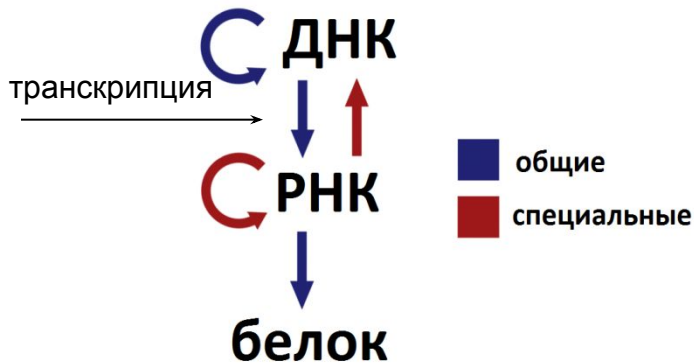
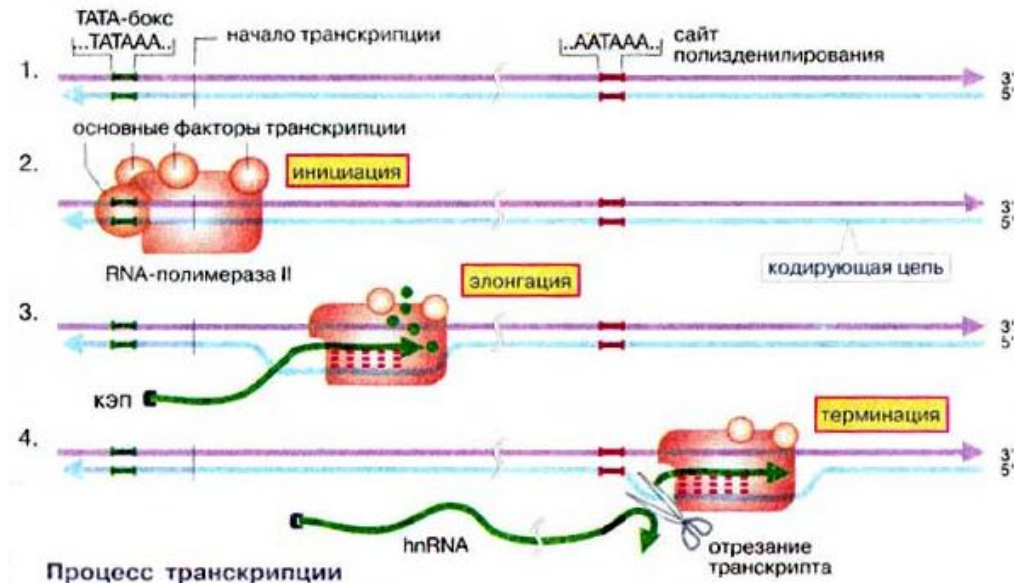


