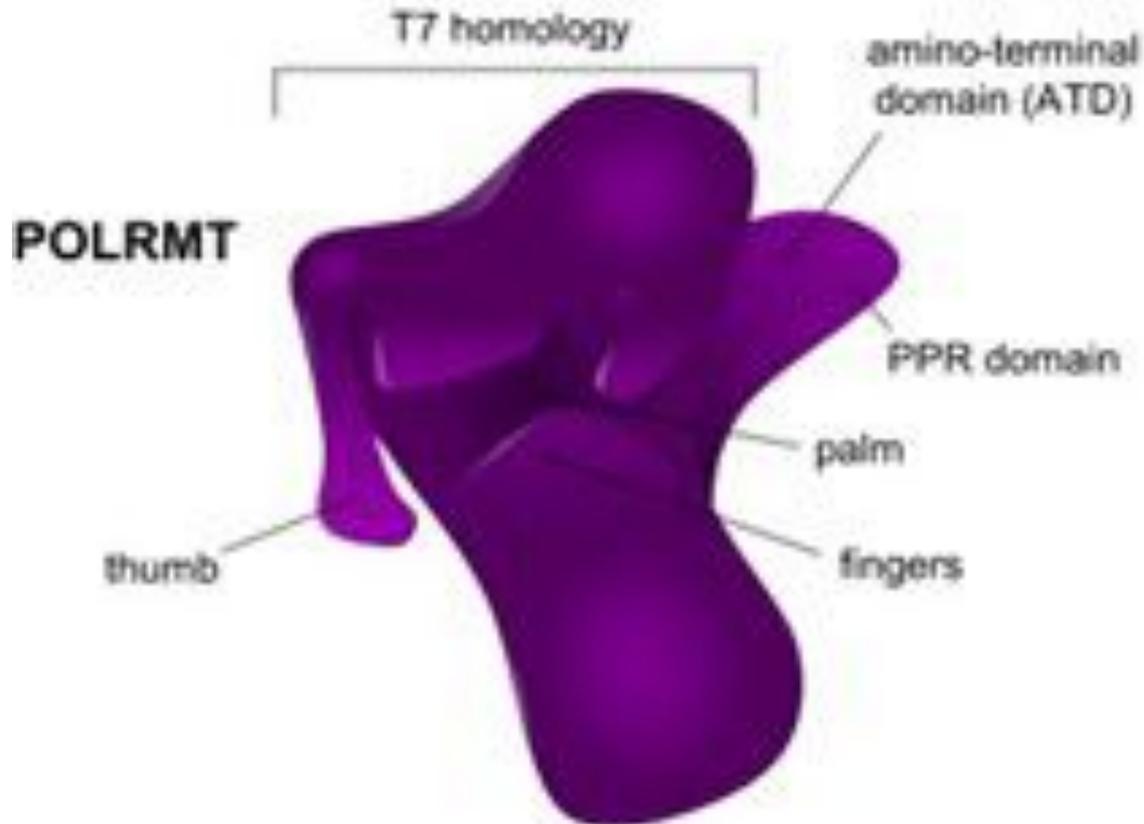


Транскрипция у эукариот

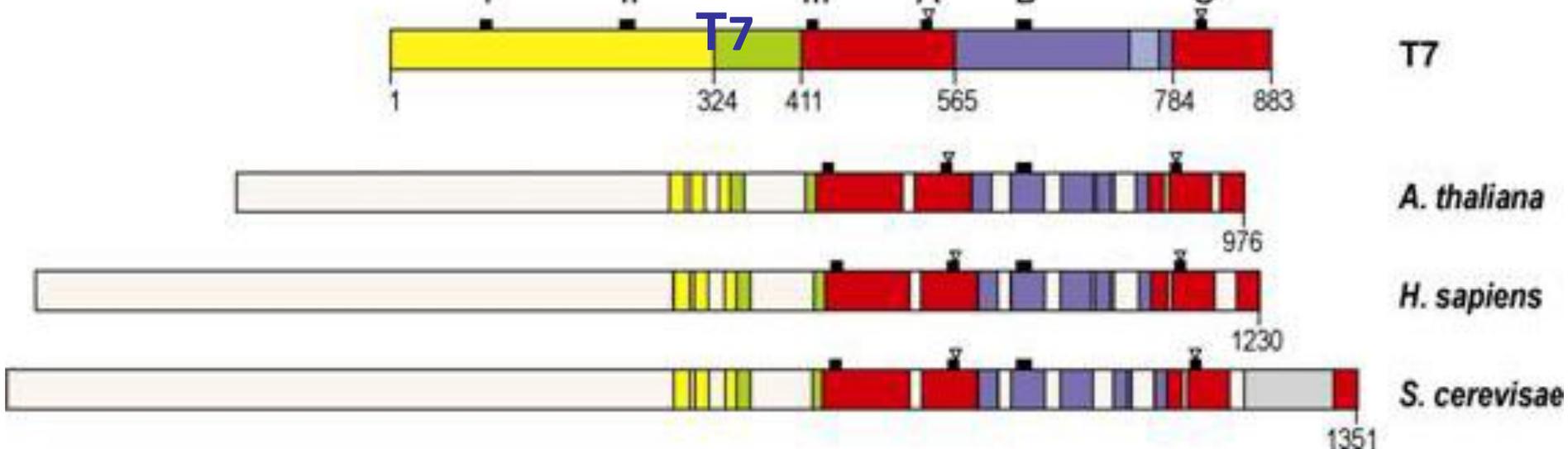
Транскрипция в МИТОХОНДРИЯХ

РНК полимераза митохондрий человека — одна субъединица



Транскрипция в МИТОХОНДРИЯХ

РНК-полимераза митохондрий
похожа
на РНК-полимеразу бактериофага



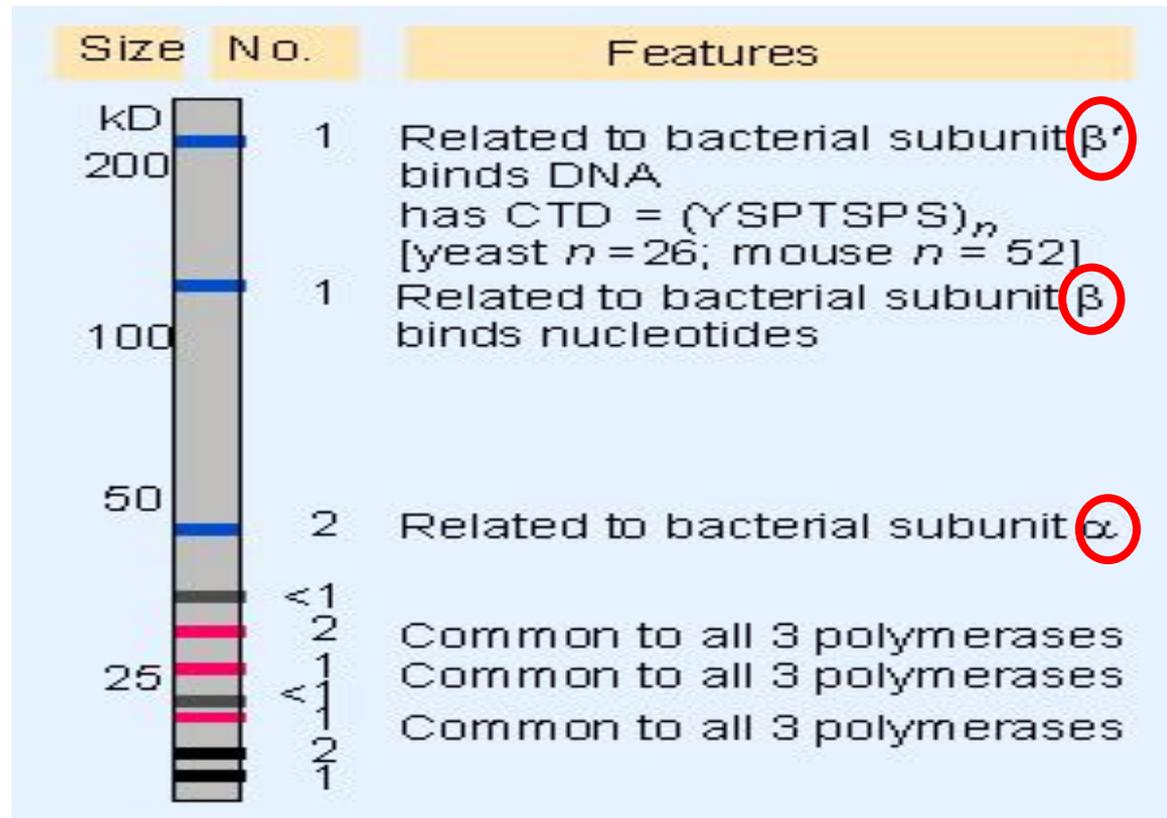
РНК полимеразы эукариот

- RNA Pol I
 - синтезирует рРНК (28S, 18S, 5.8S)
- RNA Pol II
 - синтезирует **мРНК**, мяРНК (малые ядерные)
- RNA Pol III
 - синтезирует тРНК, 5S рРНК

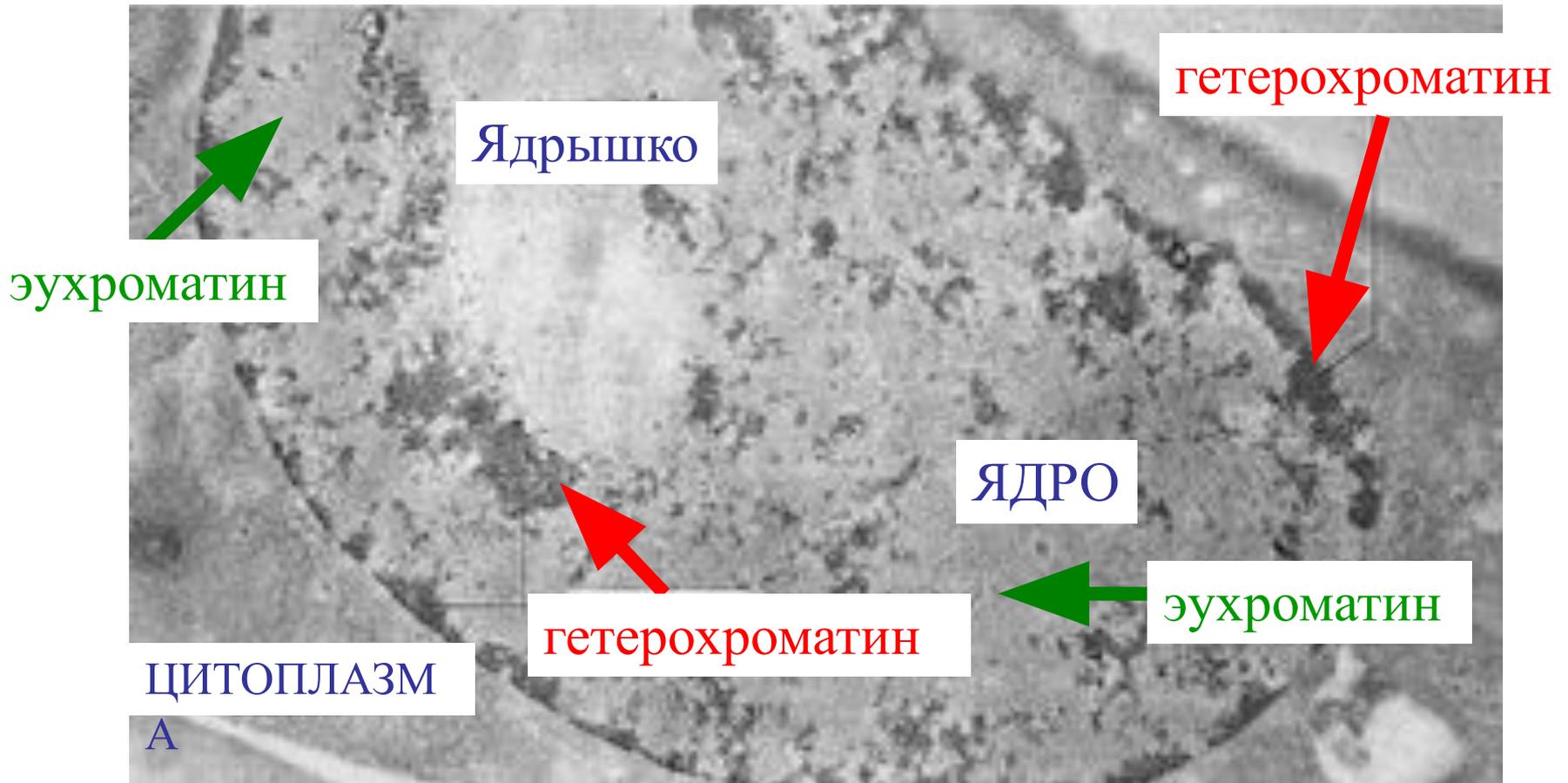
Кор-фермент каждой РР состоит из более **10 субъединиц**

Субъединичный состав РНК полимераз эукариот

I	II	III
190	220 (185)	160
135	150	128
49		82
43		53
40	44.5	40
		37
34.5	32	34
		31
27	27	27
23	23	23
19	16	19
14.5	14.5	14.5
14	12.6	22
12.2		
10	10	10



