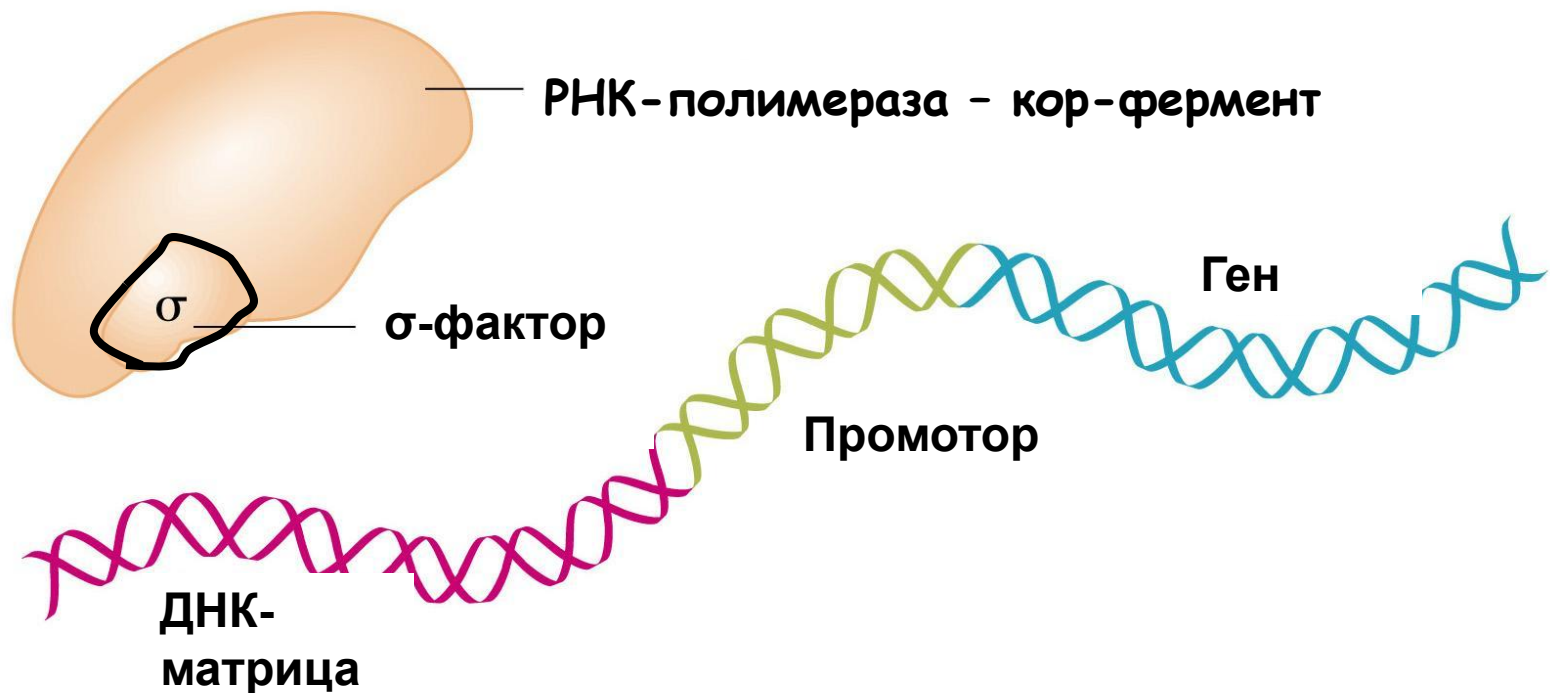


## Составляющие элементы процесса транскрипции

РНК-полимераза + НТФ + ДНК-матрица =  
РНК + ДНК-матрица + ФФН



# РНК-полимераза прокариот

- РНК-полимераза *E.coli* – белок, имеющий четвертичную структуру. Одновременно в клетке присутствует около 7000 молекул РНК-полимеразы.
- Субъединичный состав РНК-полимеразы *E.coli*

$2\alpha\beta\beta'\delta\omega$  - *holo*-фермент (полный фермент).

$2\alpha\beta\beta'\omega$  - *core*-фермент ( $150 \times 115 \times 110 \text{ \AA}$ ).

Без  $\delta$ -фактора это *core*-фермент.  $\delta$  - фактор - сменный фактор специфичности ( $\delta^{70}$ ,  $\delta^{28}$ ,  $\delta^{54}$  и др.)

Две  $\alpha$ -субъединицы - каркас РНК-полимеразы. К ним крепятся остальные субъединицы.

$\beta'$  - субъединица отвечает за прочное связывание с ДНК за счет кластера положительно заряженных аминокислот.

$\beta$  - в субъединице находятся два каталитических центра. Один отвечает за инициацию, а другой - за элонгацию РНК-цепи. Один центр работает в *holo*-, а другой - в *core*- ферменте.

