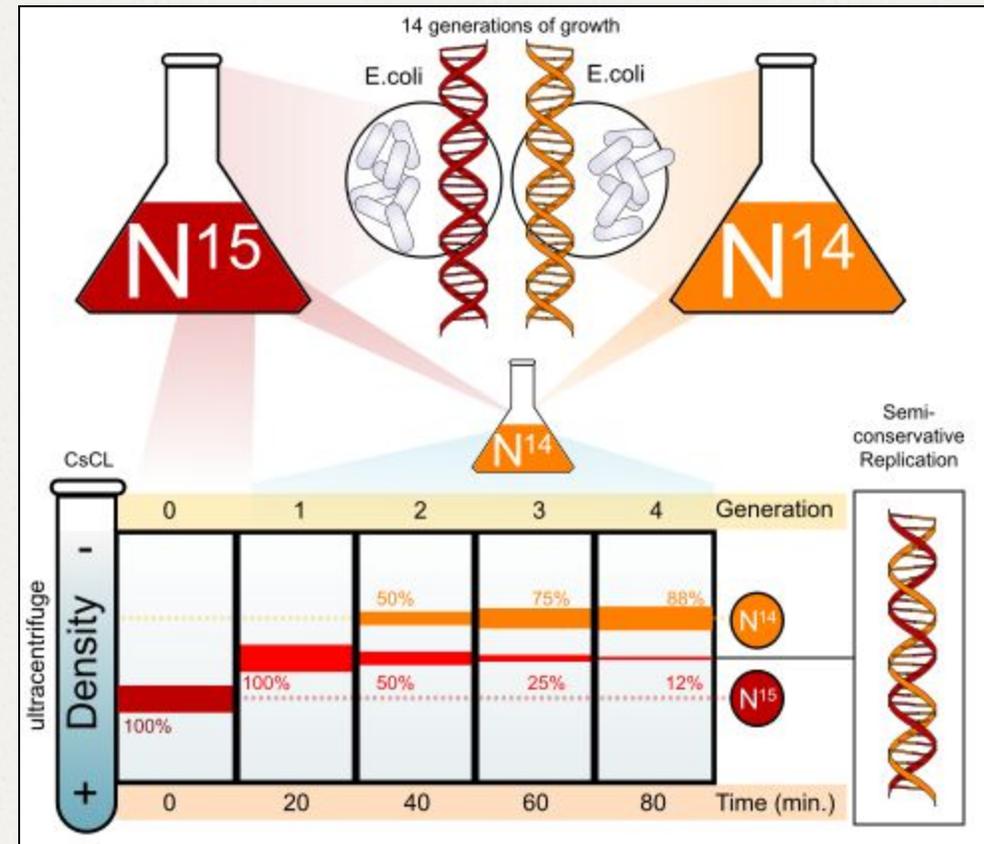
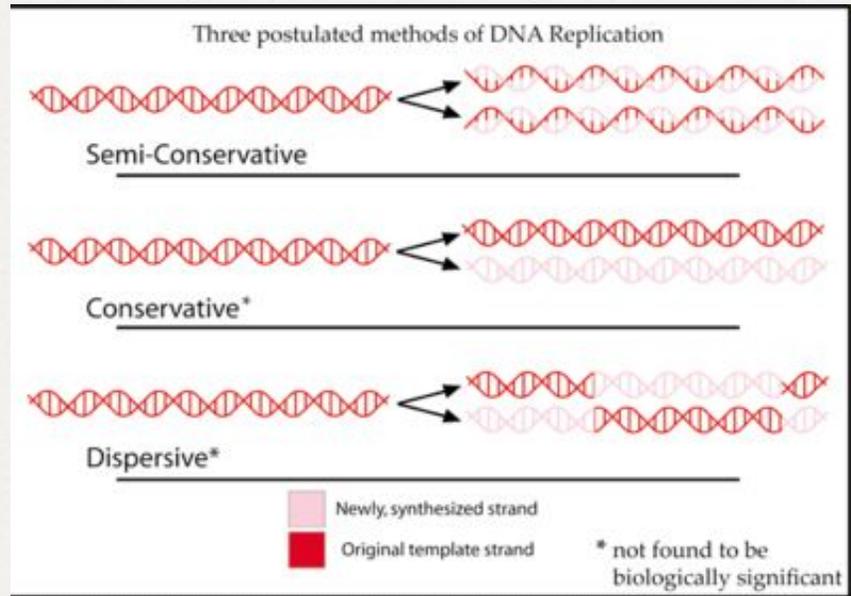