Транскрипция происходит в ядре



Гетерохроматин

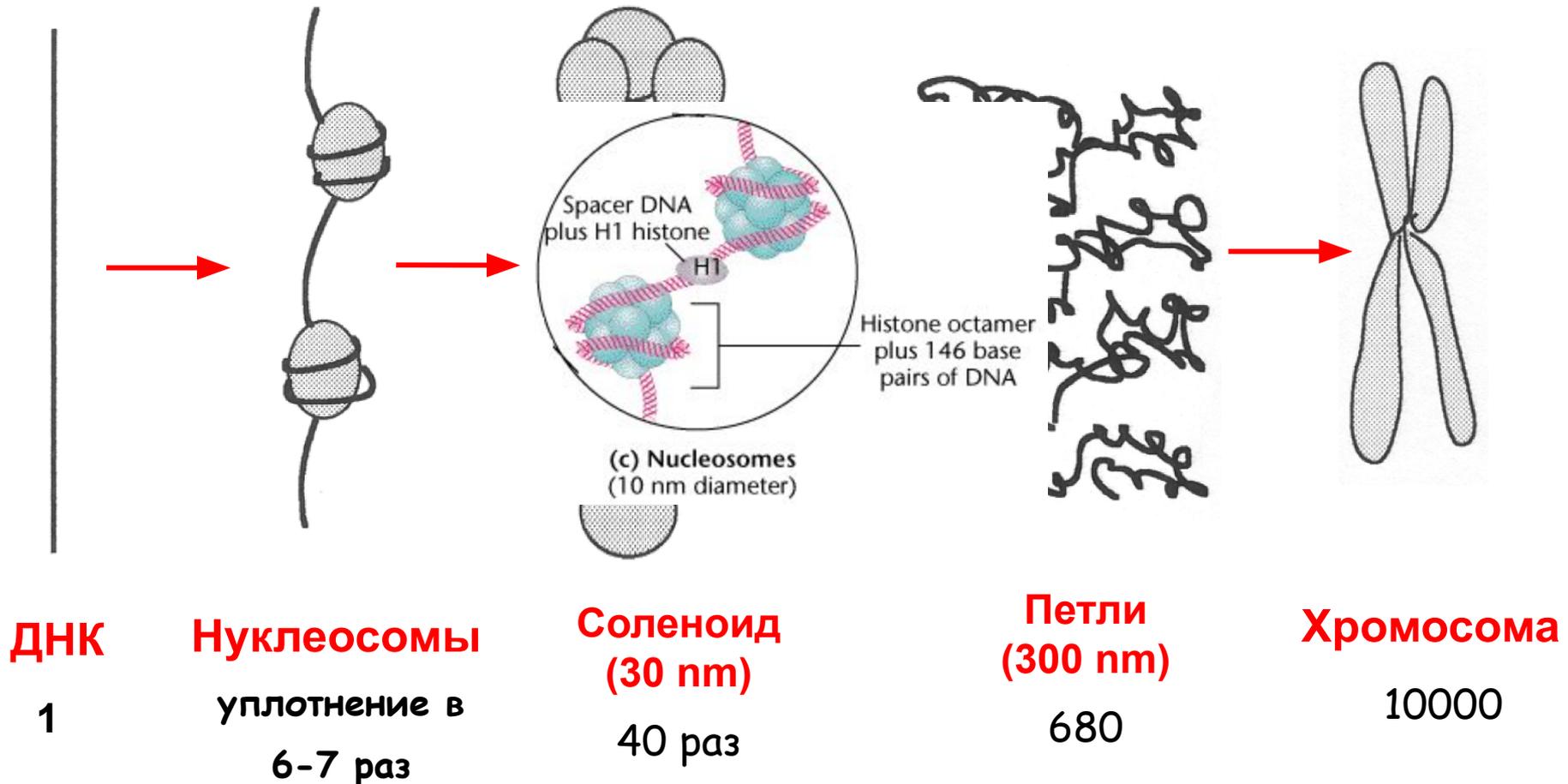
- наиболее плотная упаковка ДНК
- транскрипционно **не активен**
- отличается от клетки к клетке

Хроматин

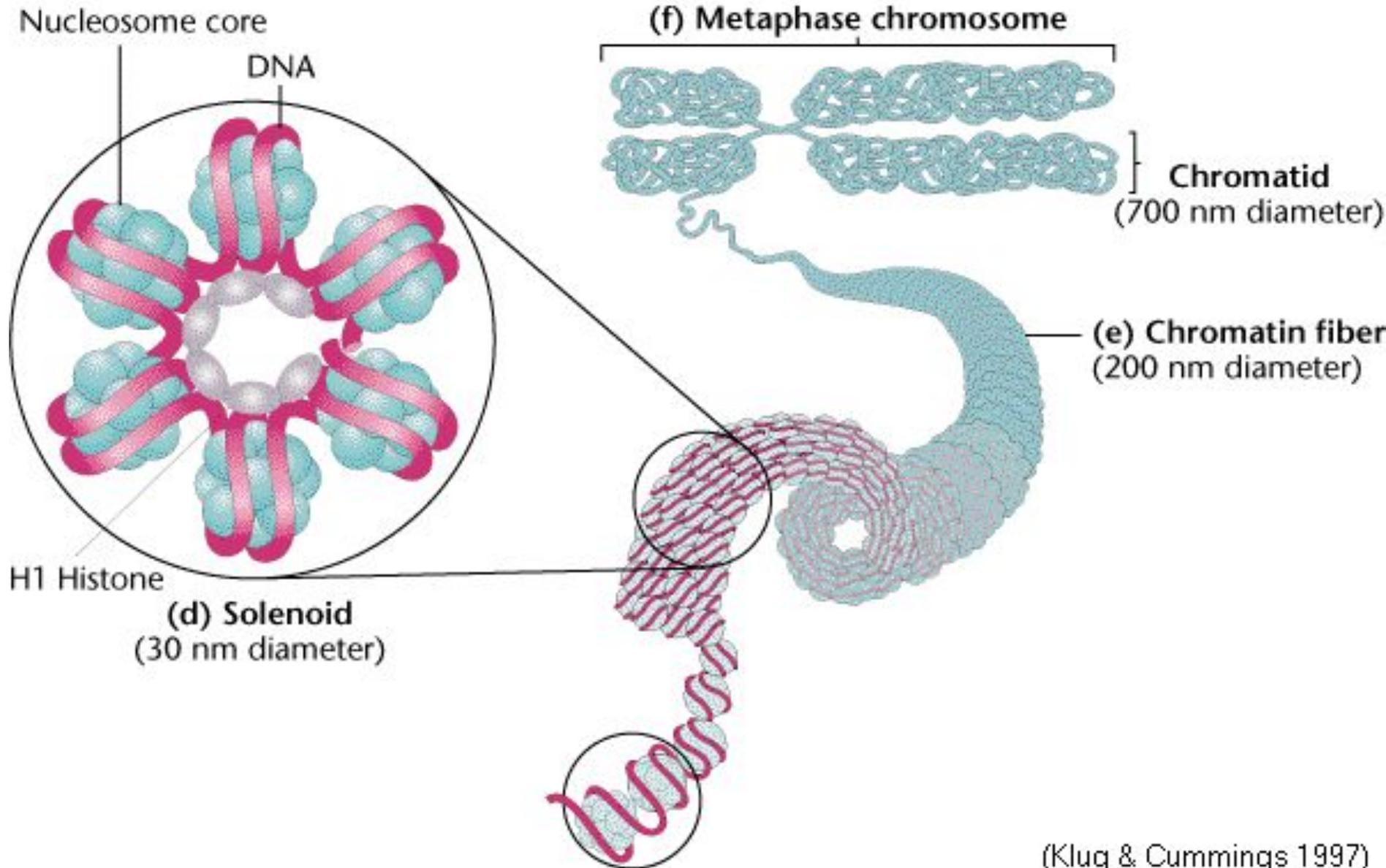
Нуклеосома состоит из 4 гистонов [(H2A H2B H3 H4)₂]

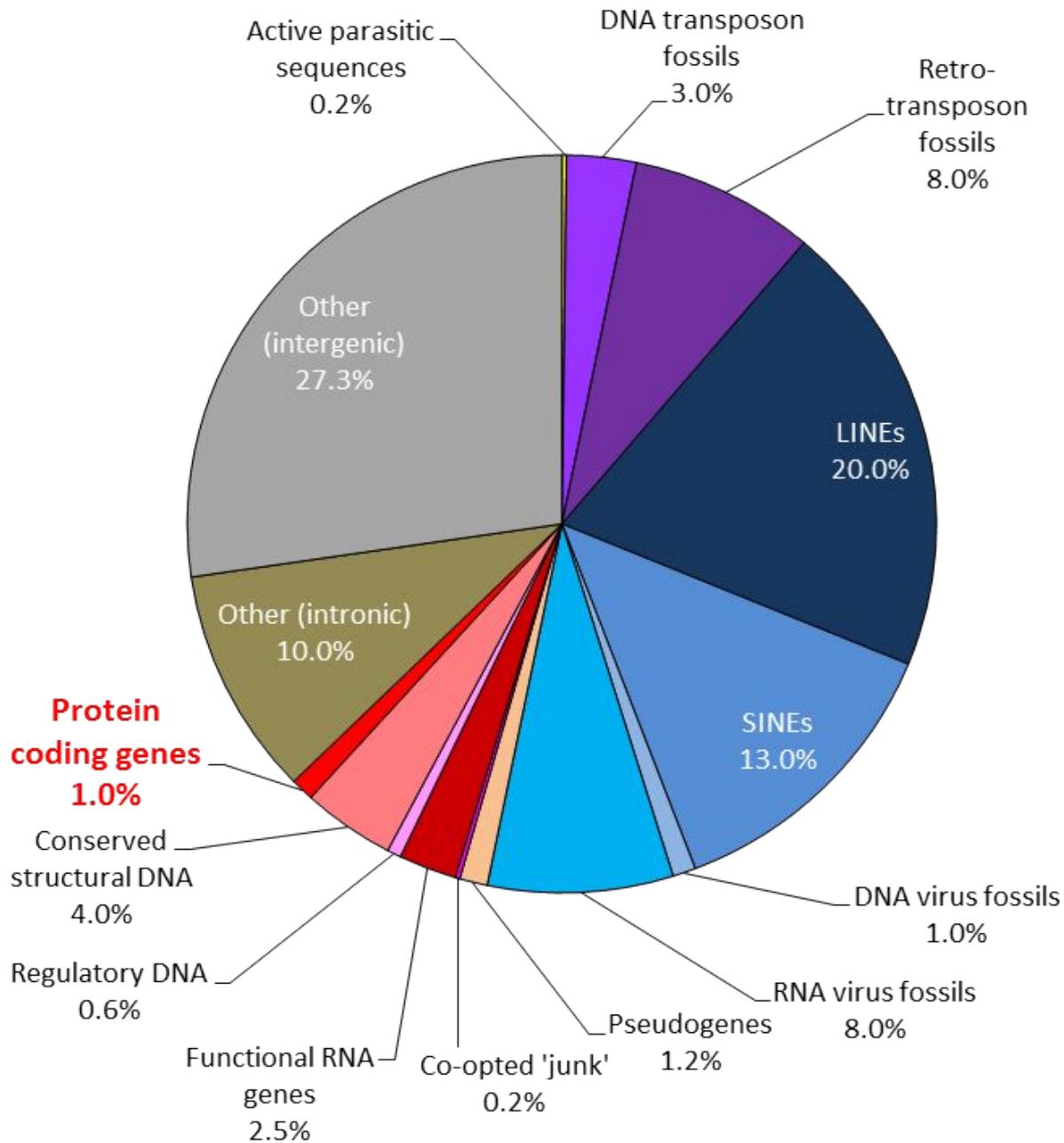
2 витка ДНК (160 п.н.)

