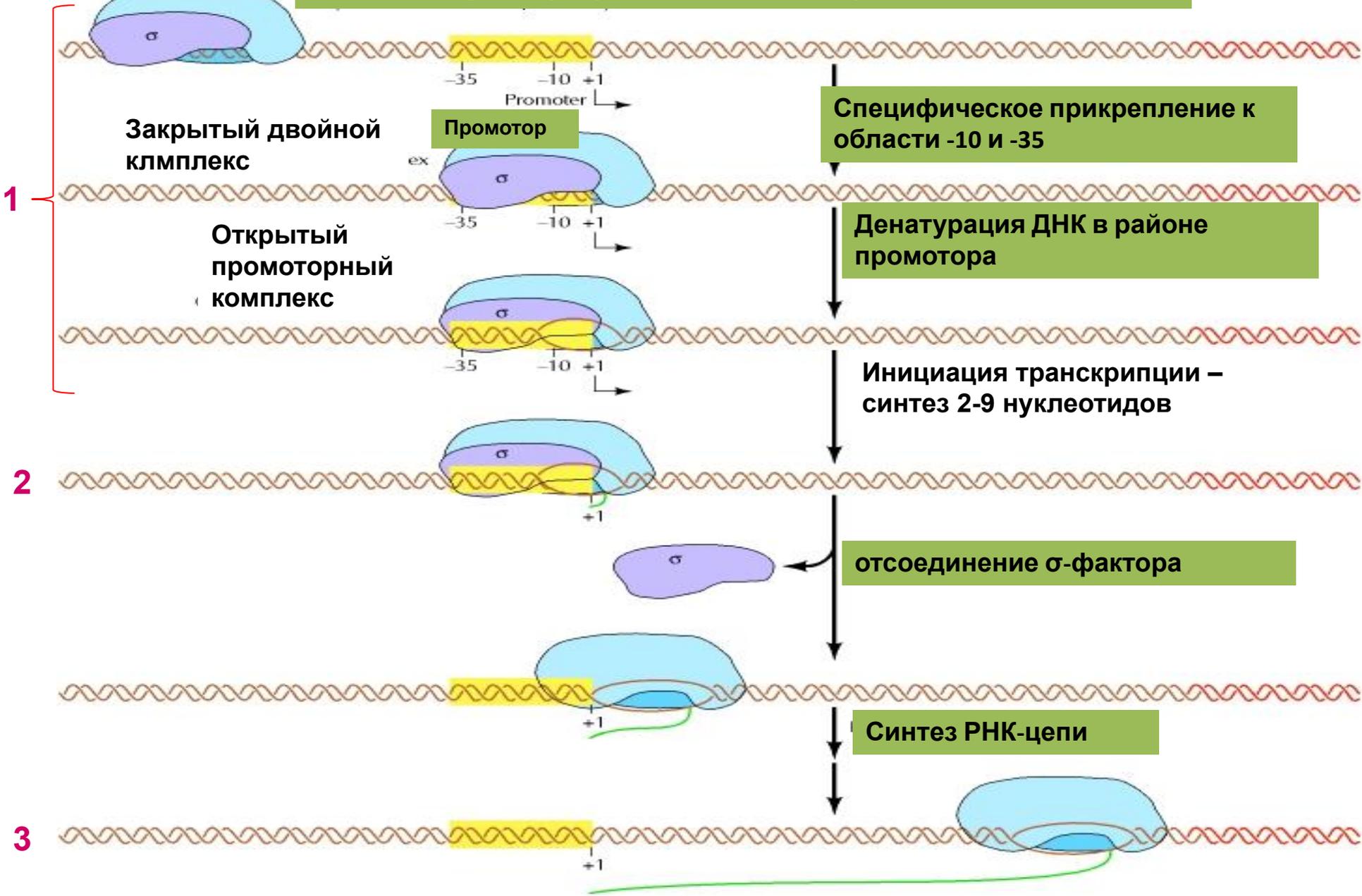


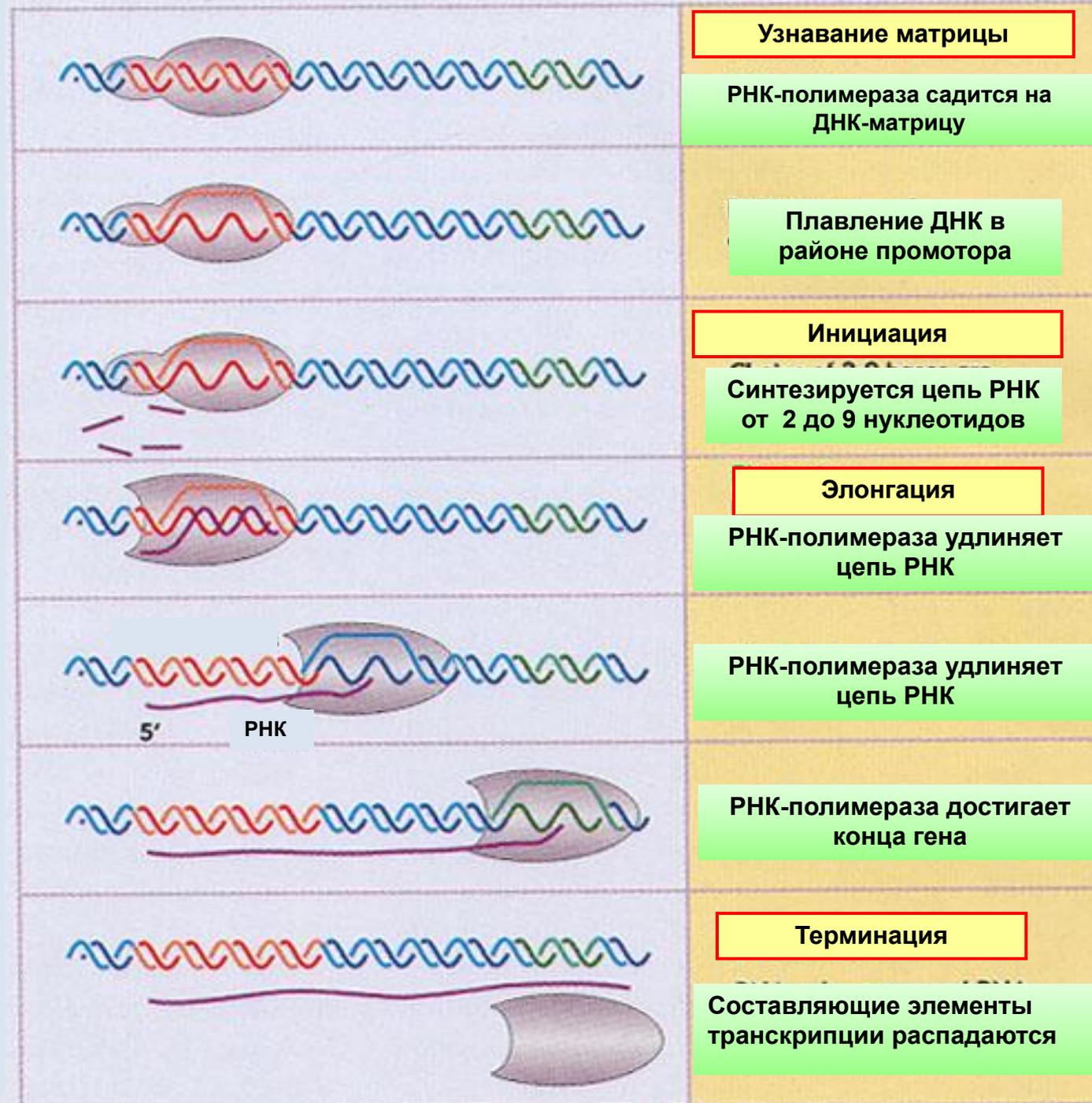
Механизм транскрипции

4 этапа:

1. Узнавание промотора
2. Инициация
3. Элонгация
4. Терминация

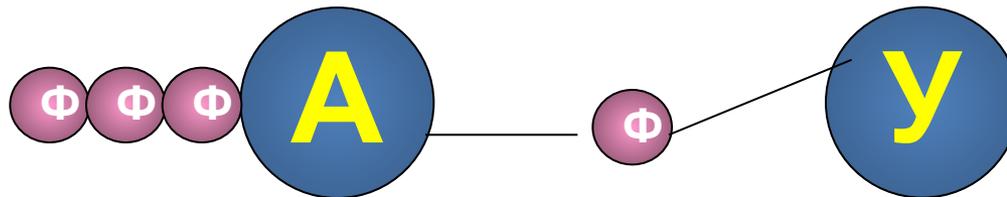
РНК-полимераза прикрепляется неспецифически к ДНК





Инициация

Образование первой фосфодиэфирной связи между двумя рибонуклеотидами



Стадии инициации транскрипции:

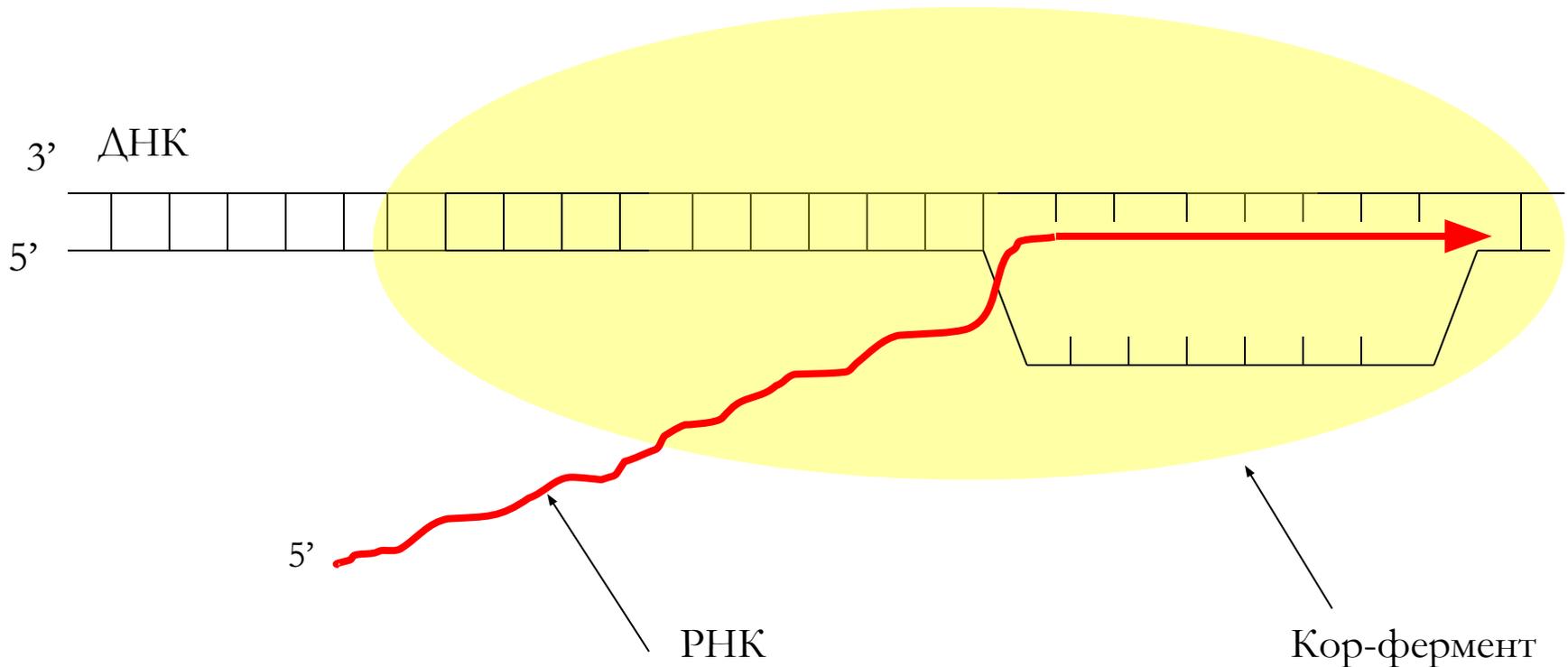
- образование «закрытого» комплекса
- образования «открытого двойного» комплекса (с расплетением участка ДНК)
- образования «открытого тройного» комплекса (синтез коротких РНК без диссоциации σ -фактора)
- После синтеза фрагмента РНК (9-12 нуклеотидов) σ -фактор покидает промотор и начинается стадия элонгации

Поскольку РНК-полимеразе необходимо нарушить структуру ДНК, образование открытых комплексов и транскрипция быстрее начинается на **отрицательно суперспирализованной кольцевой ДНК**. То напряжение, которое возникает в двойной спирали в результате суперспирализации, облегчает расплетение двух цепей.

Скорее всего РНК-полимераза может находить промоторы методом проб и ошибок. Голофермент очень быстро ассоциирует со слабыми участками связывания и также быстро отделяется от них. Таким образом, продвигаясь вдоль молекулы ДНК, голофермент образует и разрушает ряд закрытых комплексов до тех пор, пока в процессе поиска (случайно) не натолкнется на промотор. Тогда в результате узнавания специфической последовательности он может прочно связаться с ДНК в нужном участке и образовать открытый комплекс.

Элонгация транскрипции (прокариоты)