ТРАНСКРИПЦИЯ

- процесс синтеза РНК на матрице ДНК, происходящий во всех живых клетках



ДНК-зависимая РНК-полимераза

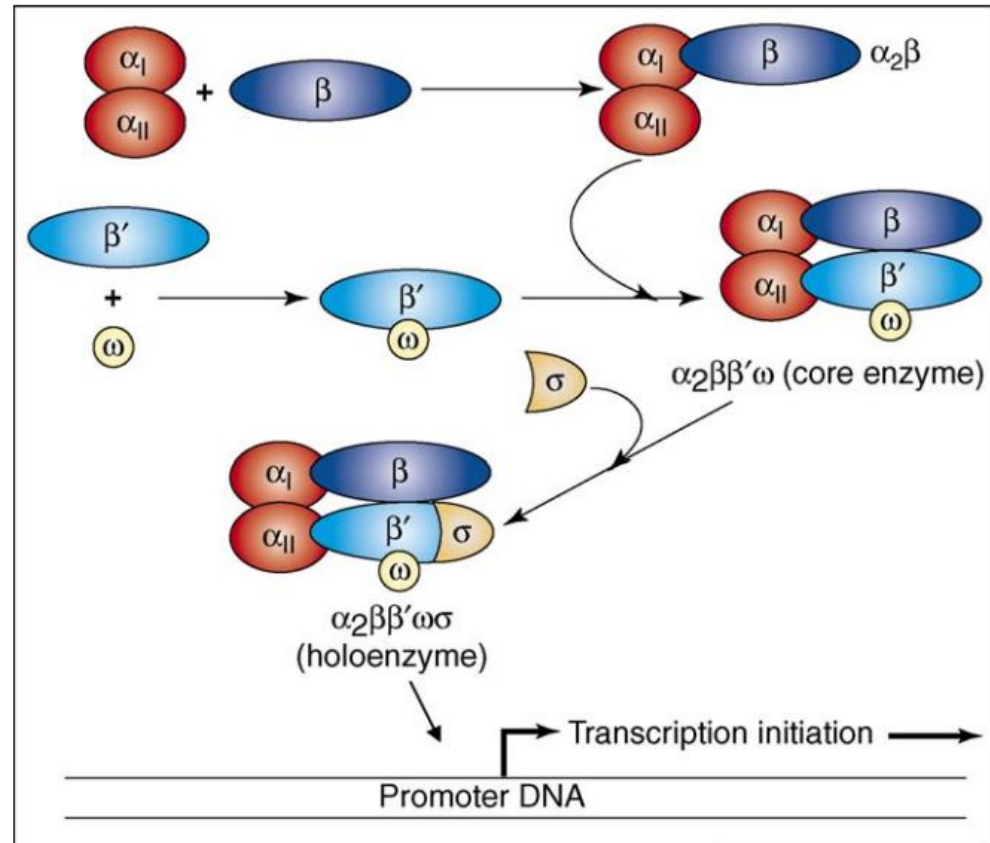


ДНК-зависимая РНК-полимераза прокариот

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



РНК-полимераза прокариот

Субъединица		Масса, кДа	Функция	
α (две)	Кор-фермент	Холофермент	36,5	Взаимодействие с ДНК и факторами транскрипции
β			150	Элонгация
β'			155	Связывание с ДНК
ω			11	Поддерживает конформацию β'-субъединицы, агрегацию её с α ₂ β
σ		85	Связывание с промотором	

РНК-полимеразы эукариот

- РНК-полимераза I, синтезирующая **высокомолекулярные** (18S, 5.8S и 28S) **рРНК**.
- РНК-полимераза II, производящая предшественников для **мРНК**, а также для большинства **мяРНК**
- РНК-полимераза III, синтезирующая **все тРНК**, **5S рРНК** и ряд низкомолекулярные РНК (нмРНК).

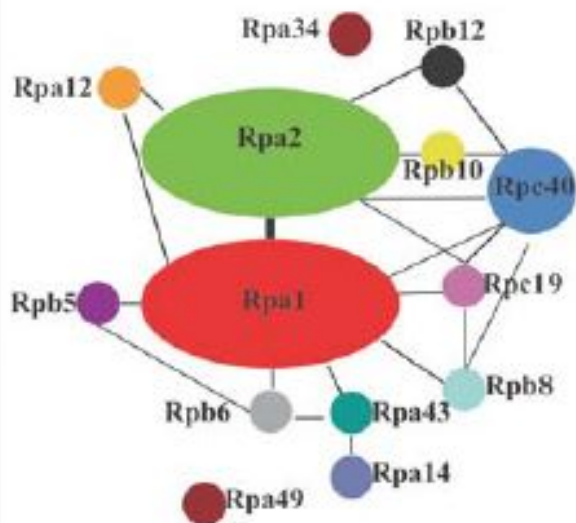
Таблица.
**Субъединичный состав ДНК-зависимых РНК-полимераз
эубактерий, архей и эукариот***

РНК-полимераза								
эубактерий		архей		I		II		III
β'	↔	A	↔	Rpa1	↔	Rpb1	↔	Rpc1
β	↔	B	↔	Rpa2	↔	Rpb2	↔	Rpc2
α_I	↔	D	↔	Rpc40	↔	Rpb3	↔	Rpc40
		F	↔	Rpa14	↔	Rpb4	↔	Rpc17
ω	↔	H	↔	Rpb5	↔	Rpb5	↔	Rpb5
		K	↔	Rpb6	↔	Rpb6	↔	Rpb6
		E	↔	Rpa43	↔	Rpb7	↔	Rpc25
			↔	Rpb8	↔	Rpb8	↔	Rpb8
α_{II}	↔	X	↔	Rpa12	↔	Rpb9	↔	Rpc11
		N	↔	Rpb10	↔	Rpb10	↔	Rpb10
		L	↔	Rpc19	↔	Rpb11	↔	Rpc19
		M (P)	↔	Rpb12	↔	Rpb12	↔	Rpb12
				Rpa49				Rpc82
				Rpa34			Rpc53	
							Rpc37	
							Rpc34	
							Rpc31	

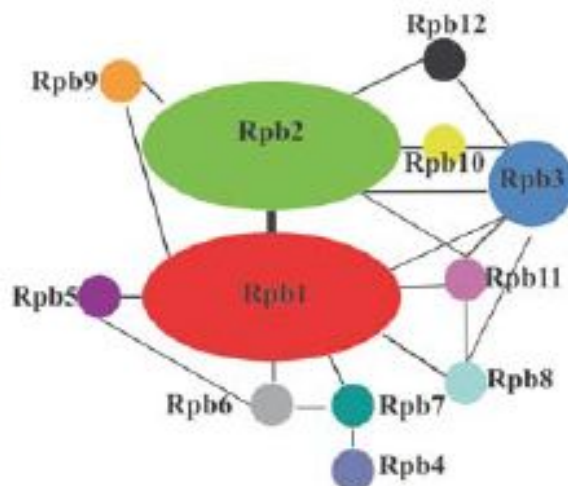
* Жирным шрифтом выделены общие субъединицы ядерных РНК-полимераз I–III. Стрелками показаны родственные субъединицы многокомпонентных РНК-полимераз.