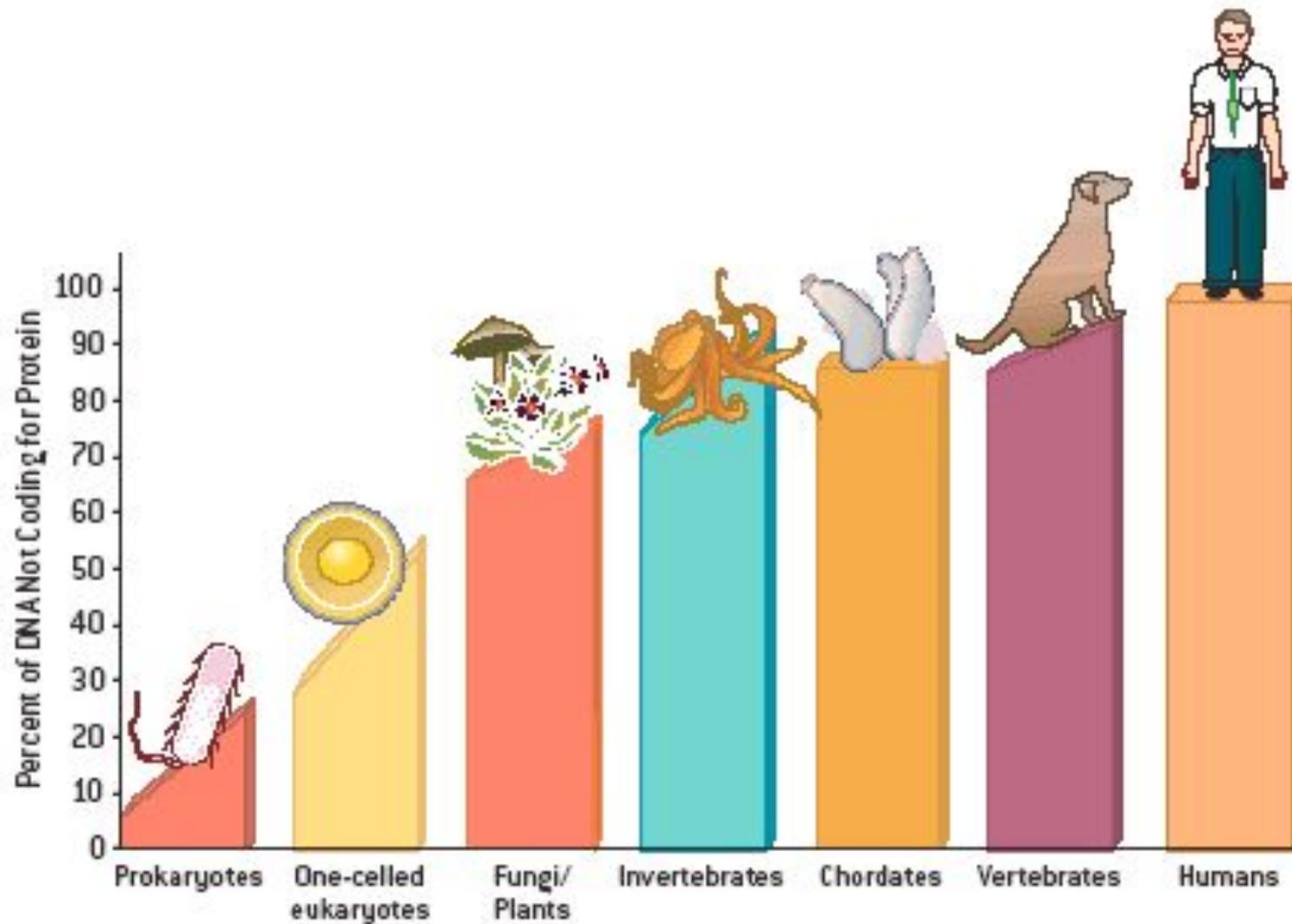
Промежутки – гистон H1



Хроматин



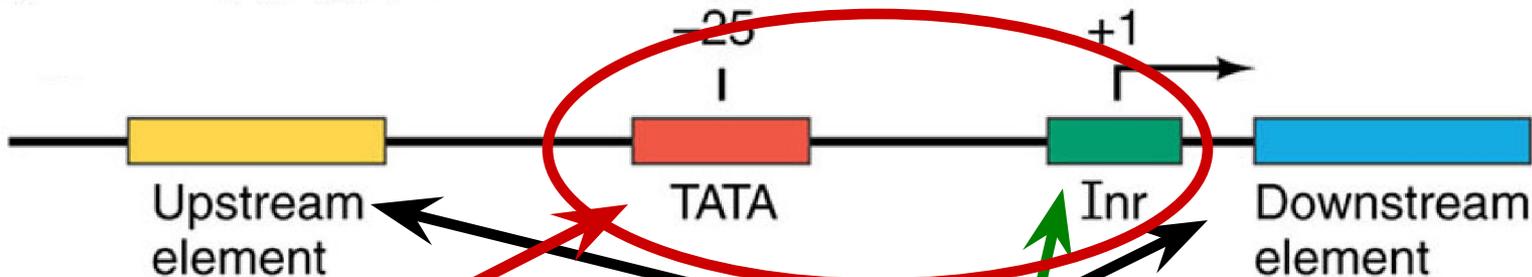




NONPROTEIN-CODING SEQUENCES make up only a small fraction of the DNA of prokaryotes. Among eukaryotes, as their complexity increases, generally so, too, does the proportion of their DNA that does not code for protein. The noncoding sequences have been considered junk, but perhaps it actually helps to explain organisms' complexity.

Промотор РРІІ

базальный элемент промотора

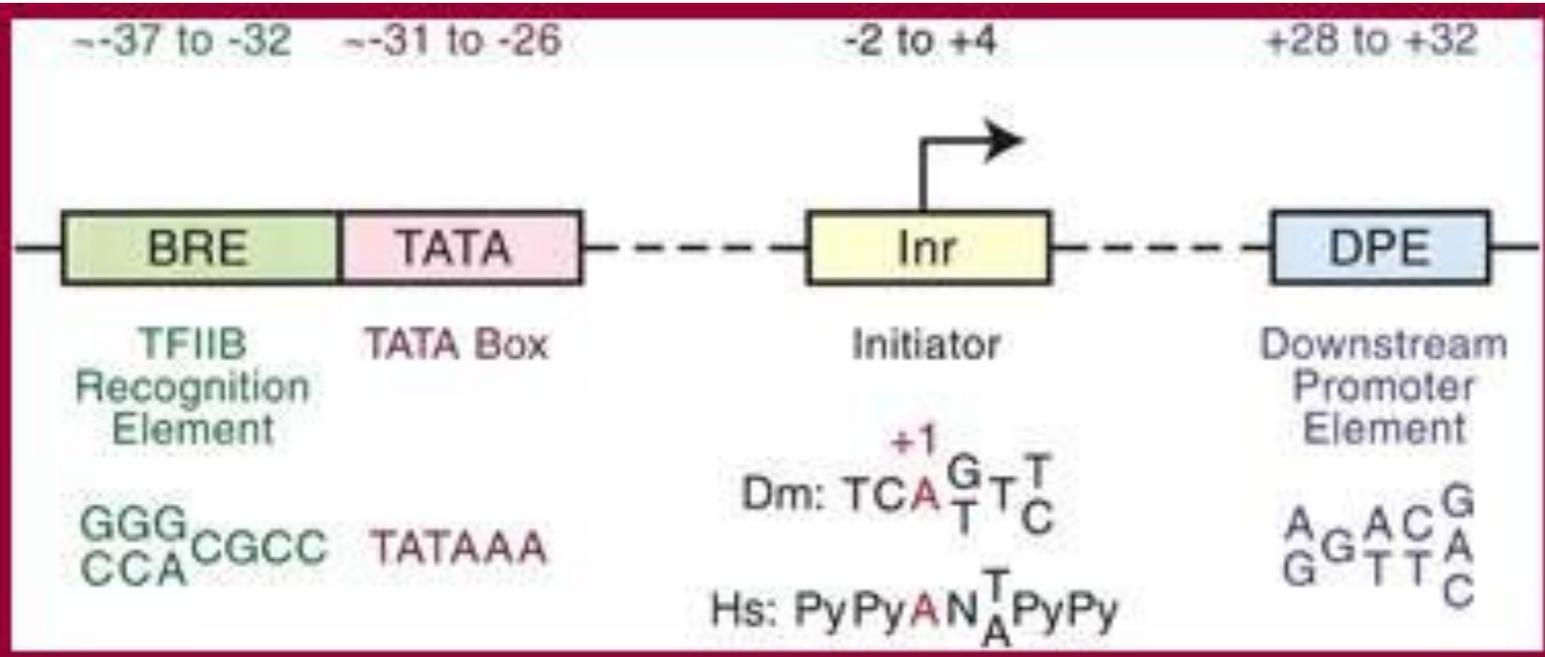


ТАТА-бок

Консенсус ТАТАа/тАа/т

Дополнительные регуляторные
элементы

Пиримидин-богатый участок
в точке начала синтеза
 PyPyNt/aPyPy

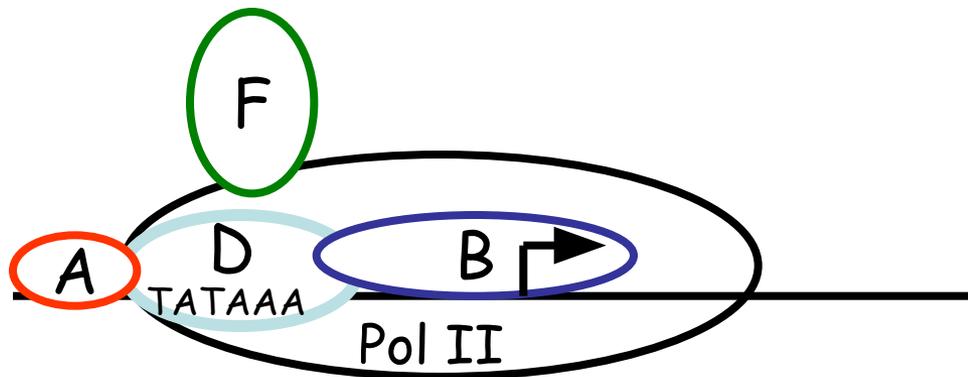
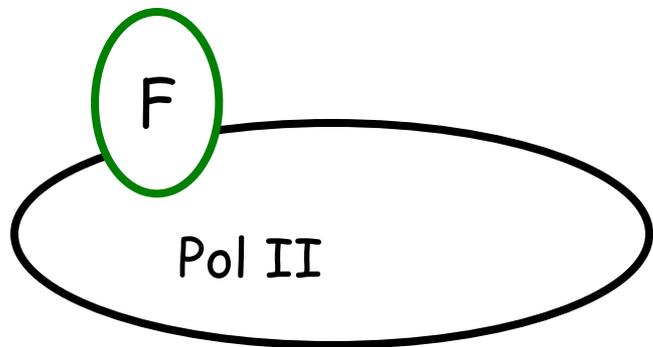
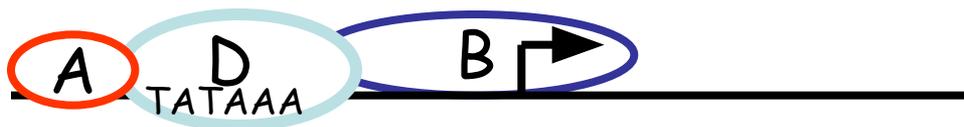
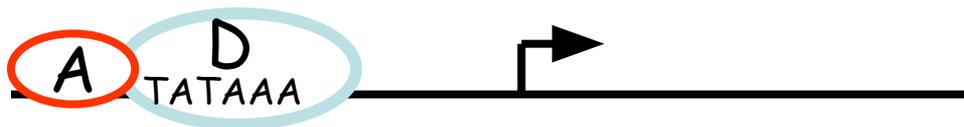
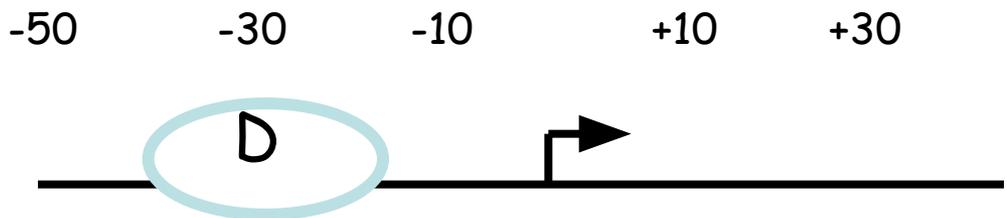


Promoter Type	Occurrence in Natural <i>Drosophila</i> Promoters
	59/205 29%
	54/205 26%
	28/205 14%
	64/205 31%

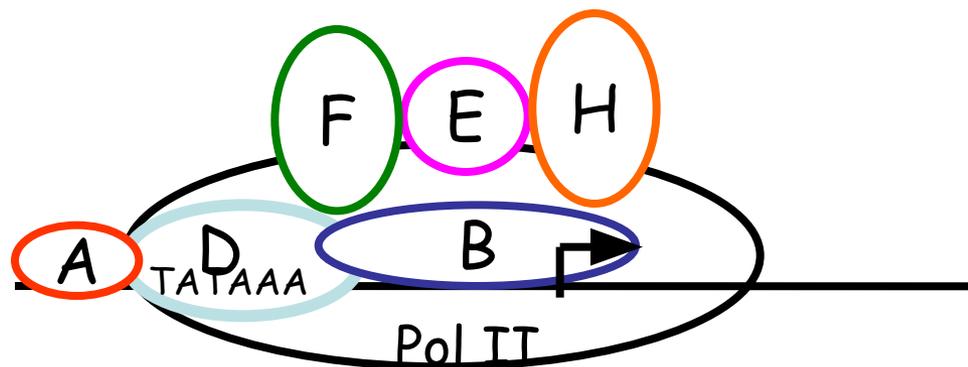
Основные (базовые) факторы транскрипции

- для инициации транскрипции на базальном промоторе достаточно кор-фермента и шести основных факторов транскрипции
- **TFIID** – основной фактор транскрипции D для РНК полимеразы II