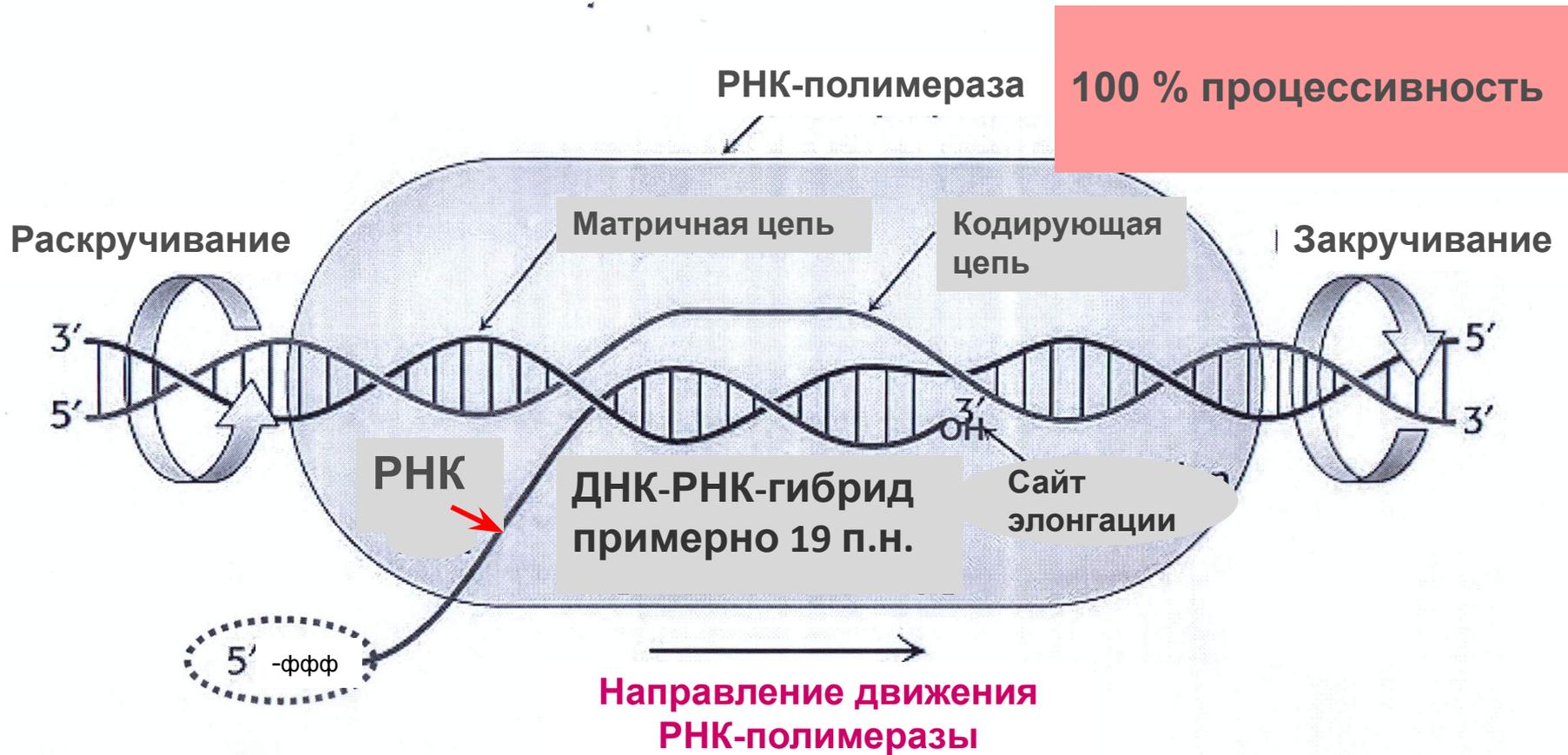
Элонгация транскрипции – удлинение цепи РНК



Для инициации синтеза РНК у эукариот необходимы

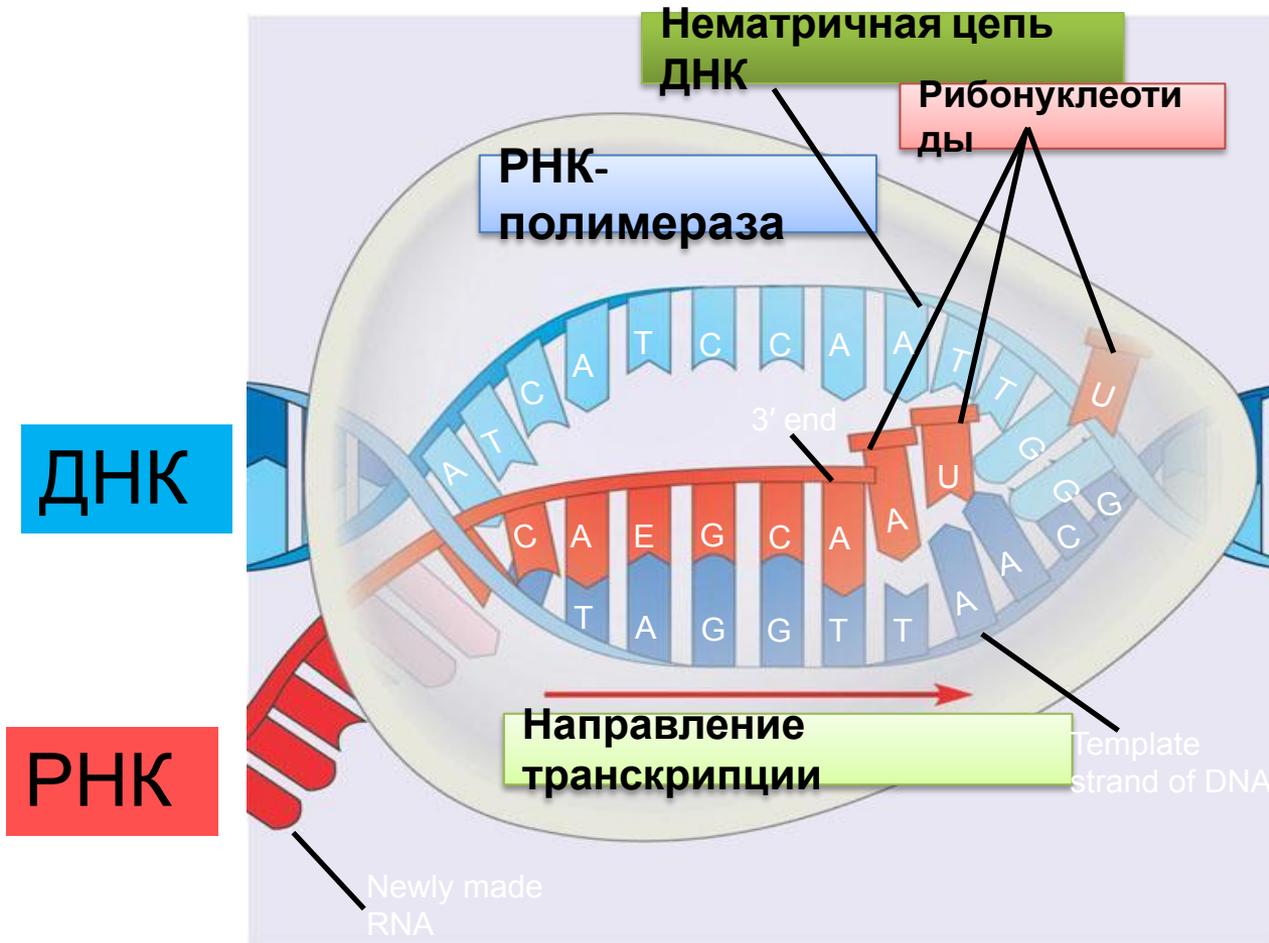
- Специфические белки – факторы транскрипции (транс-факторы)
- Регуляторные последовательности ДНК (цис-элементы) – промоторы, энхансеры и сайленсеры