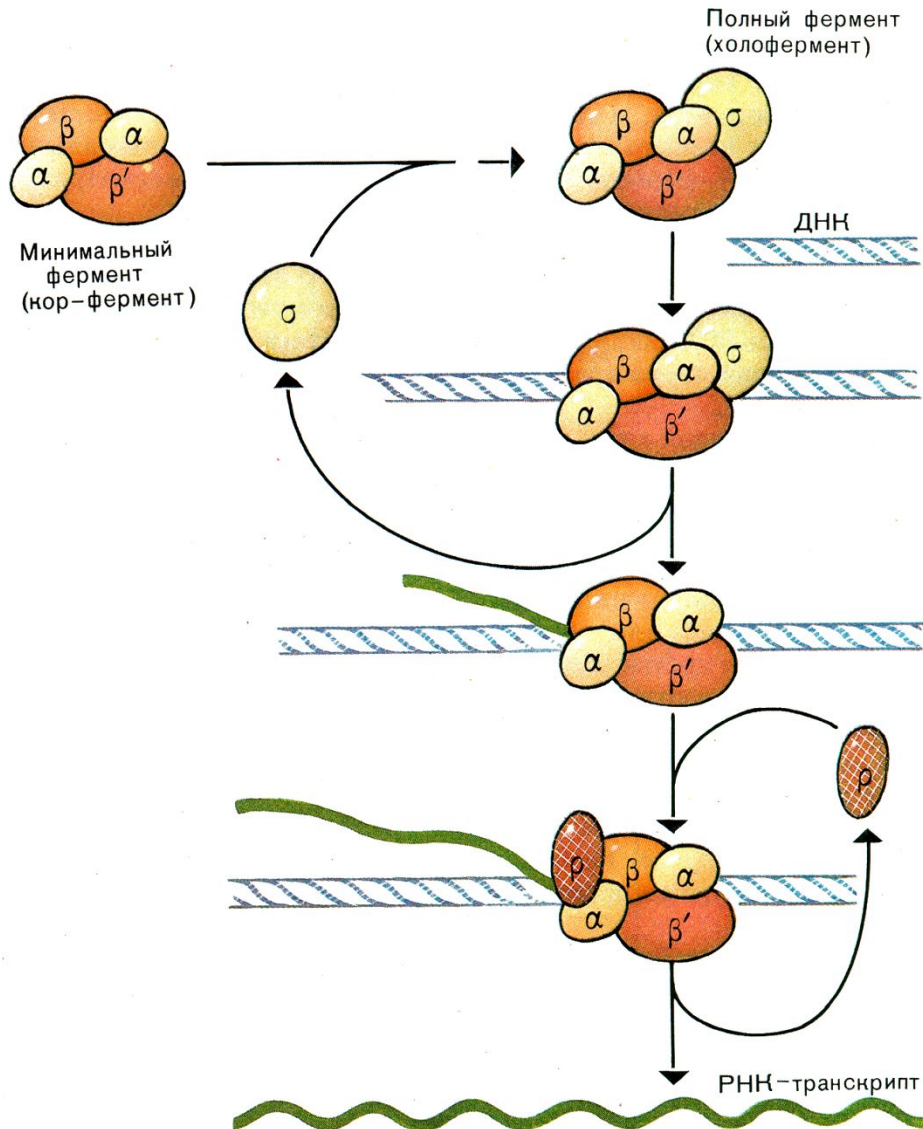
**$\omega$ : восстанавливает РНК-полимеразу обратно в дееспособную форму. Также обнаружено ее защитное/шаперонное действие на  $\beta'$ -субъединицу у *Mycobacterium smegmatis*.**

**$\sigma$ -субъединица играет центральную роль в инициации транскрипции, будучи прямо вовлеченной в узнавание промотора и плавление ДНК.**

**В клетках *E. coli* имеется семь различных  $\sigma$ -факторов, каждый из которых обеспечивает узнавание промоторов с определенными последовательностями (т.е. определенные гены). В экспоненциальной фазе роста более 90% молекул холофермента в клетке содержит субъединицу  $\sigma 70$ .**

**$\sigma$ -фактор нарушает способность фермента связываться со случайным участком ДНК примерно в 10 000 раз, и образующиеся комплексы ДНК-фермент становятся очень короткоживущими.**

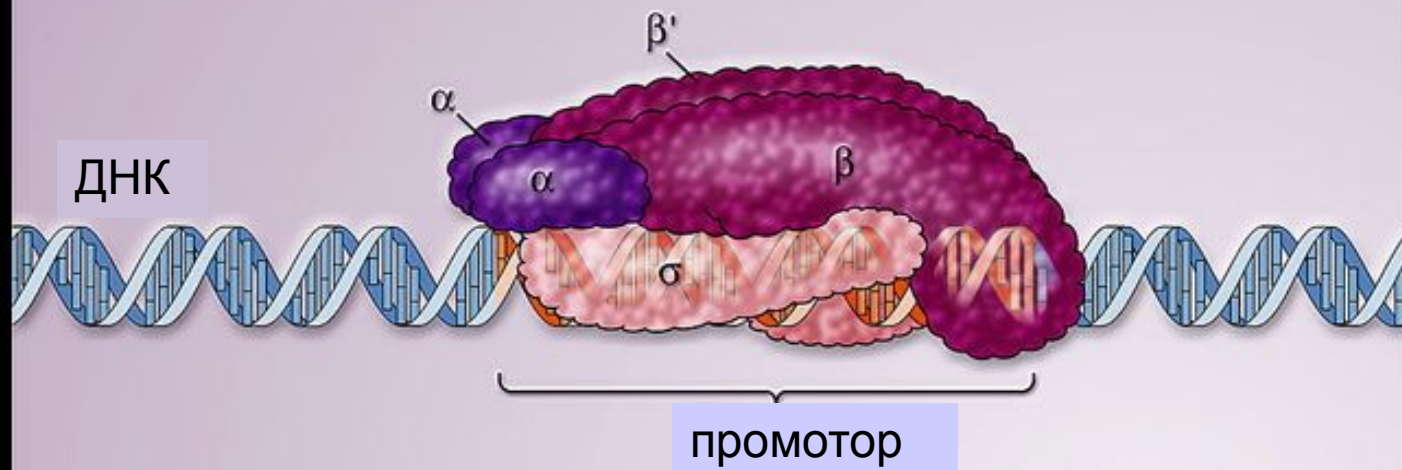
# РНК-полимераза прокариот



- Кор фермент  $\alpha_2\beta\beta'$   $\omega$  обладает полимеризующей активностью
- $\sigma$  – фактор – обеспечивает узнавание промотора и инициацию
- Полный фермент – холофермент ( $Mg^{2+}$ )  $\alpha_2\beta\beta'$   $\omega$   $\sigma$

