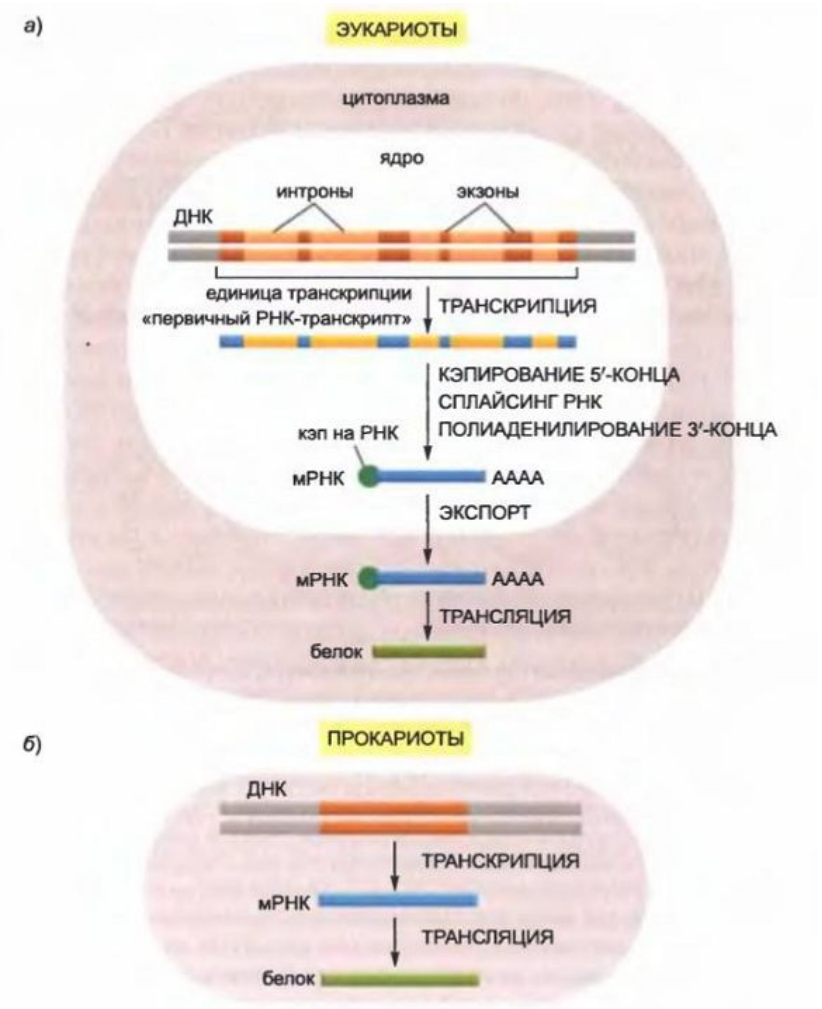
Эукариоттардағы РНҚ процессинг

- Бактериялық мРНҚ молекуласы геномның белгілі бір жерлерінде РНҚ-полимеразаның тоқтауымен немесе қайта іске қосылуы арқылы синтезделеді.

- Эукариоттарда транскрипция мРНҚ-ны алуға қажетті бірнеше кезеңдердің біріншісі болып табылады.
- Маңызды кезеңдер - РНҚ ұшының коваленттік модификациясы және РНҚ сплайсинг процесі кезінде жойылып кететін интрондық тізбектердің жойылуы.

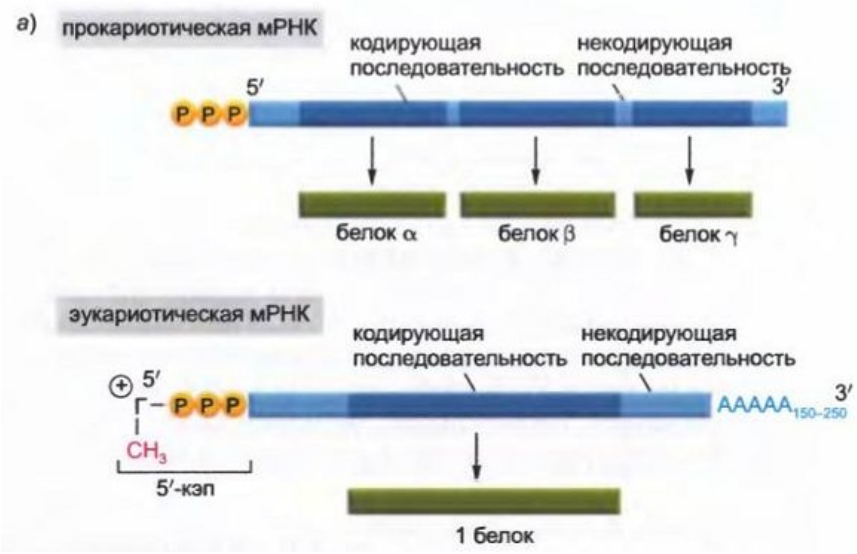


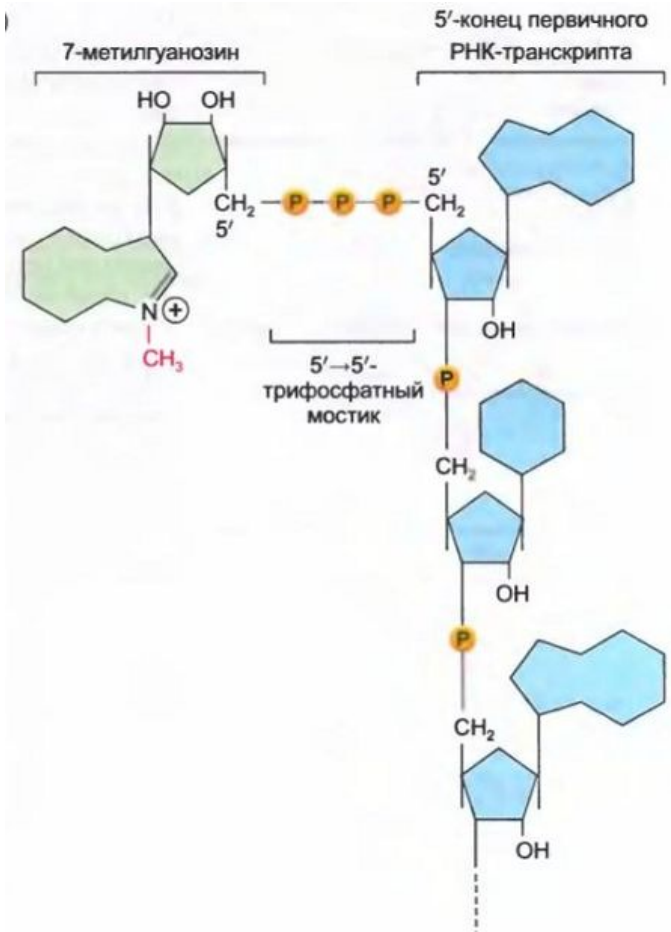
- Эукариоттар мен бактериядағы «геннен белокқа дейінгі» жол сатыларының қысқаша сипаты

- Эукариоттарда мРНҚ молекуласының екі ұшы да модификацияланады: 5‘-ұшы кэпирленеді, ал 3‘-ұшы полиаденилденеді.