Инициация

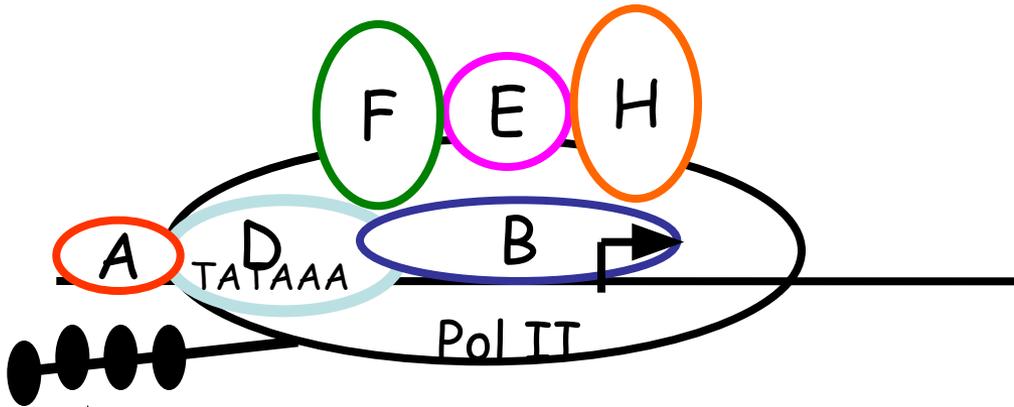


Инициация



Локальное плавление ДНК

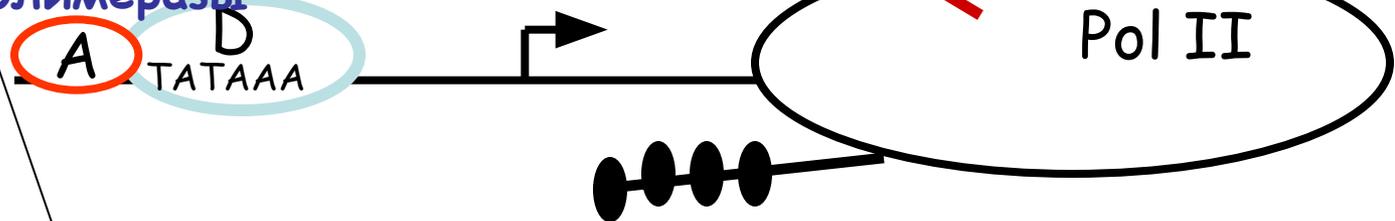
Инициация



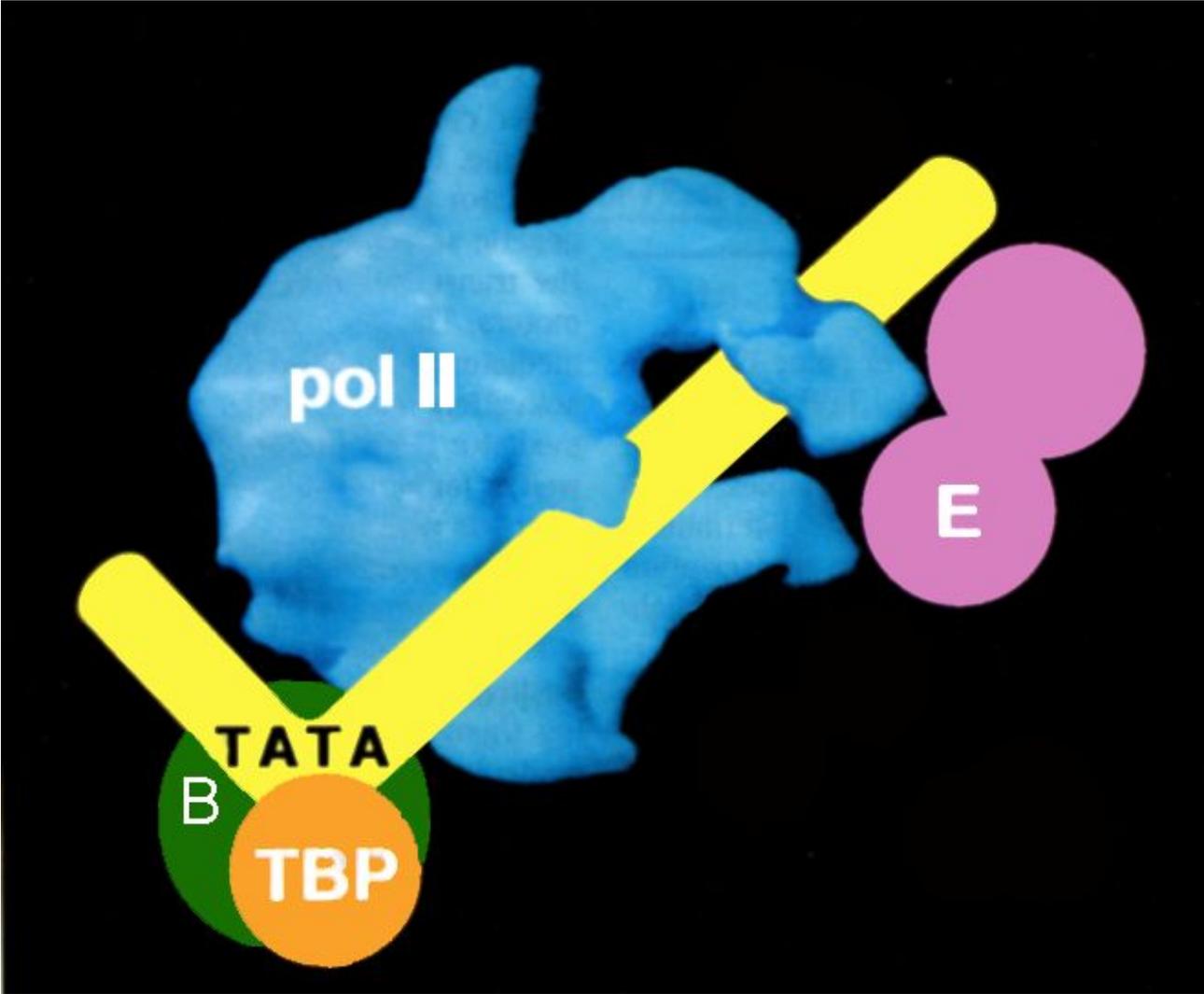
Инициация

Фосфорилирование С-концевого домена РРІІ

TFІІН гиперфосфорилирует
С-концевой домен РНК-
полимеразы



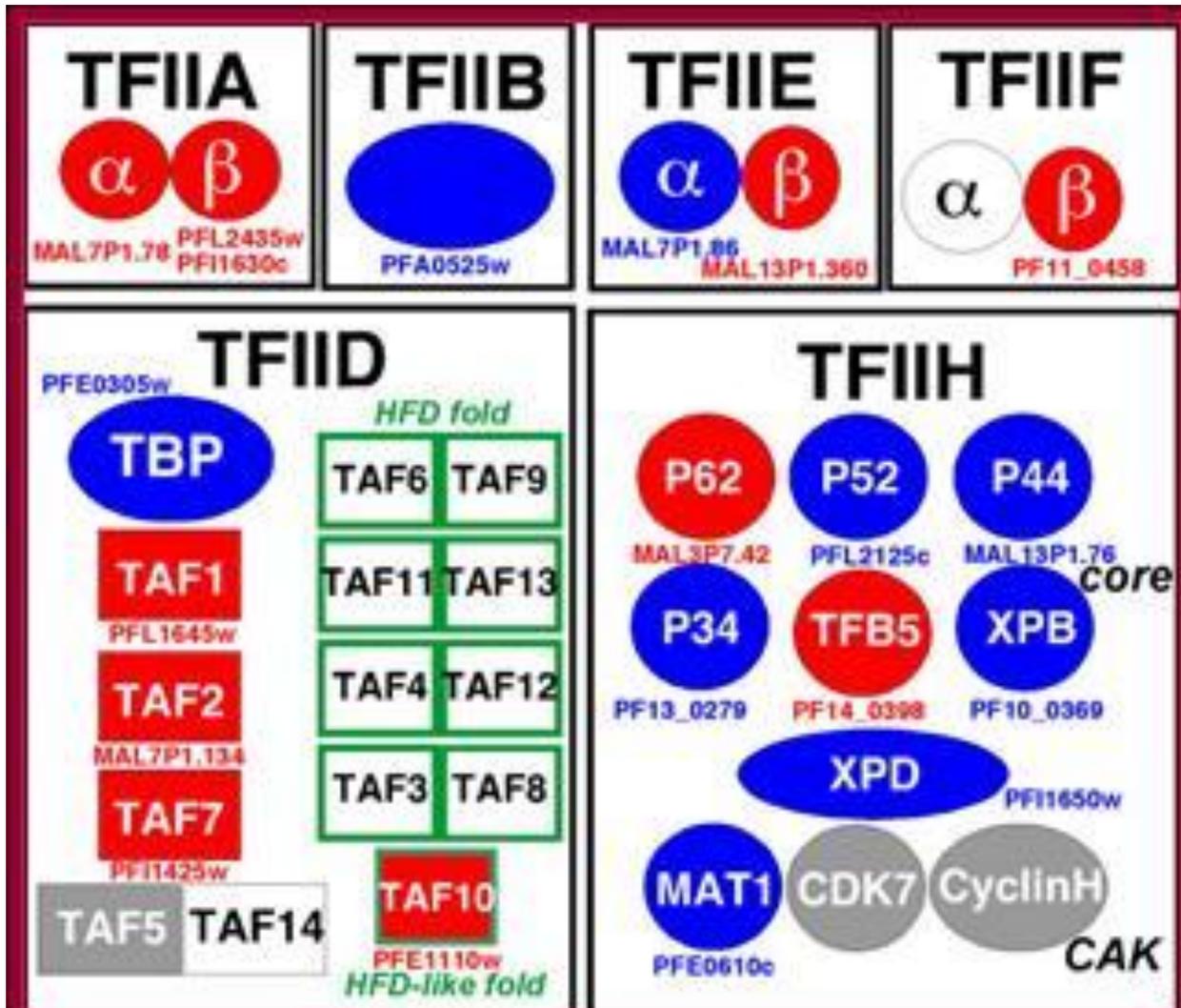
С-концевой домен обычно состоит из порядка 52 повторений последовательности Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser



Основные факторы транскрипции RPII человека

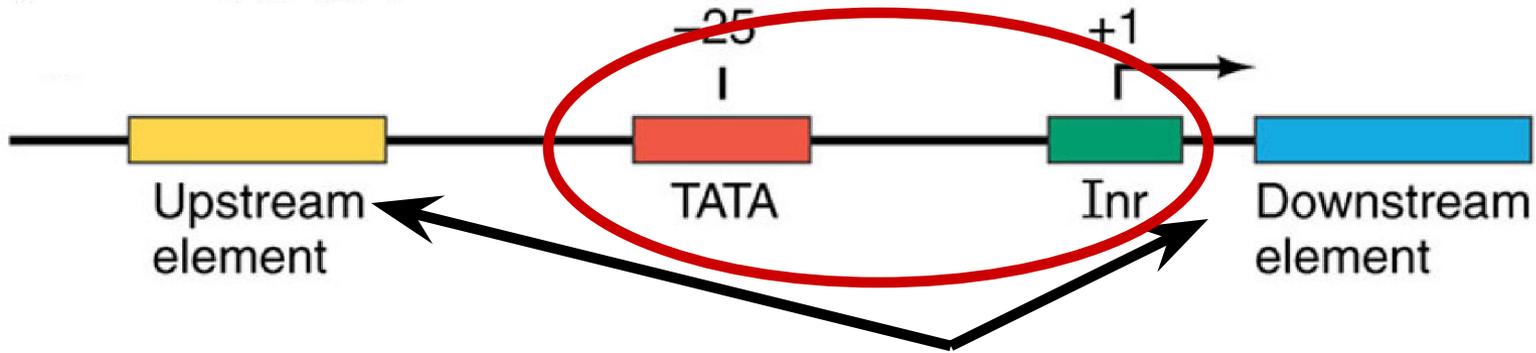
TFIID	TBP	1	38	Связывание с TATA
	TAF	12	15-250	Узнавание промотора (не TATA элементов)
TFIIA		3	12, 19, 35	Помощь TFIID
TFIIB		1	35	Связывание и позиционирование RPII
TFIIF		2	30, 74	Привлечение RPII на промотор
RPII		12	10-220	Синтез РНК
TFIIE		2	34, 57	Стимуляция и модуляция TFIIF
TFIIH		9	35-89	Хеликаза и протеинкиназа

Основные факторы транскрипции RPII



Промотор RPII

базальный элемент промотора



Дополнительные регуляторные
элементы

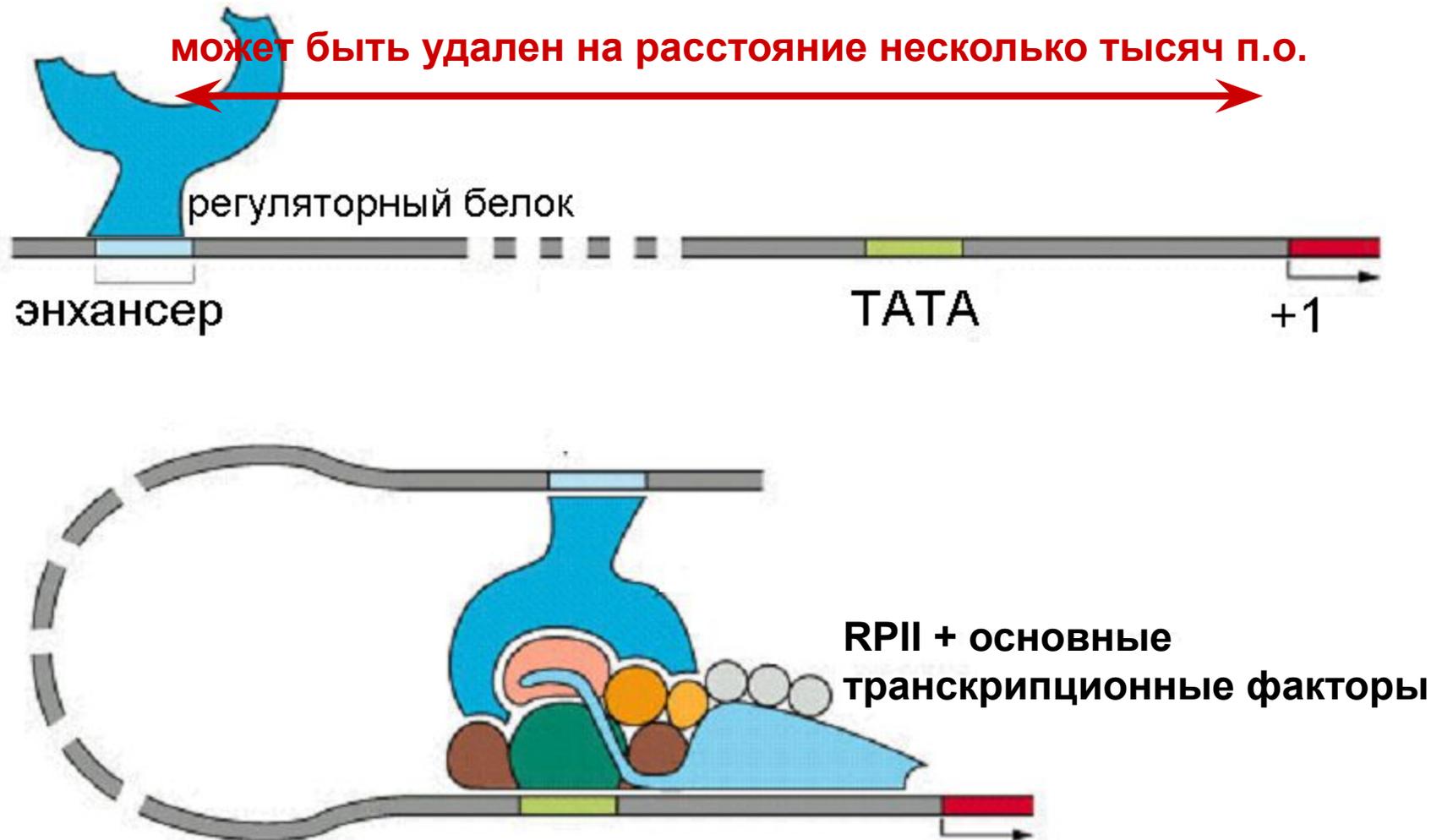
Дополнительные регуляторные элементы

Места связывания белков-регуляторов. Белок-регулятор может усиливать или ослаблять транскрипцию

Проксимальные элементы располагаются в пределах 50-200 пар оснований от участка старта транскрипции

Дистальные элементы (энхансеры) могут располагаться на произвольном расстоянии в любой ориентации по отношению к участку старта транскрипции