Лекция 4

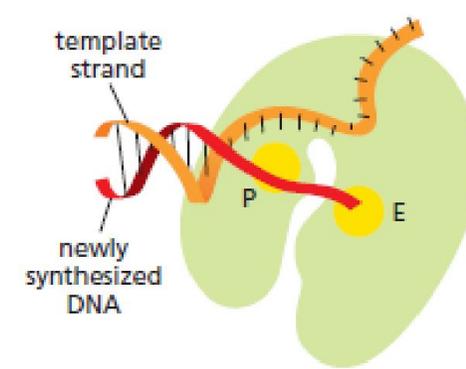
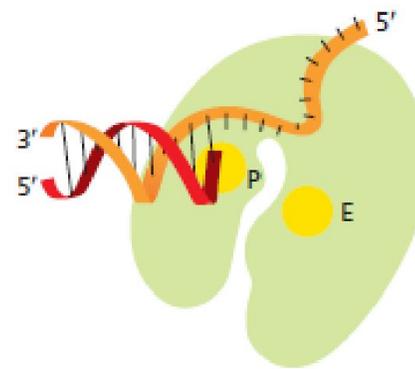
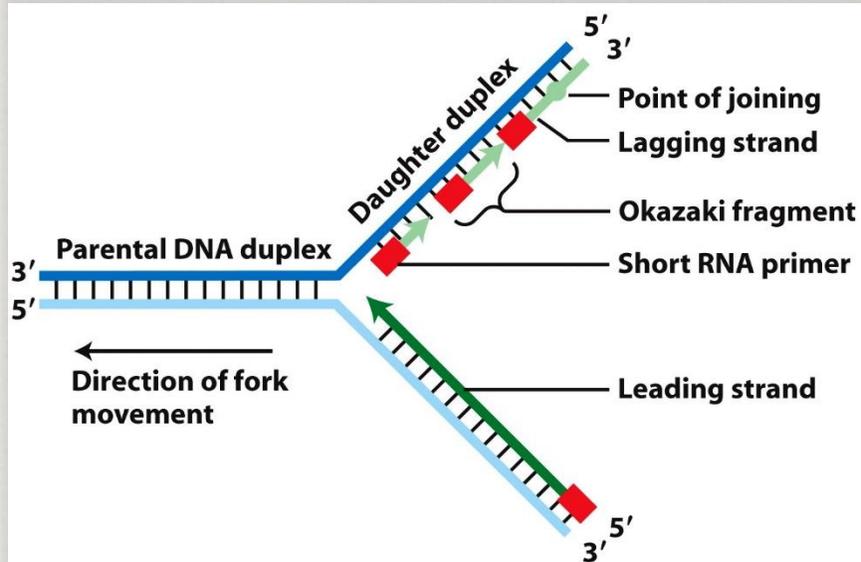
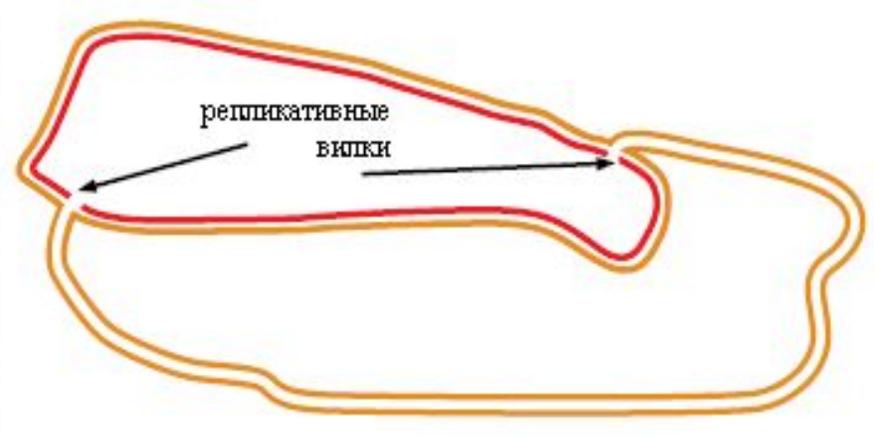
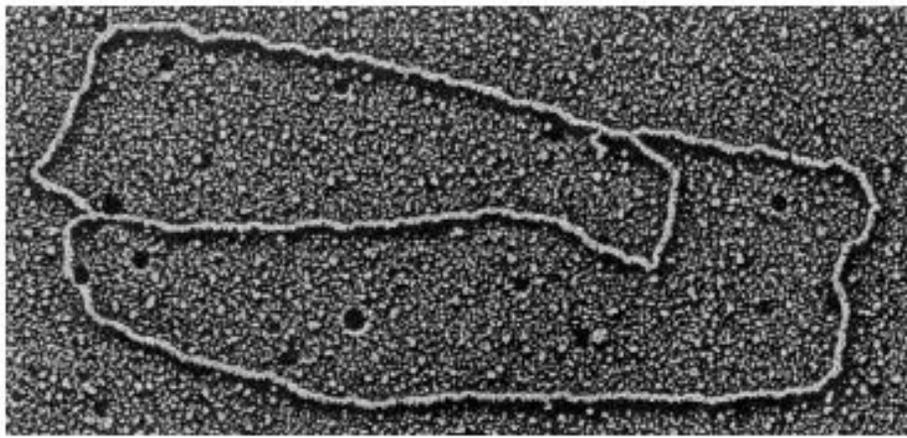
Репликация и транскрипция

Эксперимент Мезельсона и Сталя, 1958

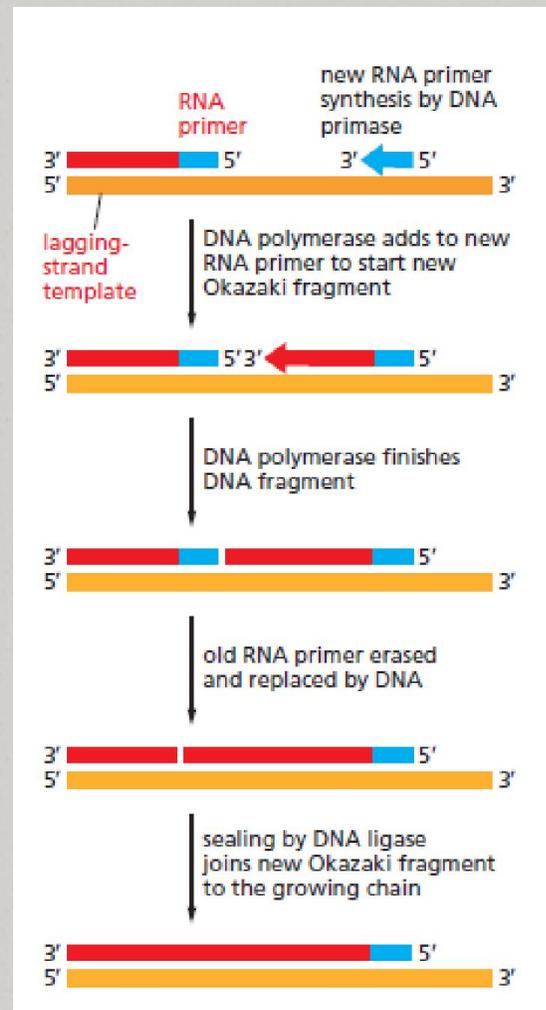
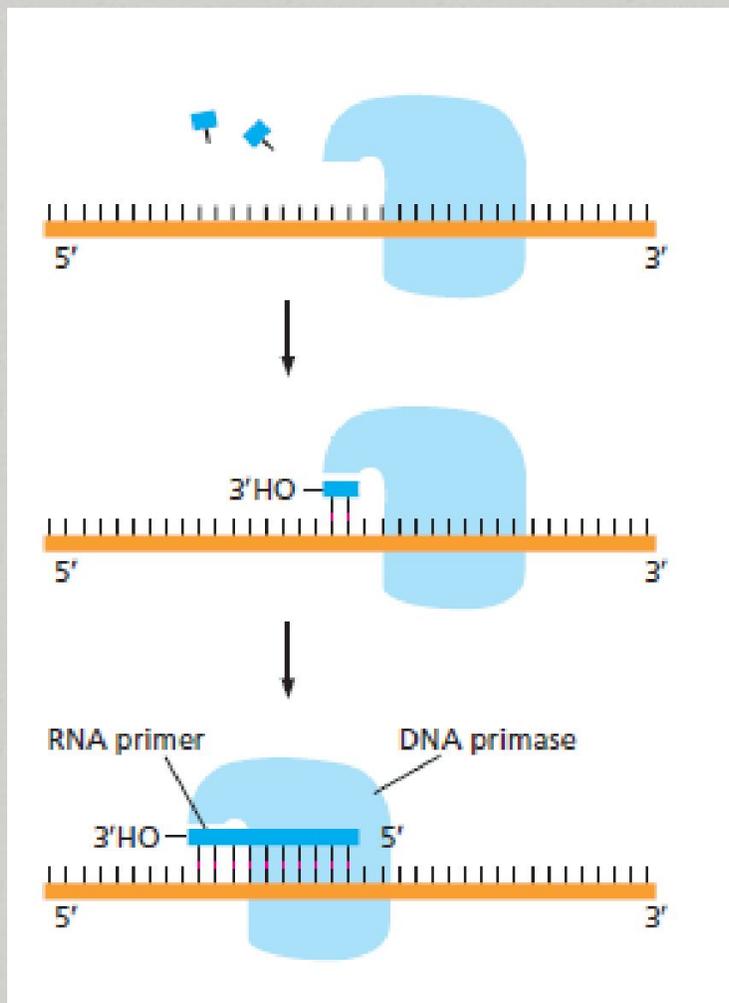


