

Биохимия и молекулярная биология

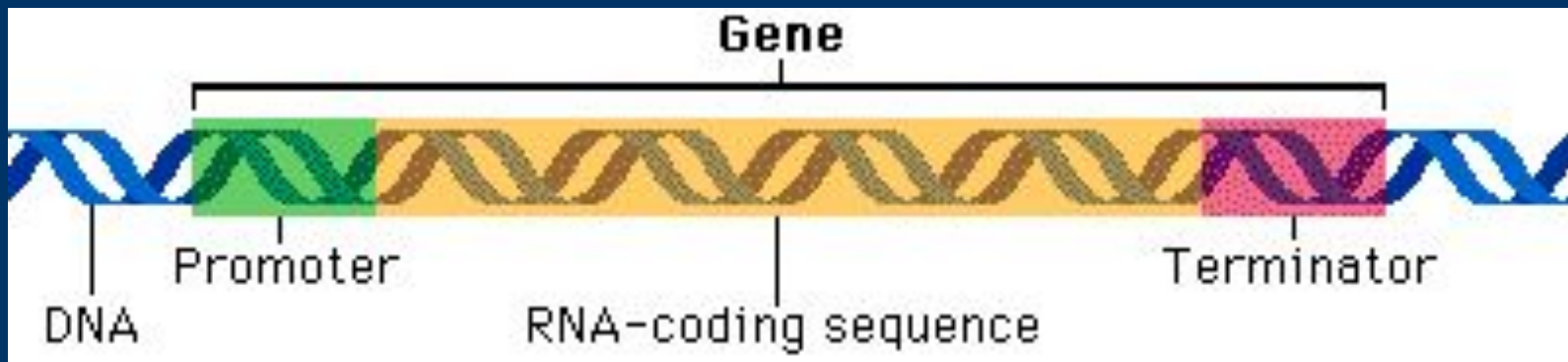
Лекция 7. Транскрипция (Биосинтез РНК)

План лекции

- Транскрипция – общие представления
- Транскрипция у прокариот
- Этапы транскрипции
- Транскрипция у эукариот
- Отличия транскрипции у про- и эукариот

- **Транскрипция – биосинтез РНК на матрице ДНК.**
- **Транскрипция - начальная стадия реализации генетической информации в клетке.**
- **В процессе транскрипции синтезируются мРНК, тРНК, рРНК и другие виды РНК, выполняющие структурные, регуляторные и каталитические функции.**
- **Процесс транскрипции осуществляется ДНК-зависимыми РНК-полимеразами.**

- **Единица транскрипции – транскриптон, участок ДНК, ограниченный промотором (зоной начала транскрипции) и терминатором (зоной остановки транскрипции).**
- **Транскриптоны бактерий называют оперонами.**



ПРИНЦИПЫ ТРАНСКРИПЦИИ

Комплементарность: РНК-полимераза синтезирует комплементарную реплику с транскрибируемого участка (**A-U, G-C, C-G, T-A**).

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'→3'**.

Суммарное уравнение синтеза РНК

aGTP + bATP + cUTP + mCTP
матричная цепь ДНК

→→→→→→→→→→→→→→→→

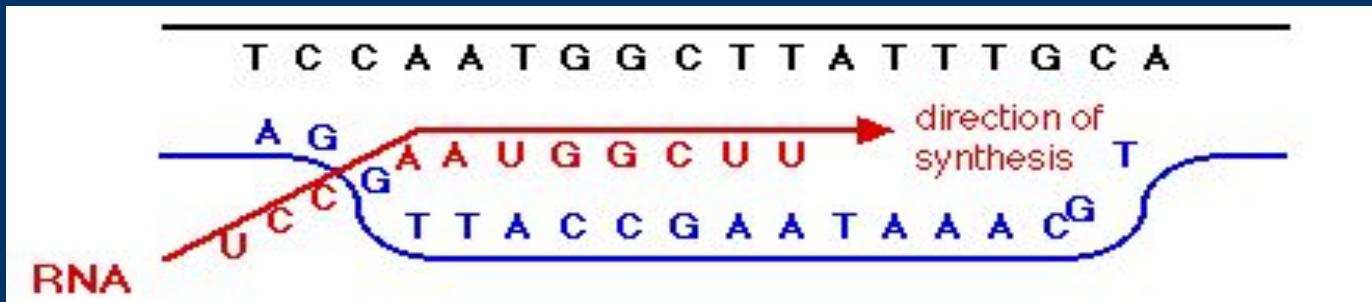
Mg²⁺ , РНК-полимераза

РНК + (a + b + c + m) H₄P₂O₇

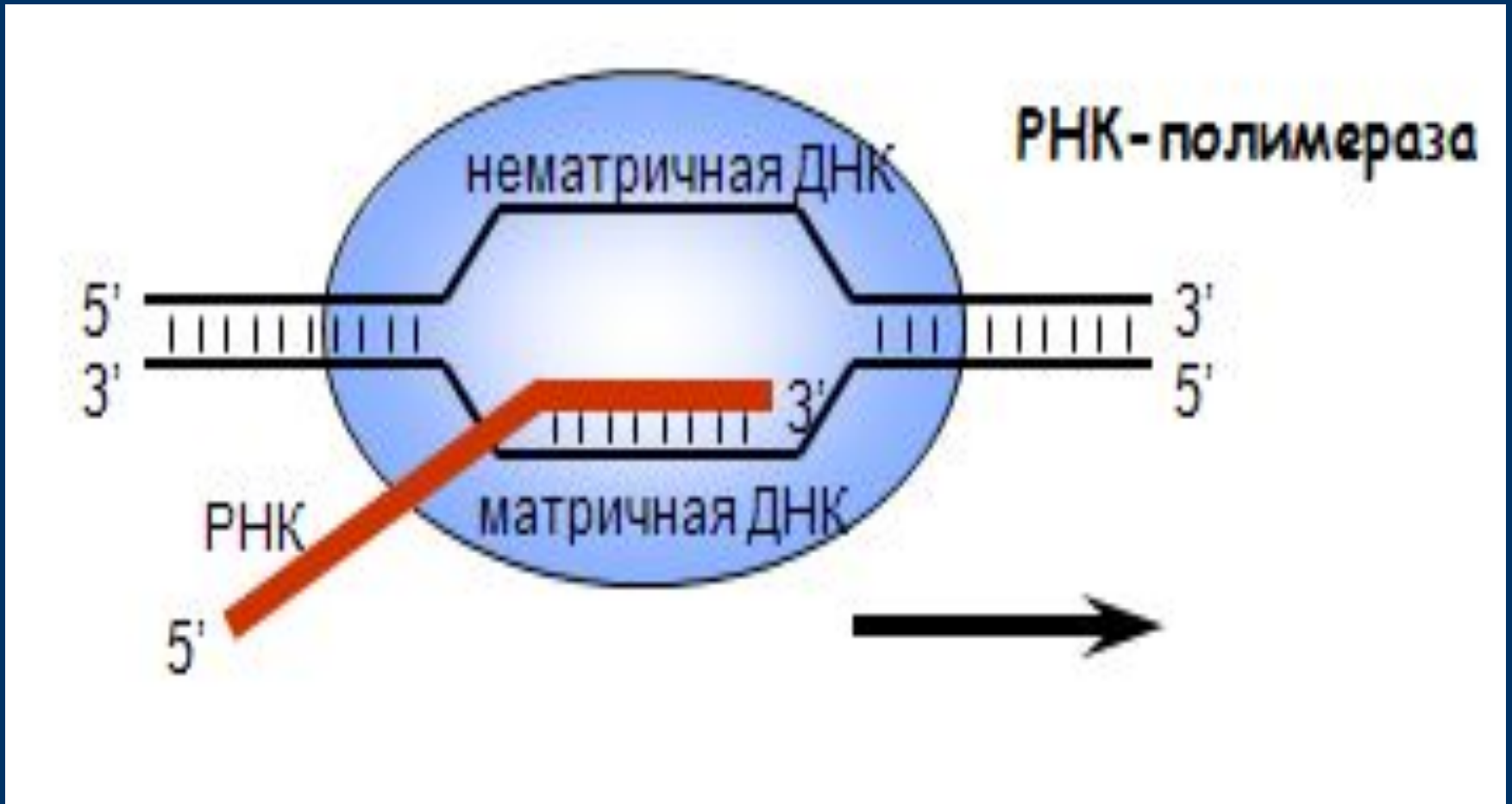
РНК-полимераза обладает также хеликазной активностью.

Транскрипция- общие представления

Транскрибируется только одна из комплементарных цепей ДНК, а именно матричная цепь. Другая цепь ДНК называется нематричной, кодирующей цепью (смысловой), поскольку ее последовательность идентична последовательности РНК.



Транскрипция- общие представления



Бактериальные ДНК-зависимые РНК-полимеразы

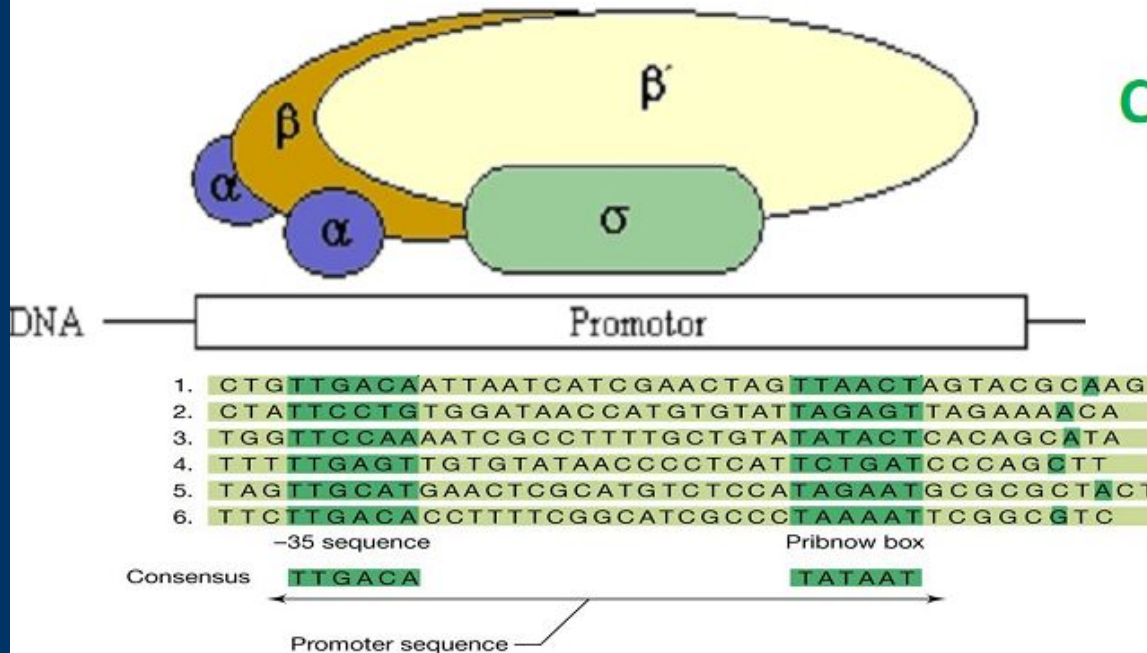
У прокариот имеется 2 типа РНК-полимераз: одна из них синтезирует РНК-затравки для фрагментов Оказаки, а другая – все остальные виды РНК.