- Бұндай арнайы ұштар бұл РНҚ ядродан шығып белокқа трансляцияланбағанға дейін мРНҚ молекуласында екі ұшының бар ма екендігін жасушаның анықтауына мүмкіндік береді .

- РНҚ сплайсинг кодтаушы белок тізбегінің әртүрлі бөліктерін бір бірімен байланыстырады және сол бір геннен бірнеше әртүрлі белоктарды синтездеуге қабілетті жоғары сатылы эукариоттарды ажыратады.



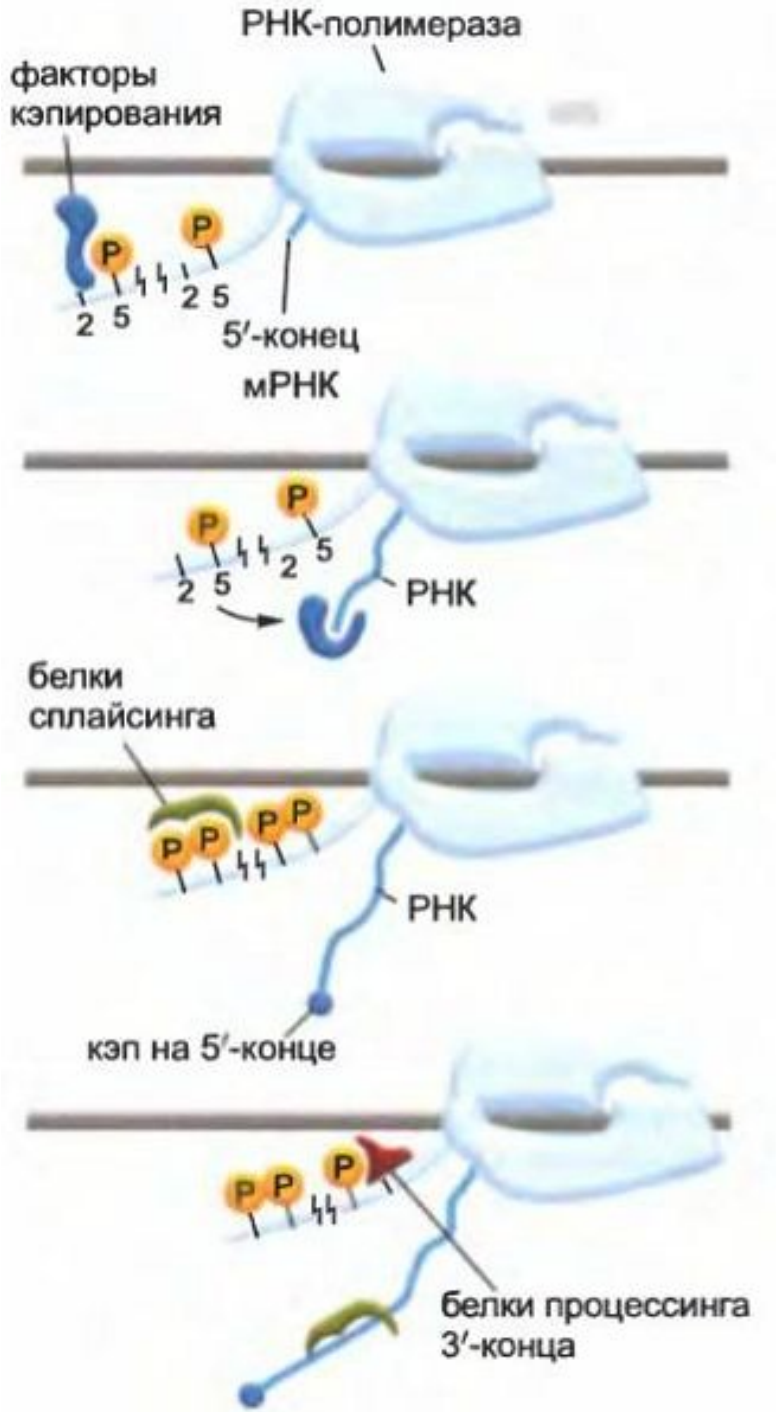


- Прокариот және эукариоттардағы мРНҚ молекуласының құрылымын салыстыру

- РНҚ полимераза II арқылы транскрипция инициациясының маңызды сатысы – CTD (С-ұшы домені) деп аталған РНҚ полимераза ұшының фосфорлануы.

- РНҚ полимераза транскрипцияны бастауына және ДНҚ бойымен жылжуына байланысты бұл фосфорлану біртіндеп жүзеге асады.

- Ол тек РНҚ полимераза II –ге транскрипция инициациясының нүктесінде тұрған басқа белоктардан бөлінуіне ғана көмектесіп қоймайды, сонымен қатар белоктардың жаңа жинағына РНҚ-полимеразаның ұшымен байланысуына мүмкіндік береді.

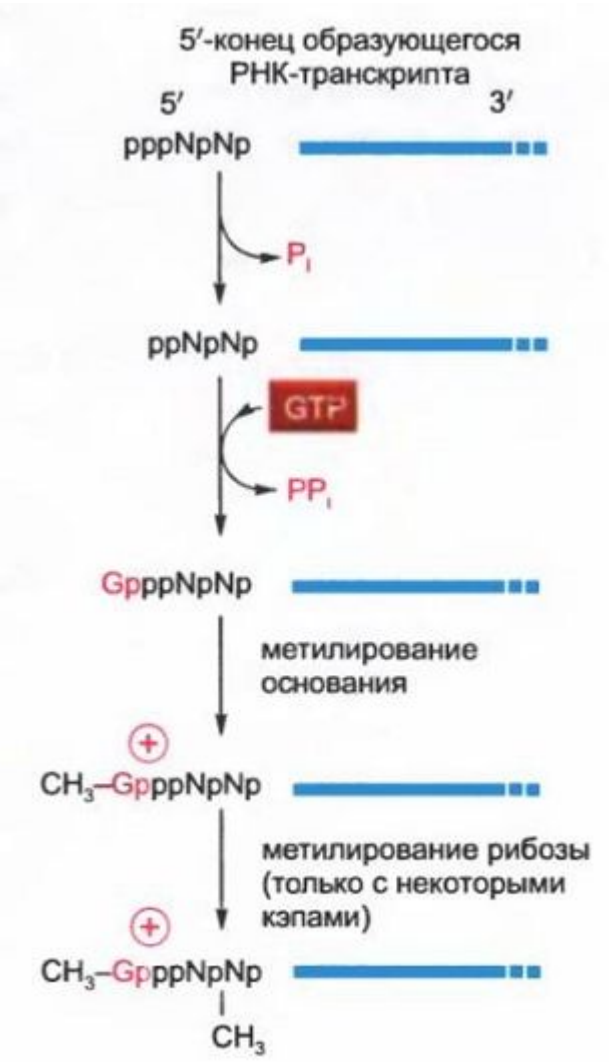


- Эукариоттардағы РНҚ полимераза II «РНҚ зауыты» сияқты
- CTD 7-амин қышқылдық тізбектің 52 тандемді қайталамасынан тұрады; Әр қайталамада екі серин бар. РНҚ кэпирлеуші белоктар ол транскрипцияның инициация процесінің соңғы сатысында гептақайталамасының серин бойынша фосфорланған кезінде ең бірінші РНҚ полимеразаның ұшымен байланысады.
- Полимераза транскрипцияланғанға байланысты оның ұшы қарқынды түрде элонгация режимінде полимеразаның болуымен байланысты киназа арқылы серин 2 позициясында фосфорланады және соңында серин 5 позициясында дефосфорланады. Бұл соңғы модификациялар РНҚ –ның 3 ‘ –ұшының процессингі мен сплайсингін жүзеге асыратын белоктарды жылжып бара жатқан полимеразаға қарай тартады.