Схемы взаимодействий субъединиц РНК-полимераз I (А), II (Б) и III (В)

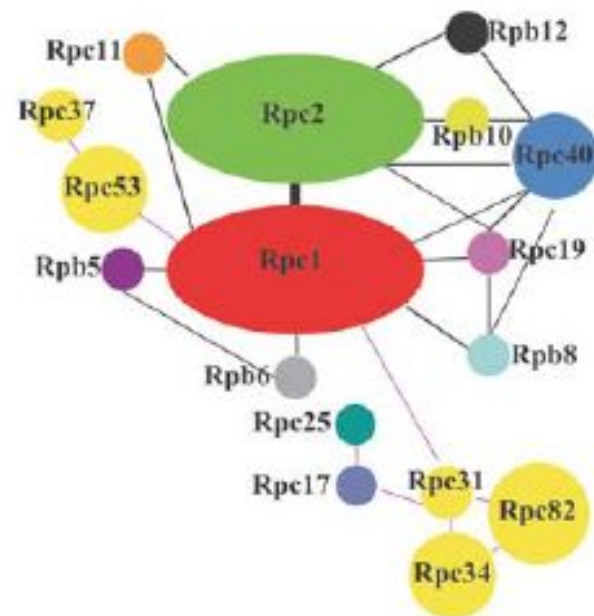
А



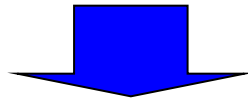
Б



В



Ориентир



Транскрипция идёт с антисмысловой цепи ДНК

5' → 3'



Пре-мРНК



тРНК несут
антикодоны

ЭТАПЫ ТРАНСКРИПЦИИ

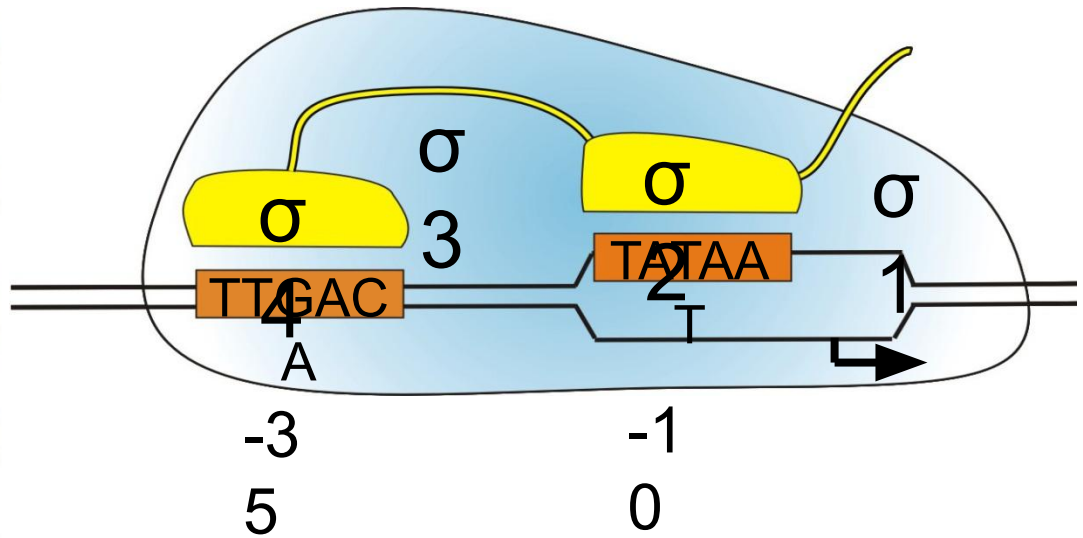
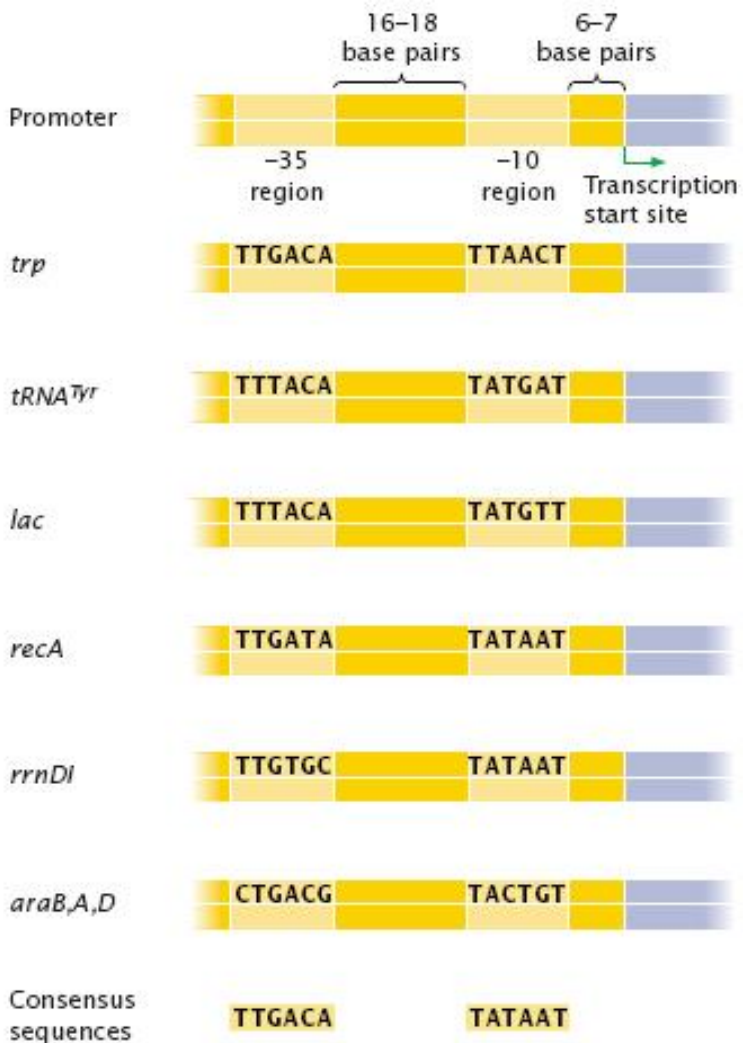
1. **Инициация** – узнавание ДНК-промотора и сборка РНК-полимеразы
2. **Элонгация** – синтез пре-мРНК
3. **Терминация** – остановка синтеза пре-мРНК, распад РНК-полимеразы