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

Коровий 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)

Бактериальная РНК-полимераза



Core: 2 α , β , β' , ω

Holo: Core + σ

Скорость
транскрипции:
30 н.о. /с

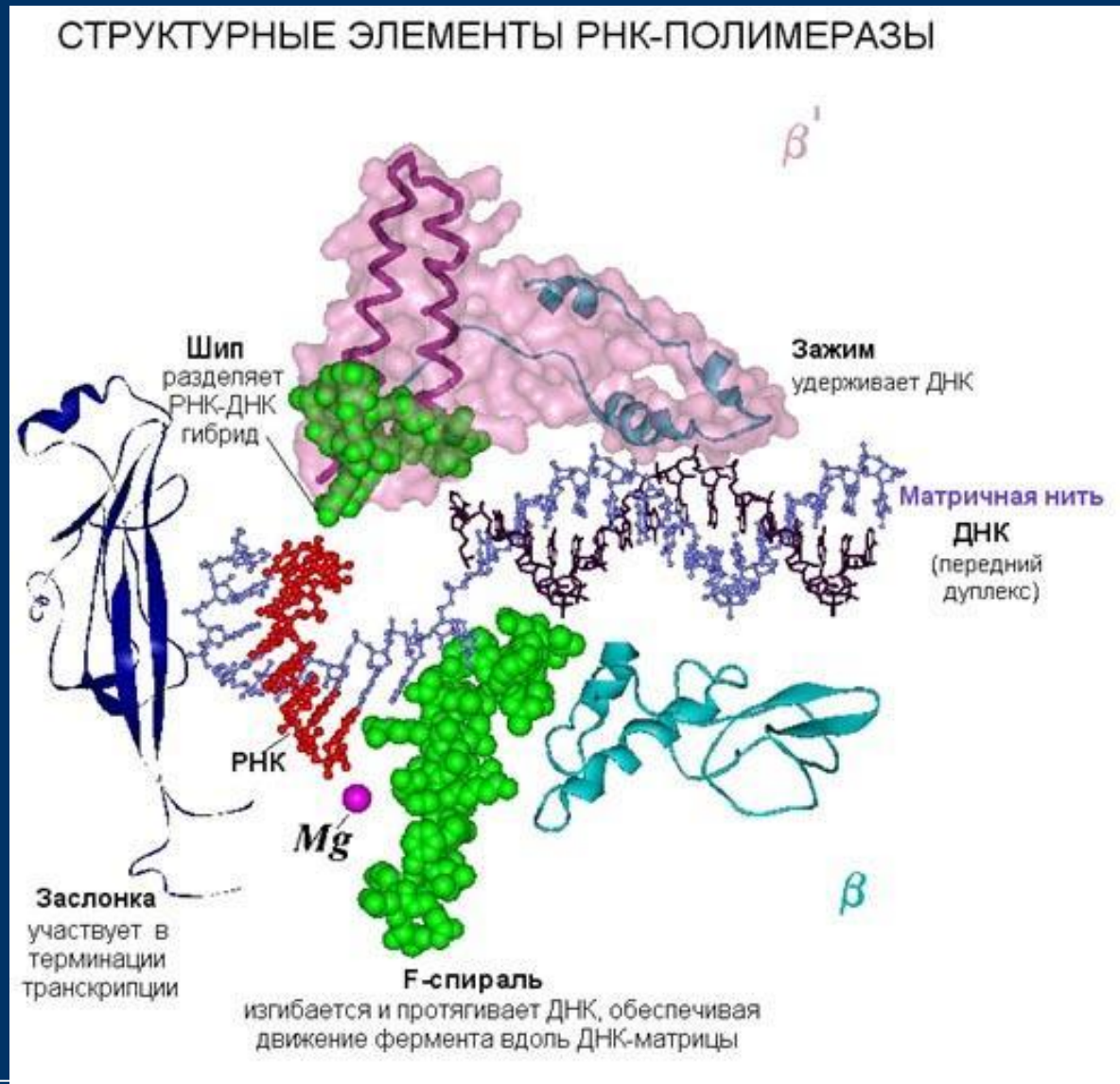
β – связывание нуклеотидфосфата и построение полинуклеотидной цепочки 150 кДа,

β' – связывание с ДНК, 155 кДа,

α – участвует в узнавании промотора, 36,5 кДа

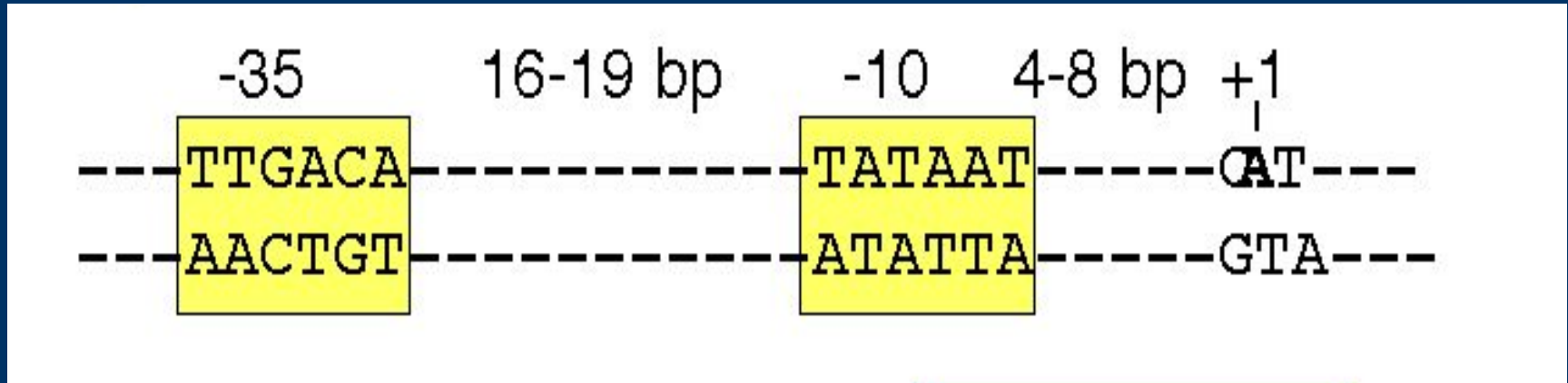
σ^{70} – специфическая посадка на промотор, 70 кДа

РНК-полимераза *E.coli*



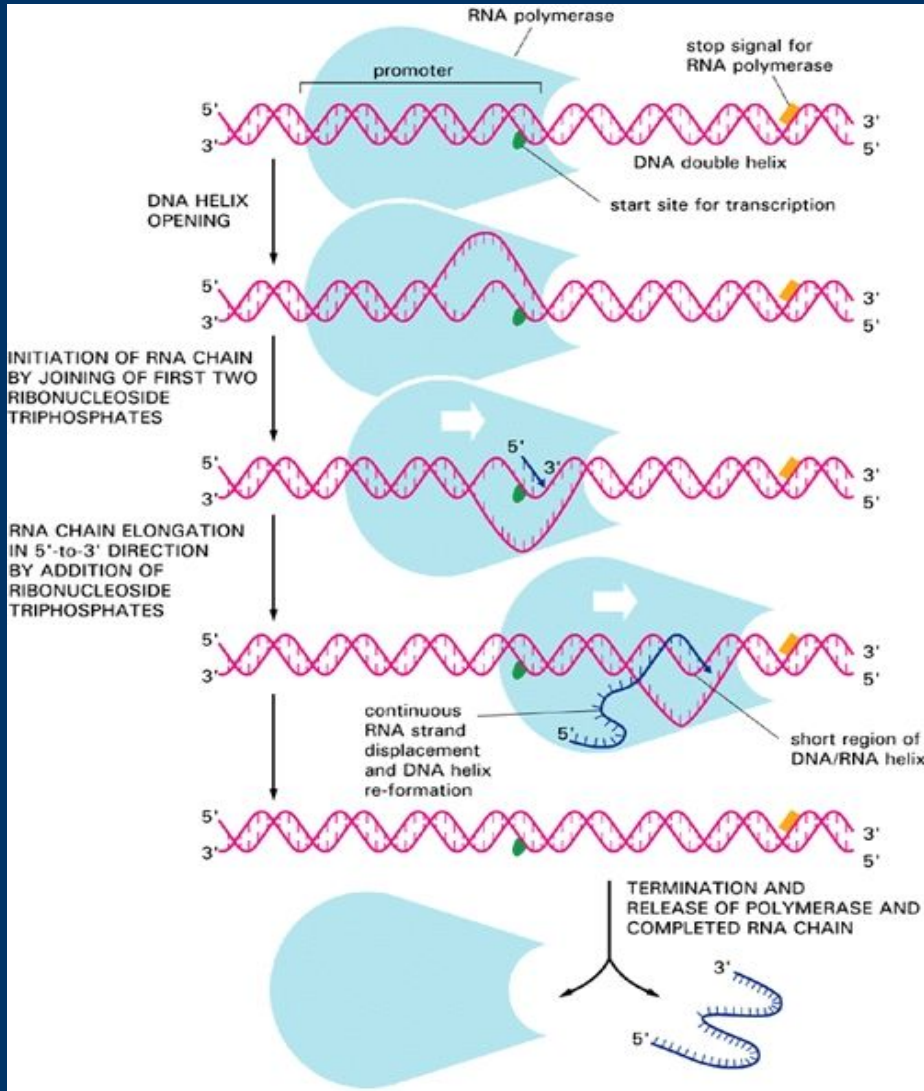
Транскрипция (биосинтез РНК)

Структура бактериального промотора



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

Этапы транскрипции

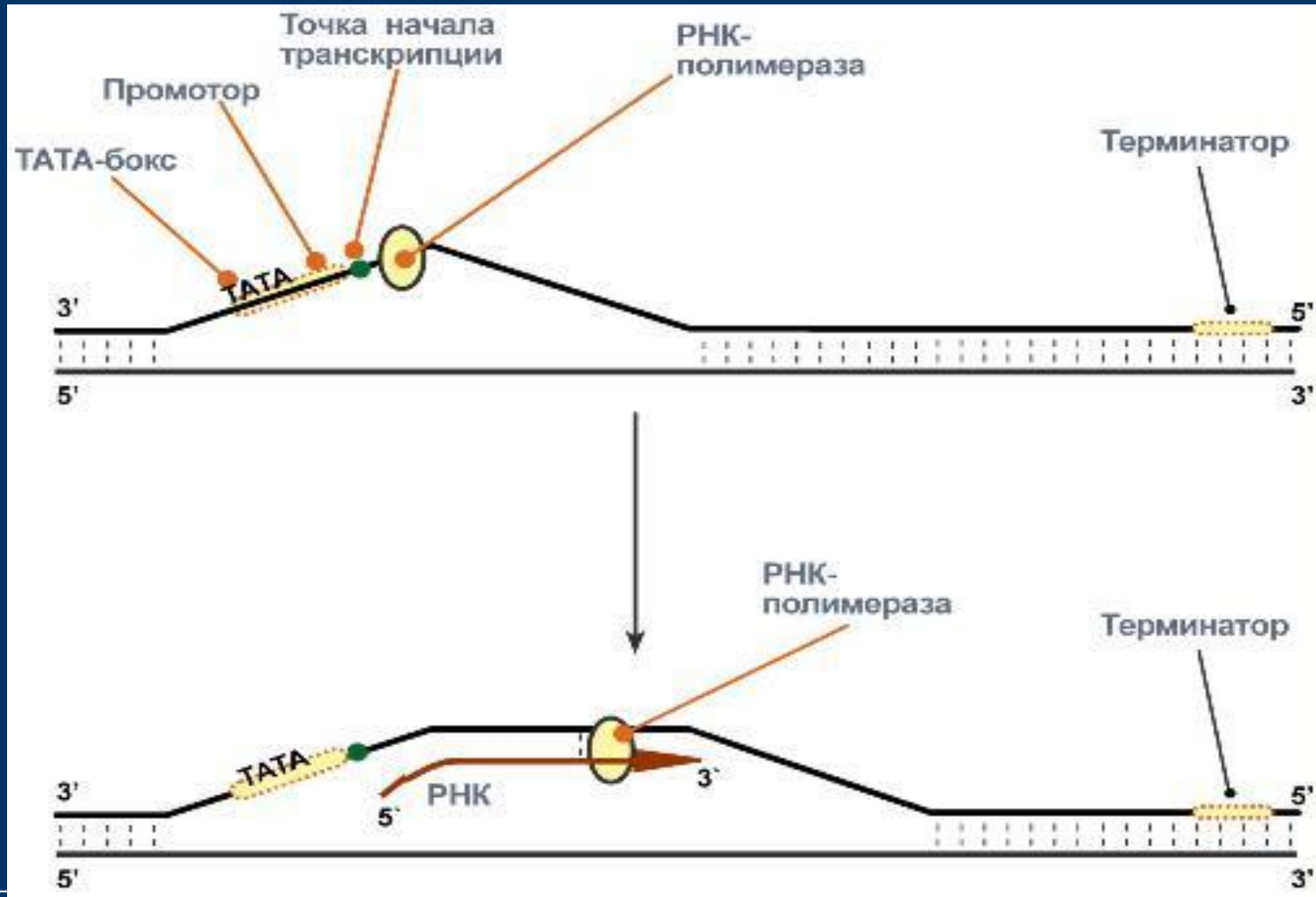


Транскрипция
осуществляется
в три этапа:

Инициация
Элонгация
Терминация

Этапы транскрипции

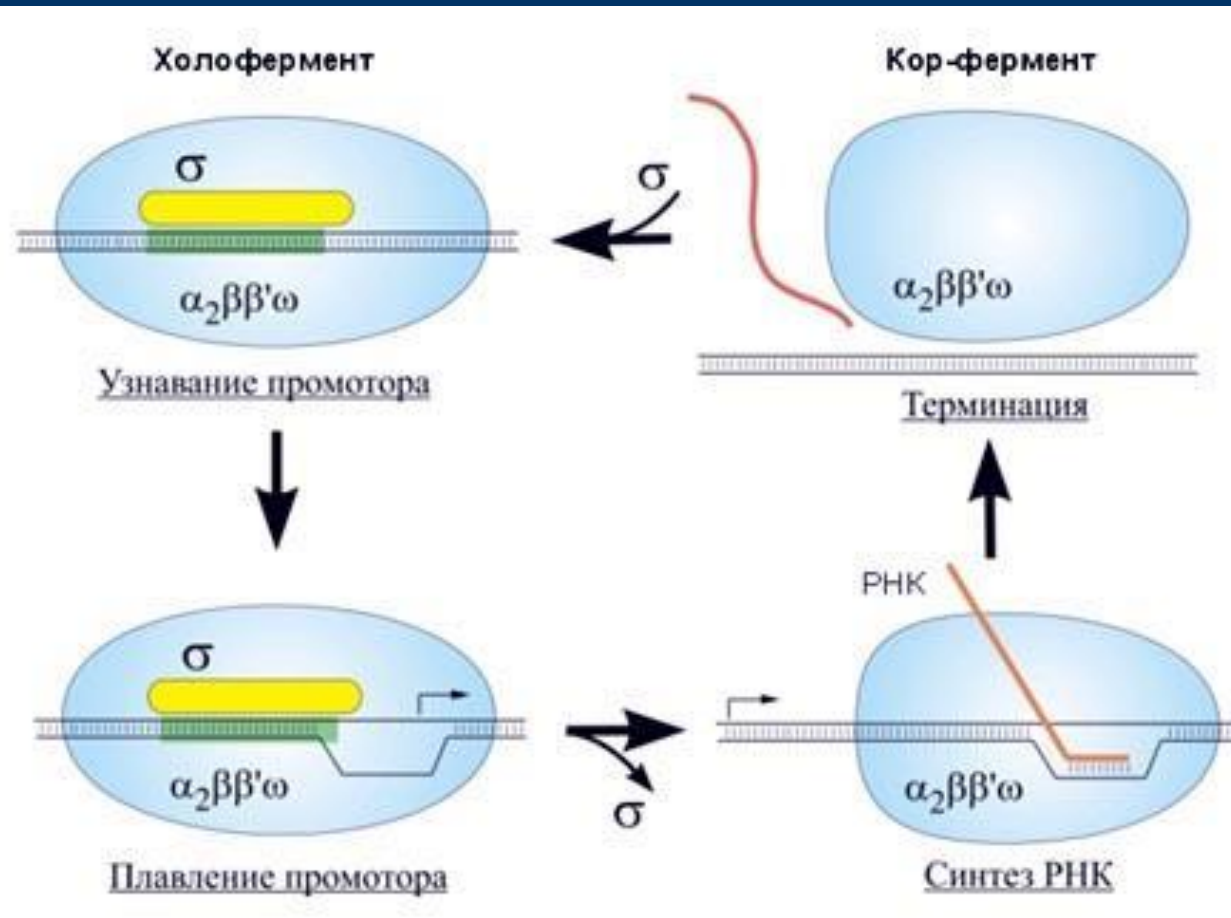
Схема процесса транскрипции



Транскрипция (биосинтез РНК)

Этапы транскрипции

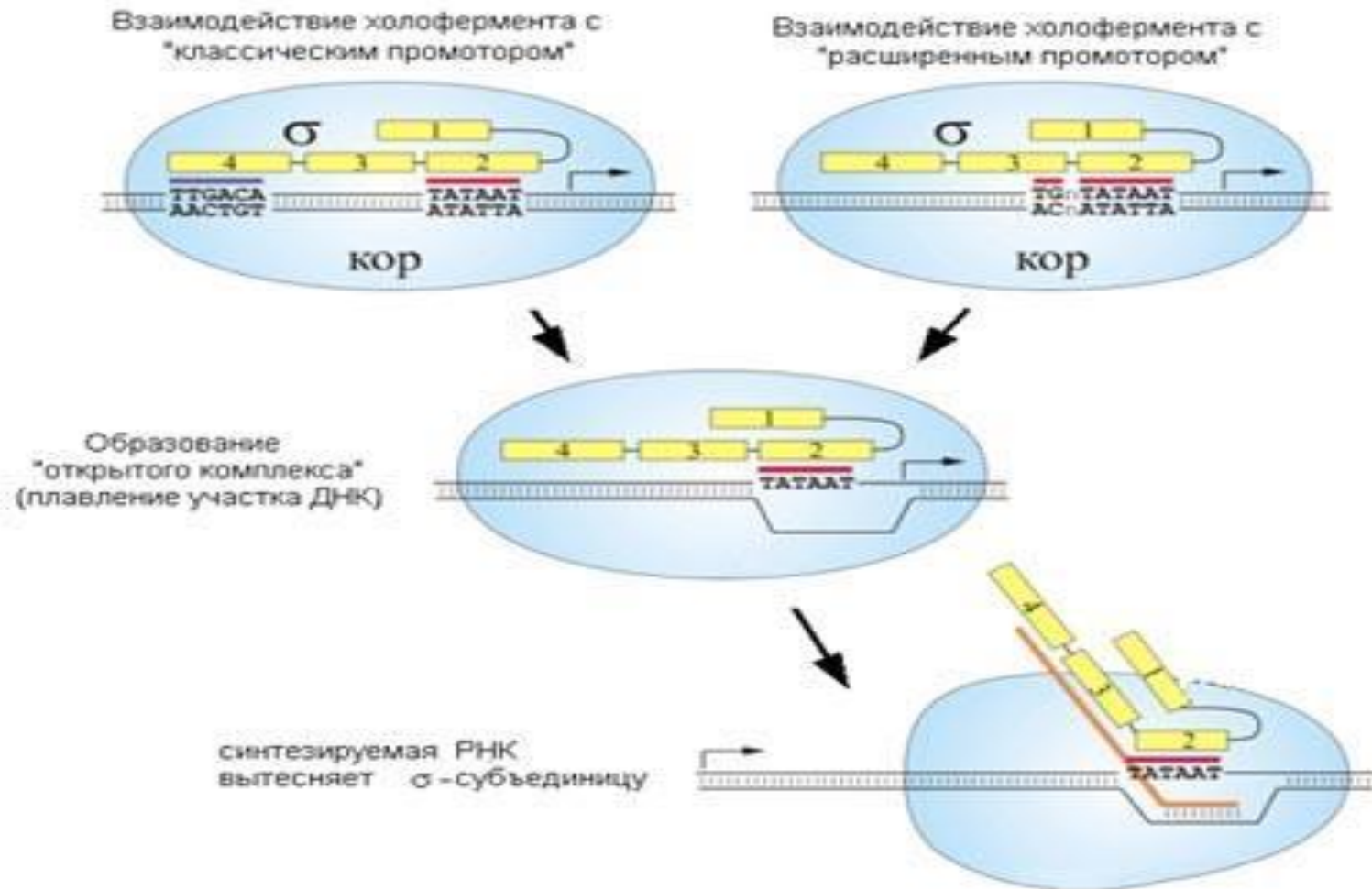
Транскрипционный цикл



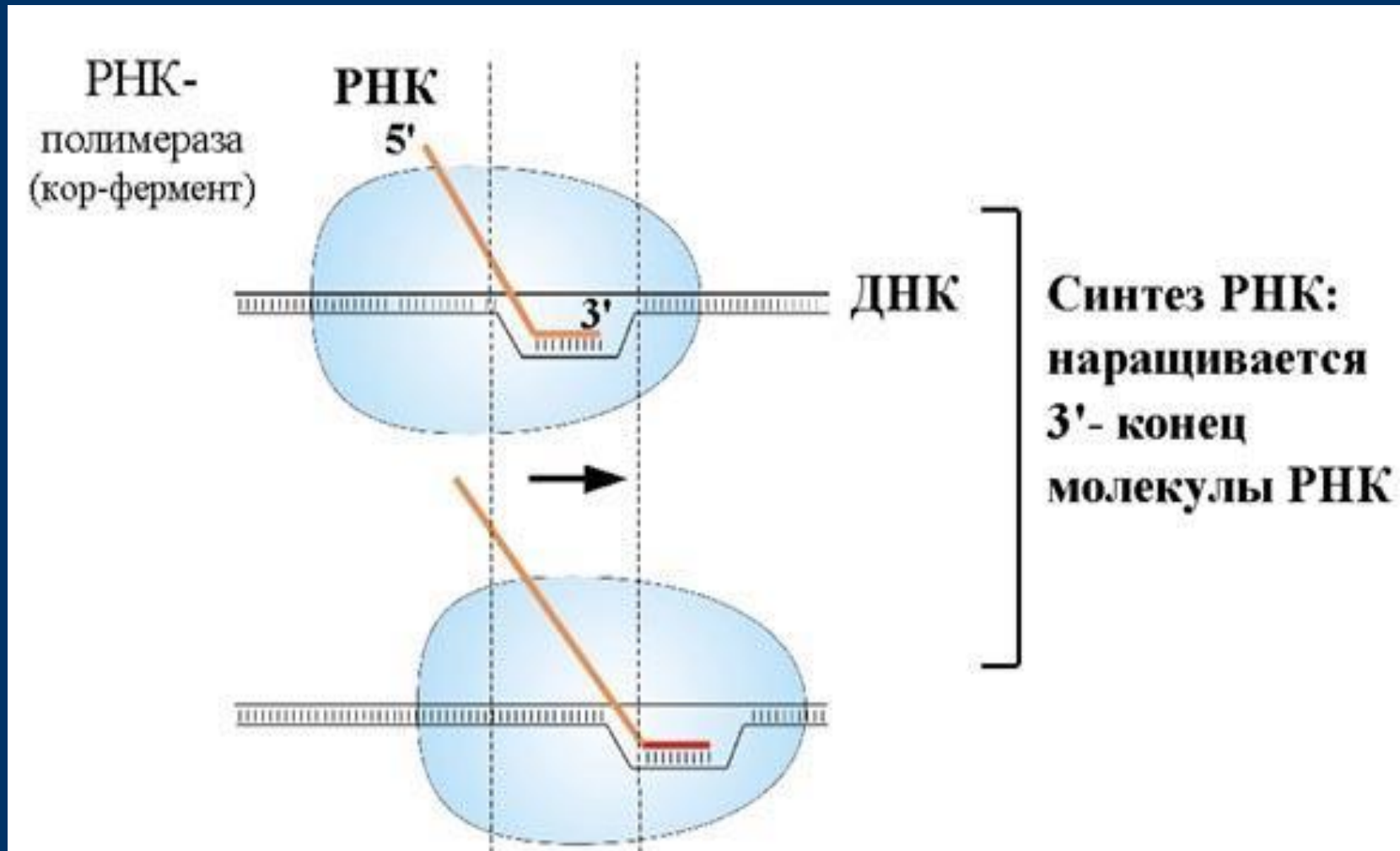
Транскрипция
осуществляется
в три этапа:

Инициация
Элонгация
Терминация

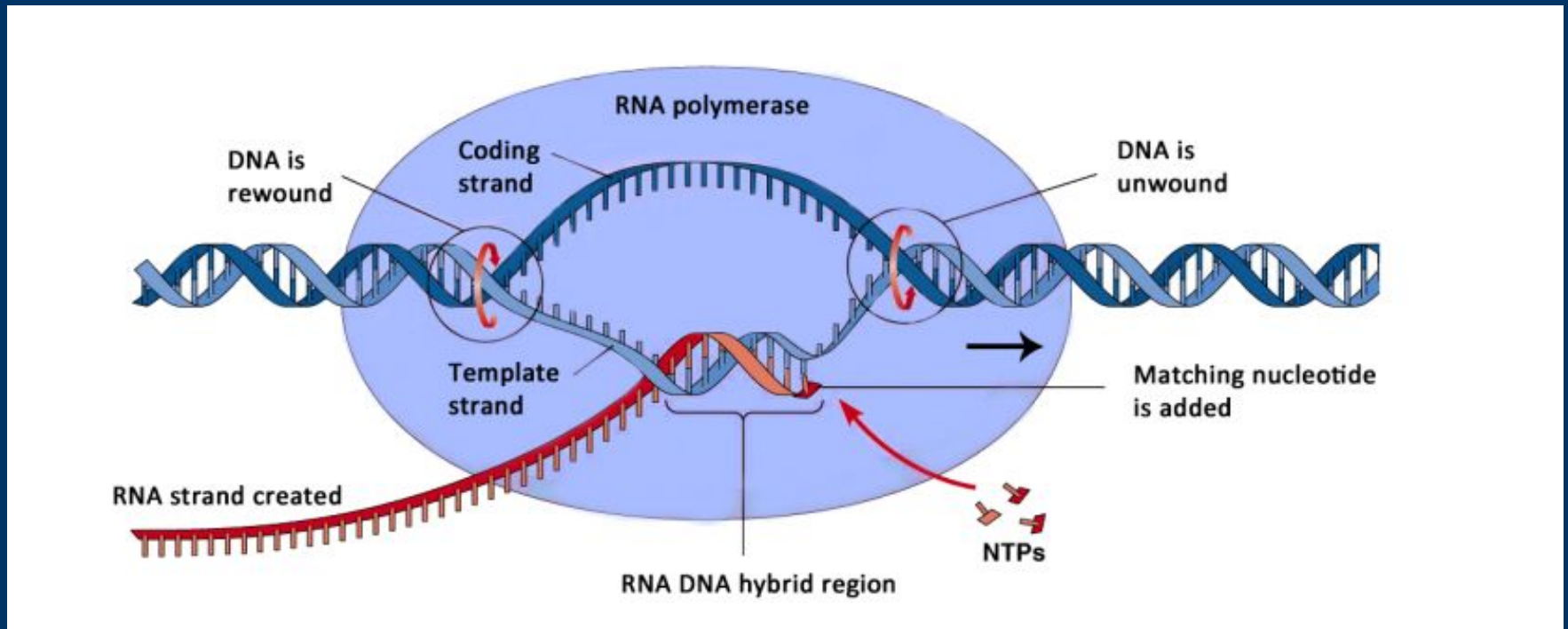
ИНИЦИАЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ



ЭЛОНГАЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ

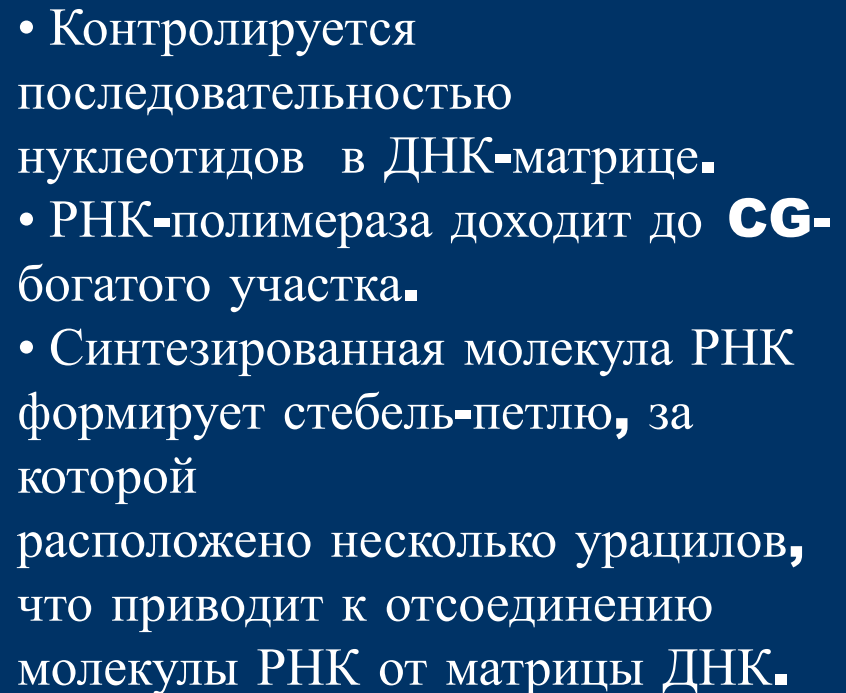


Этапы транскрипции

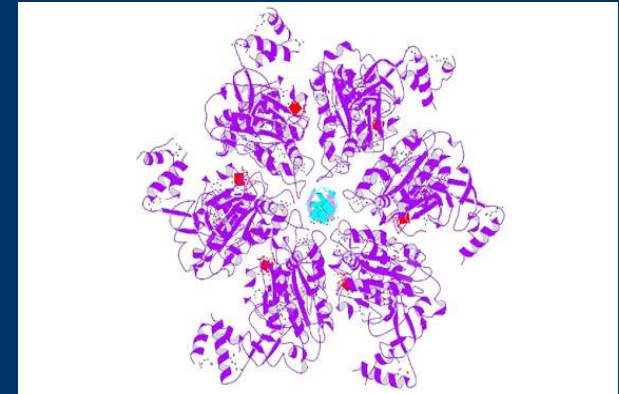
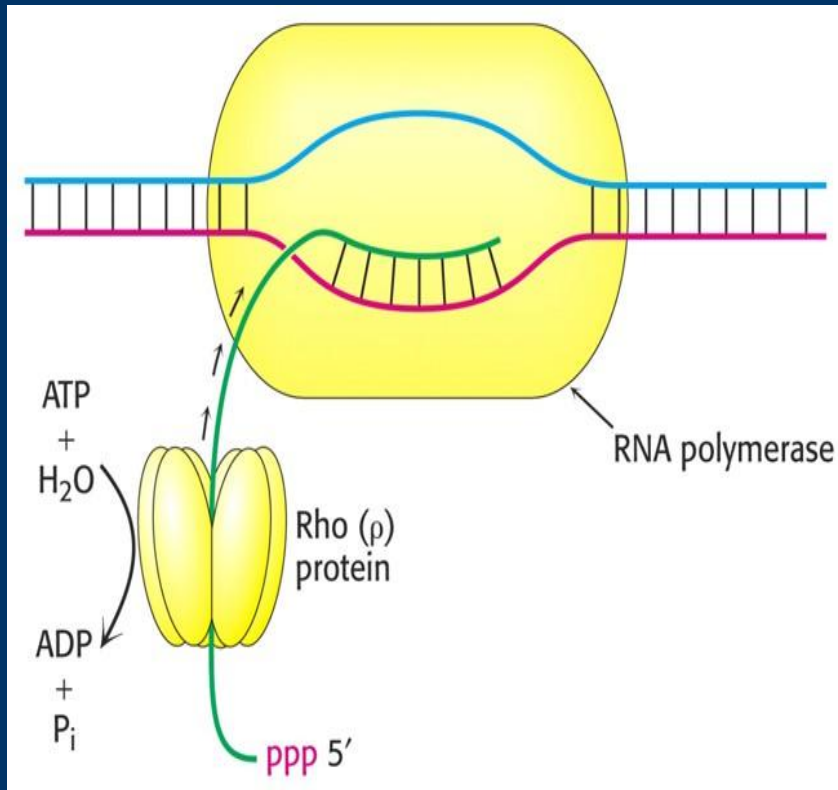


Растущий конец цепи РНК образует временную гибридную спираль с матричной цепью ДНК. По мере продвижения РНК-полимеразы по матричной цепи ДНК впереди неё происходит расхождение, а позади - восстановление двойной спирали ДНК.

Rho - независимый механизм терминации транскрипции



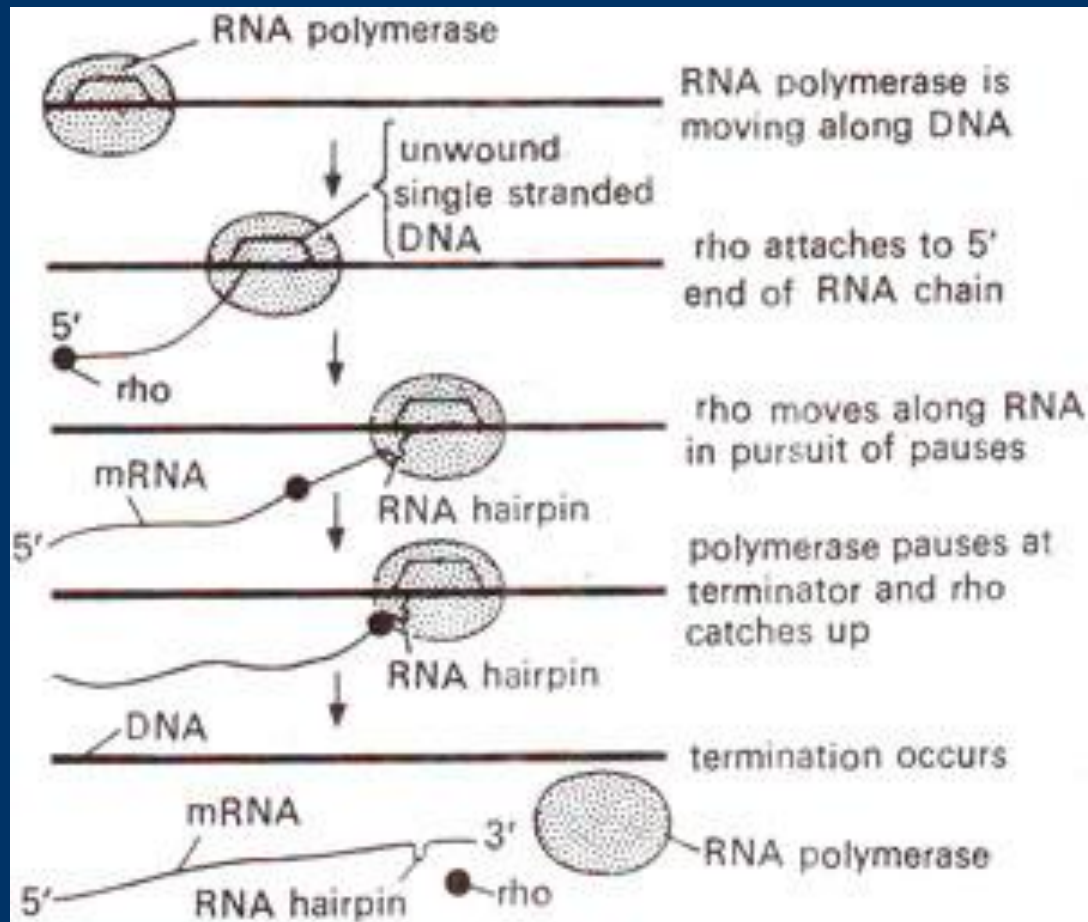
Rho - зависимый механизм терминации транскрипции



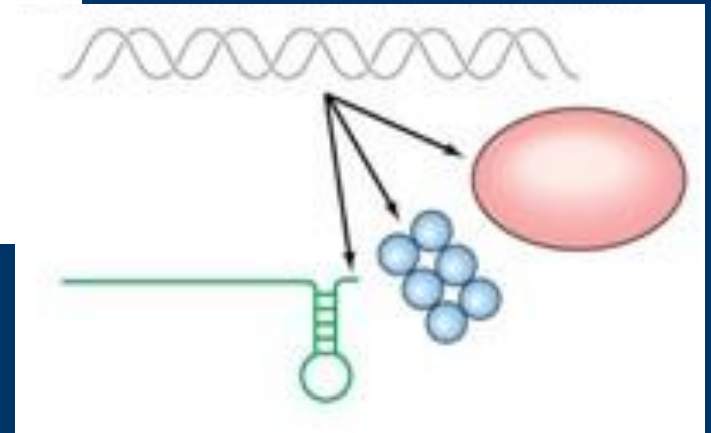
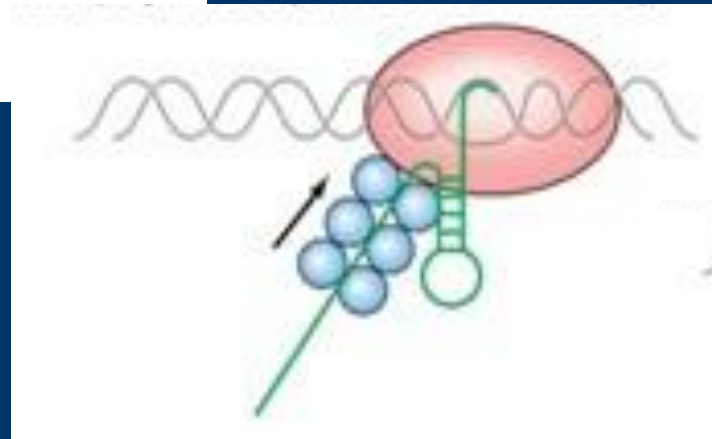
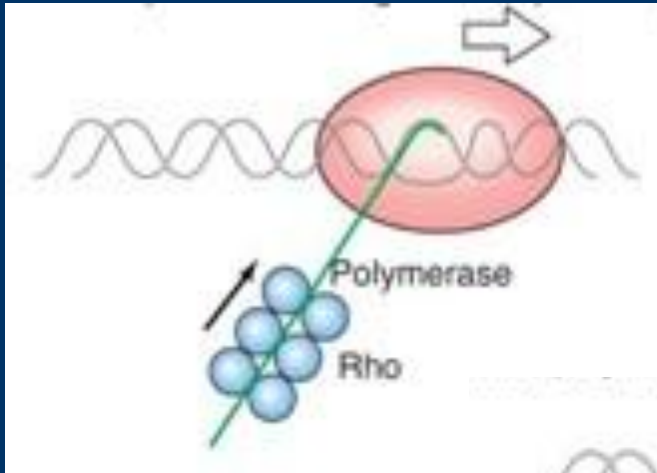
Rho- белок – гексамер.
Молекулярная масса **275** кДа.
Обладает хеликазной
активностью