- РНҚ полимераза II шамамен РНҚ-ның 25 нуклеотидін түзгеннен кейін РНҚ-ның жаңа молекуласының 5‘-ұшында гуаниннің модификацияланған нуклеотиді болып табылатын кэп құрылымның байланысуы арқылы модификацияланады.

- Кэпирлеу реакциясын бірінен соң бірі әрекет ететін үш фермент жүргізеді: біреуі (фосфатаза) жаңа синтезделген РНҚ-ның 5 ‘ ұшынан фосфатты алып тастайды, екіншісі (гуанилтрансфераза) оған жай 5‘-3‘ орнына 5‘-5‘ байланысы арқылы GMP –ны қосады үшіншісі (метилтрансфераза) осы гуанозинге метильдік топты қосады.

я



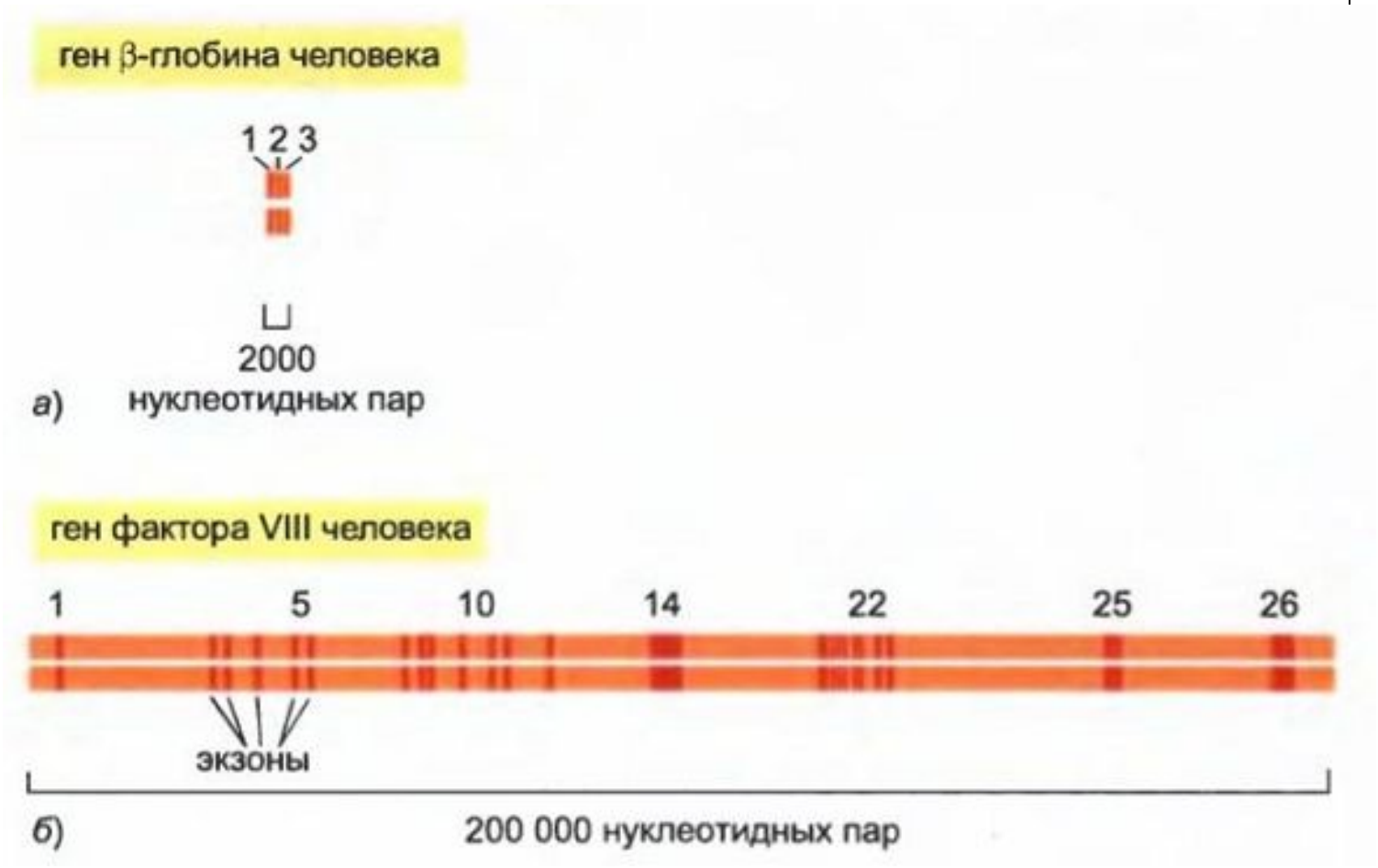
- РНҚ полимераза II арқылы синтезделетін әр РНҚ молекуласының 5´-ұшында кэп құрылымның түзілуіне әкелетін реакциялар

- Эукариот гендері ұсақ бөлшектерге бөлінген: кодтаушы тізбектер – экспрессиялаушы тізбектер немесе экзондар, - ұзындау тізбектер - қосындылар немесе интрондар арқылы үзілген бөлшектер .