Инициация транскрипции у прокариот

- Транскрипция иницируется при образовании стабильного комплекса между холоферментом РНК-полимеразы и специфической последовательностью в ДНК - **промотор**
- Промотор располагается в начале всех транскрипционных единиц. Состоит примерно из 40 пар нуклеотидов и расположен непосредственно перед участком инициации транскрипции.
- В нем различают две важные и достаточно консервативные по составу последовательности.
 1. состоит из 6 или 7 нуклеотидов (чаще ТАТААТ) и расположена на расстоянии примерно 10 нуклеотидов от первого транскрибируемого нуклеотида (+1) —
-10-последовательность (Прибнов-Бокс). В данном сайте РНК-полимераза связывается с ДНК.
 2. Вторая последовательность расположена на расстоянии -35 нуклеотидов и служит участком распознавания промотора РНК-полимеразой



Инициация транскрипции у прокариот



Регуляция инициации транскрипции у прокариот

Оперон - группа генов, транскрибируемых в составе одной РНК; регулируются совместно и обычно обладают общей функцией.

Большинство бактерий содержат несколько σ -субъединиц, которые отвечают за узнавание разных типов промоторов и транскрипцию различных групп генов

Escherichia coli:

σ^{70} – гены “домашнего хозяйства”

σ^{32} – тепловой шок