Доказательство гипотезы Уотсона-Крика о полуконсервативном характере репликации ДНК: анализ плавучей плотности ДНК, меченой изотопом азота N^{15} , в ряду поколений бактерий.

Репликативные вилки в кольцевой молекуле ДНК

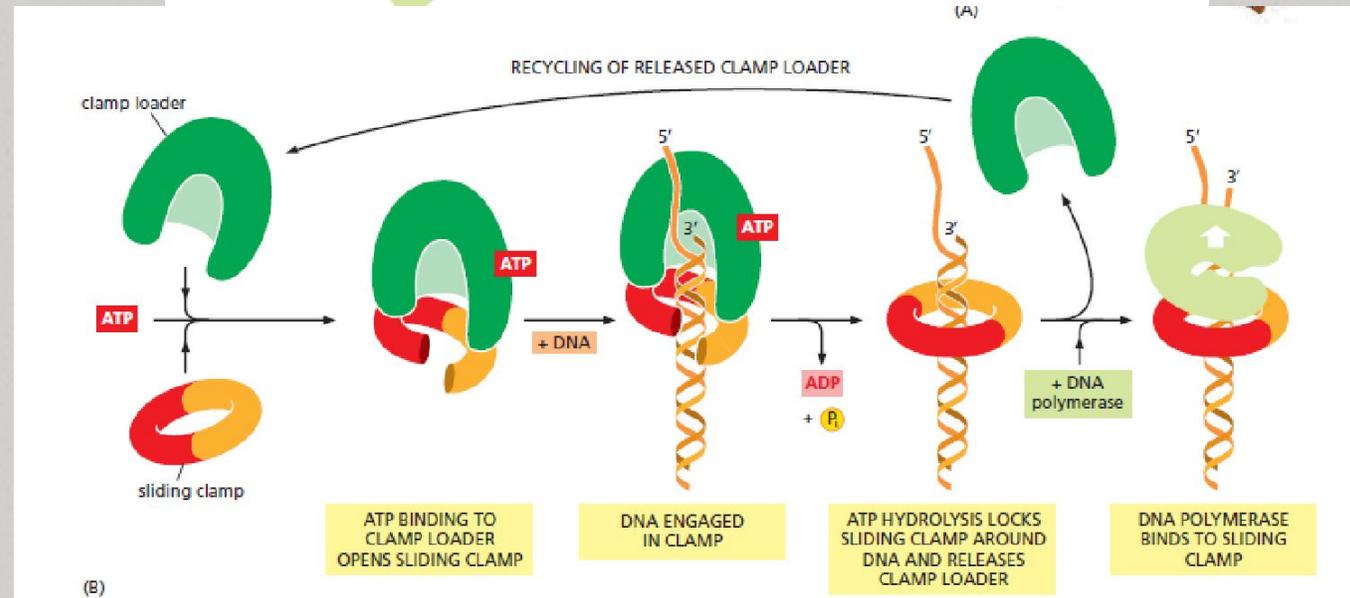
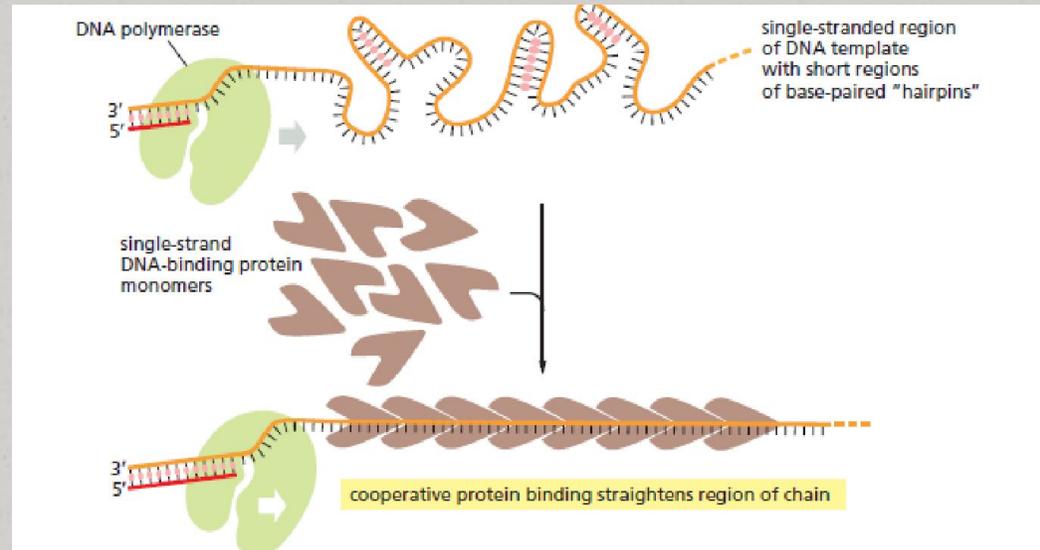
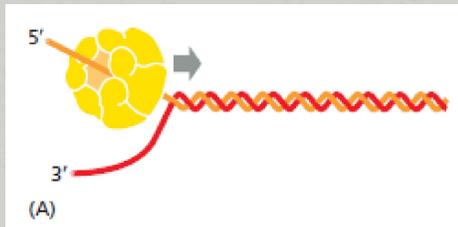