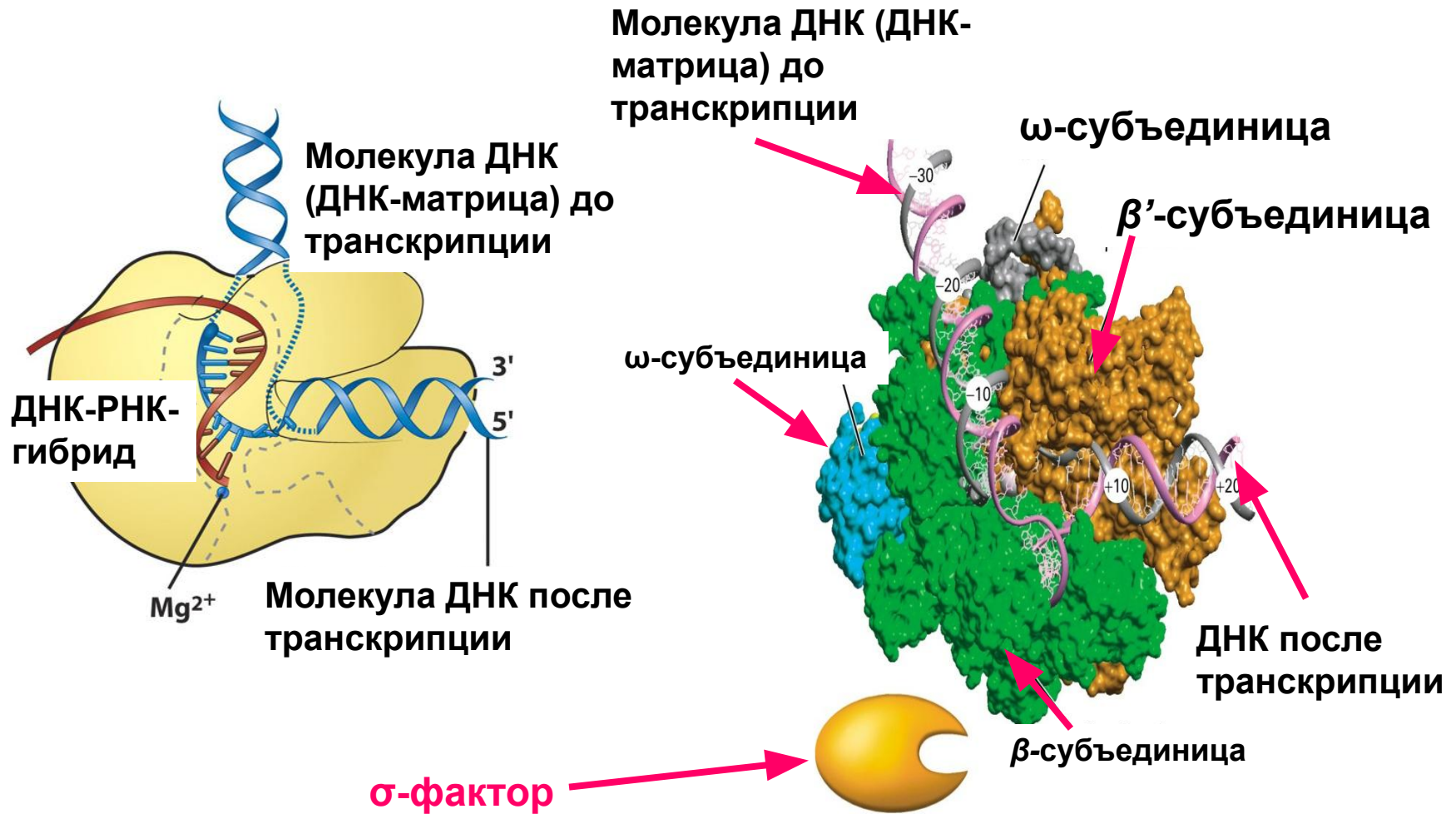
Обычно фермент экранирует примерно 60 нуклеотидных пар молекулы ДНК.