Этапы транскрипции

Rho - зависимый механизм терминации транскрипции

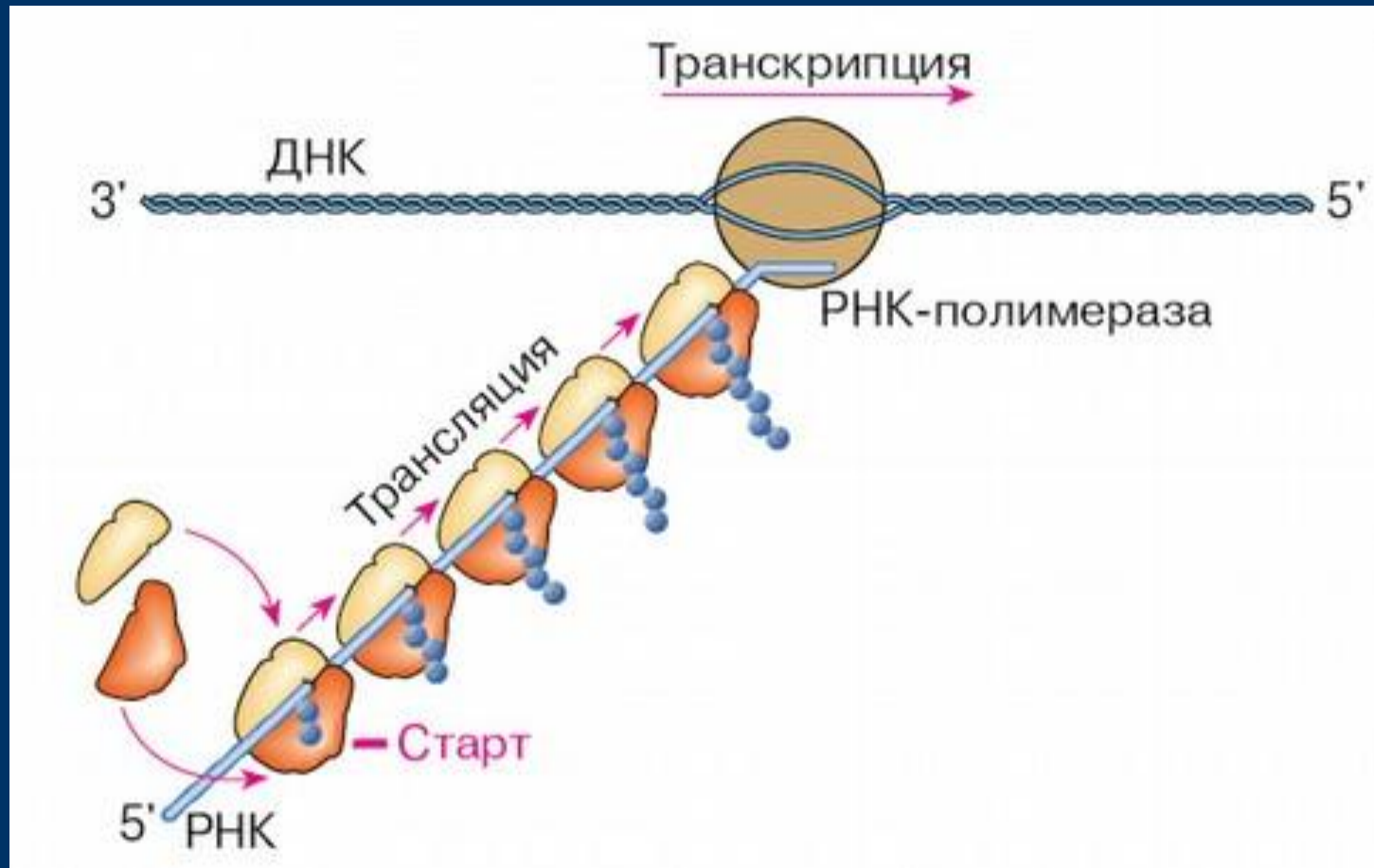


ТЕРМИНАЦИЯ



Транскрипция

Сопряженная транскрипция-трансляция у прокариот



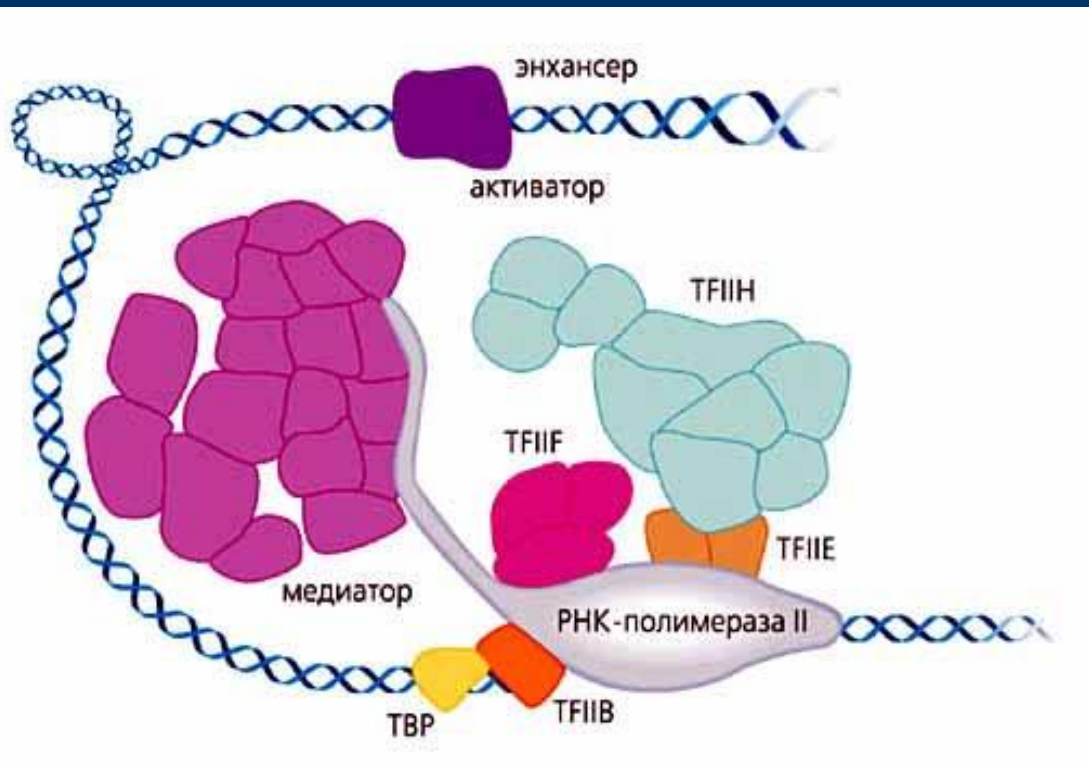
Эукариотические РНК-полимеразы

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, некоторые мяРНК.

РНК-полимеразы эукариот имеют большую молекулярную массу (**500 – 700** кДа) и содержат от **14** до **17** субъединиц в зависимости от типа полимеразы.

Комплекс инициации транскрипции у эукариот



В составе комплекса приведены общие факторы транскрипции (**TFIIB, E, F, H** и **TBP**), РНК-полимераза **II**, медиатор и специфический фактор транскрипции, связанный с энхансером

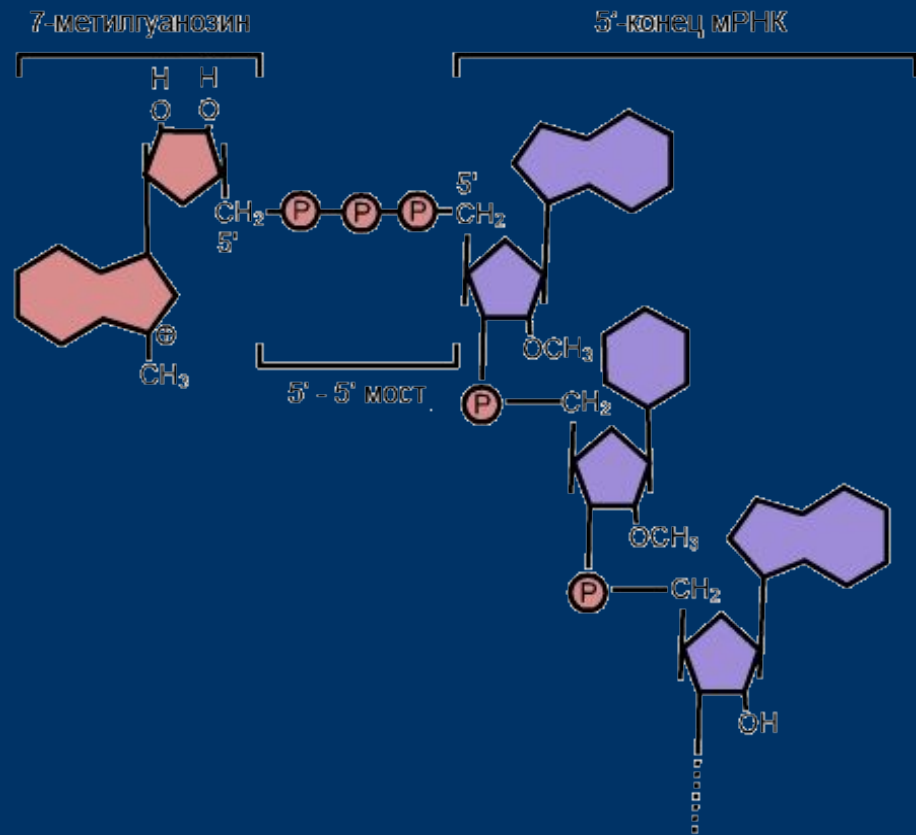
Эукариотические мРНК синтезируются в виде предшественников и проходят в своем биогенезе стадию довольно сложного созревания, или процессинга.