Как происходит синтез ДНК на отстающей цепи

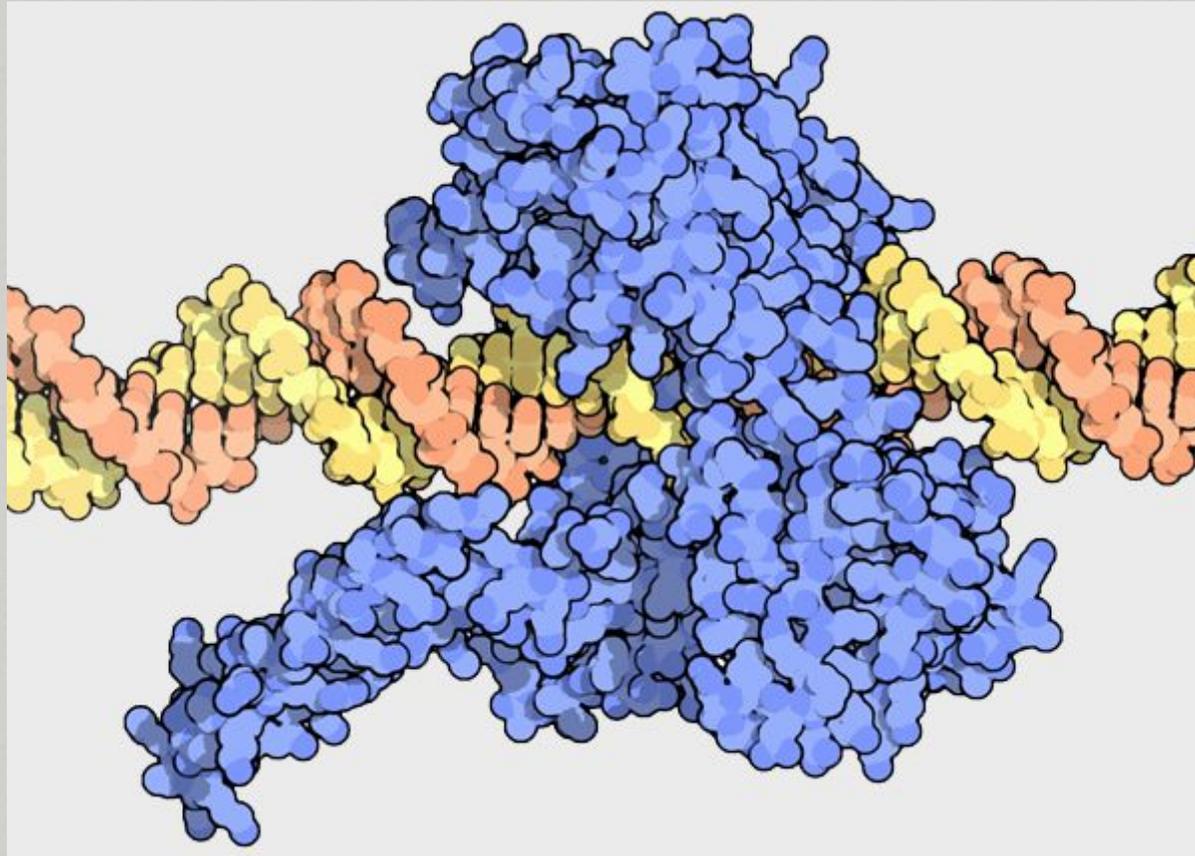


Раскручивание и стабилизация нити ДНК

- Хеликазы раскручивают цепь
- Стабилизирующие белки не дают образовываться двойной спирали
- Clamp slider удерживает ДНК-полимеразу на цепи ДНК