Элонгация транскрипции

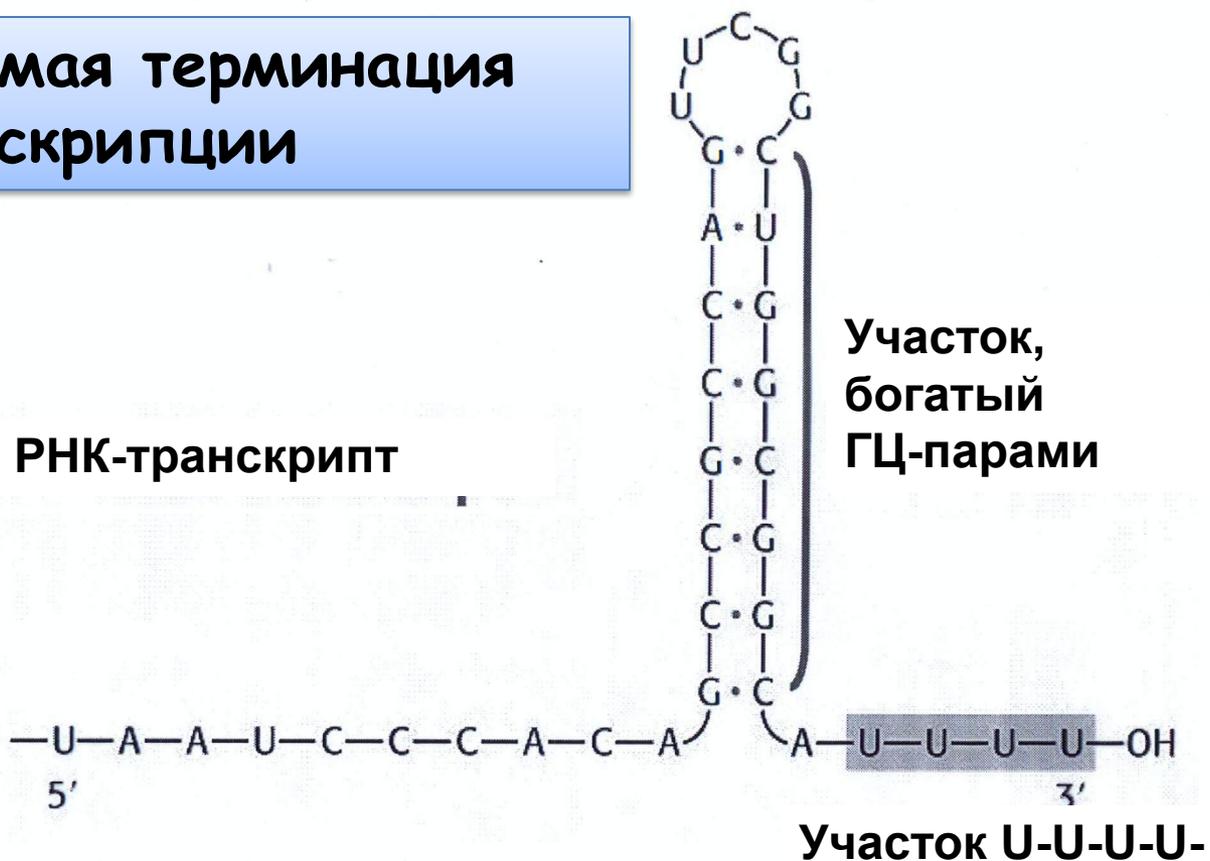


Скорость движения 40-50 нуклеотидов в сек

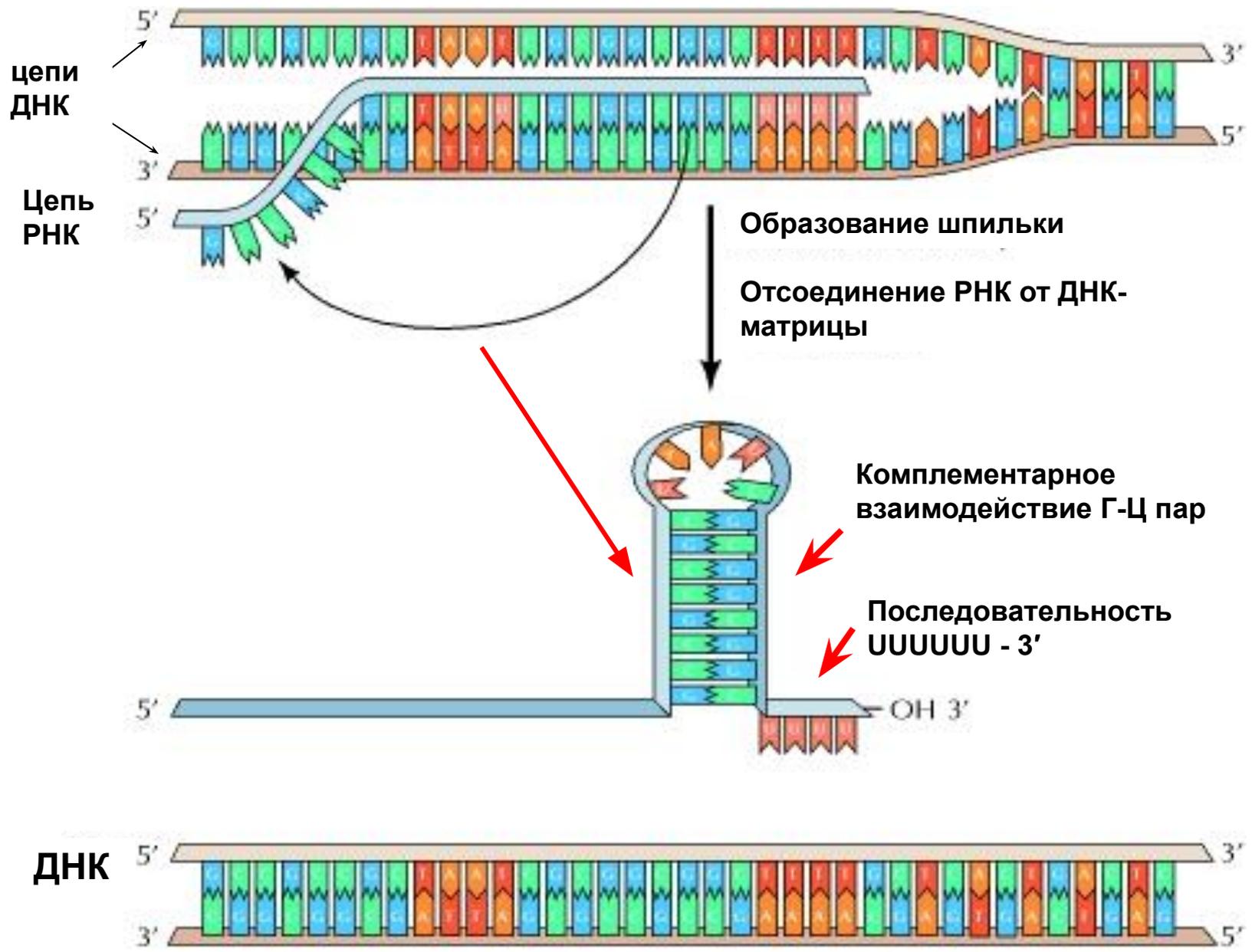
Элонгация



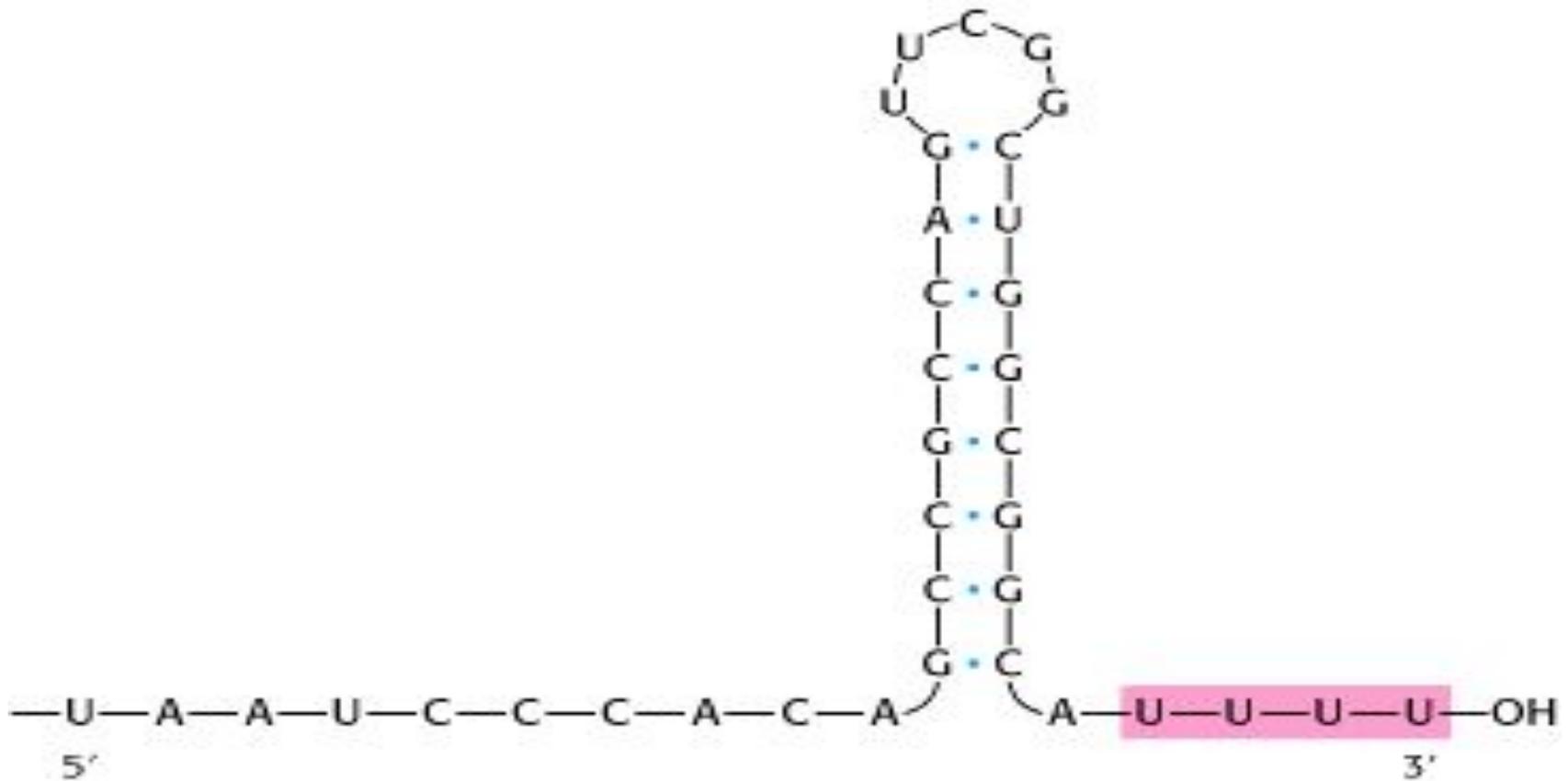
ρ-независимая терминация транскрипции



ρ-независимая терминация транскрипции