Процессинг включает в себя:

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

Процессинг первичных транскриптов РНК

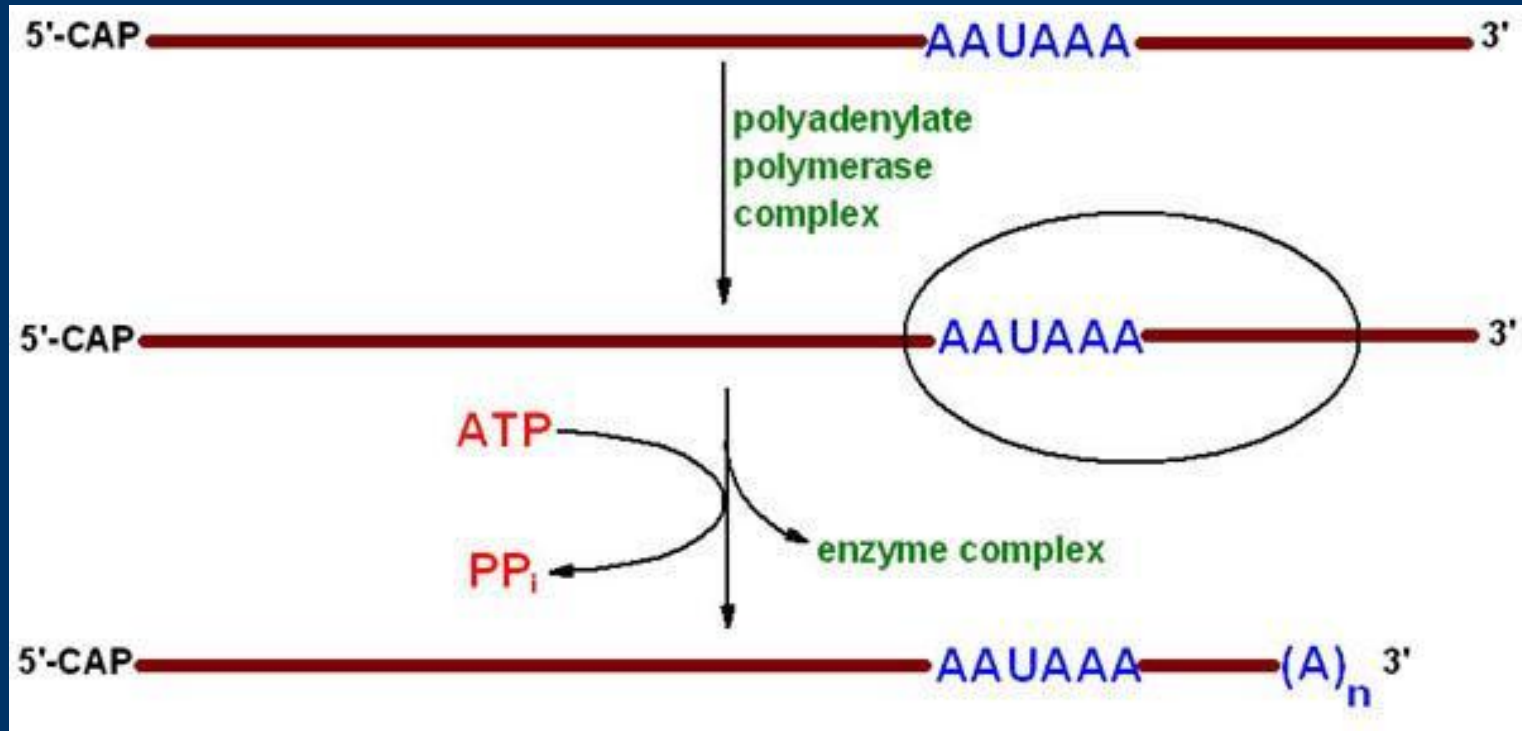
Кэпирование 5'-конца первичного транскрипта



Кэпирование - присоединение к **5'**-концу транскрипта **7-метилгуанозина** через необычный для РНК **5',5'**-трифосфатный мостик, а также метилирование остатков рибозы двух первых нуклеотидов.

Функции кэпа: защита **5'**-конца транскрипта от экзонуклеаз; участие в сплайсинге; экспорт мРНК из ядра; участие в инициации трансляции.

Полиаденилирование 3'-конца первичного транскрипта

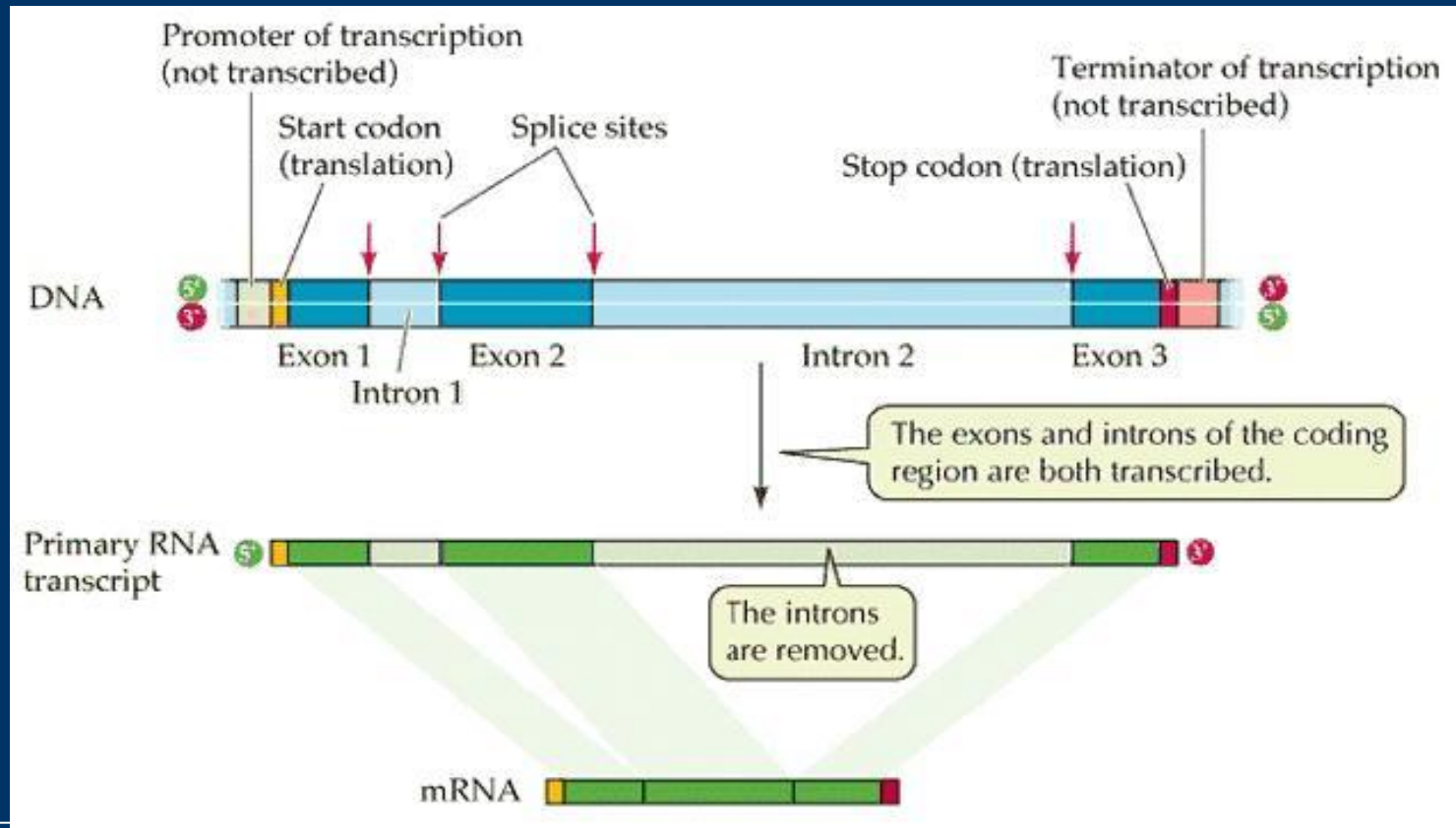


Процесс полиаденилирования катализируется полиаденилат-полимеразой – поли(А)-полимераза.