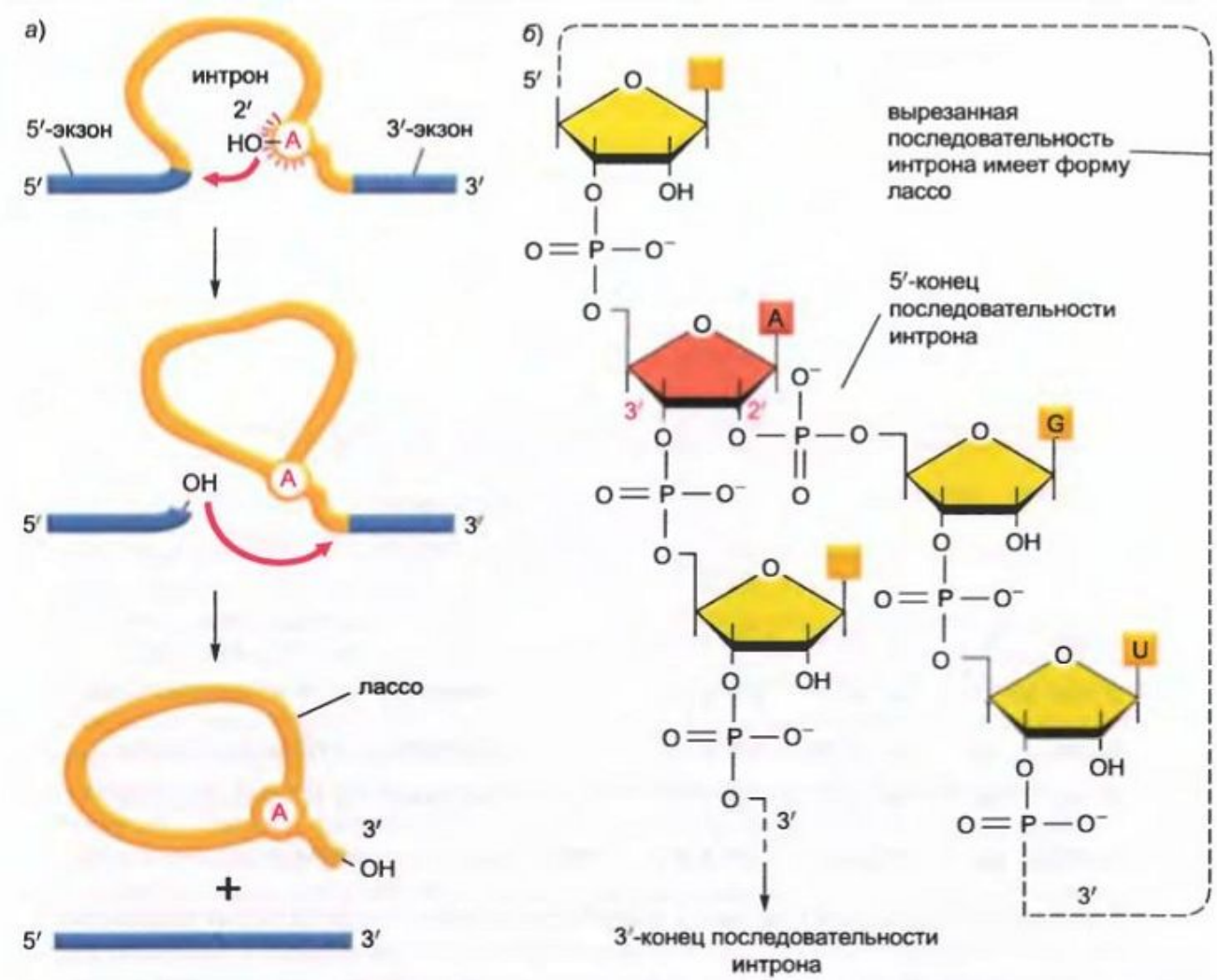
- РНҚ-ға экзонның да және интронның да тізбектері транскрипцияланады. Интрон тізбектері РНҚ-ның сплайсинг немесе тұтасу процесі кезінде жаңа синтезделген РНҚ-дан жойылып кетеді.

- Сплайсингтің әр кезінде трансэтерификация реакциясы деп аталатын фосфорлы топтың тізбектелген екі тасымалдану реакциясы арқылы өтіп бір интрон жойылып отырады; интронның жойылуы кезінде екі экзон онымен «арқан» түрінде байланысады.

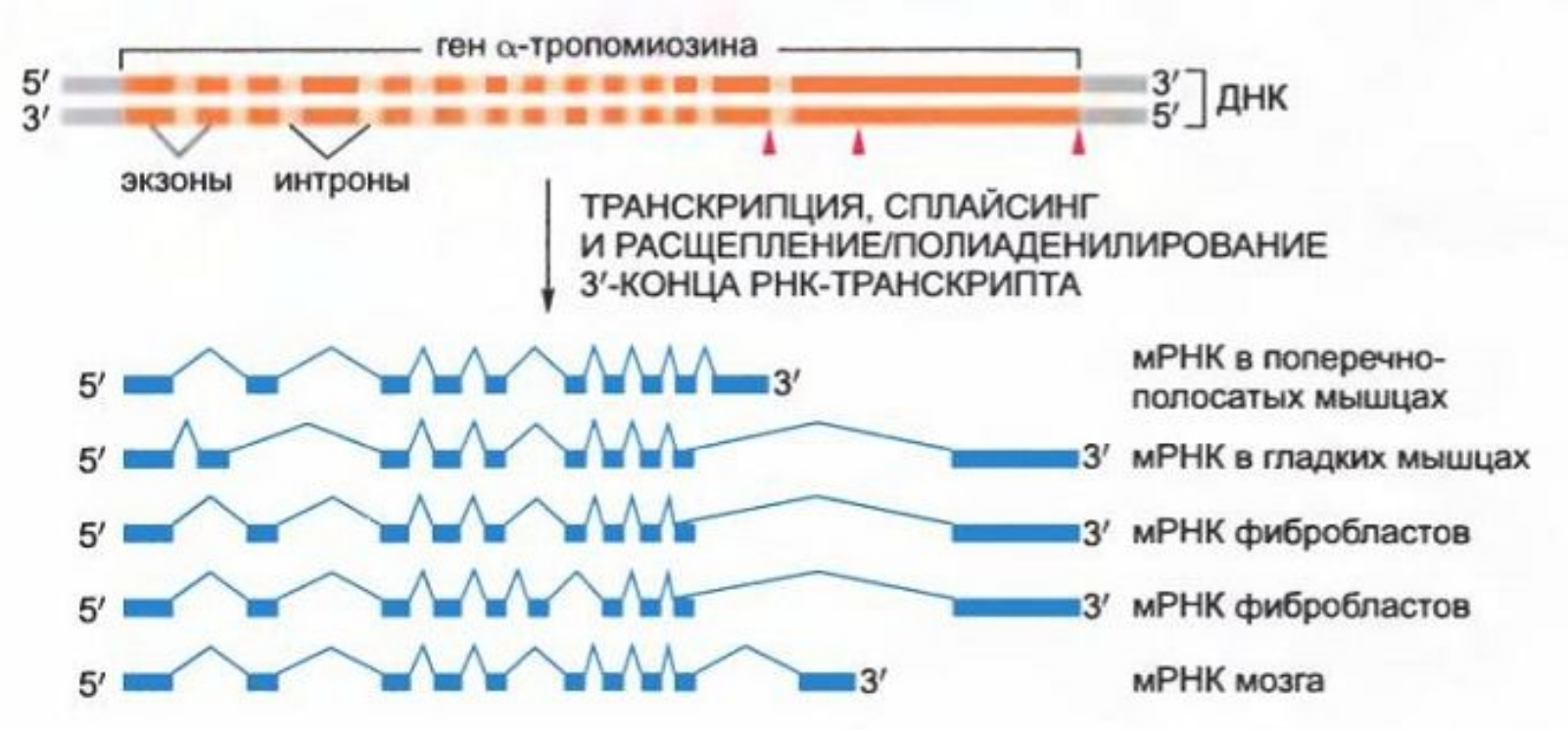
- Пре-мРНҚ-ның бірігуін катализдейтін кешен күрделі болып келеді: ол 5 қосымша РНҚ молекуласынан және 200-ден кем емес белоктан тұрады және бір сплайсинг кезінде көптеген АТФ молекуласын гидролиздейді.