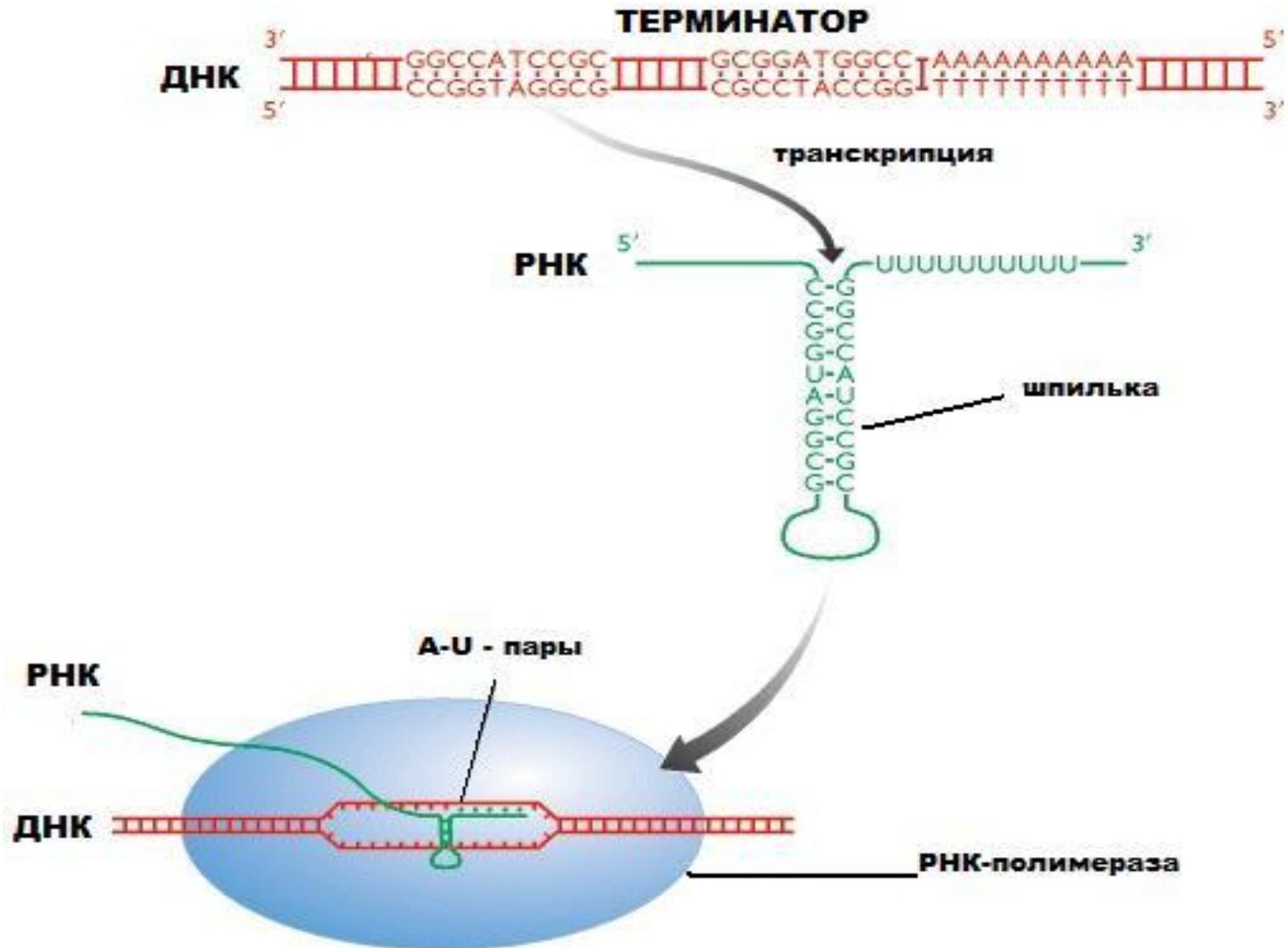


ρ-независимая терминация транскрипции

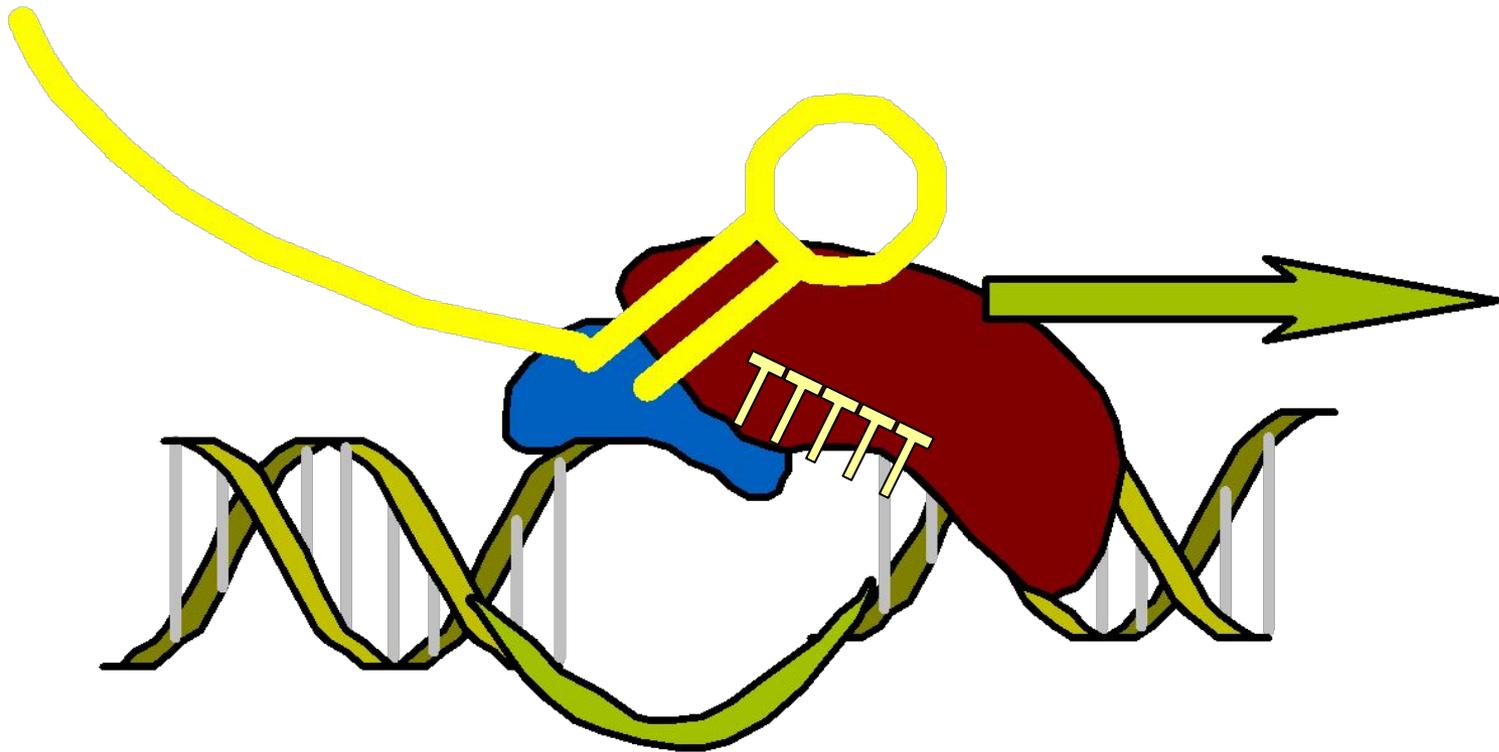


- На схеме показан 3'-конец молекулы РНК
- После прохождения терминатора молекула РНК образует шпильку, которая приводит к остановке транскрипции
- наименее стабильный уридил-адениловый дуплекс (выделен розовым цветом) разрушается