Процессинг первичных транскриптов РНК

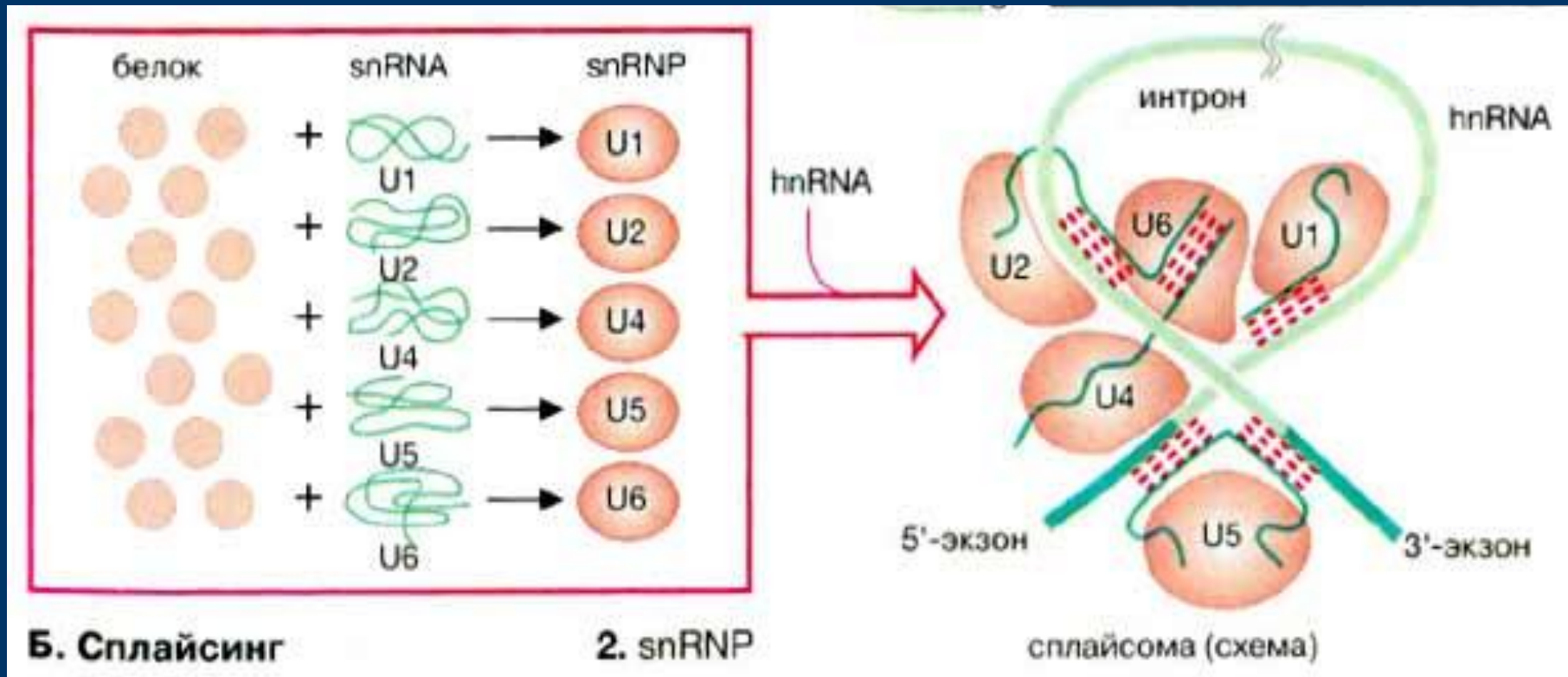
Сплайсинг пре-мРНК

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

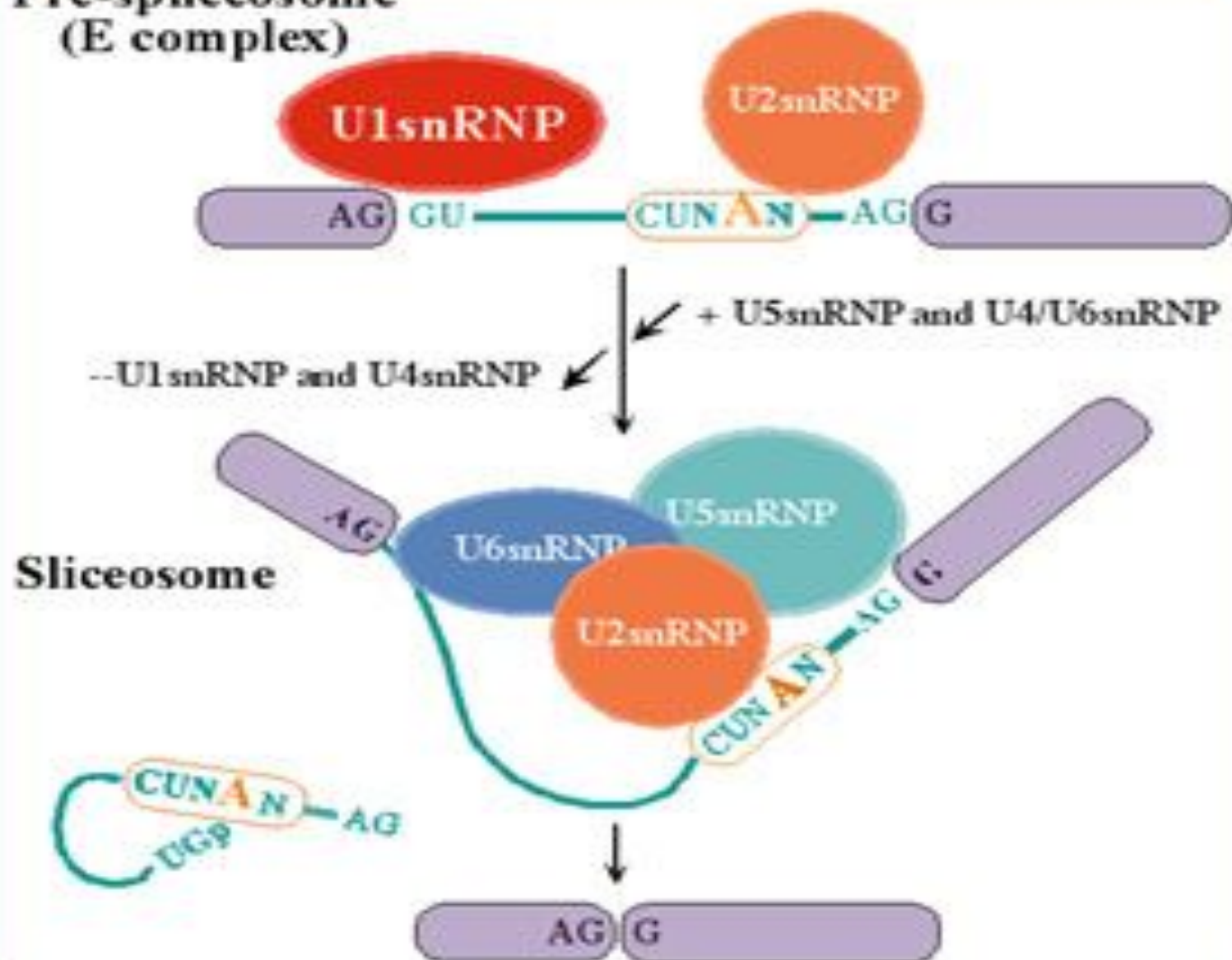


Транскрипция (Биосинтез РНК)

Структура сплайсосомы

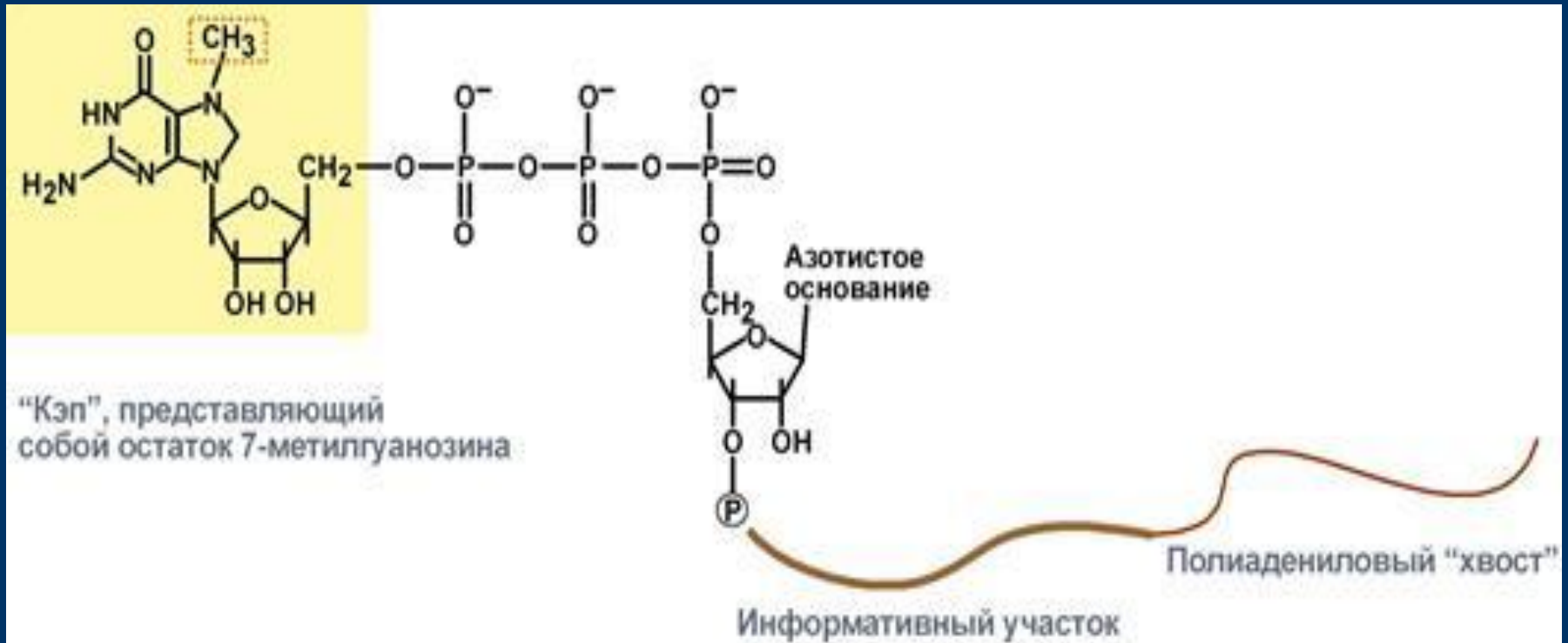


Pre-spliceosome (E complex)

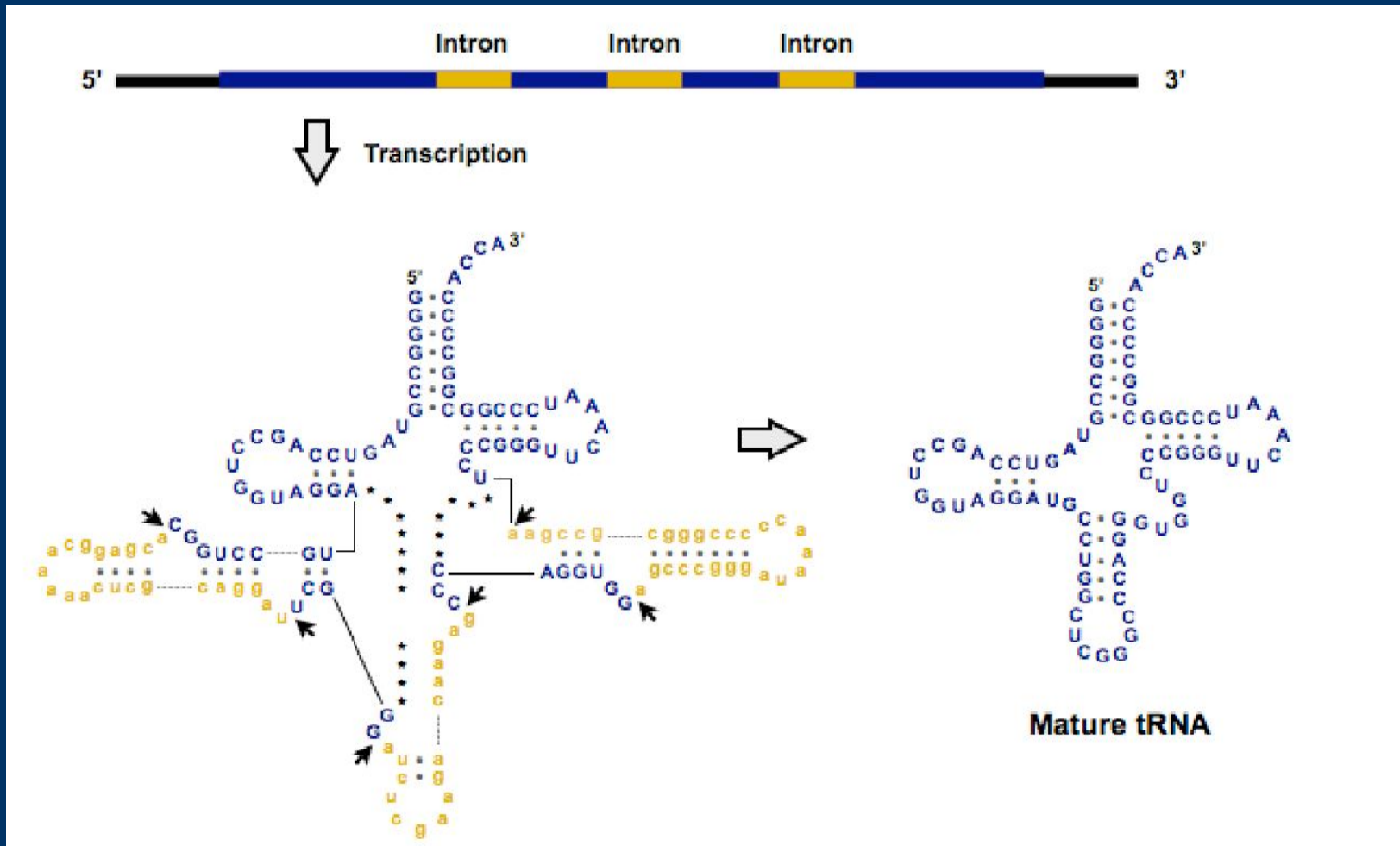


Процессинг гяРНК

Схематичное представление мРНК эукариот после процессинга



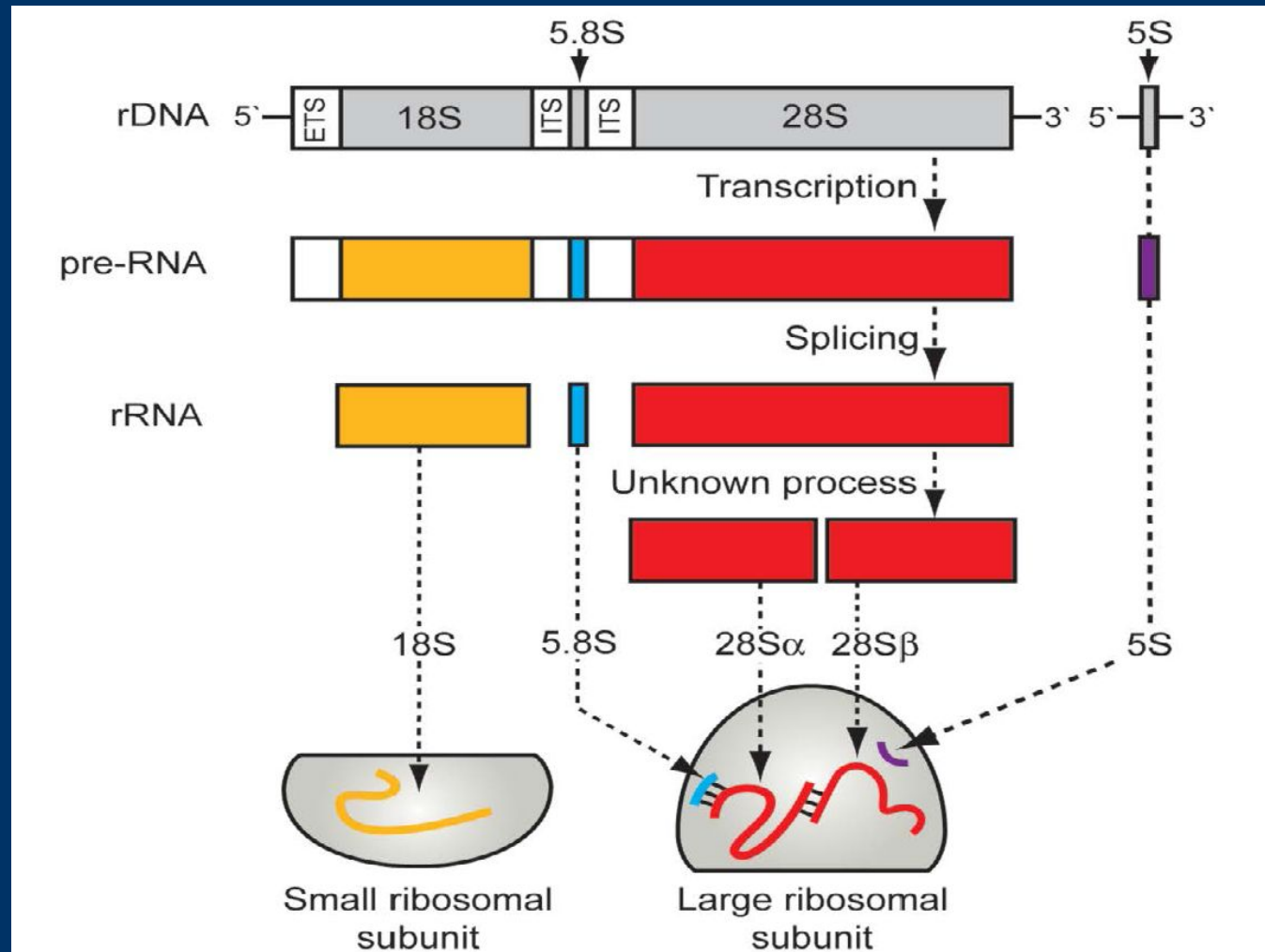
Процессинг пре-тРНК у эукариот



Процессинг первичных транскриптов РНК

- Модификация нуклеотидов в молекуле тРНК осуществляется путем дезаминирования, метилирования, восстановления.
- Формирование петель происходит путем сплайсинга и удаления интронов в пре-тРНК.
- Формирование на **3'**-конце последовательности ССА. Для этого у одних пре-тРНК с **3'**-конца удаляются лишние нуклеотиды до «обнажения» триплета ССА, у других идет присоединение этой последовательности.