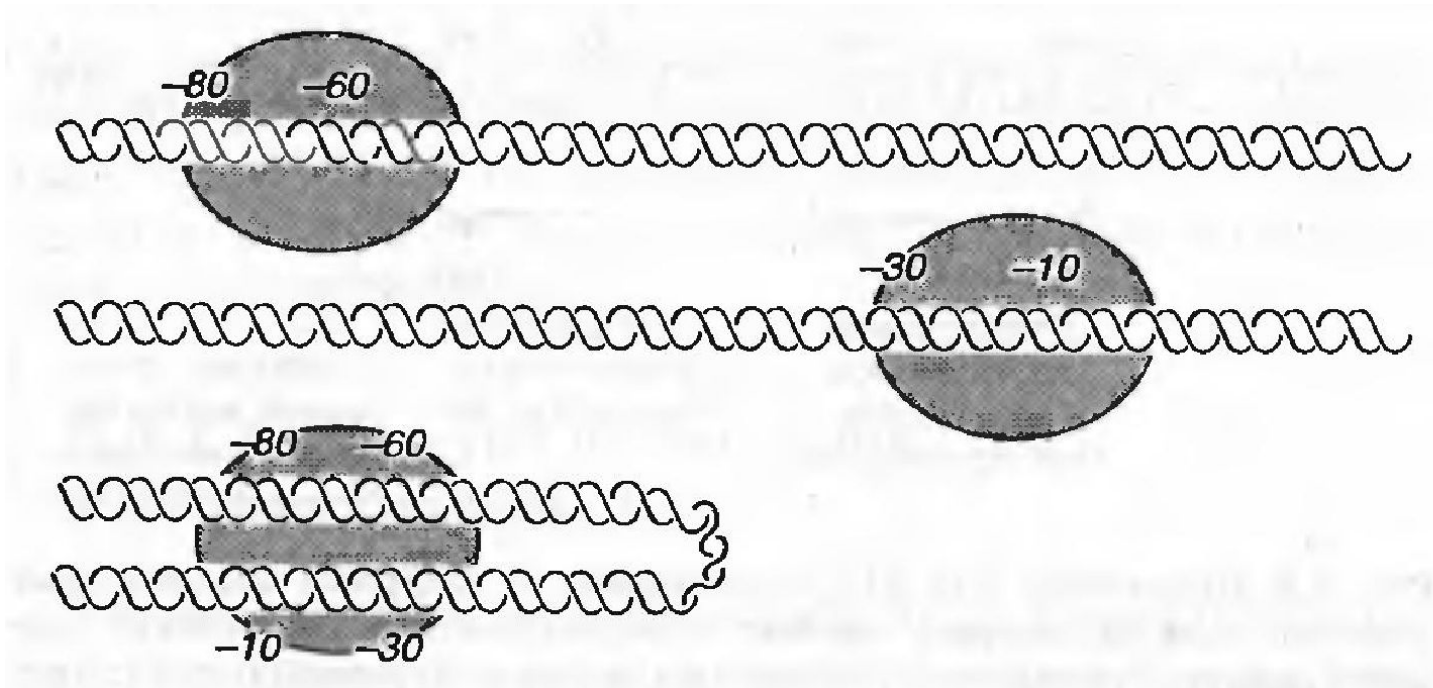
σ^{38} – стрессовые условия

σ^{54} – азотный обмен

σ	-35	-10
<i>E. coli</i> σ^{70}	TTGACA	TATAAT
<i>E. coli</i> σ^{32}	TCTC-CCCTTGAA	CCCCAT-TA
<i>E. coli</i> σ^{54}	(-24)CTGG-A	(-12)TTGCA
<i>B. sub</i> σ^A	TTGACA	TATAAT
<i>B. sub</i> σ^B	AGGTTTAA	GGGTAT
<i>B. sub</i> σ^D	CTAAA	CCGATAT
<i>B. sub</i> σ^E	ATATT	ATACA
<i>B. sub</i> σ^K	AC	CATA---T
<i>B. sub</i> σ^H	CAGGA	GAATT—T
SPO1 σ^{gp28}	AGGAGA	TTT-TTT
T4 σ^{gp55}	-	TATAAATA

Инициация транскрипции у эукариот

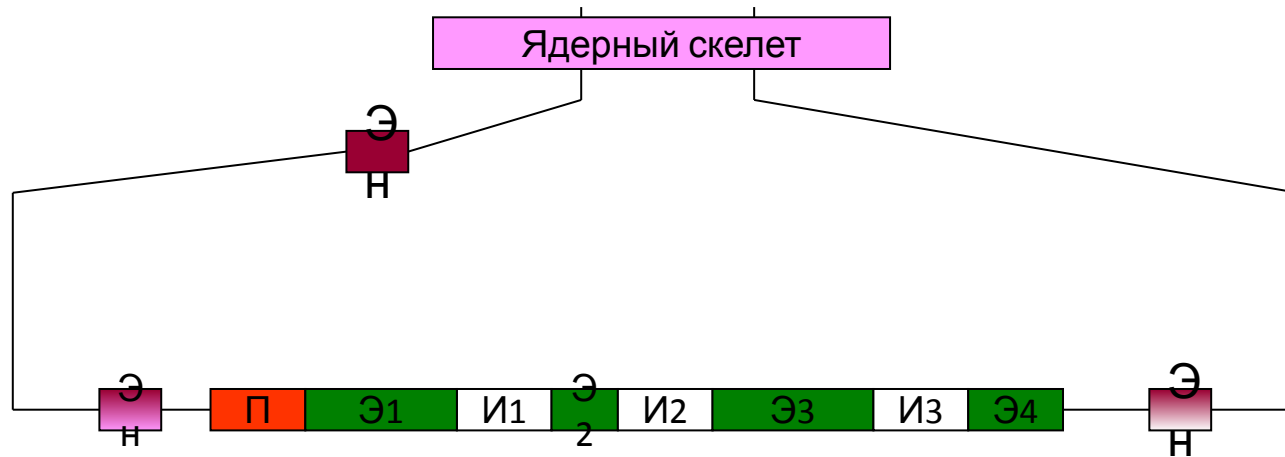
- ТАТА блок (блок Хогнесса) -25
- СААТ-блок -70...-80



Регуляция при инициации транскрипции эукариот

- 1. Множественность РНК полимераз:** для инициации транскрипции каждая из этих РНК-полимераз должна присоединиться к соответствующим промоторным последовательностям на ДНК
- 2. Воздействие на общие и специфические факторы** инициации транскрипции и варьирование их комбинаций в инициаторном комплексе (за счет изменения активности каждого фактора или за счет создания уникальных сочетаний белковых факторов, как общих, так и специфических)
- 3. Изменение структуры хроматина** – метилирование ДНК, регуляция гистонами и другими белками
- 4. Действие энхансеров и сайленсоров** (комбинационная регуляция)