ρ-независимая терминация



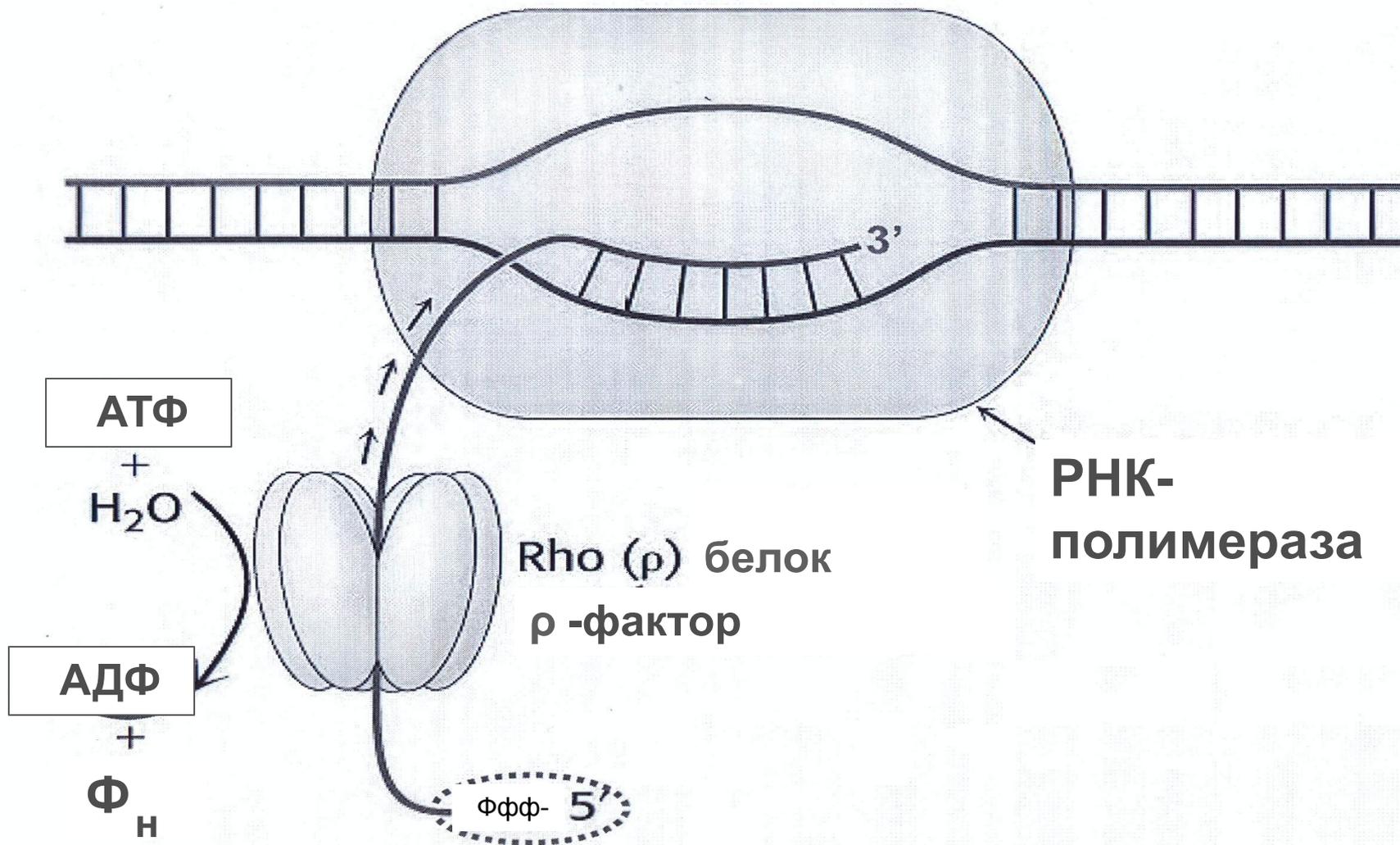
Терминация транскрипции



ρ-зависимая терминация

ρ-белок присоединяется к определенным участкам синтезируемой РНК и с затратой энергии АТФ способствует диссоциации гибрида РНК с матричной нитью ДНК.