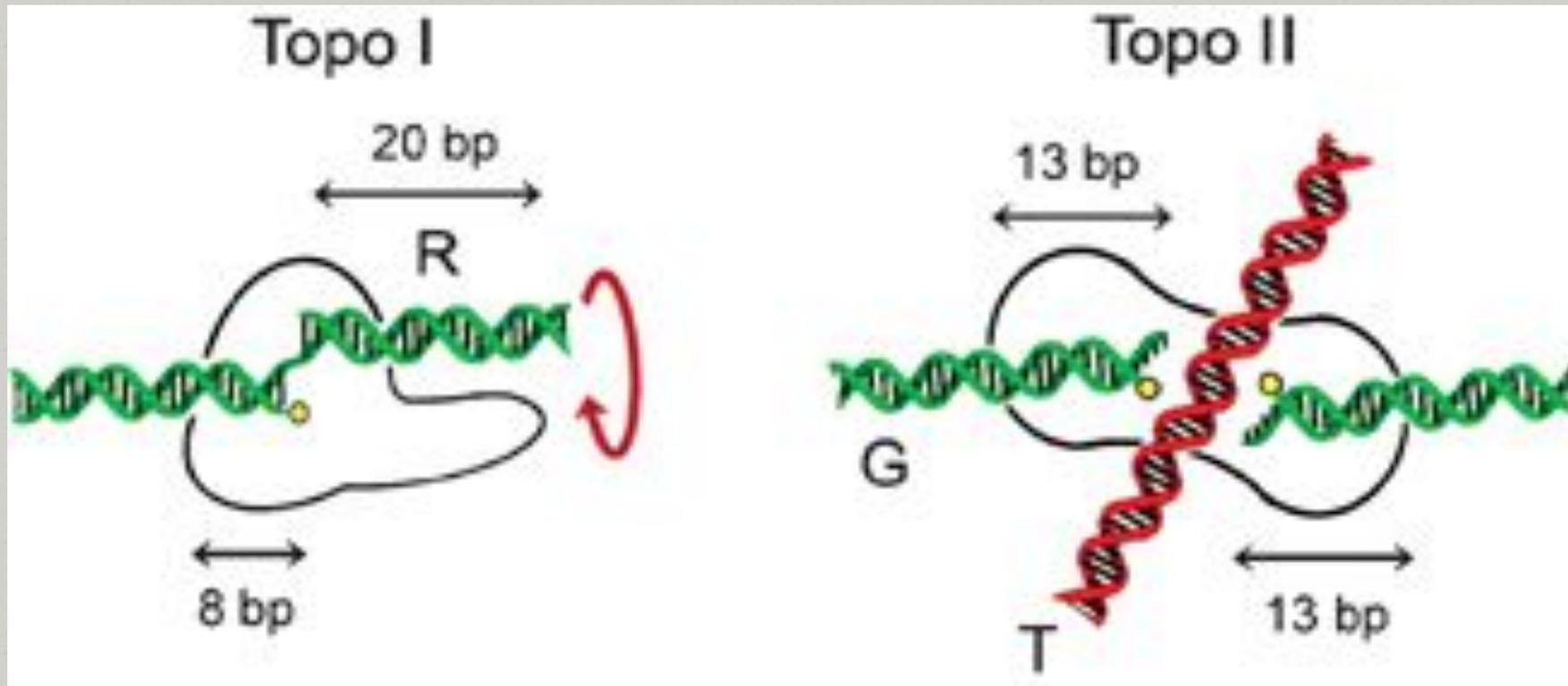


Разделение молекул ДНК



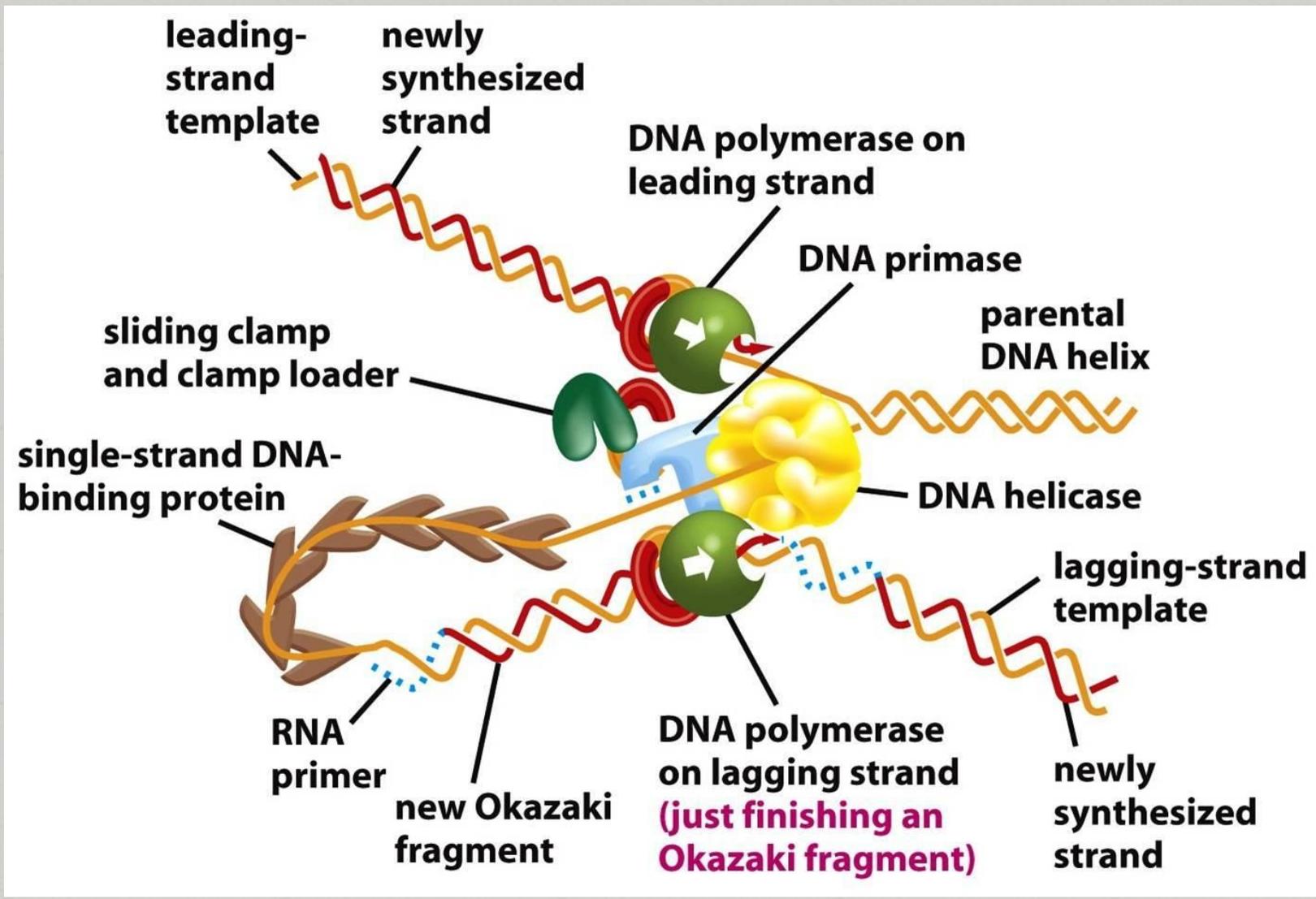
Топоизомеразы – ферменты (АТФ-азы), ответственные за разделение двух новых спиралей ДНК и снятие «сверхскручивания» путем внесения обратимых разрывов в ДНК.