Регуляция транскрипции у эукариот



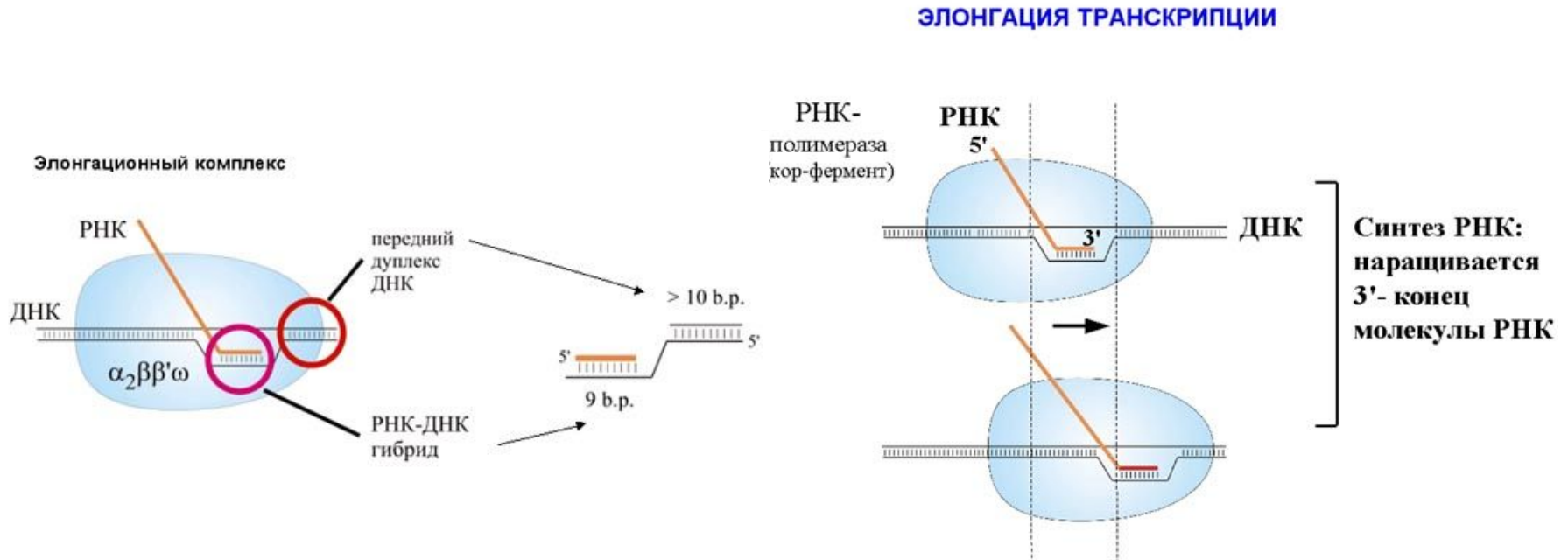
Энхансер — последовательность ДНК, которая после связывания с ним факторов транскрипции стимулирует транскрипцию с промотора гена.

Сайленсер — последовательность ДНК, с которой связываются белки-репрессоры (факторы транскрипции), которое приводит к понижению или к полному подавлению синтеза РНК ферментом ДНК-зависимой РНК-полимеразой. Сайленсеры могут находиться на расстоянии до 2500 пар нуклеотидов от промотора

Месторасположение энхансеров

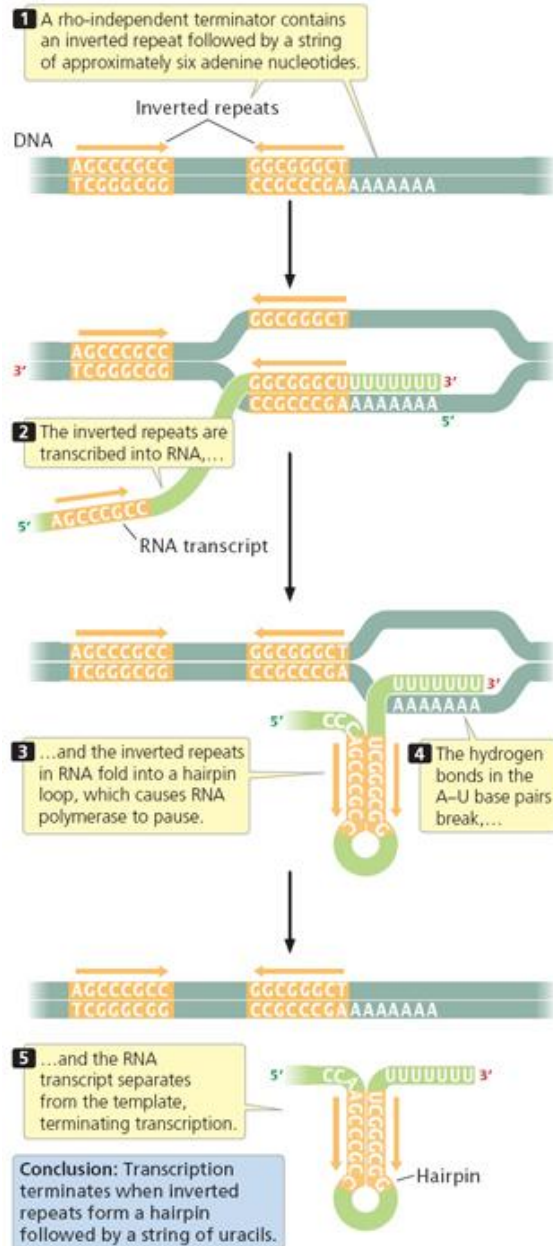
- 1) как в 5'-, так и в 3'-положении относительно матричной цепи регулируемого гена и в любой ориентации к ней
- 2) внутри интронов
- 3) Даже на другой хромосоме