Энхансер

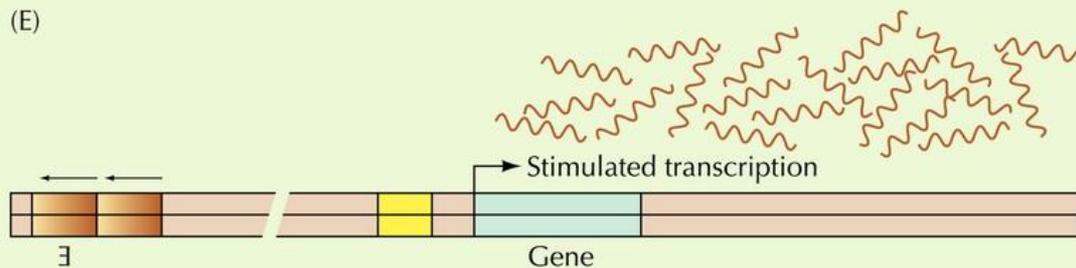
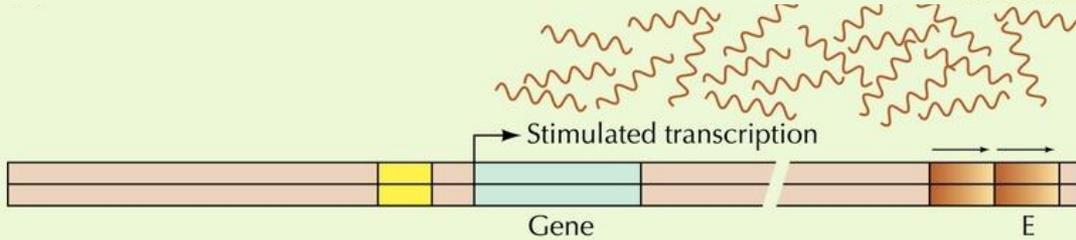
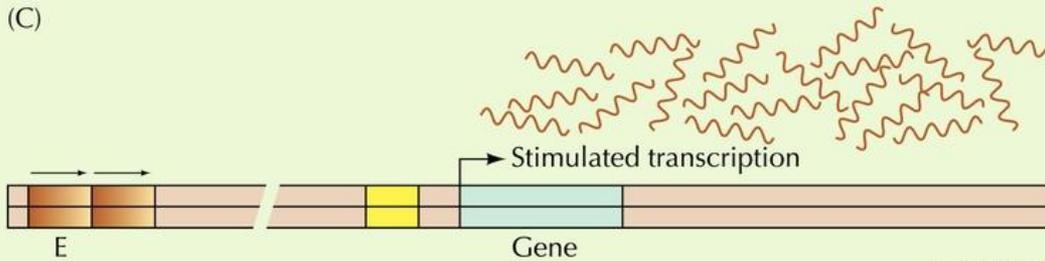
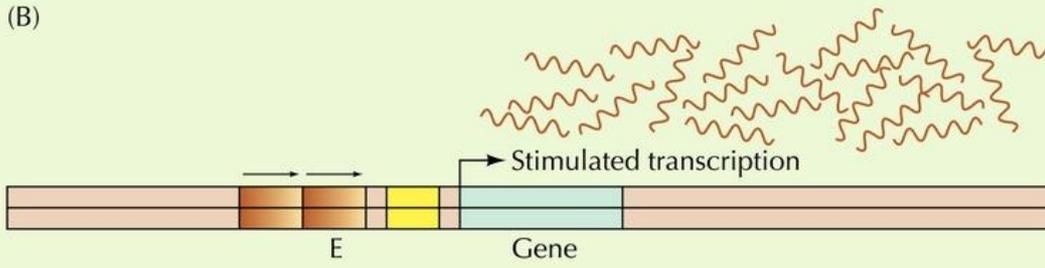
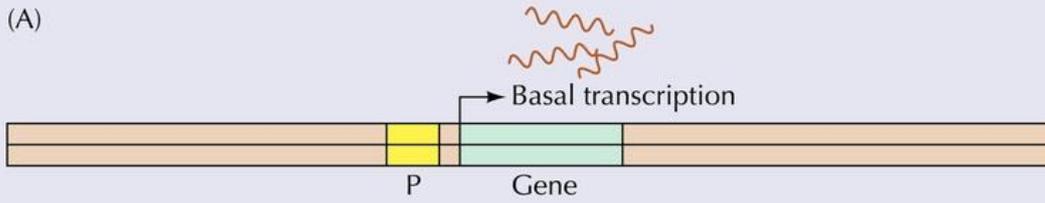


Энхансер
может быть
расположен в

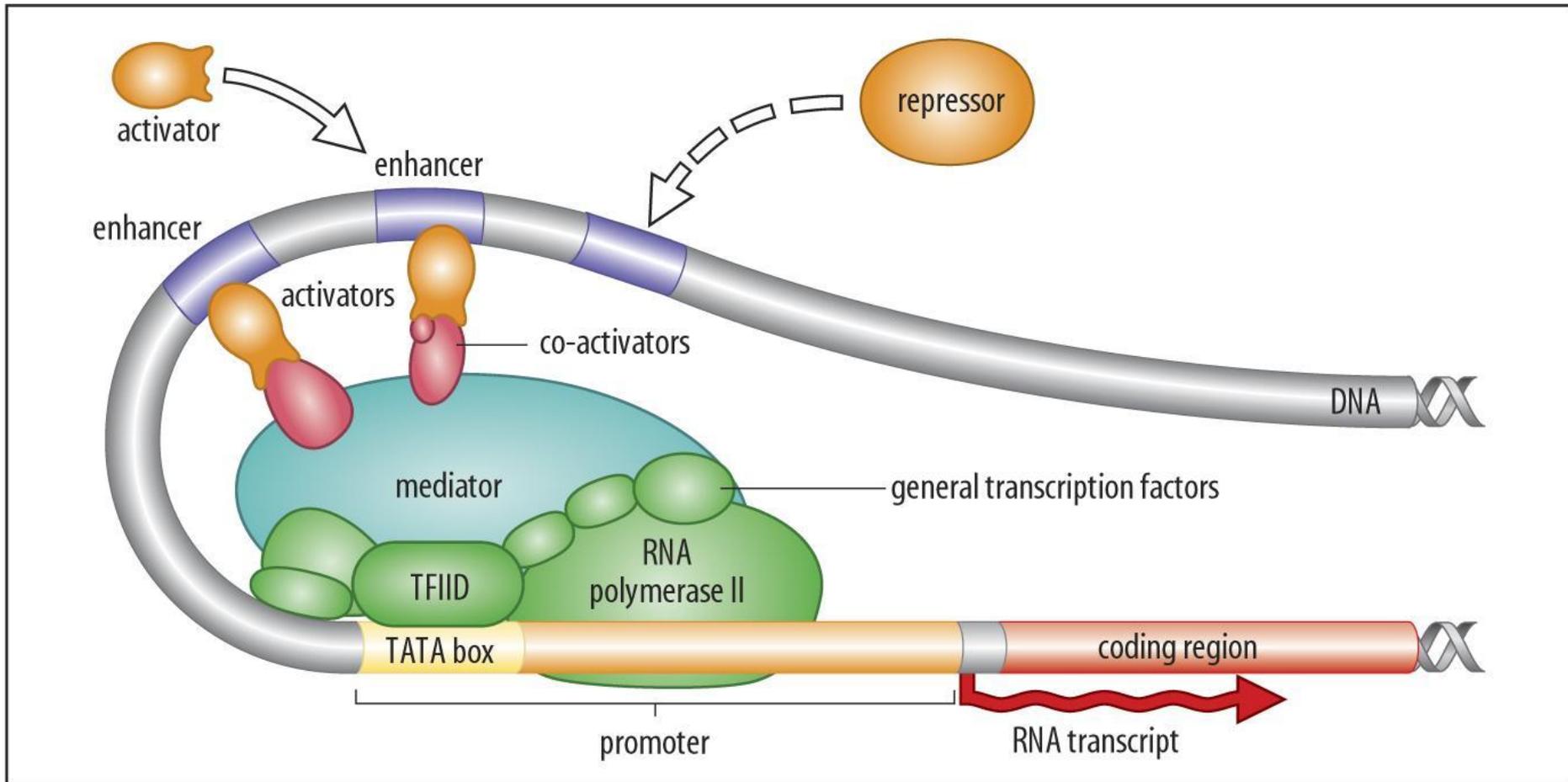
- области

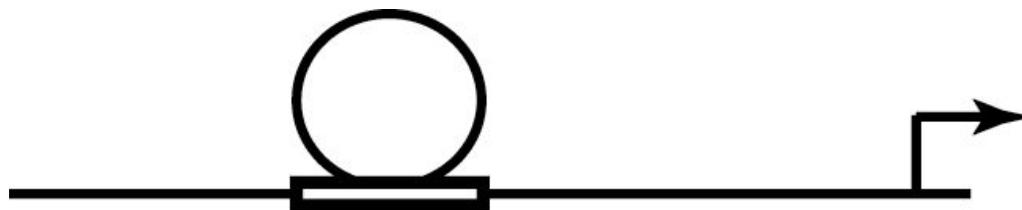
+ области

развернут



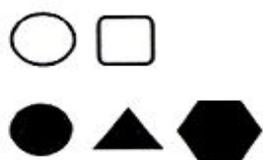
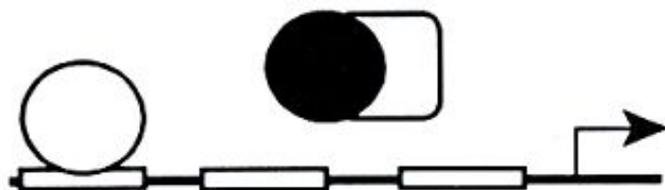
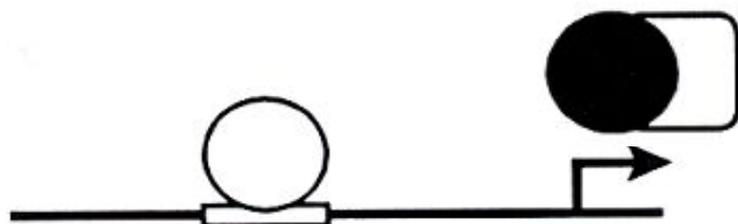
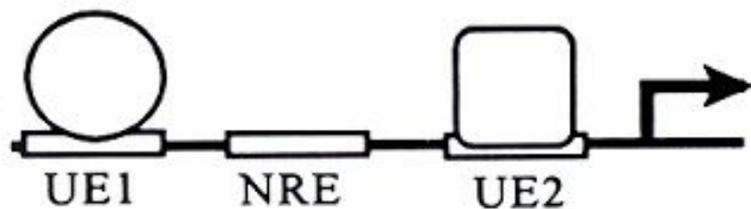
Медиатор