ρ -зависимая терминация транскрипции

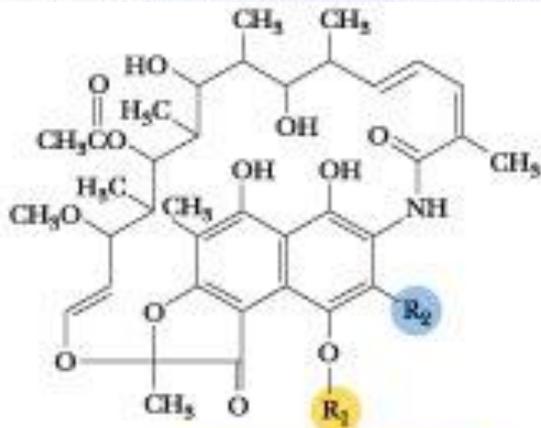


Ингибиторы транскрипции прокариот.

Существует множество ингибиторов транскрипции. Они действуют по разным механизмам и на разных стадиях. Большинство из них - антибиотики.

Рифампицин - ингибитор инициации. Связывается с центром инициации *holo*-РНК-полимеразы *E. coli*. В-Субъединица формирует центр связывания антибиотиков рифампицина и стрептолидигина.

Стрептолидигин - ингибитор элонгации. Связывается с центром элонгации *core*-РНК-полимеразы *E. coli*.

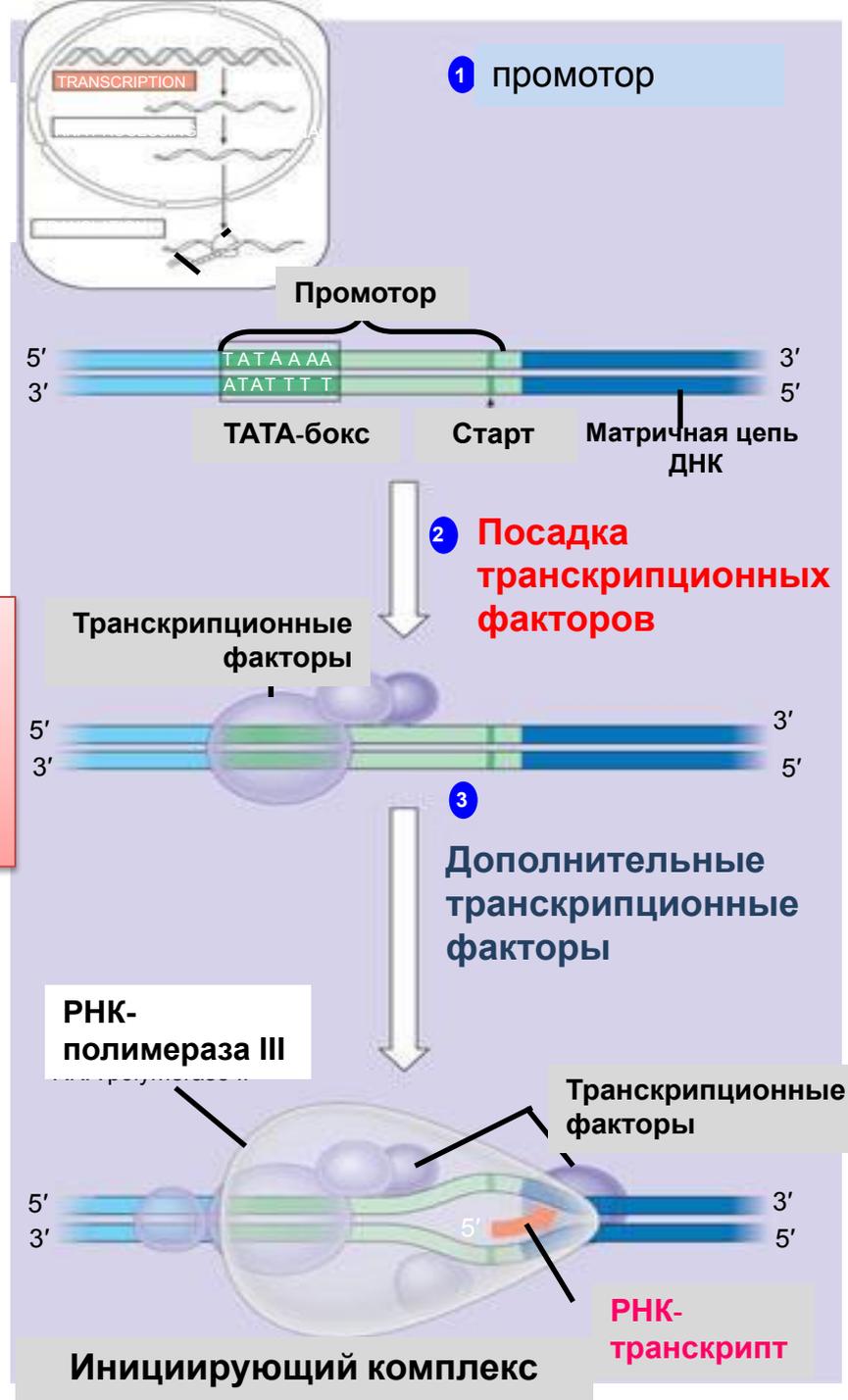


Rifamycin B R₁ = CH₂COO⁻; R₂ = H

Rifampicin R₁ = H; R₂ = CH—N⁺(CH₃)₂

Рифампицин прикрепляется к β-субъединице РНК-полимеразы и блокирует синтез РНК. Этот антибиотик не запрещает образование новой фосфодиэфирной связи, но блокирует транслокацию РНК-полимеразы вдоль ДНК-матрицы.