- Экзон мен интронның өзара орналасуын көрсететін адамның екі генінің құрылымы



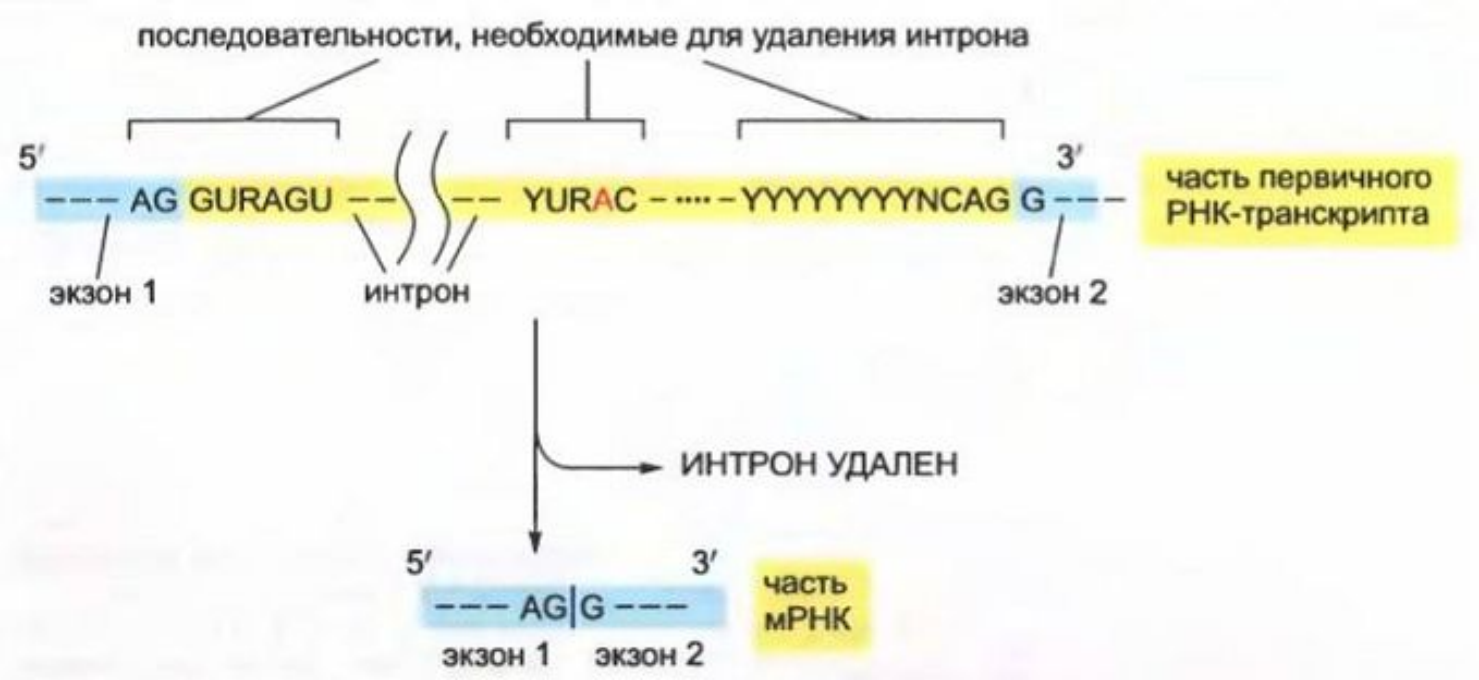
- Пре-мРНҚ-ның сплайсинг реакциясы



- **Егеуқұйрықтың α-тропомиозин генінің альтернативті сплайсингі**
- Көптеген гендердің сплайсингі бір емес, бірнеше әдістер арқылы жүреді, ол бір геннің әртүрлі белоктардың сәйкес келетін жинағын беруге мүмкіндік береді.

- Сплайсингтік кешен РНҚ-ізашарлары молекуласының үш бөлігін таниды: сплайсингтің 5‘-сайтын, сплайсинтің 3‘-сайтын және кесілген арқанның негізін қалыптастыратын интрон тізбегіндегі тармақталу нүктесін.

- Әрбір участок нуклеотидтің консенсустық тізбегінен тұрады, олар интроннан интронға дейін ұқсас болып қалады және сплайсинг болып жатқан участогты белгілеу үшін жасушаны белгімен бөліп қояды.

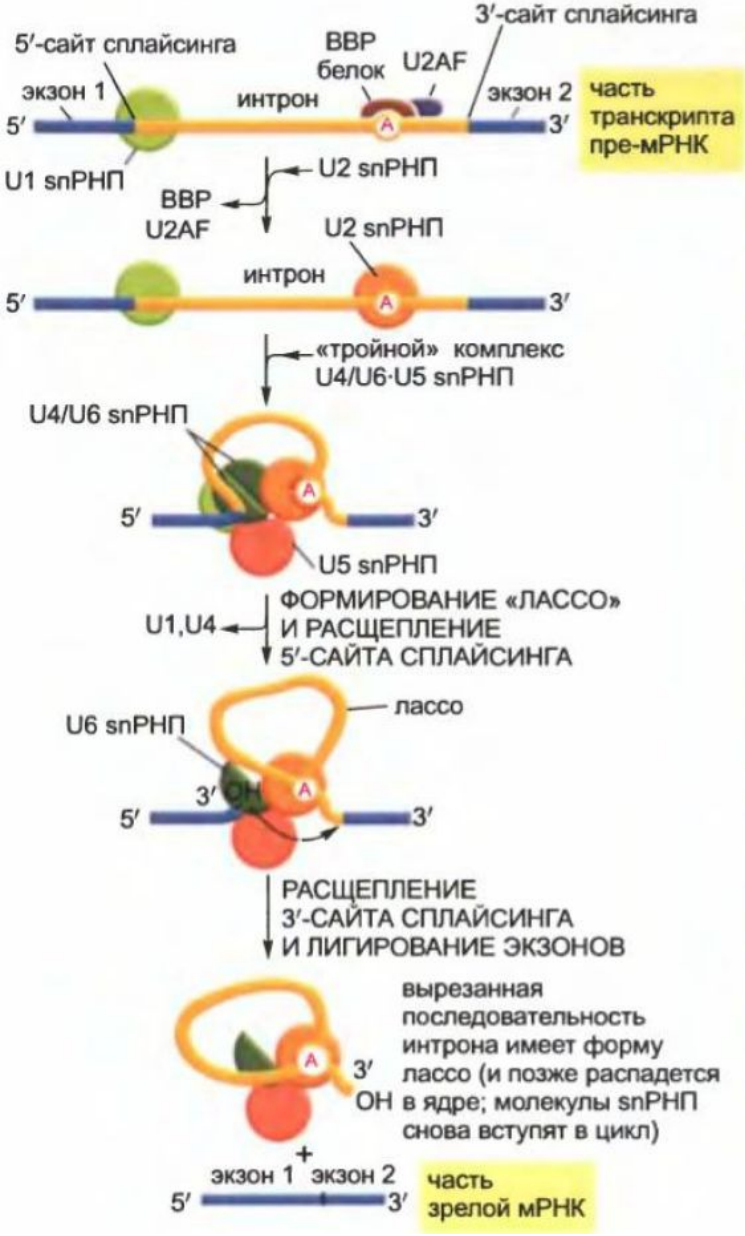


- Адам геномындағы көптеген интрондардың «басталуы» мен «аяқталуын» сигнализациялайтын РНҚ молекуласындағы нуклеотидтердің консенсустық тізбектері

- РНҚ сплайсингінің негізгі сатыларын белоктар емес РНҚ молекулалары атқарады. Маманданған РНҚ молекулалары қай жерде сплайсинг жүру керек екендігін анықтайтын нуклеотидтік тізбекті таниды, сонымен қатар сплайсингтің химиялық процестеріне қатынасады.