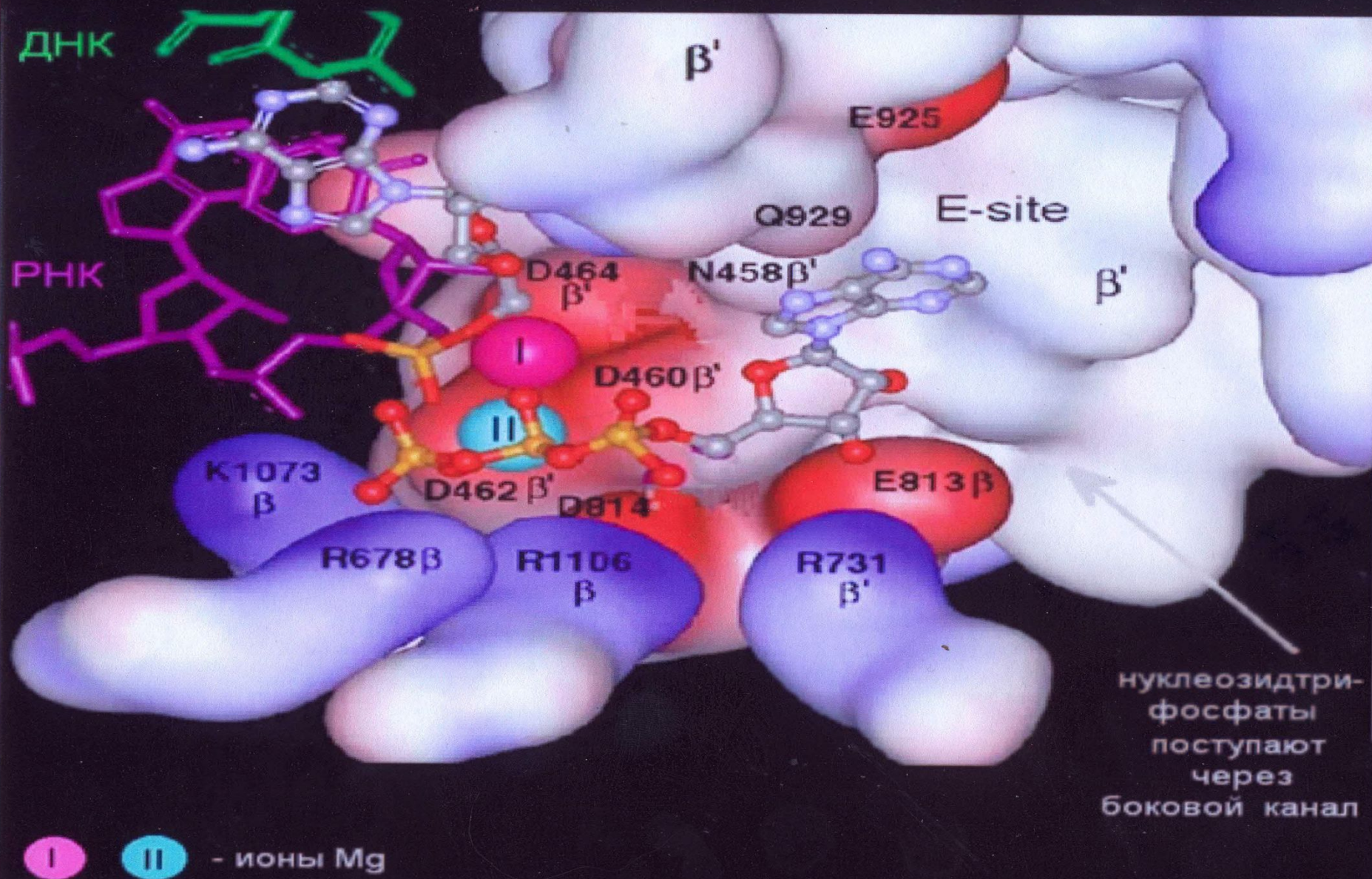
E.coli РНК-полимераза

# Строение РНК-полимеразы прокариот



РНК-полимераза бактерий состоит из 5 субъединиц – (это кор-фермент)  
 **$2\alpha, \beta, \beta', \omega + \sigma$ -фактор** (полный holo-фермент)