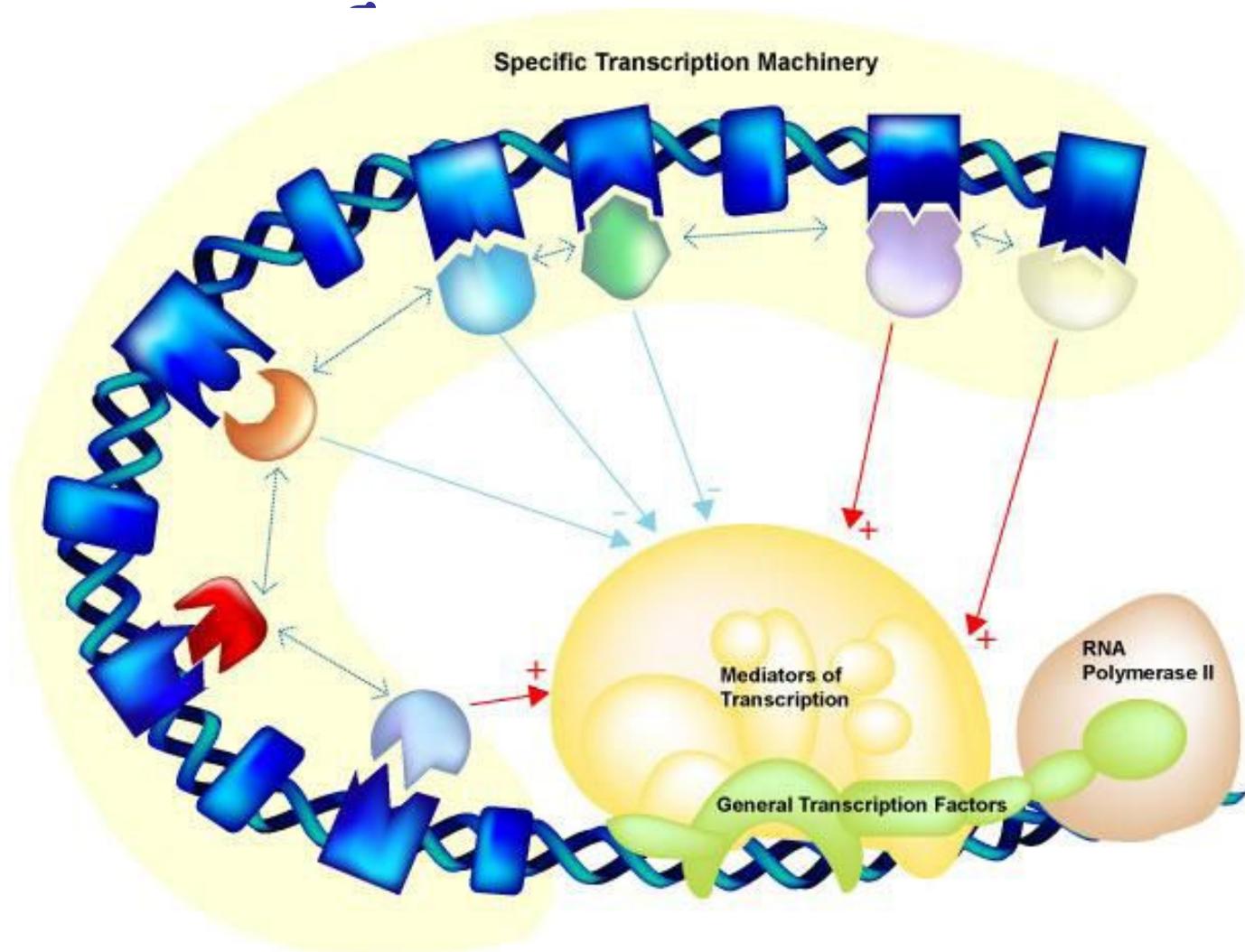
○ □ активаторы

● ▬ репрессоры



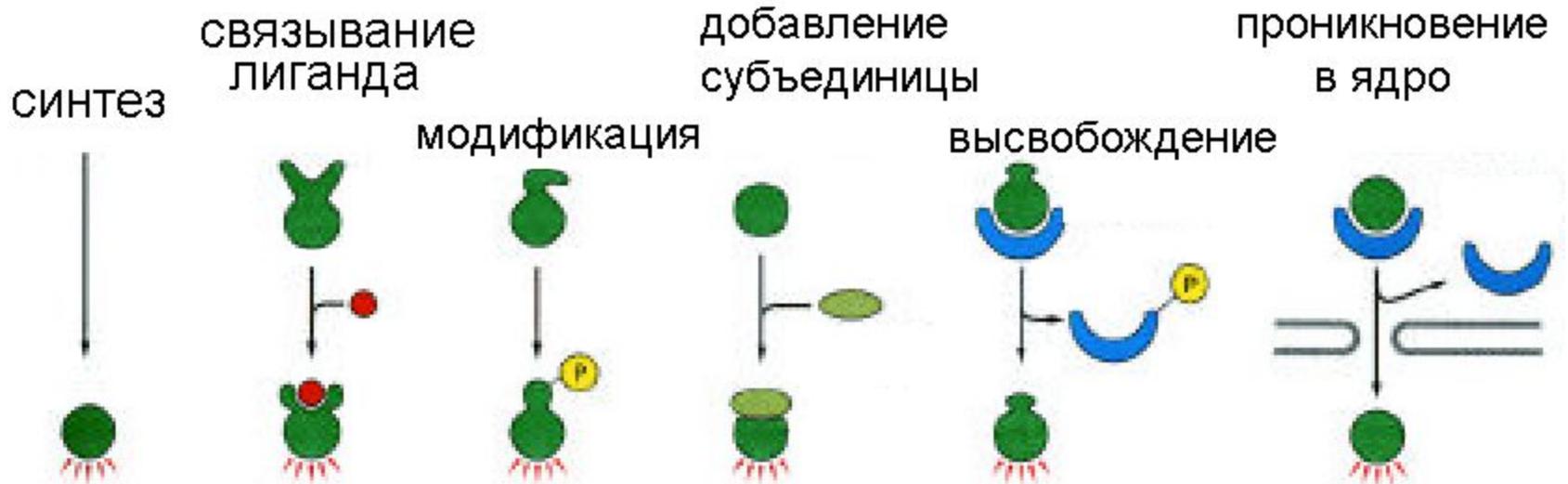
активаторы
репрессоры

Уровень транскрипции определяется суммой воздействия



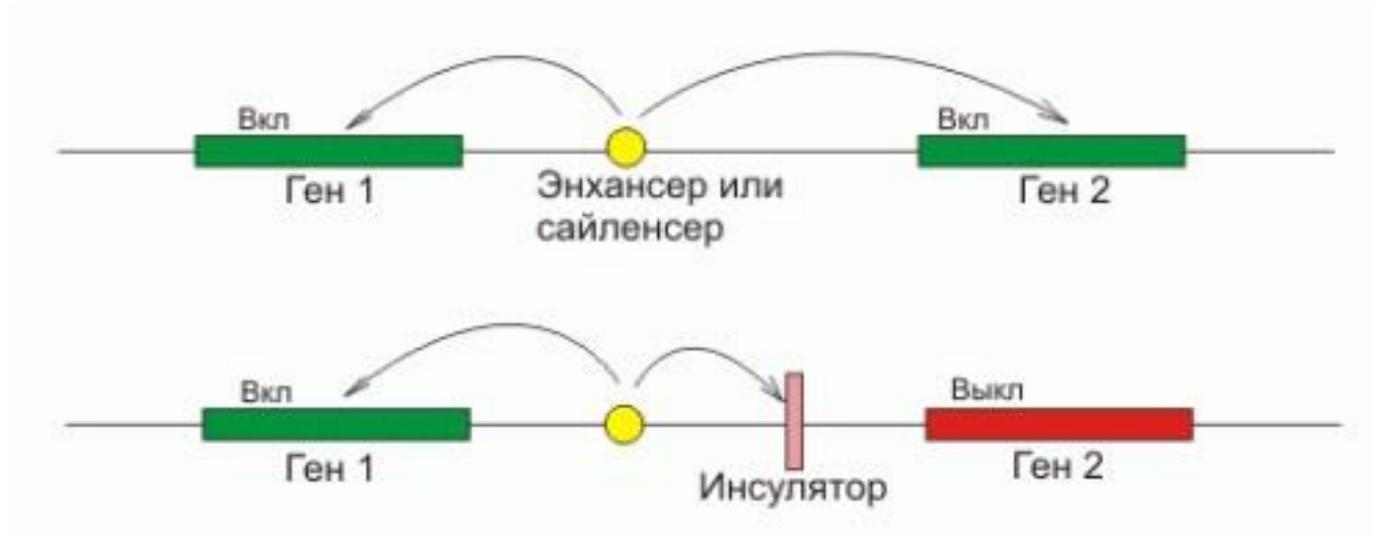
Способы активации регуляторов транскрипции

не активный регулятор



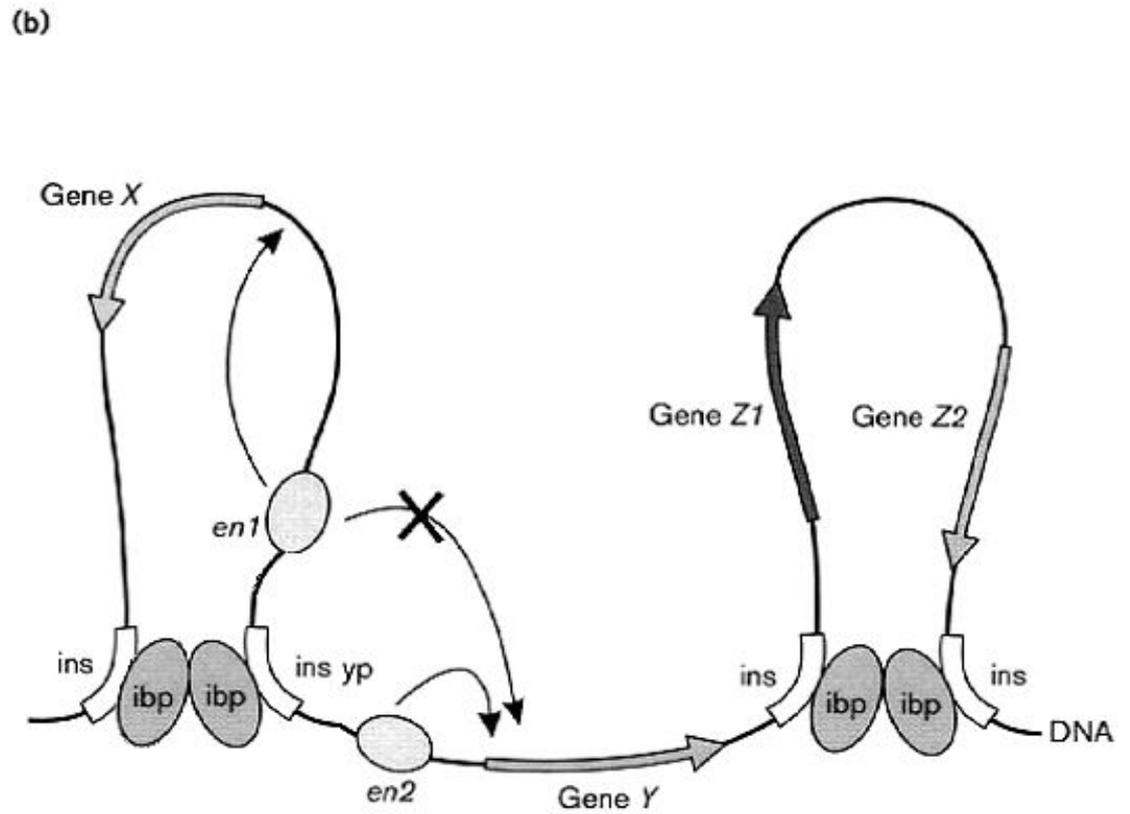
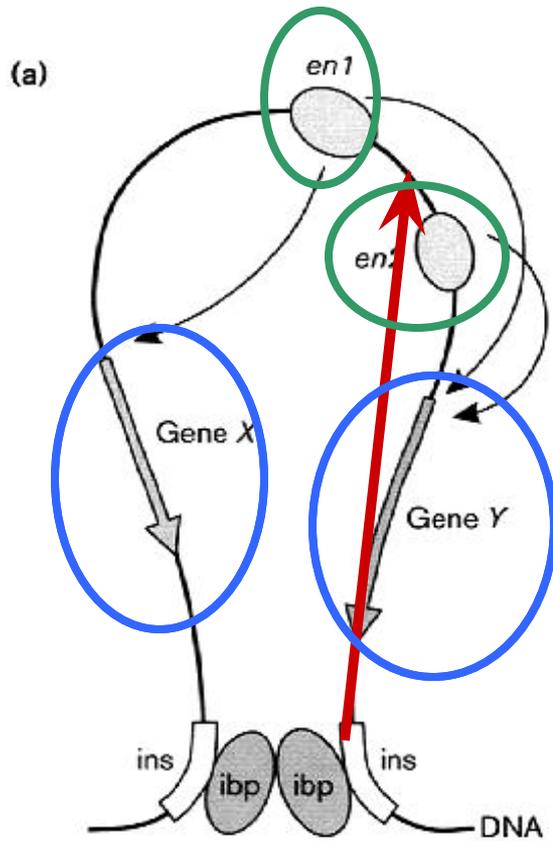
активный

Инсулятор

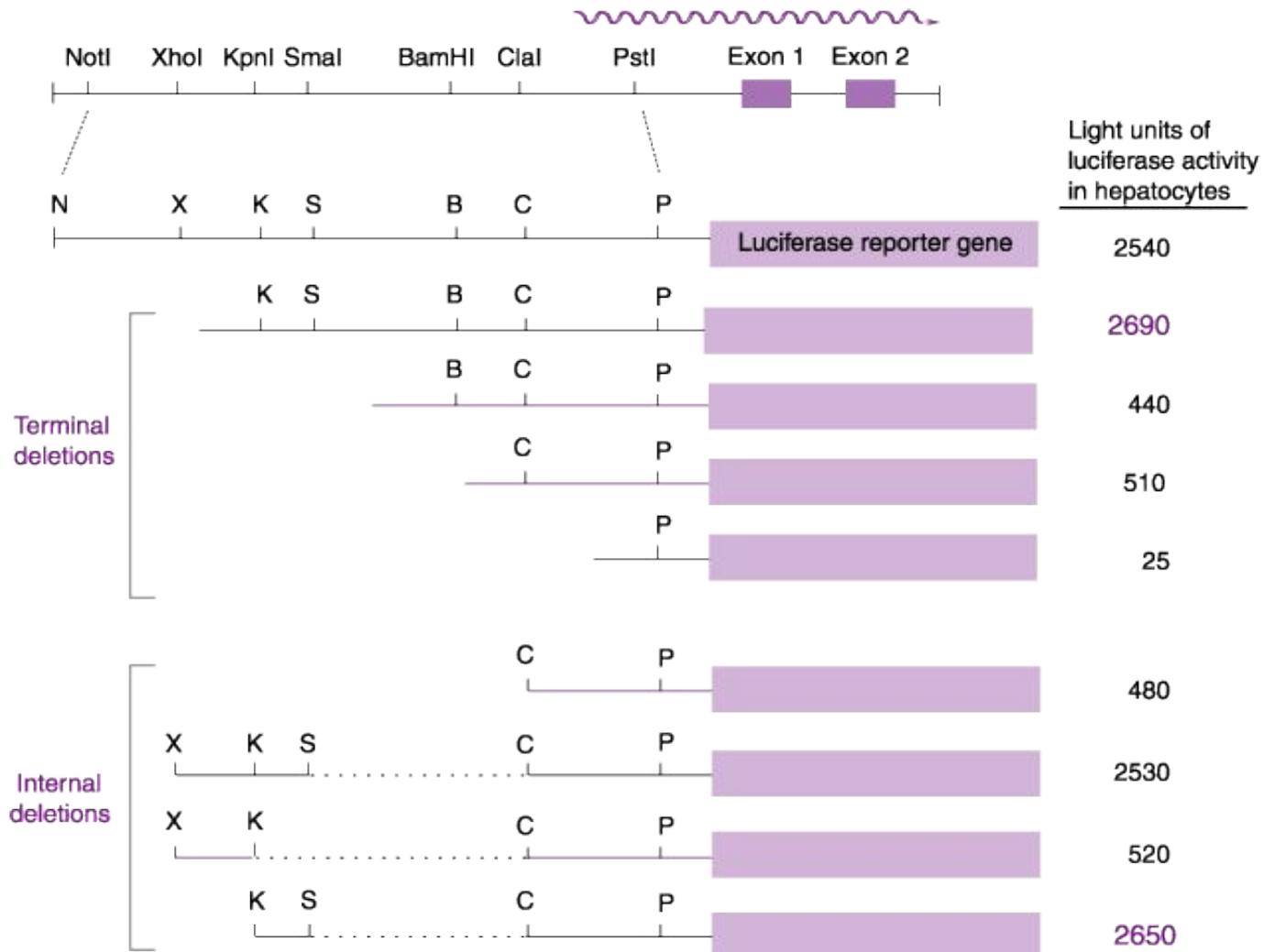


Инсулятор (insulator) — фрагмент ДНК, способный блокировать взаимодействие между энхансером и промотором, если находится между ними