Процессинг пре-рРНК у эукариот



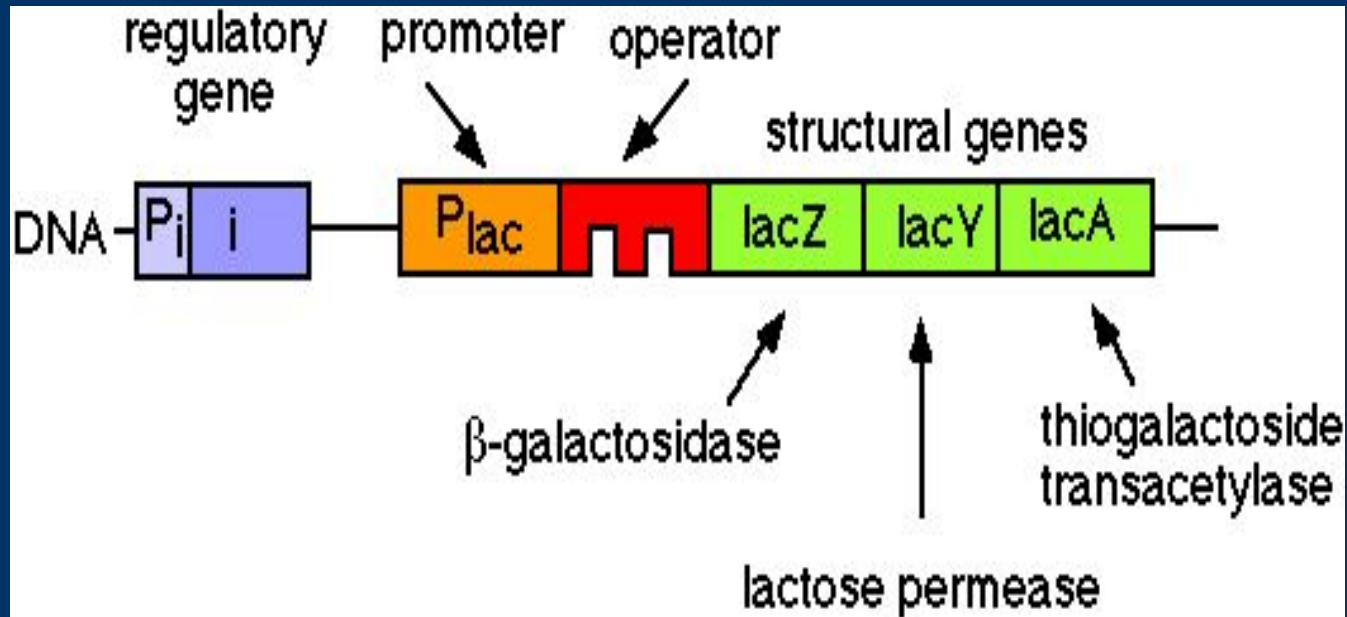
Отличия транскрипции у про- и эукариот

- Сопряженная транскрипция-трансляция у прокариот. Разобщение транскрипции и трансляции в пространстве и времени у эукариот.
- Транскриптоны про- и эукариот.
У прокариот транскриптомом является оперон, включающий несколько взаимосвязанных между собой генов. У эукариот транскриптомом является ген.
- РНК-полимеразы прокариот и эукариот.
У прокариот единая РНК-полимераза, которая транскрибирует любые гены. У эукариот - три специализированные РНК-полимеразы.

Отличия транскрипции у про- и эукариот

- У эукариот гены состоят из экзонов и интронов. Необходим процессинг первичных транскриптов РНК. У прокариот процессируется пре-тРНК и пре-рРНК.
- Каждая мРНК у прокариот кодирует несколько белков (полицистронна). У эукариот каждая мРНК кодирует один белок.
- Бактериальные РНК-полимеразы транскрибируют ДНК с промежуточной скоростью - **50-100** н/с. Эукариотические РНК-полимеразы элонгируют цепи РНК **in vivo** со скоростью около **20-30** н/с.
- Срок «жизни» прокариотических мРНК — несколько минут, у эукариот — часы и даже сутки.

Строение **Lac**-оперона *E.coli*



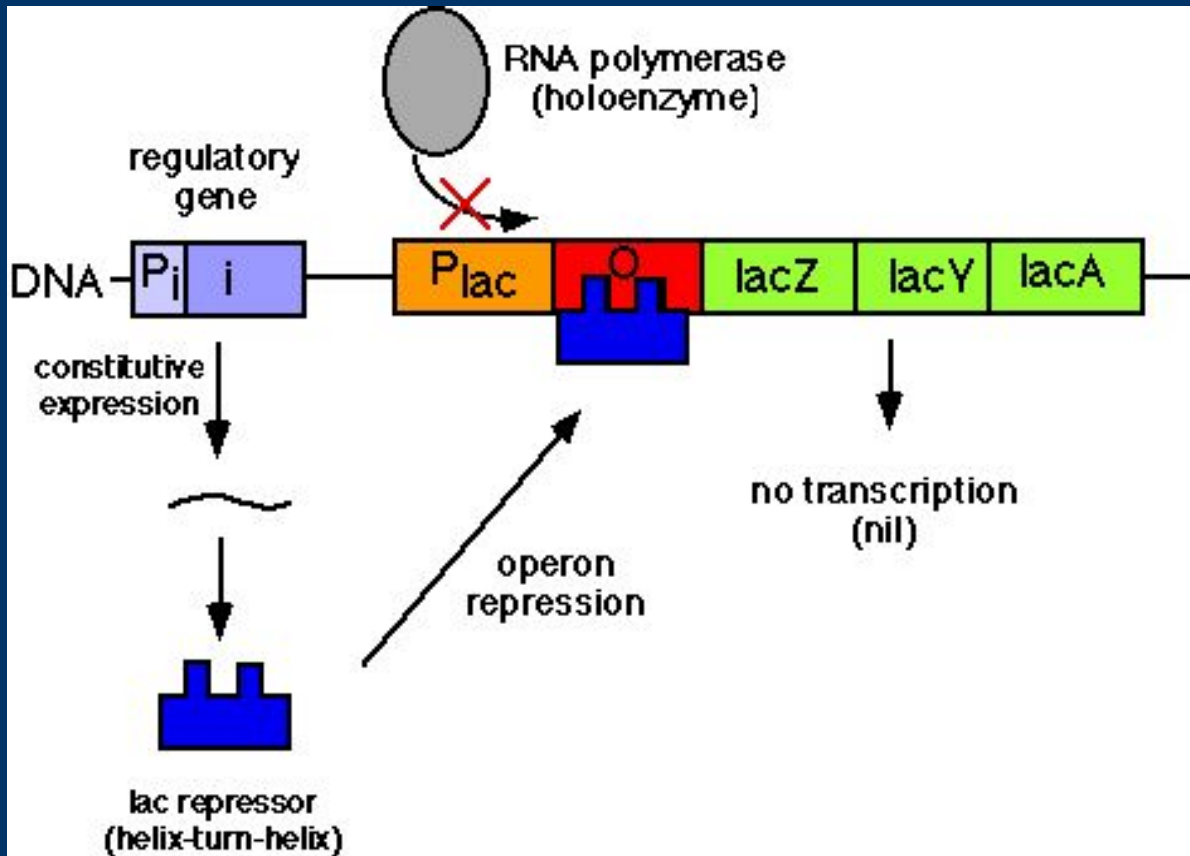
Ген **lacZ** - кодирует галактозидазу, расщепляющую галактозиды, в частности, лактозу на глюкозу и галактозу.

Ген **lacY** - кодирует галактозидтрансферазу (пермеазу), необходимую для проникновения галактозидов через клеточную мембрану.

Ген **lacA** - кодирует галактозидтрансацетилазу.

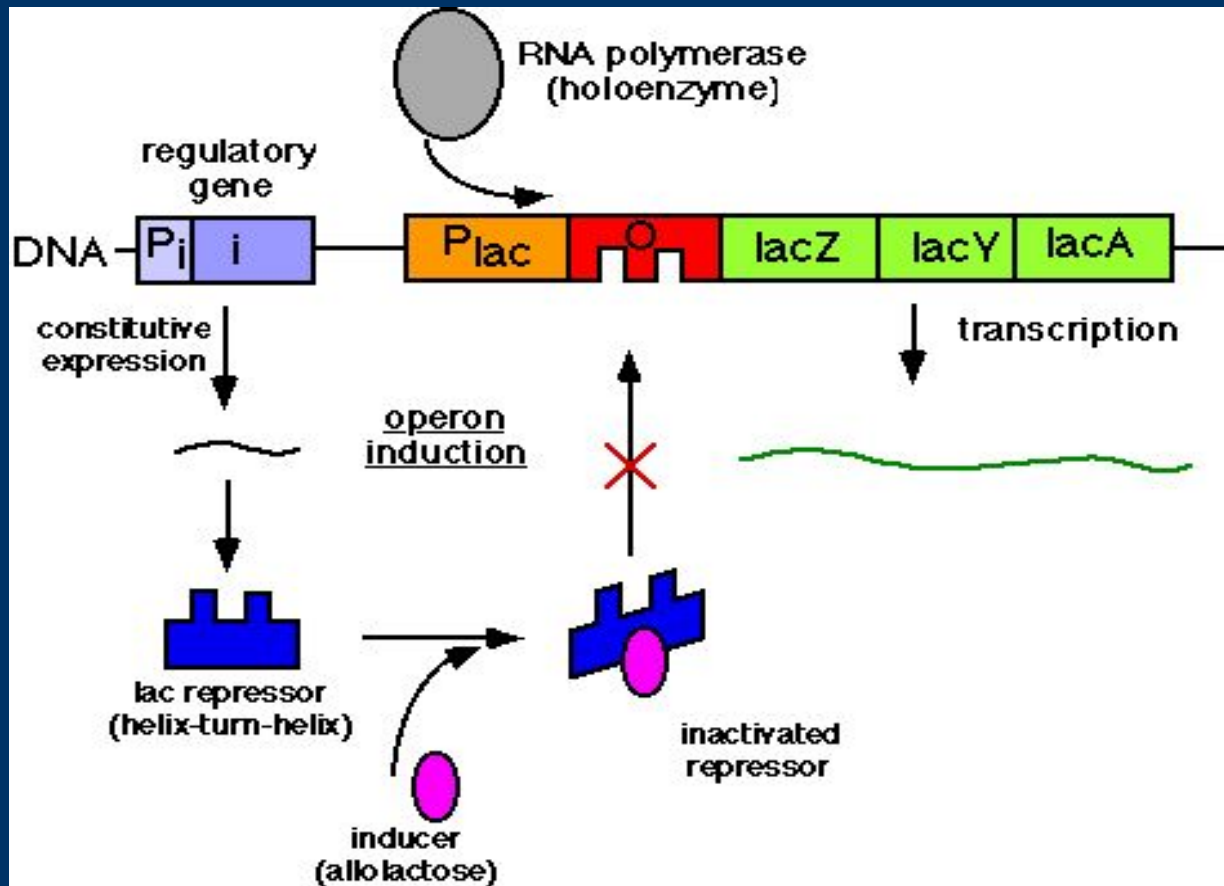
Регуляция транскрипции

Регуляция экспрессии генов путем индукции на примере **Lac**-оперона



Регуляция транскрипции

Регуляция экспрессии генов путем индукции на примере **Lac**-оперона



Регуляция экспрессии генов путем репрессии на примере *trp*-оперона