Транскрипция у эукариот

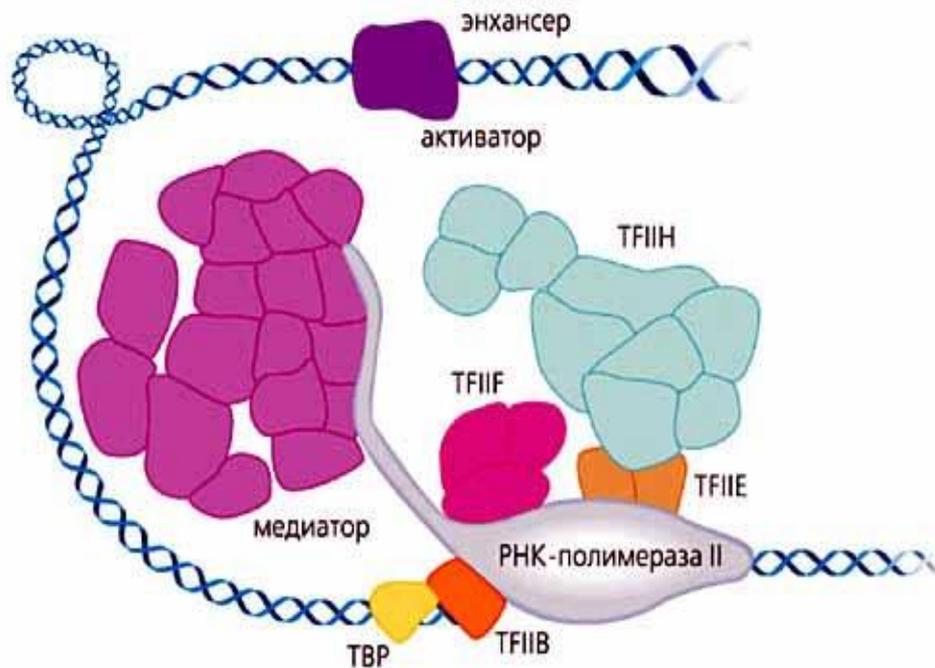




Р.Корнберг - «Десять лет, 10 тысяч литров дрожжей и один аспирант» понадобились для того, чтобы выделить из дрожжей несколько граммов белков и изучить их строение» (Нобелевская лекция 2006 г.)

Нобелевская премия по химии в 2006 году была присуждена [Роджеру Корнбергу](#) за получение точных данных о механизме работы РНК-полимеразы II в различные моменты процесса транскрипции.

- В инициации транскрипции, осуществляемой РНК-полимеразой II, участвуют более 60 белков – транскрипционных факторов.



Самые важные составляющие транскрипционного комплекса: **РНК-полимераза и пять белков-помощников (главные факторы транскрипции – TFIIB, D, E, F и H-факторы)**, без которых РНК-полимераза не способна узнать промотор и начать транскрипцию. В транскрипции эукариот принимает участие также белковый комплекс, названный **Медиатором**. Его предназначение – определять, какие именно белки будет строить клетка.

Медиатор передаёт полимеразе сигнал от энхансера, который может воспринимать сигналы о том, какие белки нужны клетке в данный момент и усиливать работу гена или группы генов.

РНК-полимеразы эукариот

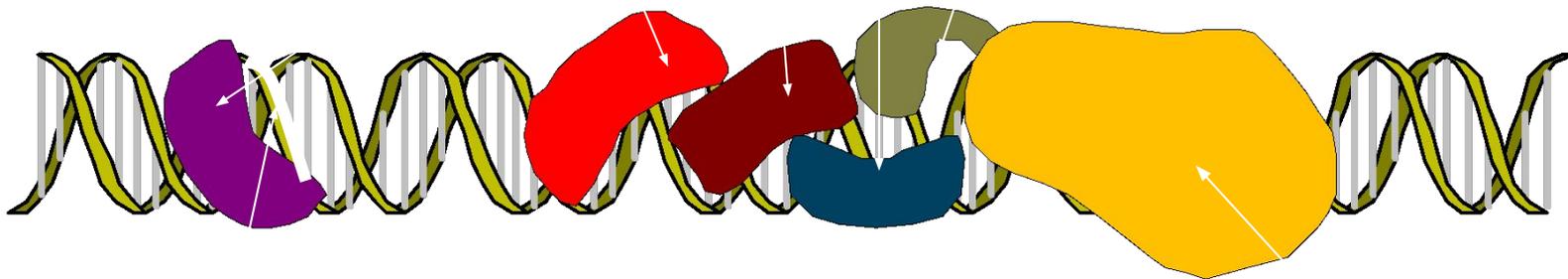
- РНК-полимераза I – синтез рРНК (28S, 18S и 5,8S рРНК)
- РНК-полимераза II – синтез мРНК и мяРНК
- РНК-полимераза III – синтез тРНК, 5S рРНК, некоторых мяРНК
- РНК-полимераза митохондрий – состоит из одной субъединицы, ген которой находится в ядерной ДНК

Инициация транскрипции

- в зоне ТАТА-бокса должны собраться факторы транскрипции **TFII** (Transcriptional Factors of RNA-polymerase II):
 - **TFIIA, TFIIВ, TFIID, TFIIЕ, TFIIF и TFIIN**
 - первым с ДНК связывается белок **TFIID**
 - **TFIID** – это комплекс белков, в состав которого входит белок **TBP** и TAF белки

Инициация транскрипции у эукариот

Факторы транскрипции (разные и много)

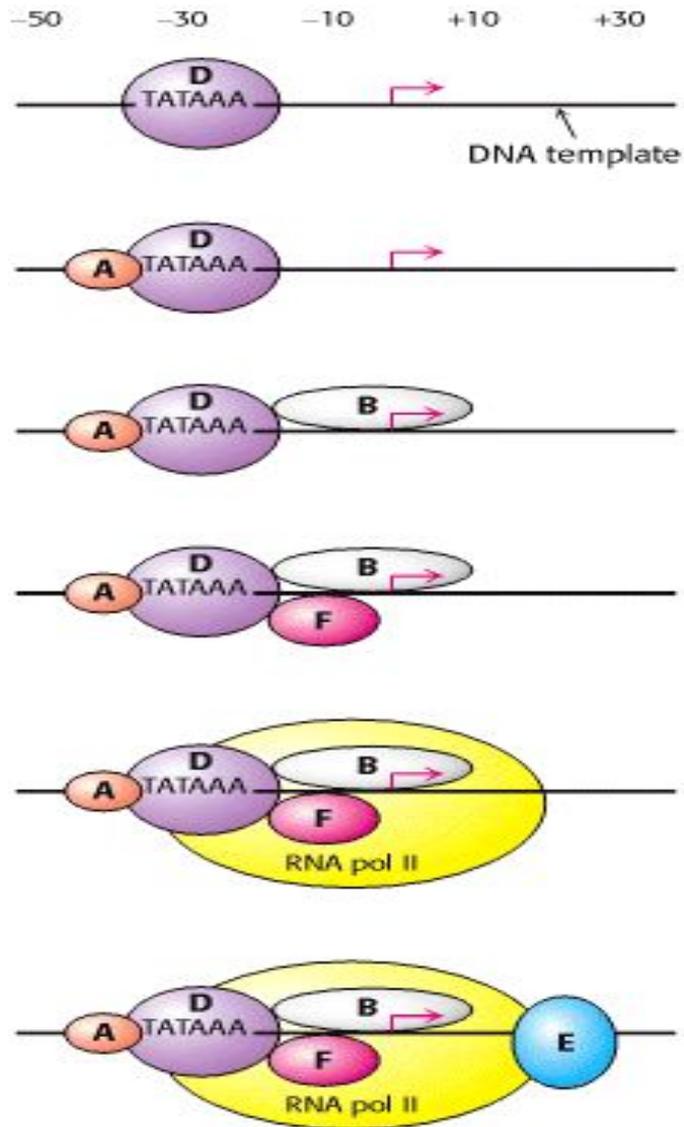


Энхансер (участок на ДНК)

РНК полимераза

Промоторная область – 1000 нуклеотидов

образование базового транскрипционного комплекса



- факторы транскрипции связываются с промотором в зоне ТАТА-бокса в определенной последовательности:
- **TFIIA, TFIIB, TFIIF**
- Затем присоединяется **РНК-пол. II и TFIIE**
- **TFIIN** присоединяется последним и фосфорилирует РНК-полимеразу