Элонгация транскрипции



Движение РНК-полимеразы по матрице со скоростью около 30-40 нуклеотидов в сек: впереди - происходит расплетание, а позади — восстановление двойных связей в ДНК. Одновременно освобождается очередное звено растущей цепи РНК из комплекса с матрицей и РНК-полимеразой. Высокая частота ошибок – 1 на 10^4 нуклеотидов, т.е. на пять порядков выше, чем при репликации.

Терминация транскрипции



Последовательности ДНК, являющиеся сигналами остановки транскрипции, называются **транскрипционными терминаторами**

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



Сравнение транскрипции у прокариот и эукариот

Прокариоты

- Одна РНК-полимераза (5 субъединиц)
- Уровень транскрипции определяется промотором
- Связь с трансляцией
- Гены непрерывны
- Каждая мРНК обычно кодирует несколько белков

Эукариоты

- Три РНК-полимеразы (более 10 субъединиц)
- Уровень транскрипции определяется регуляторными участками (энхансеры, сайленсеры)
- Трансляция независима от транскрипции
- Гены состоят из экзонов и интронов, процессинг РНК
- Каждая мРНК обычно кодирует один белок

Пре-мРНК после синтеза (транскрипции) подвергается посттранскрипционным модификациям – **процессингу** (или созреванию пре-мРНК)

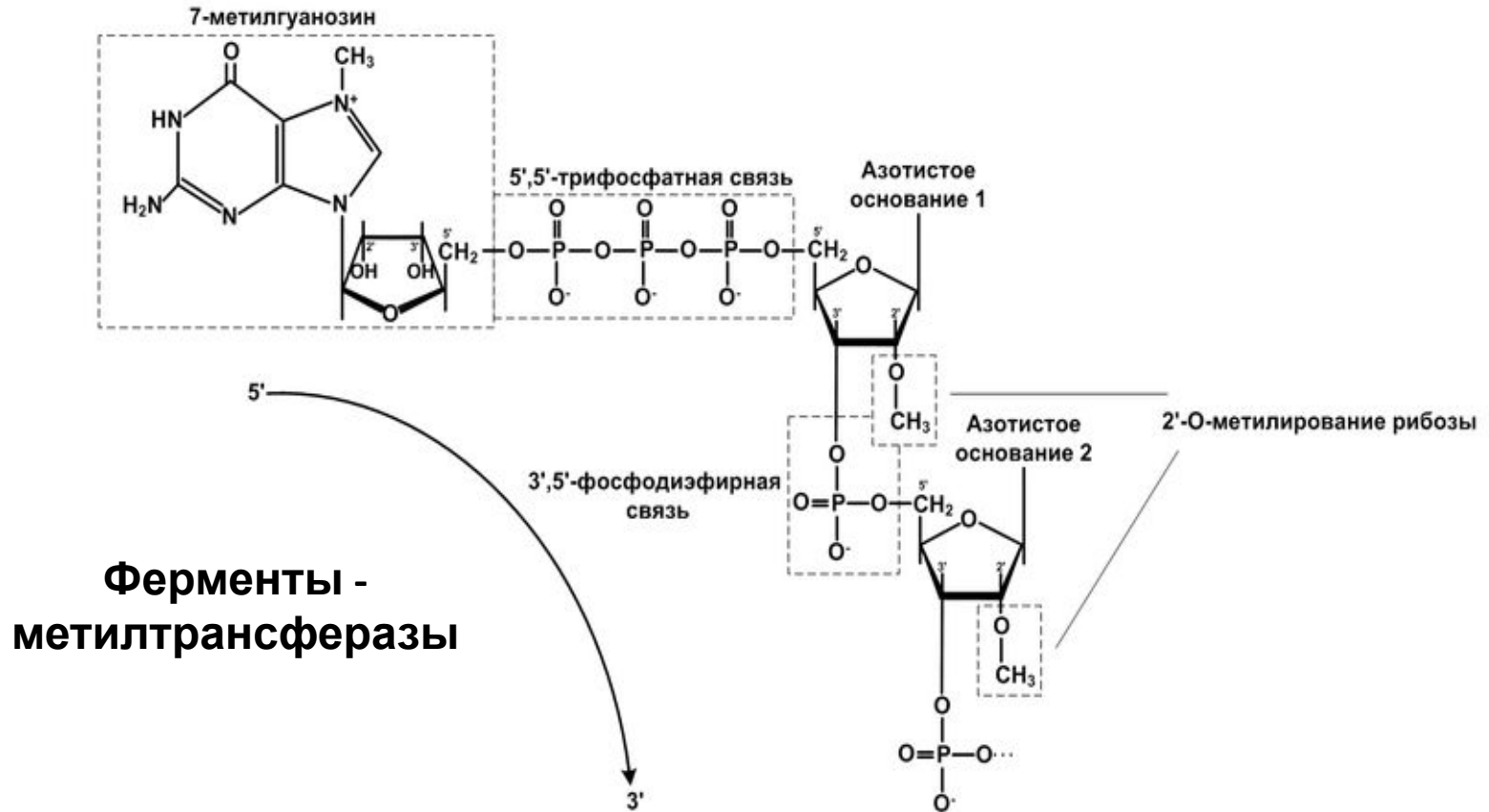
- Кэпирование
- Полиаденилирование
- Сплайсинг – только у эукариот – вырезание неинформативных фрагментов (интронов) и сшивание информативных (экзонов), происходит исключительно в ядре