Топоизомеразы



Топоизомераза I и **Топоизомераза III** создают однонитевые разрывы в молекуле ДНК и восстанавливают их после релаксации.

Топоизомераза II создает и восстанавливает двухнитевые разрывы, через которые протаскивается вторая двойная спираль ДНК.



Регуляция синтеза ДНК

Отрицательный контроль репликации: геминин (25 кД). Он препятствует сборке МСМ на новосинтезированной ДНК.

Геминин разрушается во время деления (после наступления анафазы) с помощью APC и отсутствует в G_1 , он синтезируется и накапливается начиная с S-фазы.

В нормальных клетках есть дополнительный контроль за репликацией (циклин А), во многих опухолевых остается только геминин.

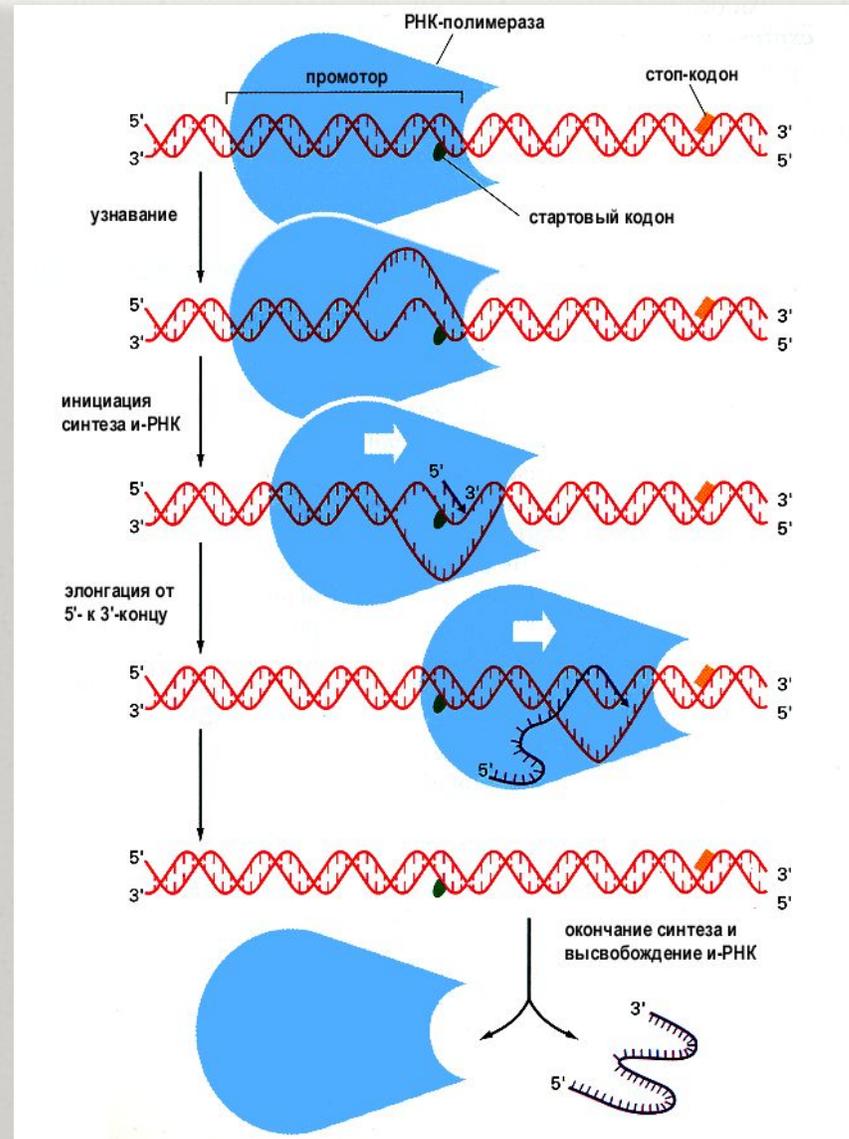
Контроль точности синтеза ДНК

- специфичность ДНК-полимераз;
- внешняя проверка новообразованной ДНК считыванием;
- восстановление неправильных нуклеотидов после S-фазы.

Частота ошибок репликации находится в диапазоне 10^{-8} – 10^{-7} на нуклеотид на один цикл репликации.

Матричный синтез РНК - транскрипция

Все молекулы РНК сначала синтезируются на участках молекулы ДНК (рамки считывания), а после отделения от матрицы у эукариот модифицируются (процессинг).



