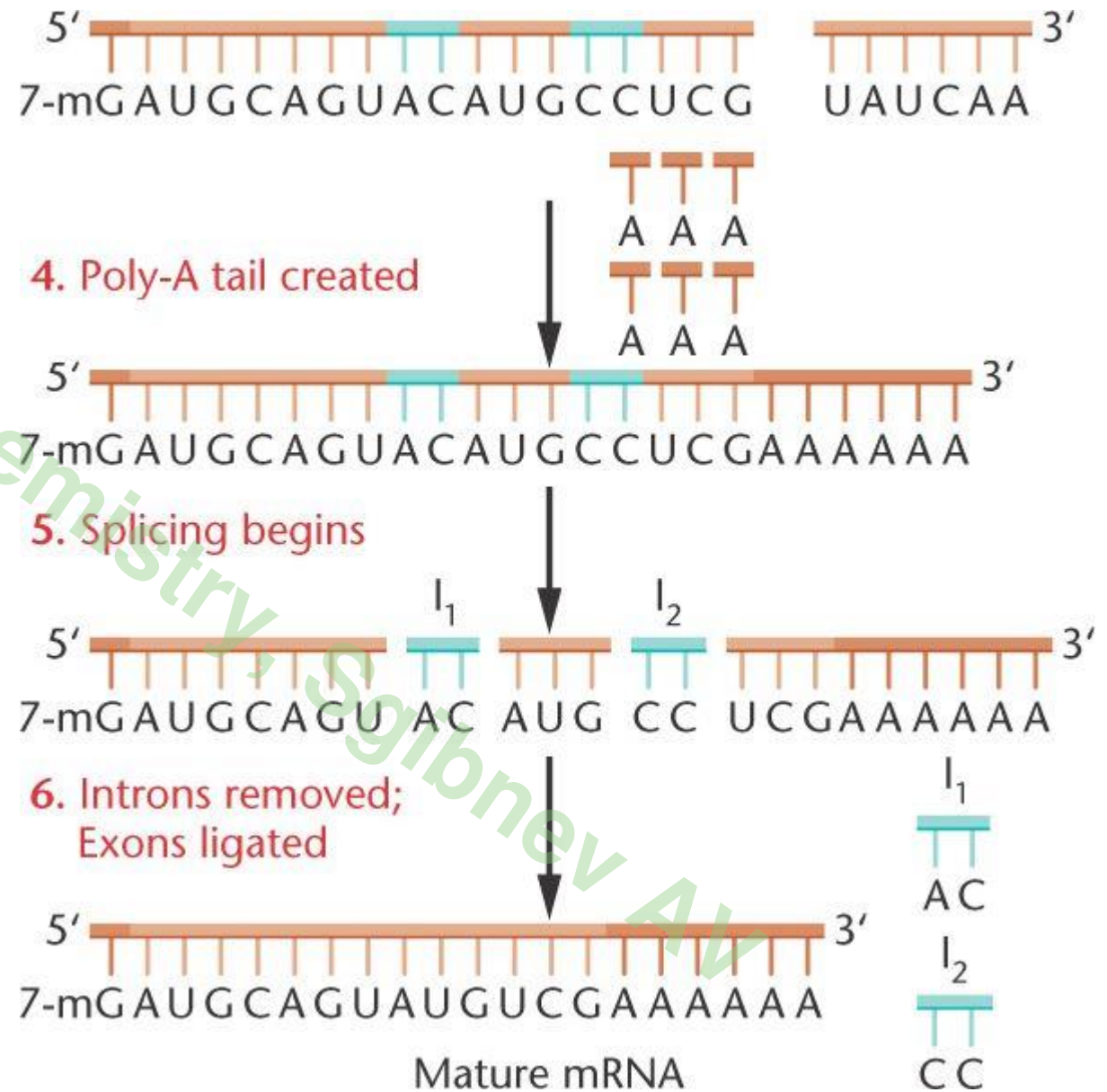
цитохромоксидазы
coxII



coxIII

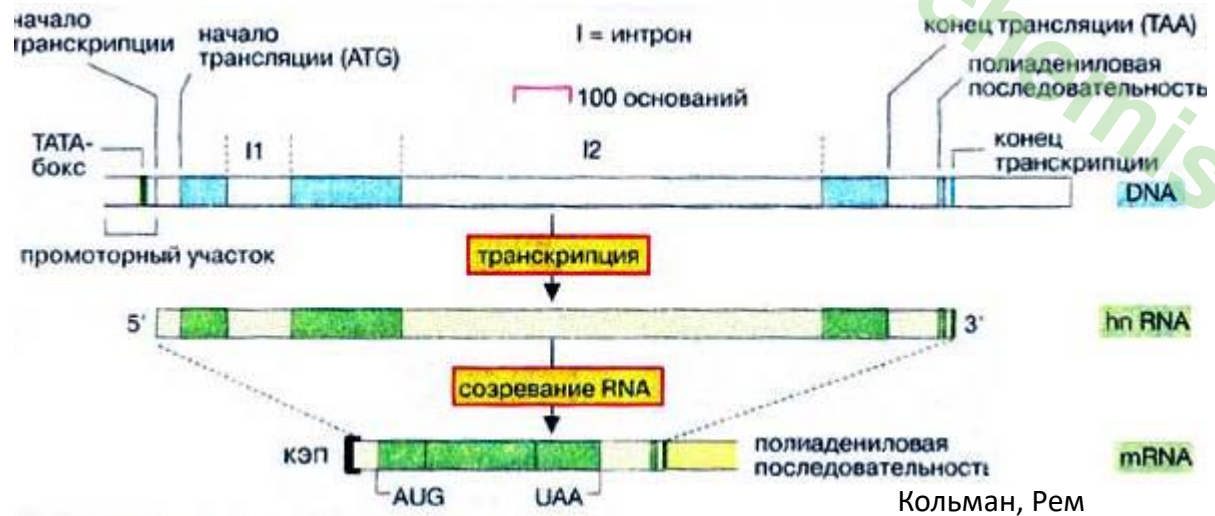
Модификация РНК после транскрипции: итог