# СТРУКТУРА АКТИВНОГО ЦЕНТРА РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ

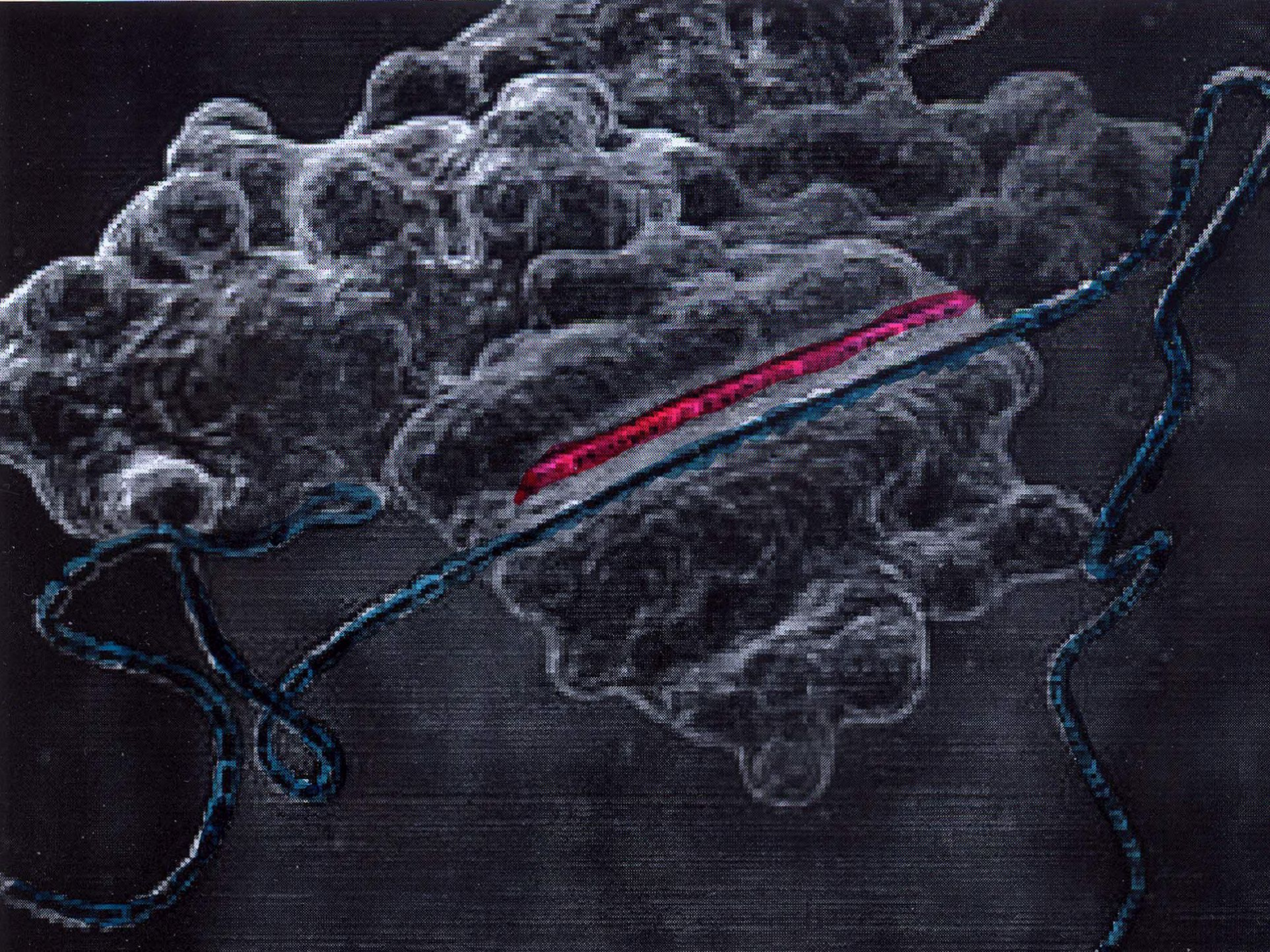


Указаны номера аминокислотных остатков  $\beta$  и  $\beta'$  субъединиц, участвующих в формировании активного центра



- Показано, что РНК-полимераза переводит ДНК из **В-формы в А-форму**. В ней плоскости азотистых оснований не перпендикулярны оси спирали, а наклонены на 20 градусов к перпендикуляру. Это облегчает "выворачивание" двух соседних азотистых оснований в цепи ДНК для того, чтобы напротив них встали комплементарные нуклеотиды РНК.

В пользу этого говорит полная идентичность параметров А-формы ДНК и гибрида, состоящего из одной цепи ДНК и одной - РНК. "Мотором" транскрипции является энергия, высвобождающаяся при отщеплении пирофосфата от каждого рибо-НТФ.



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

# РНК-полимеразы эукариот

**Четыре типа РНК-полимераз у эукариот (3 типа ядерные и 1 тип - митохондриальная или хлоропластная)**

- РНК Pol I - Синтезирует три типа рРНК (28S, 18S, 5,8S);
- РНК Pol II – синтезирует мРНК и малые ядерные РНК;
- РНК Pol III – синтезирует тРНК и 5S-РНК.

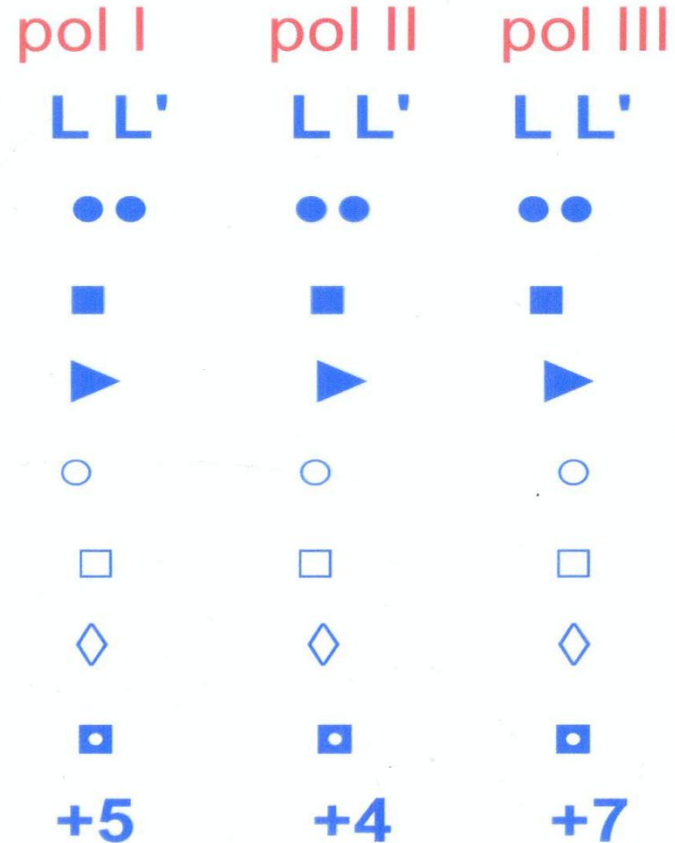
РНК-полимеразы эукариот имеют большую молекулярную массу и представляют собой комплекс мультимерных белков (500 - 700 кД). От 14 до 17 субъединиц в зависимости от типа полимеразы.

# РНК-полимеразы эукариот

E.coli

- $\beta\beta'$
- $2\alpha$
- $\delta$
- $\omega$

Эукариоты



РНК-полимеразы различаются количеством субъединиц, их аминокислотным составом, и зависимостью от катионов магния и марганца. Для РНК-полимераз I и III необходимое для работы соотношение  $[Mn^{2+}]/[Mg^{2+}] = 2$ . Для РНК-полимеразы II -  $[Mn^{2+}]/[Mg^{2+}] = 5$ .

Наиболее яркое различие - чувствительность к  $\alpha$ -аманитину (токсину бледной поганки). Он 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.