Процессинг РНК

Посттранскрипционные модификации	Прокариоты	Эукариоты
Полиаденилирование	+	+
Кэпирование	- (кроме вирусов)	+
Сплайсинг	-	+ (экзоны/интроны)

Кэпирование мРНК

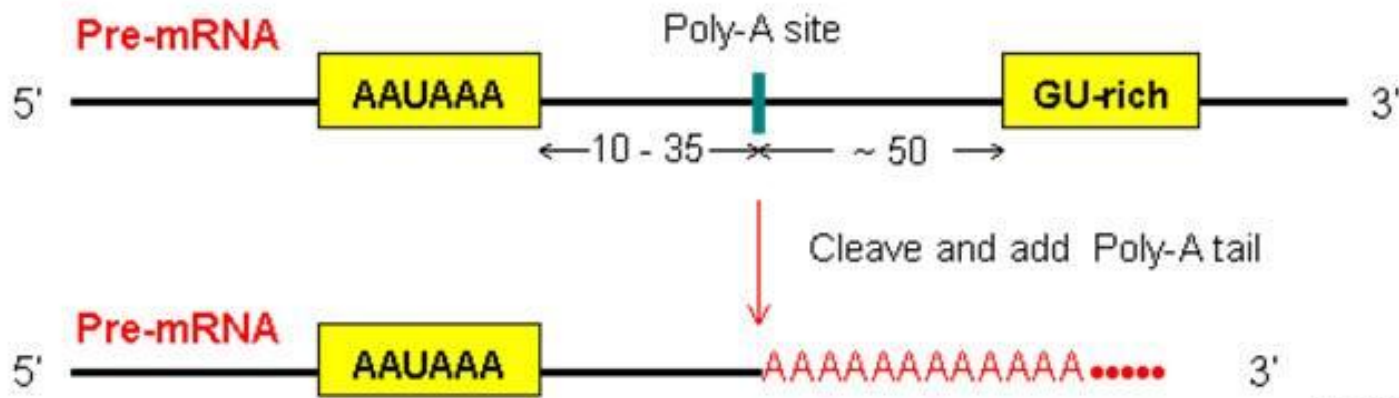
Кэпирование – процесс присоединения к 5'-концу пре-мРНК 7-метилгуанозина через необычный для РНК 5',5'-трифосфатный мостик, а также метилирование остатков рибозы двух первых нуклеотидов.



Роль кэпирования:

- участие в сплайсинге;
- участие в процессинге 3'-конца мРНК;
- экспорт мРНК из ядра;
- защита 5'-конца транскрипта от экзонуклеаз;
- участие в инициации трансляции.

Полиаденилирование – при помощи полиаденилат-полимеразы с использованием молекул АТФ происходит присоединение к 3'-концу РНК от 100 до 200 адениловых нуклеотидов, формирующих полиадениловый фрагмент – поли(А)-хвост. Поли(А)-хвост необходим для защиты молекулы РНК от экзонуклеаз, работающих с 3'-конца.



Функции поли(А)- хвоста

- увеличивает стабильность мРНК
- необходима для транспортировки мРНК из ядра в цитоплазму
- Влияет на сборку трансляционного комплекса

Полиаденилирование мРНК

- polyA увеличивает стабильность мРНК
- polyA необходима для транспортировки мРНК из ядра в цитоплазму
- Влияет на сборку трансляционного комплекса

Сплайсинг – процесс удаления интронов (участки, которые не кодируют белки), а экзоны (участки, кодирующие белки) сшиваются и образуют единую молекулу.

Сплайсинг катализируется крупным нуклеопротеидным комплексом –

сплайсосома, которая состоит из

- белков (snRNP, U1, U2, U3, U4, U5 и U6)
- малых ядерных РНК.