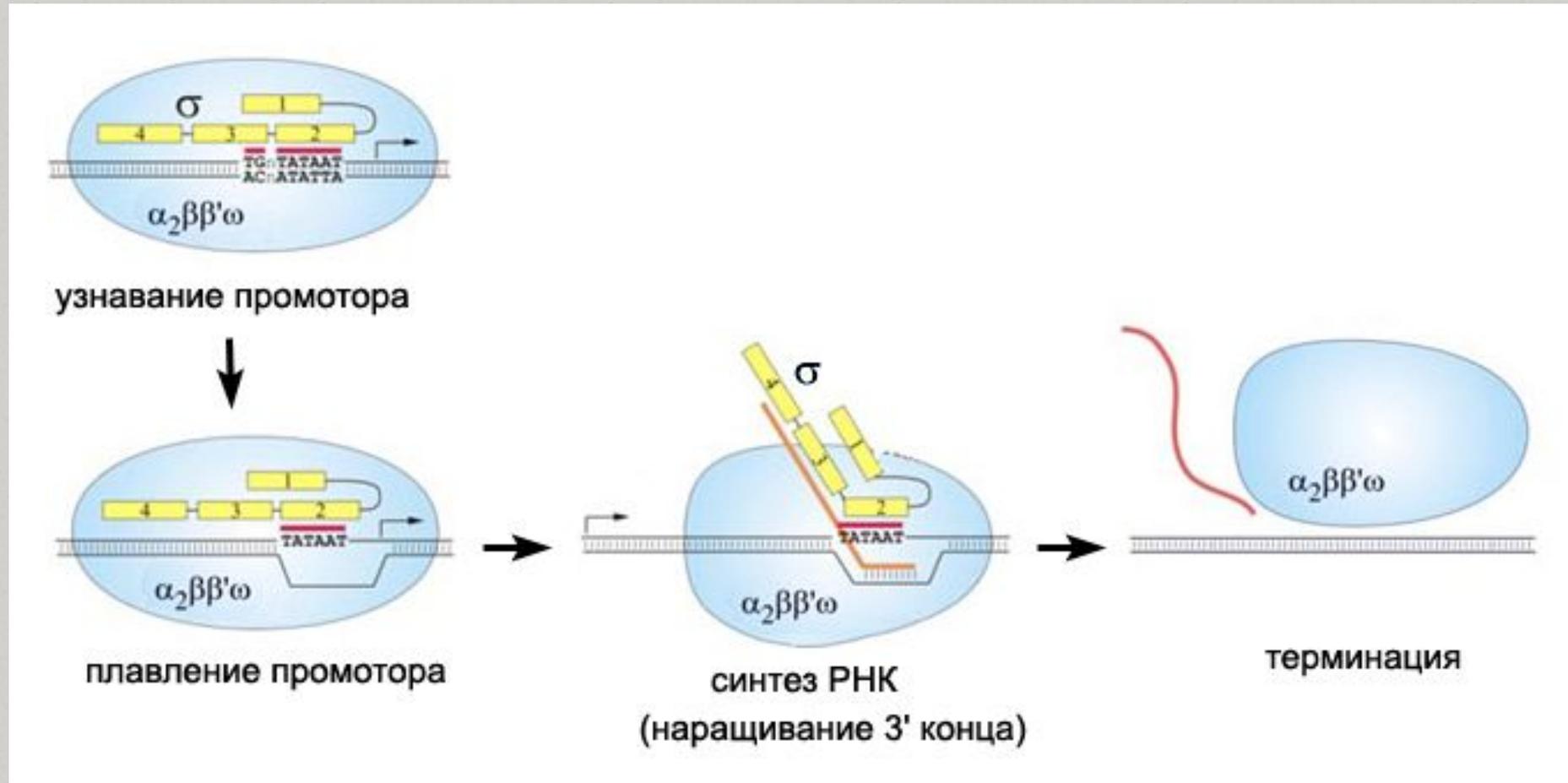
Транскрипция

Молекула РНК всегда синтезируется на матрице ДНК с помощью комплексов РНК-полимераз.

РНК-полимераза движется по молекуле ДНК в одну сторону (от 3' конца к 5' концу) и синтезирует РНК, комплементарную одной цепи ДНК. Синтез РНК начинается на стартовом кодоне и заканчивается на стоп-кодоне. Для узнавания стартового кодона существует промотор – специальный участок, расположенный раньше (upstream) на молекуле ДНК. Этот участок включает ТАТА-бокс.

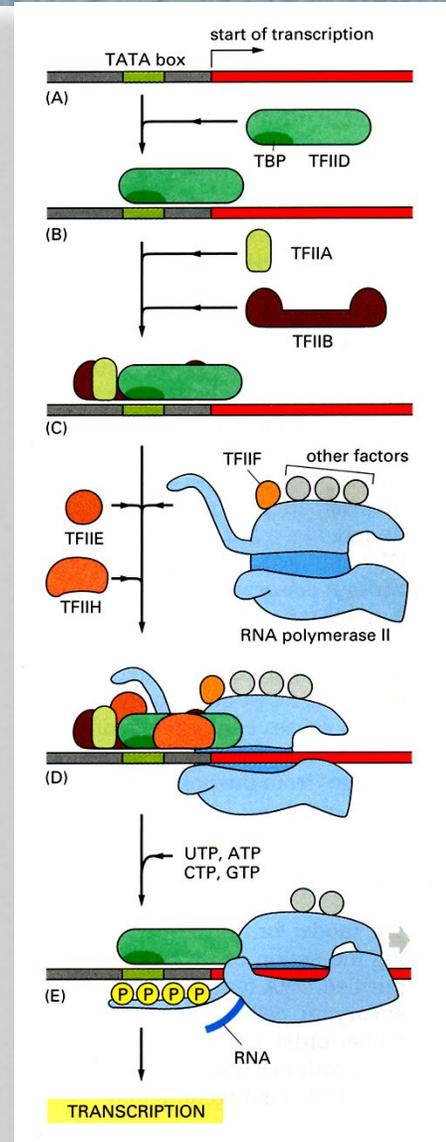
Узнавание стартового кодона – сложный кооперативный процесс, в котором последовательно участвует несколько белков (факторы транскрипции, РНК-полимераза и др.).

Посадка РНК-полимеразы на ДНК



Плавление – TATA-box; элонгация – вытеснение σ -субъединицы; терминация – терминирующий кодон

**Инициация
РНК-полимеразы
происходит с помощью
факторов транскрипции
– белков, узнающих
определенные
последовательности
ДНК**