Помимо ядерных РНК-полимераз у эукариот есть еще РНК-полимеразы хлоропластов и митохондрий. Они кодируются в ядре, а не в соответствующих органеллах.

В органеллах образуются свои tРНК, rРНК и рибосомные белок.

# ДНК-матрица

Как РНК-полимеразы узнают нужное место для посадки на ДНК ?

- Для этого на ДНК имеются особые зоны - промоторы.

Консенсусные  
последовательности  
промотора прокариот

Точка начала  
транскрипции

-35

-10

TTGACA

15-17 bases

TATAAT

5-9 bases

+1

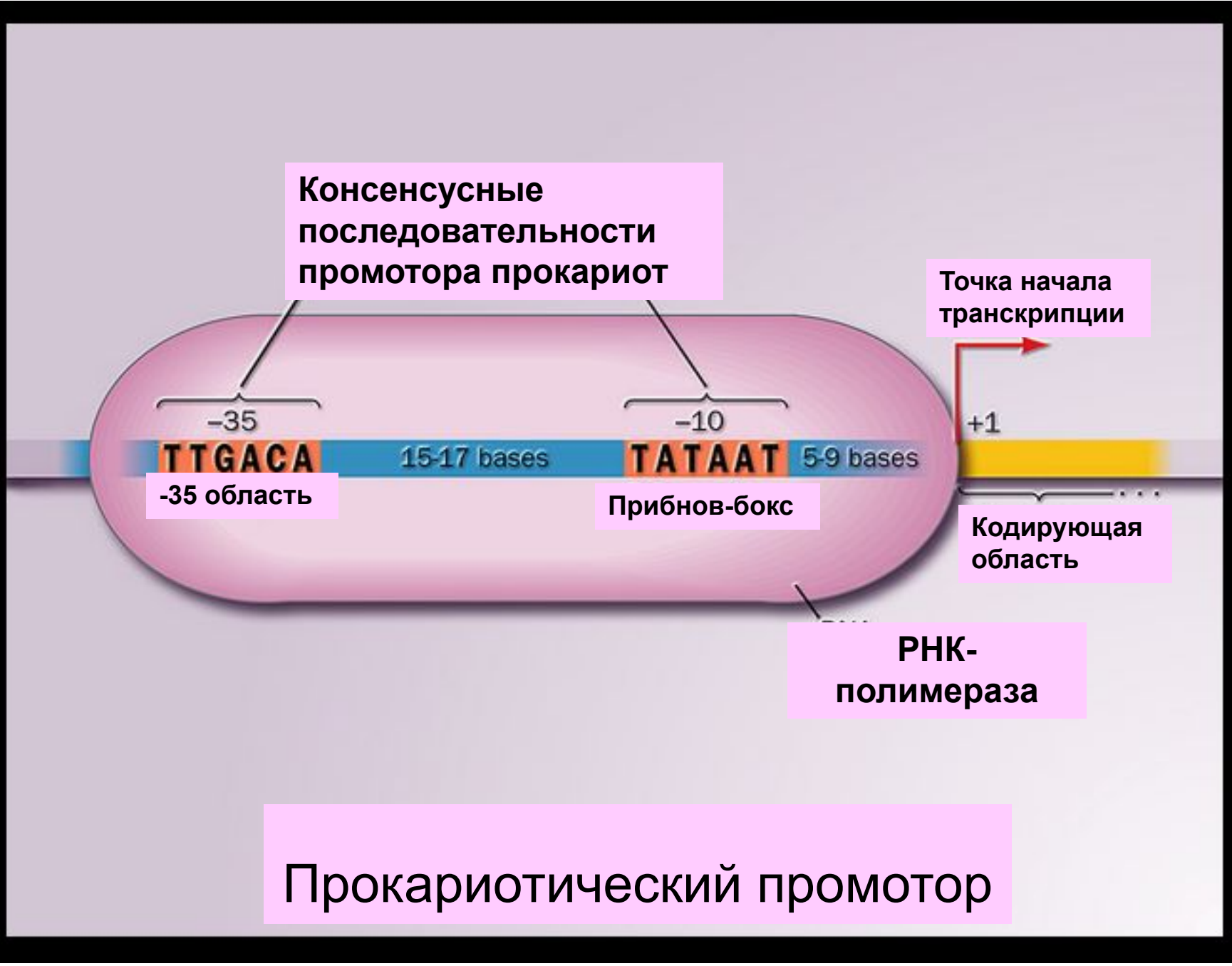
-35 область

Прибнов-бокс

Кодирующая  
область

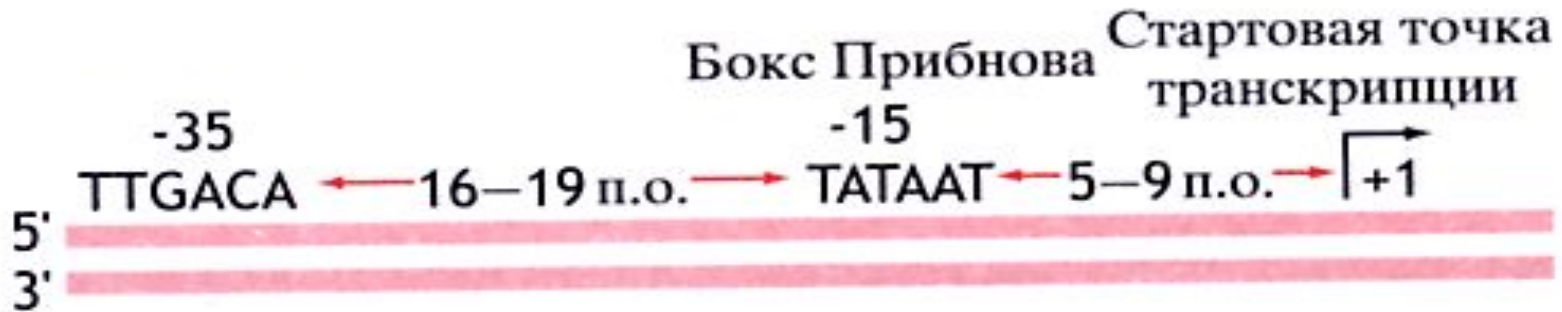
РНК-  
полимераза

Прокариотический промотор





# Структура промоторов прокариот



Прокариотические промоторы варьируют в размерах – от 20 до 200 п.н., но наиболее типичным является промотор, величиной 40 п.н. Внутри промотора имеется две постоянные последовательности (консенсусные последовательности).

- Промотор – специфическая последовательность ДНК, необходимая для образования комплекса РНК-полимеразы с ДНК-матрицей.
- -10 последовательность - **TATAAT** (блок Прибнова)
- -35 последовательность - **TTGAЦА**