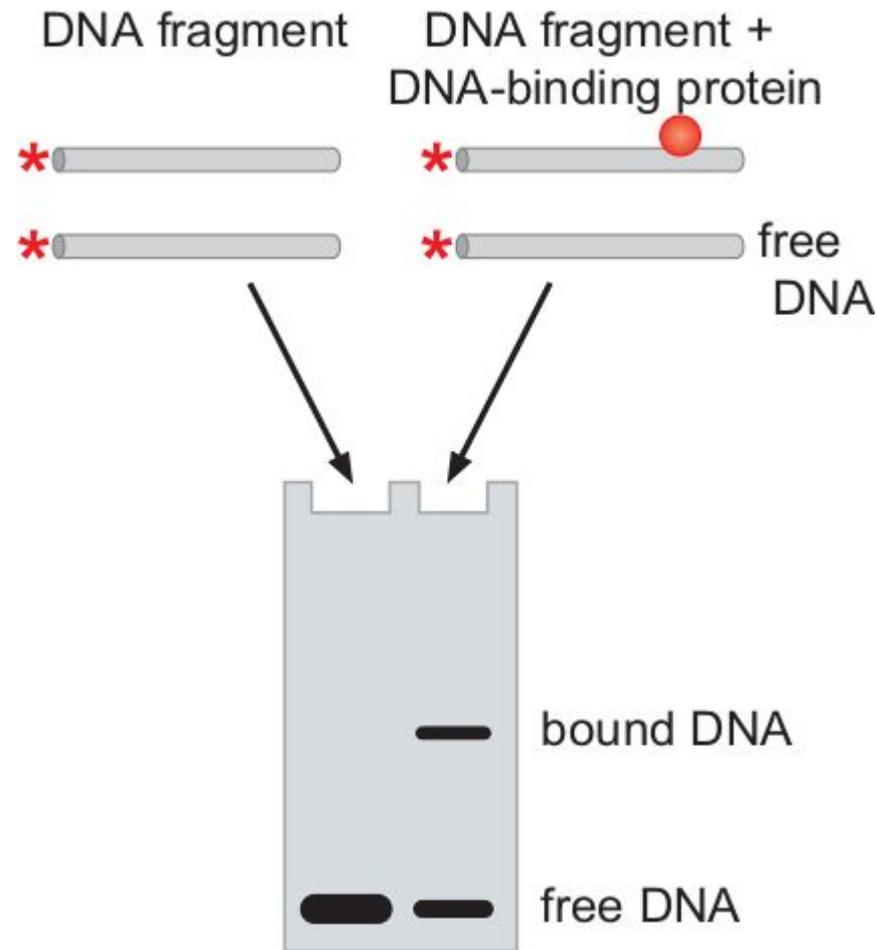
Инсулятор



Где расположен промотор?

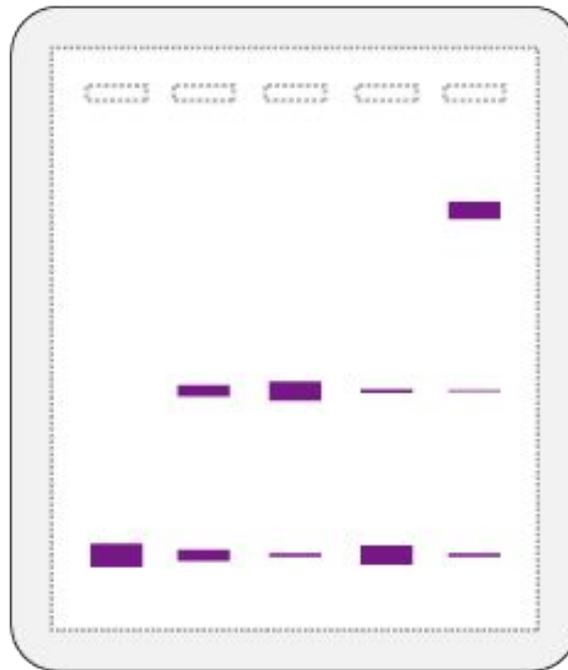


Gel-shift анализ

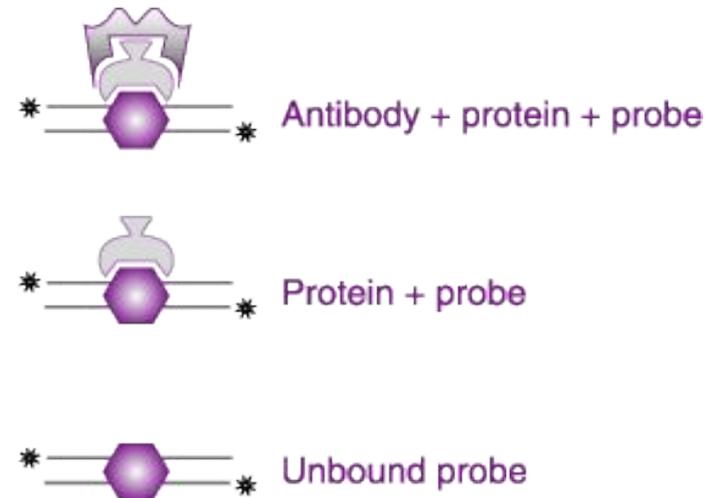


Gel-shift анализ

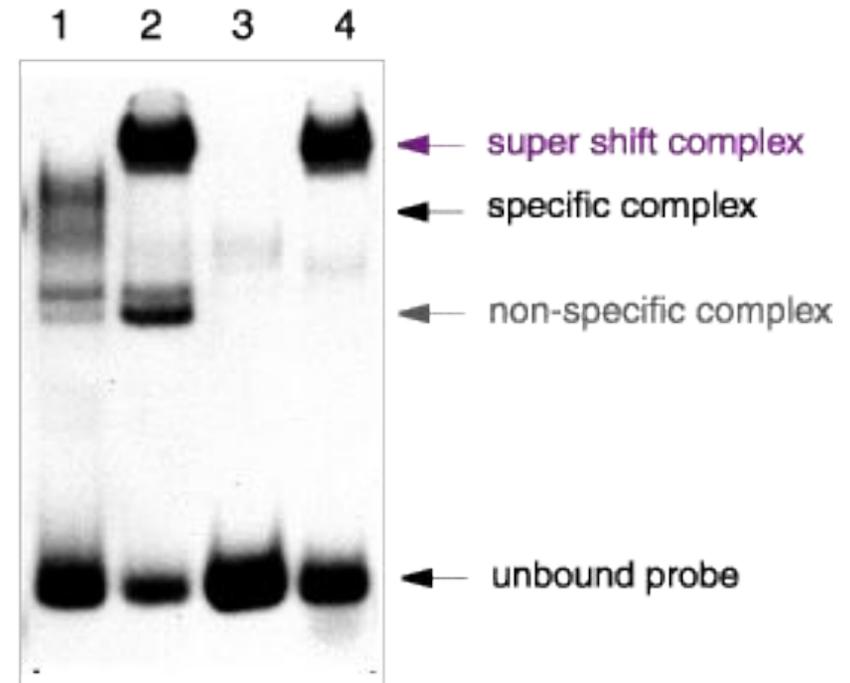
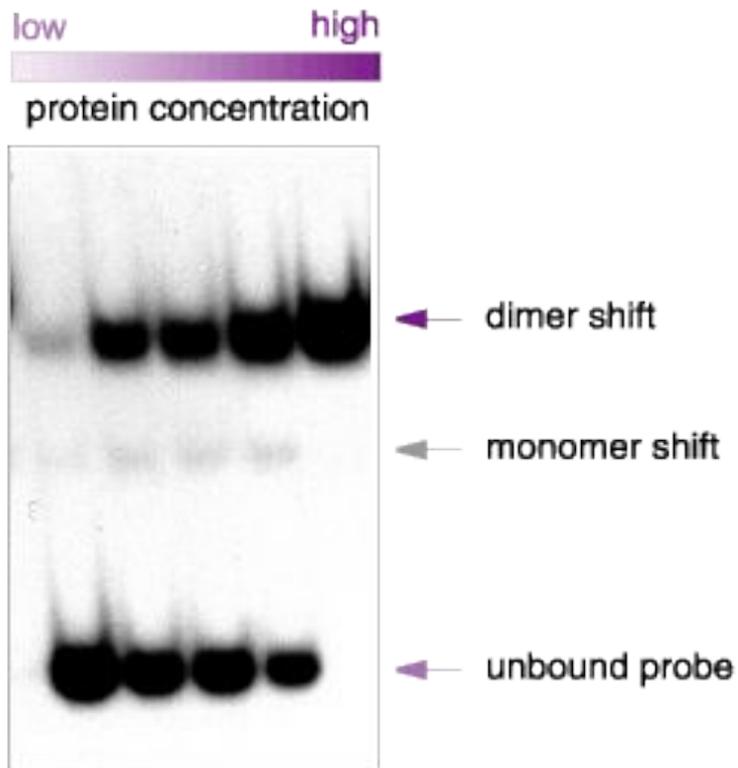
specific antibody	-	-	-	-	1x
unlabeled oligo	-	-	-	10x	-
protein	-	1x	10x	1x	10x
probe	1x	1x	1x	1x	1x



autoradiograph



Gel-shift анализ



1. extract
2. extract + antibody
3. extract + antibody + unlabeled specific oligo
4. extract + antibody + unlabeled non-specific oligo