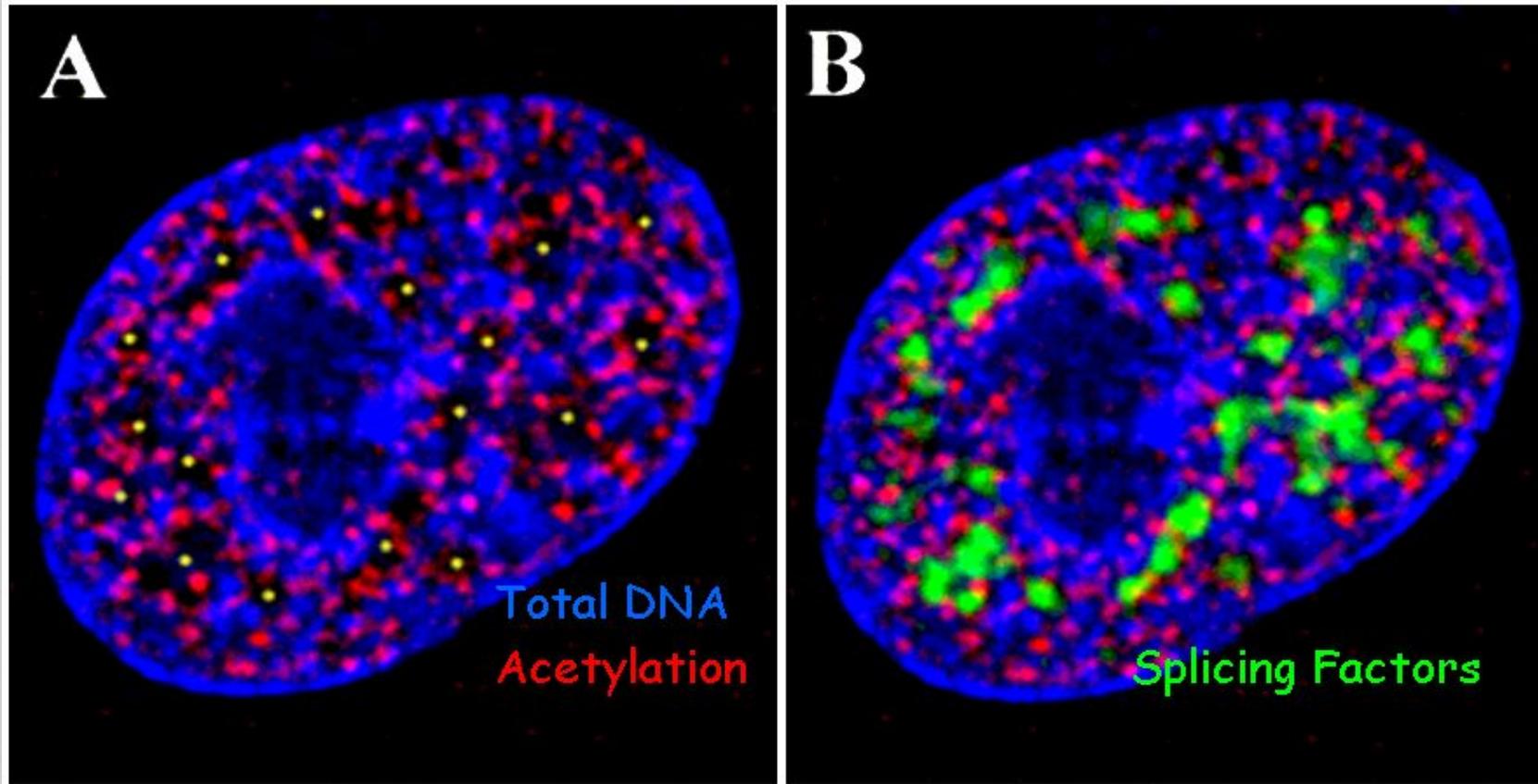
Виды РНК-полимераз

- РНК – полимераза 1 – большинство рибосомных генов
- РНК – полимераза 2 – все гены, кодирующие белки, миРНК, и другие некодирующие РНК
- РНК – полимераза 3 – тРНК, 5S рРНК

Виды молекул РНК

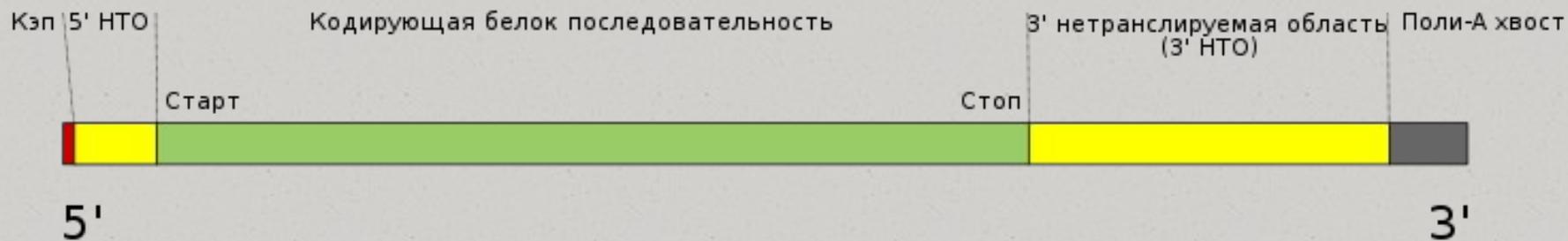
1. информационные РНК – по числу белков (РНК-полимераза II)
2. рибосомные – 4 (РНК-полимераза I для 28S, 18S, 5,8S и РНК-полимераза III для 5S)
3. транспортные – не менее 31, но меньше числа кодонов (61) (РНК-полимераза III)
4. малые ядерные/ядрышковые РНК – несколько десятков, 2 класса (РНК-полимеразы II или III)
5. микроРНК (21-22 нуклеотида) – известно сейчас более 2000 (РНК-полимеразы II и III)

Транскрипционные фабрики



Комплекс из нескольких РНК-полимераз II, факторов процессинга, сплайсинга и коррекции транскрипта.

Структура молекулы и-РНК



Посттранскрипционные преобразования и-РНК:

- 1. Сплайсинг – удаление вставок (интронов) внутри кодирующей последовательности молекулы**
- 2. Процессинг – укорочение молекулы с 5'- и 3'-концов**
- 3. Формирование кэпа из нескольких нуклеотидов на 5'-конце**
- 4. Надстройка поли-А на 3'-конце**

Посттранскрипционные преобразования и-РНК

- 1. Кэпирование (защита) 5'-конца**
- 2. Сплайсинг – удаление вставок (интронов)**
- 3. Процессинг – укорочение с 5'- и 3'-концов**
- 4. Надстройка поли-А на 3'-конце**

Последовательность сплайсинга и-РНК