- Стартовая точка (+1) – нуклеотид, с которого начинается синтез РНК.

Gene	-35 region	Pribnow box (-10 region)	Initiation site (+1)
<i>araBAD</i>	GGATCCTACCTGACGCTTTT	TACTGTTTCTCCATA	CCCGTTTTT
<i>araC</i>	GCCGTGATTATAGACACTTTT	TGTCATGGCTTTGGT	CCCGCTTTG
<i>bioA</i>	TTCCAAAACGTGTTTTTTGTTG	TAAATTCGGTGTAGACTT	TGTAACCTAAATCTTT
<i>bioB</i>	CATAATCGACTTGTA AACCAA	ATTGAAAAGATTAGGTTT	TACAAGTCTACACCGAAT
<i>galP2</i>	ATTTATTCCATGTCACACTTTT	TCGCATCTTTGTTATGCT	TATGGTTATTTTCATACCAT
<i>lac</i>	ACCCAGGGCTTTACACTTTAT	GCTTCCGGCTCGTATGTT	TGTGTGGAATTGTGAGCGG
<i>lacI</i>	CCATCGAATGGCGCAAACCTTT	TCGCGGTATGGCATGATAG	CGCCCGGAAGAGAGTCT
<i>rrnA1</i>	AAAATAAATGCTTGACTCTGT	AGCGGGAGGGCGTATT	TCACACCCCGCGCCGCTG
<i>rrnD1</i>	CAAAAAAATACTTGTGCAAAA	AATTGGGATCCCTATA	TGCGCCTCCGTTGAGACGA
<i>rrnE1</i>	CAATTTTTCTATTGCGGCCT	GCGGAGAMCTCCCTATA	TGCGCCTCCATCGACACGG
<i>rRNA<sup>Tyr</sup></i>	CAACGTAACACTTTACAGCGG	CGCGTCAATTTGATAT	ATGCGCCCCGCTTCCCGATA
<i>trp</i>	AAATGAGCTGTTGACAATTA	ATGATCGMACTAGTTA	CTAGTACGCAAGTTCACGTA

Consensus sequence:	-35 region	Pribnow box	Initiation site
	T C T T G A C A T ···[11-15 bp]···	T A T A A T ···[5-8 bp]···	A 51 T 48 C 55 G 42
	42 38 82 84 79 64 53 45 41	79 95 44 59 51 96	