- Поли-А "хвост" добавляется с разрезанному 3'-концу.
- Некодирующие интроны удаляются.
- Кодирующие сегменты, называемые экзонами, соединяются в процессе, называемом **сплайсингом**.
- Зрелая **мРНК**, состоящая из сплайсированных экзонов, теперь готова к выходу из ядра.



Особенности транскрипции эукариот

- Регуляторные элементы;
- Прерывистость генов;
- Созревание транскриптов;
- Разобщенность транскрипции и трансляции.

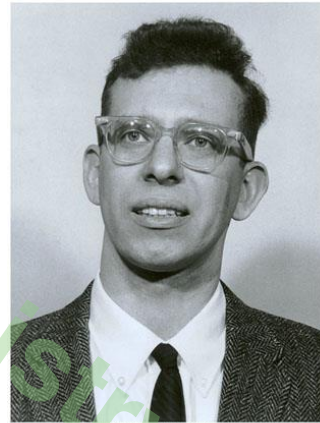


Кольман, Рем
«Наглядная биохимия»

Обратная транскрипция

процесс образования двуцепочечной ДНК на матрице одноцепочечной РНК

1970 г. - Темин и Балтимор
независимо выделили и
описали фермент –
обратную транскриптазу
или ревертазу]



Courtesy of the University of Wisconsin-Madison Archives.
Noncommercial, educational use only.

Х. М. Темин
(1934-1994)

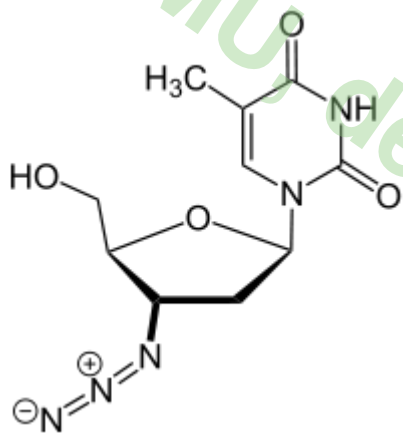


Д. Балтимор
(род. 1938)

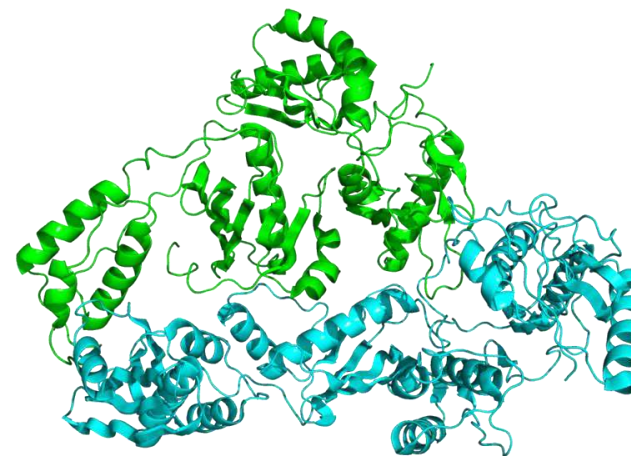


Нобелевская премия по физиологии и
медицине в 1975 году

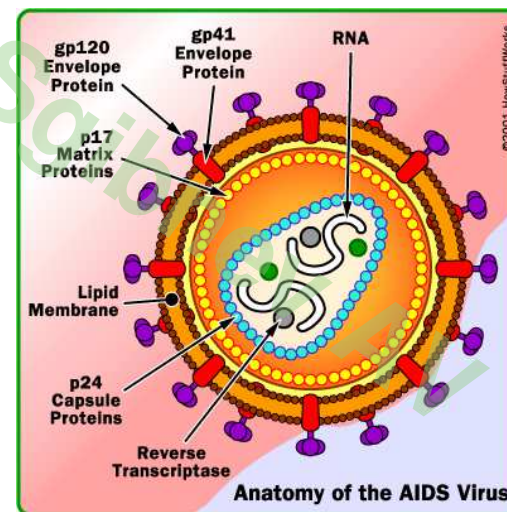
Обратная транскрипция - медицинское значение



Зидовудин (AZT) ингибитор обратной транскриптазы, антиретровирусный препарат



Обратная транскриптаза ВИЧ



OrSMU, dept. of chemistry, Sgibnev AV

Спасибо за внимание!