- Бұндай РНҚ молекуласы қысқа (әрқайсысы 200 нуклеотидтен аз), және пре-мРНҚ сплайсингісінің басты формасына оның бесеуі қатынасады (U1, U2, U4, U5 және U-6). Кішкентай ядролық РНҚ деп аталатын sn RNA (small nuclear RNAs) кешен тұрінде кем дегенде 7 белоктық суббірлікпен байланысқан және snРНП (кіші ядролық рибонуклеопротеид) түзеді. Бұндай snРНП сплайсосоманың ядросын қалыптастырады , яғни жасушадағы пре-мРНҚ сплайсингін жүзеге асыратын РНҚ молекуласы мен белоктың үлкен ансамбілін қалыптастырады.

-



U1 snРНП образует комплементарные пары с 5`-границей сплайсинга (см. рис. 6.30, *а*), а ВВР (branch-point binding protein; белок, связывающийся с точкой разветвления) и U2AF (вспомогательный фактор U2) узнают участок точки разветвления .

U2 snРНП вытесняет ВВР и U2AF и образует комплементарные пары с консенсусной последовательностью участка точки разветвления (см. рис. 6.30, *б*).

В реакцию вступает «тройка» U4/U6·U5 snРНП. В этом тройном snРНП U4 и U6 snРНК прочно удерживаются вместе взаимодействиями пар оснований. Последующие перестройки создают активный участок сплайсосомы и размещают соответствующие части субстрата пре-мРНК для первой фосфорилтрансферазной реакции.

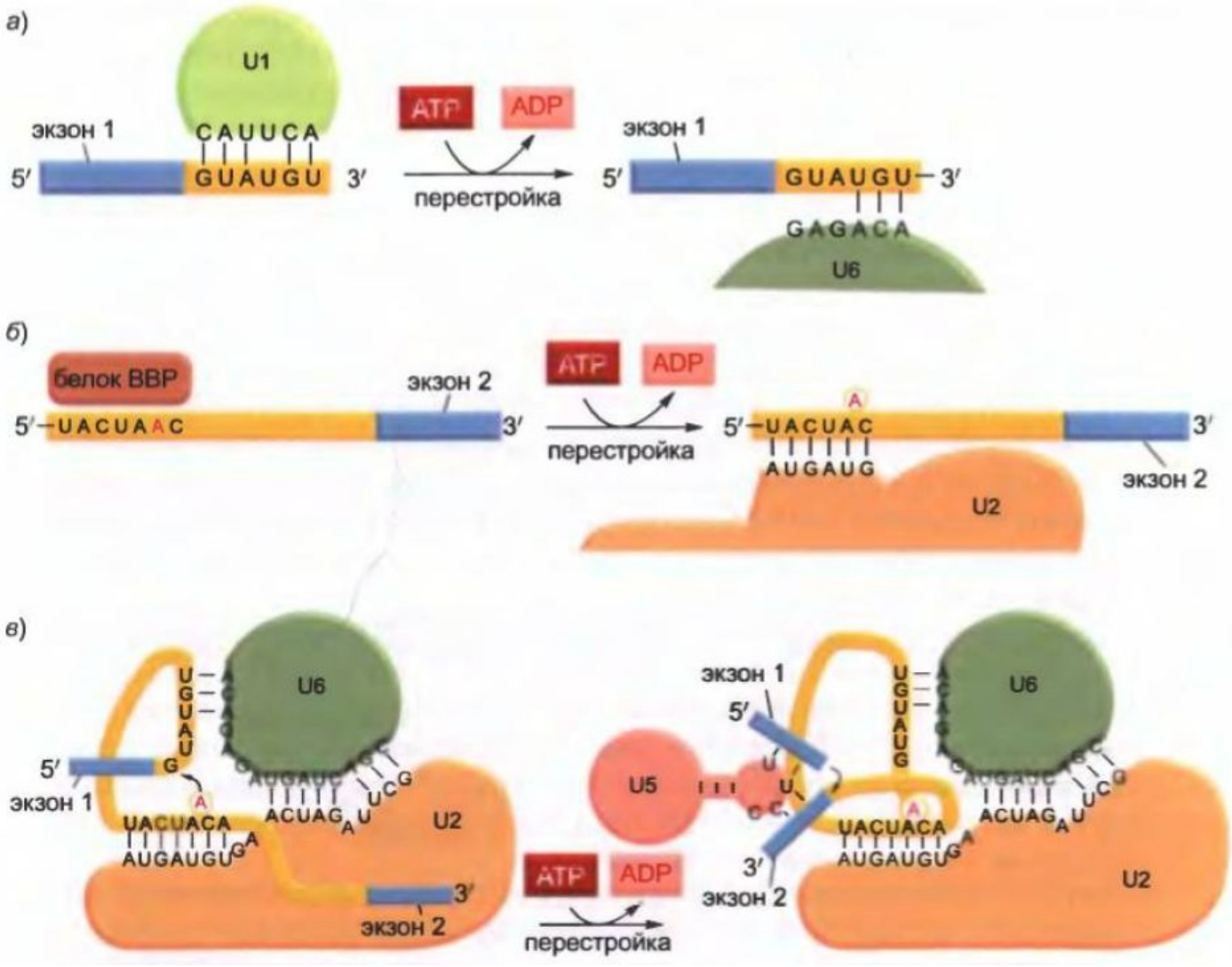
Происходит еще несколько РНК–РНК перестроек, в результате которых разрываются связи, образованные парами оснований U4/U6, и U6 snРНП заменяет U1 на 5`-границе сплайсинга (см. рис. 6.30, *а*), с тем чтобы образовать активный участок для второй фосфорилтрансферазной реакции, которой и завершается сплайсинг.

- Пре-мРНҚ сплайсингінің механизмі

- Сплайсинг реакциясының басталуы кезінде сплайсингтің 5 ‘ –шекарасын тану, тармақталу нүктесінің участогын тану және сплайсингтің 3 ‘ –шекарасын тану пре-мРНҚ субстратындағы консенсустық тізбек пен snРНК молекуласы арасындағы негіздің жұптасуының есебінен жүреді.

- Сплайсинг реакциясының басталуы кезінде сплайсома бірнеше қозғалысқа ұшырайды, ол кезде негіздің комплементарлы байланысының бір жинағы ажырайды, ал басқасы оның орнында түзіледі. Мысалы, сплайсингтің 5 ‘-шекарасында U1-ден U6-ға ауысады.

- Бұндай РНҚ-РНҚ қатарын түзу сплайсинг реакциясының басында бірнеше рет жүреді. Бұл химиялық реакция басталмағанға дейін РНҚ тізбегін тексеруді және тағы тексеруді қамтамасыз етеді және осылай сплайсингтің нақтылығы арта түседі.