# Промотор эукариот

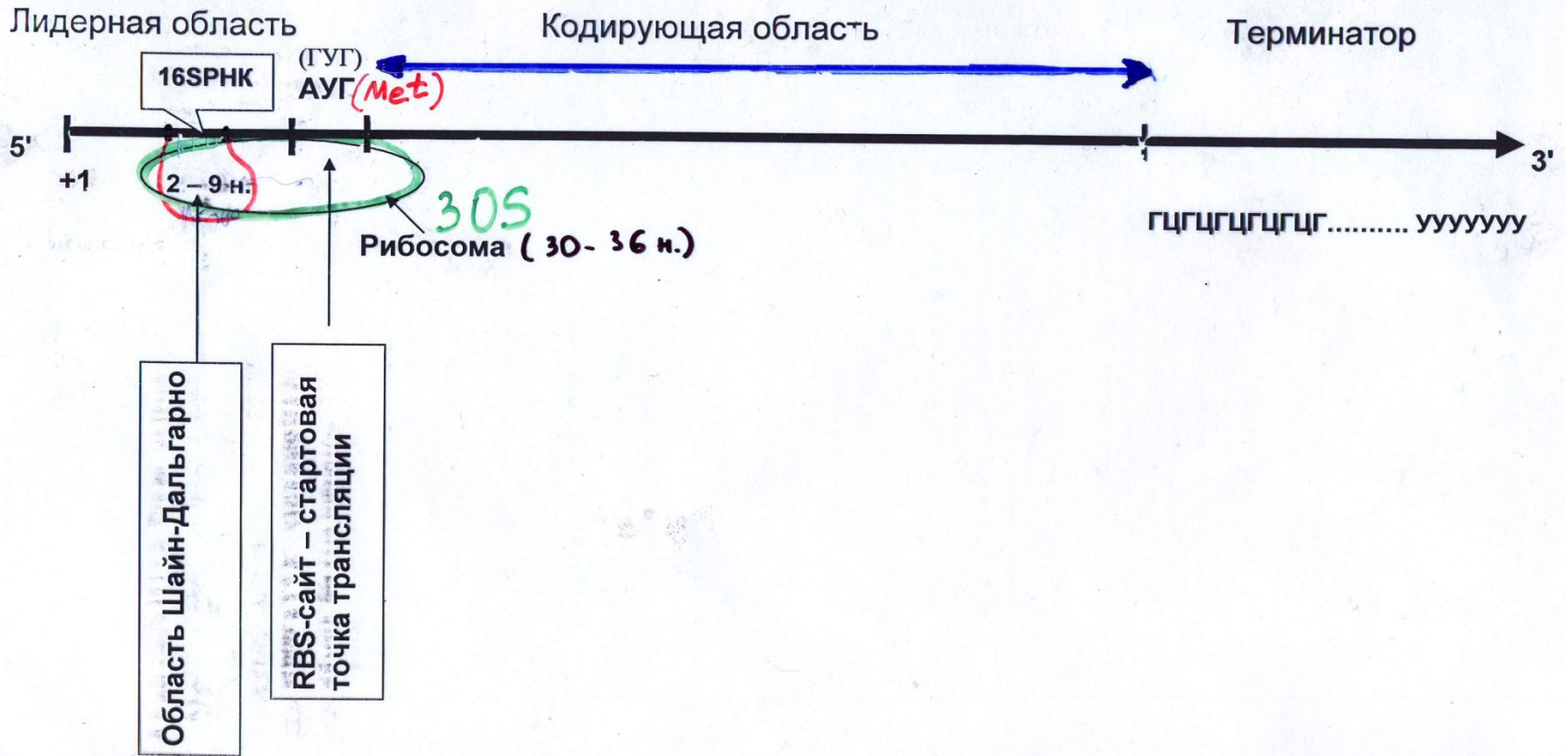


# Универсальные последовательности промоторов класса II

- **ТАТА-бокс** (-25 п.н.) (блок Хогнесса)
- **ЦААТ-боксы** (- 50/-150 п.н.)
- **ГЦ-мотивы** (-300 п.н.)

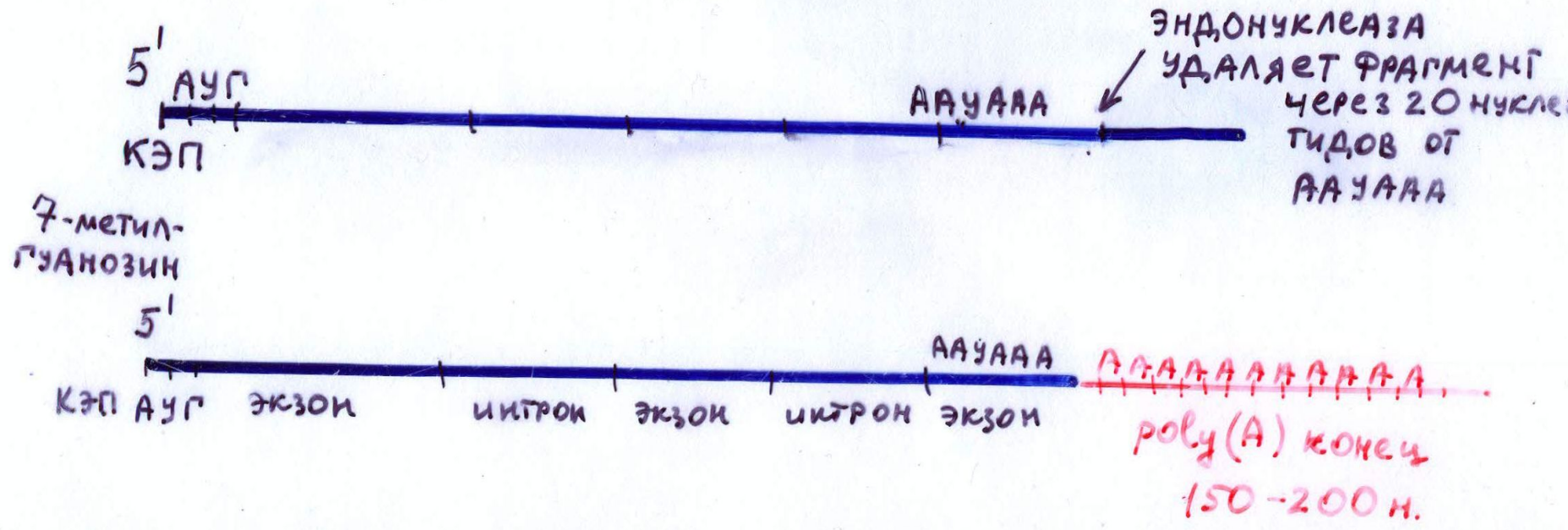
# Значимые области на мРНК

## прокариоты



# СТРОЕНИЕ мРНК

## ЭУКАРИОТЫ



**Эукариотические мРНК довольно стабильны.** Период их полураспада измеряется часами и даже сутками.

**Эукариотические мРНК синтезируются в виде предшественников** и проходят в своем биогенезе стадию довольно сложного созревания, или процессинга.

**Процессинг включает в себя:**

- 1. Кэпирование 5'-конца, заключающееся в присоединении к этому концу мРНК так называемой шапочки (кэп-структуры – 7-метил-гуанозина),**
- 2. Полиаденилирование 3'-конца (образование polyA-хвоста, длиной до 200 нуклеотидов.**
- 3. Сплайсинг - вырезание протяженных внутренних участков мРНК, так называемых интронов, и ковалентное воссоединение оставшихся фрагментов (экзонов) через обычную фосфодиэфирную связь.**