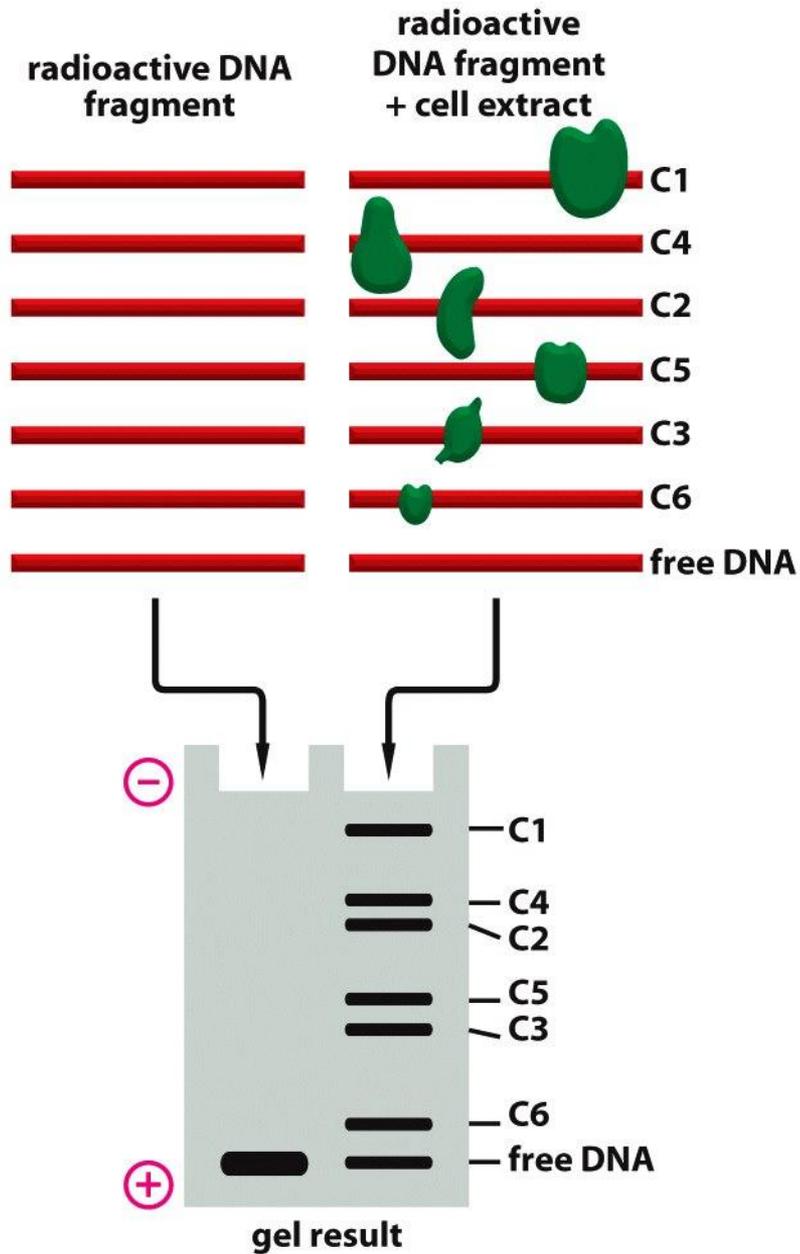


Figure 7-27a Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

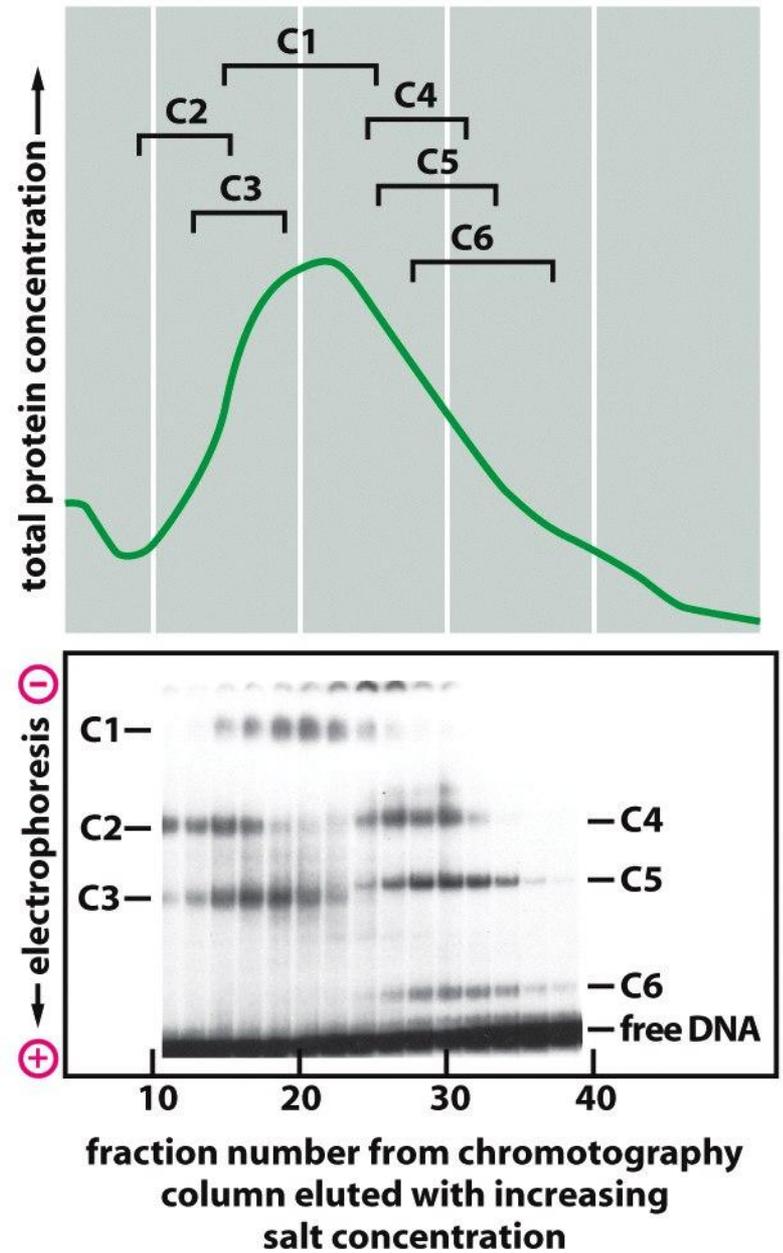
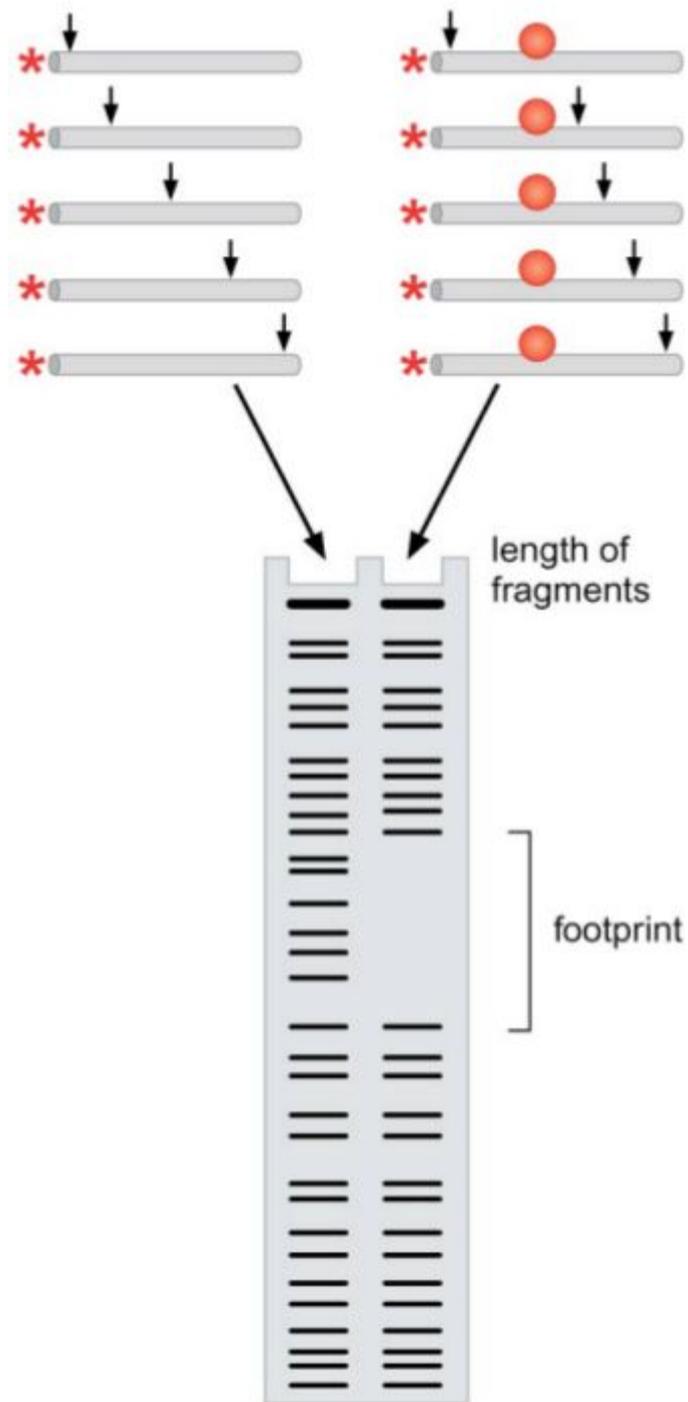
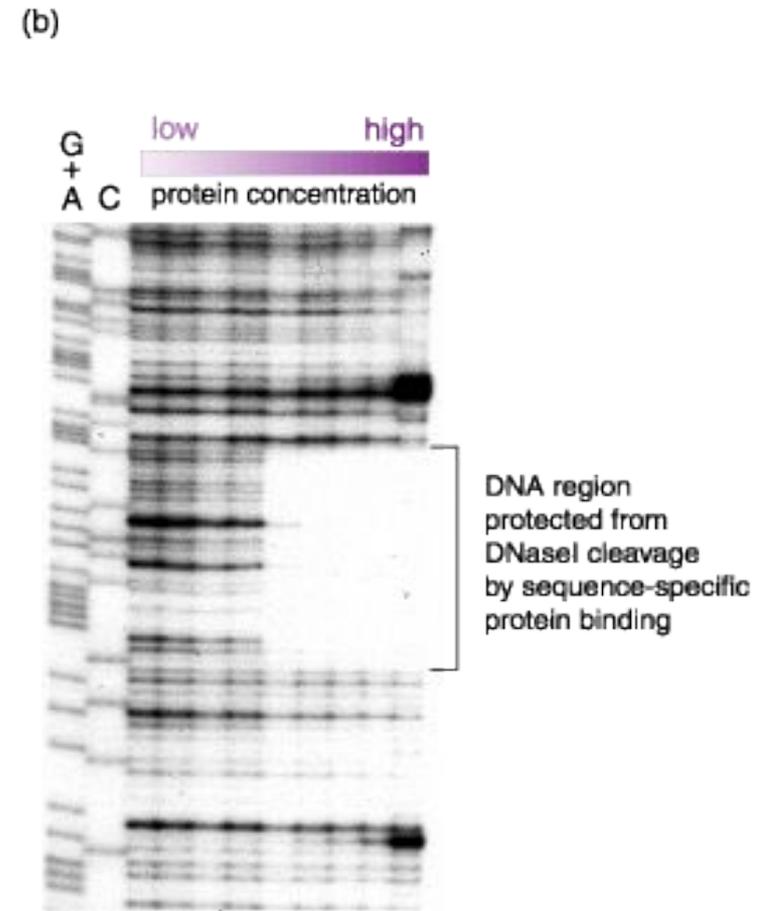
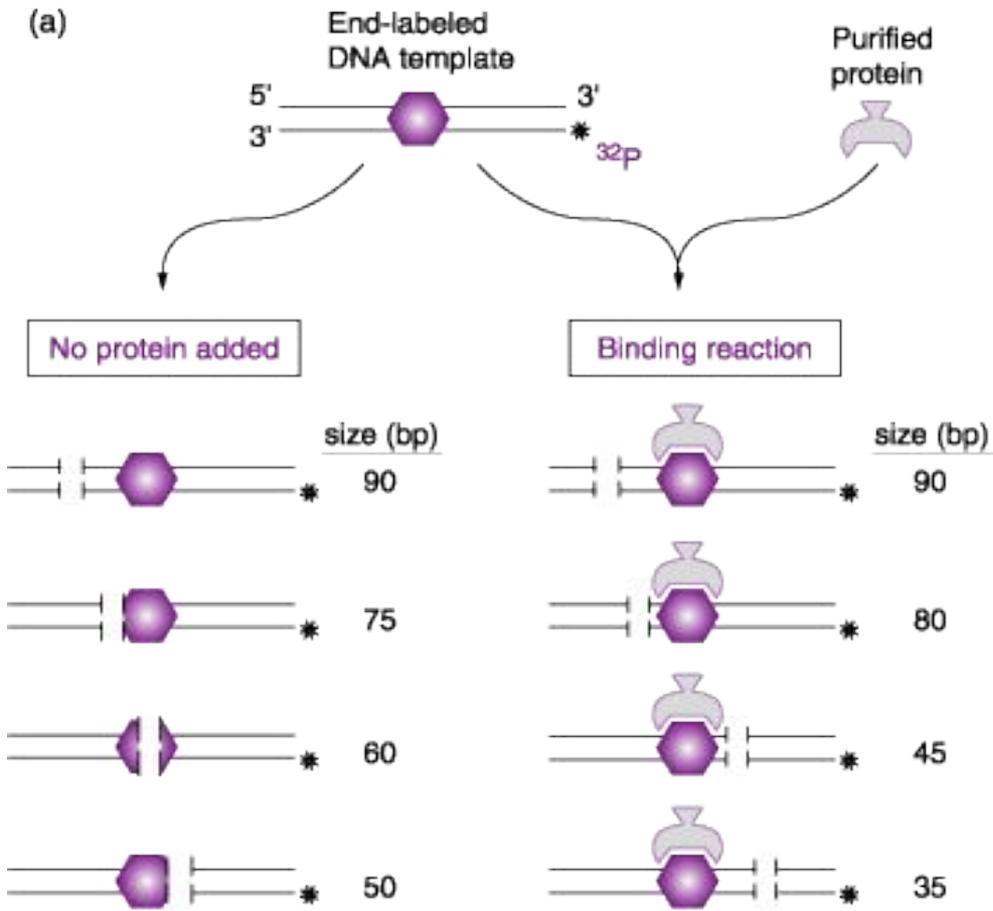


Figure 7-27b Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

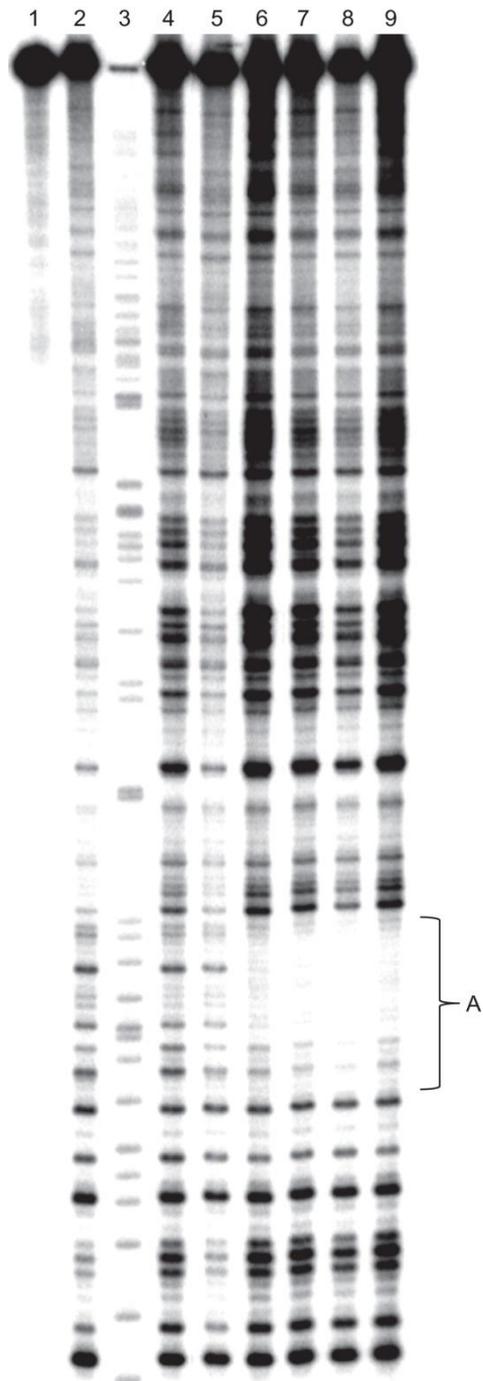
Футпринтинг, ДНКаза I



Футпринтинг

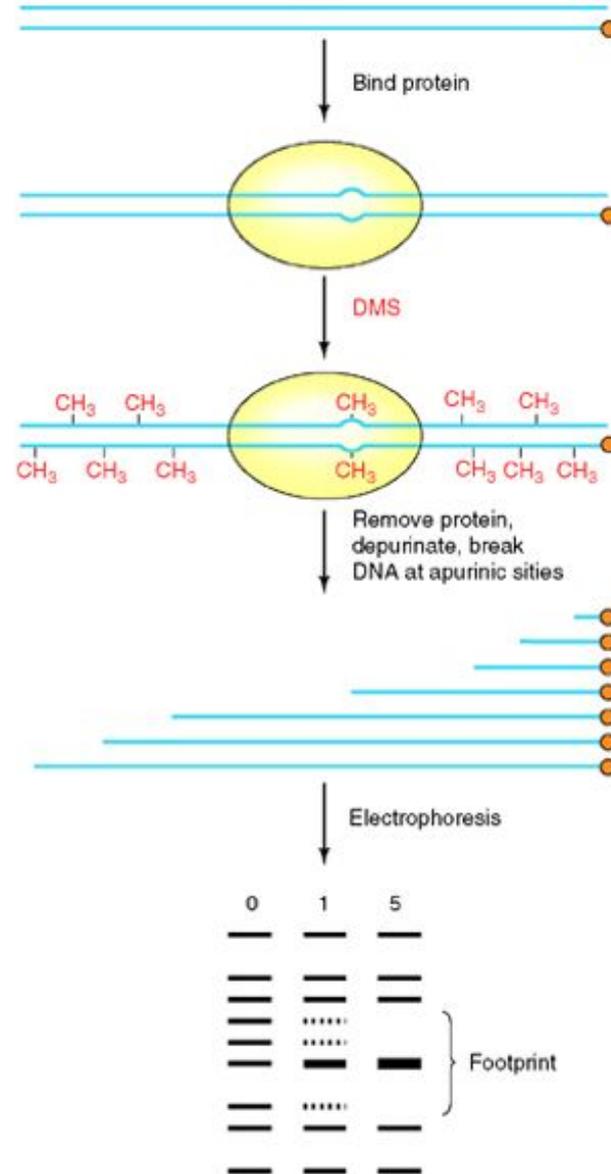


Футпринтинг



DMS Footprinting

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



(a)