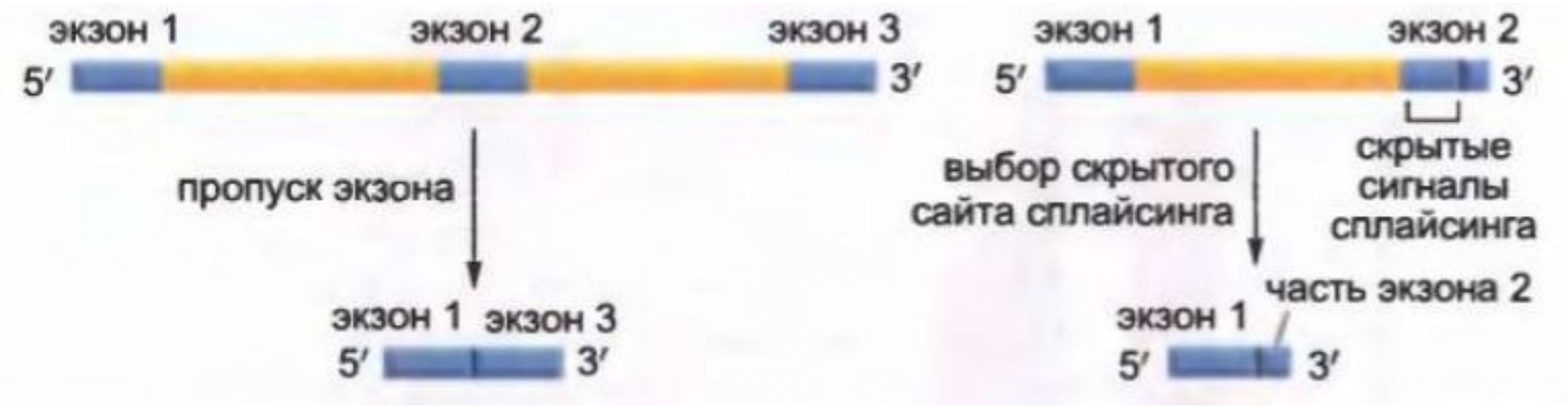
- Пре-мРНҚ сплайсингі кезінде болатын кейбір қайта түзілулер

- Транскрипция басталарда РНҚ полимеразаның фосфорланған ұшы сплайсоманың бірнеше компоненттерін алып жүреді және бұл компоненттер тікелей полимеразадан РНҚ-ға оның синтезіне қарай тасымалданады. Бұл стратегия жасушаның интрондар мен экзондарды қадағалауына көмек береді.

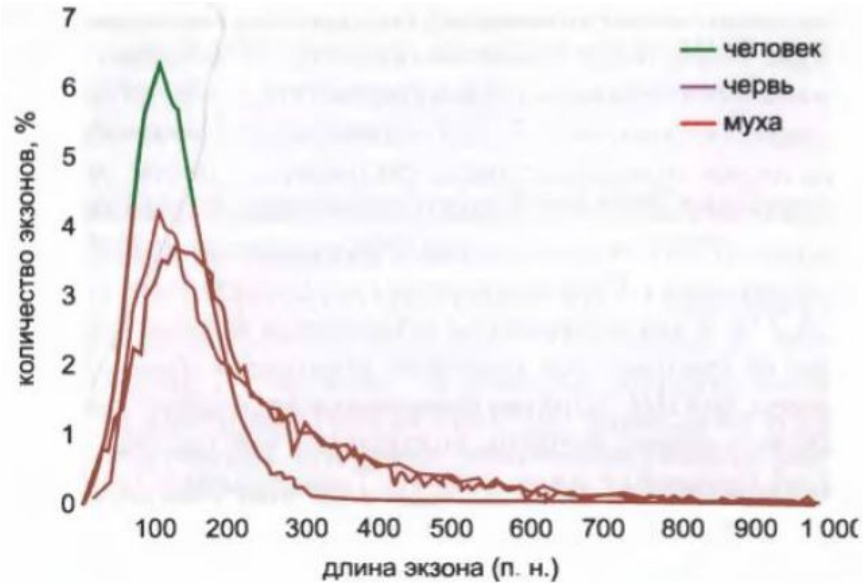
- Экзон өлшемі орташа есеппен 150 нуклеотид жұбынан тұрады. Сплайсинг-орындаушы машина бірінші өлшемі бойынша бірдей экзон тізбегін іздейді.

- РНҚ синтезіне байланысты қосымша компоненттер тобы (әсіресе SR белоктары, бұлай аталу себебі, ол аргинин мен серинге бай доменнен тұрады) экзон тізбегіне жиналады және РНҚ-ның 5 ‘ –ұшынан бастап сплайсингтің 3 ‘ және 5 ‘ сайтын «белгілеуге» көмектеседі.

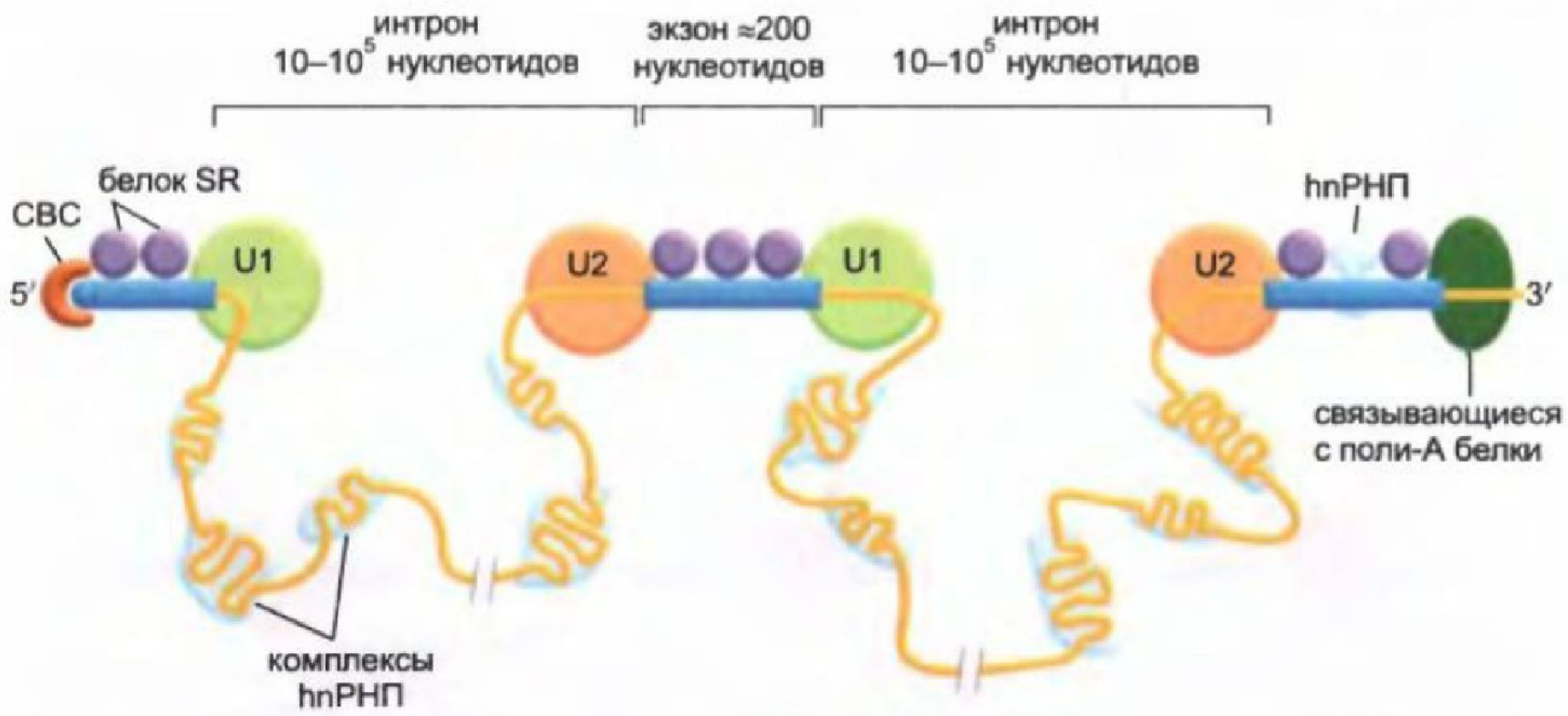
- Бұл белоктар өз кезегінде U1 sn РНК -ны,яғни экзонның төмен жатқан шекарасын белгілейтін және экзонның жоғары шекарасын анықтайтын U2AF-ті еліктіреді.



- Сплайсинг қателігінің екі түрі



- Адам, шыбын, құрт геномындағы экзон және интрон ұзындығының ауытқуы



- Экзонды анықтау концепциясы

- Экзон және интрон шекарасын таңбалау, сонымен қатар сплайсоманы жинақтау РНҚ молекуласында, яғни РНҚ полимераза әлі де РНҚ-ның 3 ‘ –ұшын элонгациялап жатқан кезде басталады.

- Алайда сплайсингтің химиялық бөлігі одан кеш басталуы мүмкін. Бірақ сплайсоманы жинақтау транскрипция процесімен бірге жүреді, сплайсинг реакциясы кейде посттранскрипциялық түрде, яғни пре-мРНҚ молекуласы толықтай дайын дайын болғаннан кейін жүреді.

- Ашытқы сияқты қарапайым эукариоттар тек snРНП –дің бір жинағынан тұрады, алайда шыбын, сүтқоректілер, өсімдік типіндегі күрделі эжукариоттарда snРНП молекуласының екінші жинағы болады.

- Сплайсоманың бұл минорлы формасы сплайсингтің 5‘- және 3‘ шекарасында және тармақталу нүктесінде РНҚ тізбегінің басқа жинағын таниды, оған U12 snРНП –ның қатысы болғанына қарай оны U12-типтегі сплайсома деп атайды.

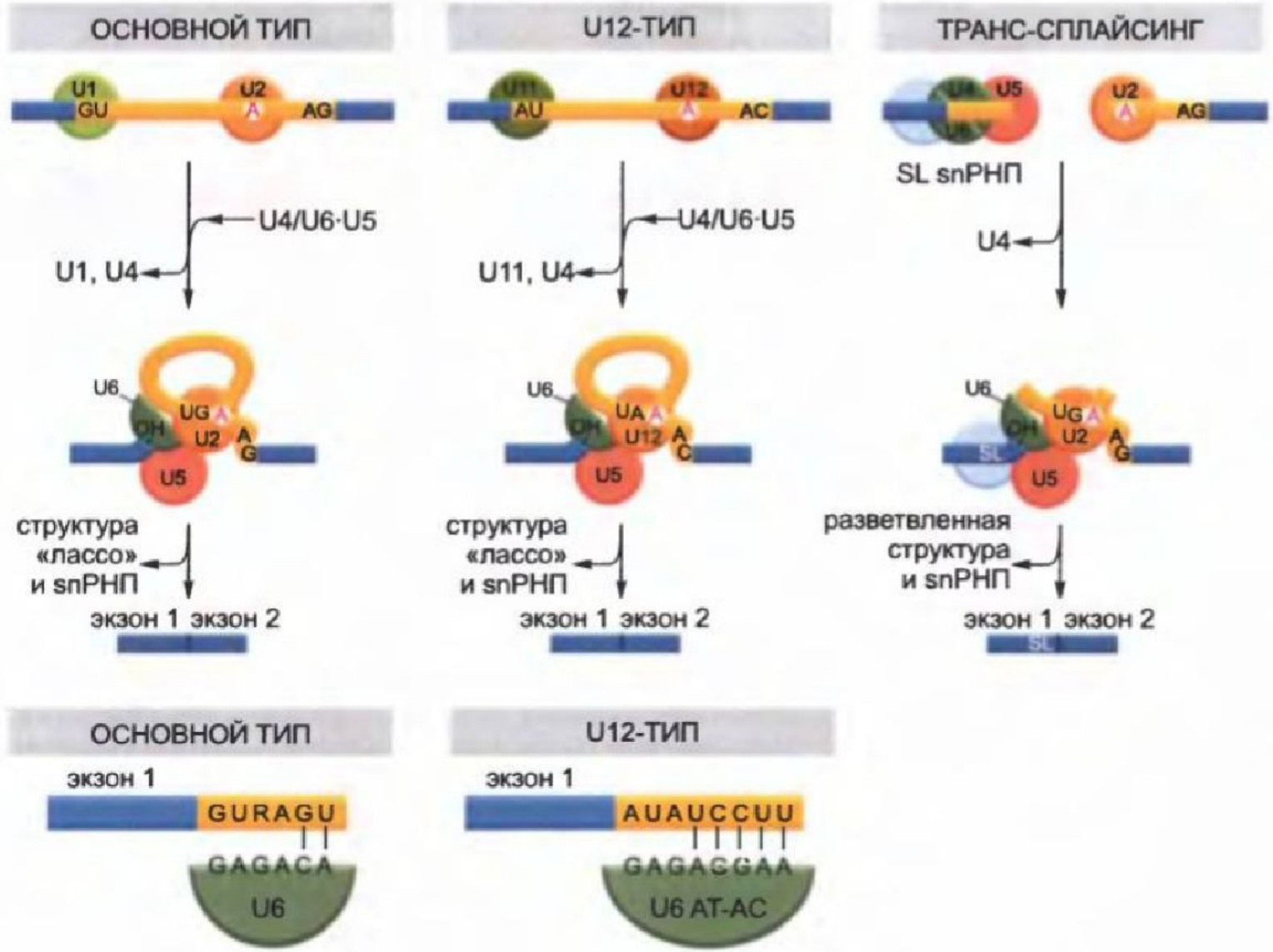
- Бұл сплайсомадағы snРНП РНҚ-РНҚ-тиінің пре-мРНҚ-мен байланысын және негізгі snРНП –нің бір бірімен байланысын қалыптастырады.

- Сүтқоректілердің мРНҚ молекуласы қатары интрон қоспасындысынан тұрады, кейбіреулері негізгі сплайсома арқылы жойылады, ал басқалары минорлы сплайсома арқылы жойылады. Бұндай қағида күрделі скехма бойынша альтернативті сплайсингті жүзеге асыруға мүмкіндік береді деген болжам айтылған .

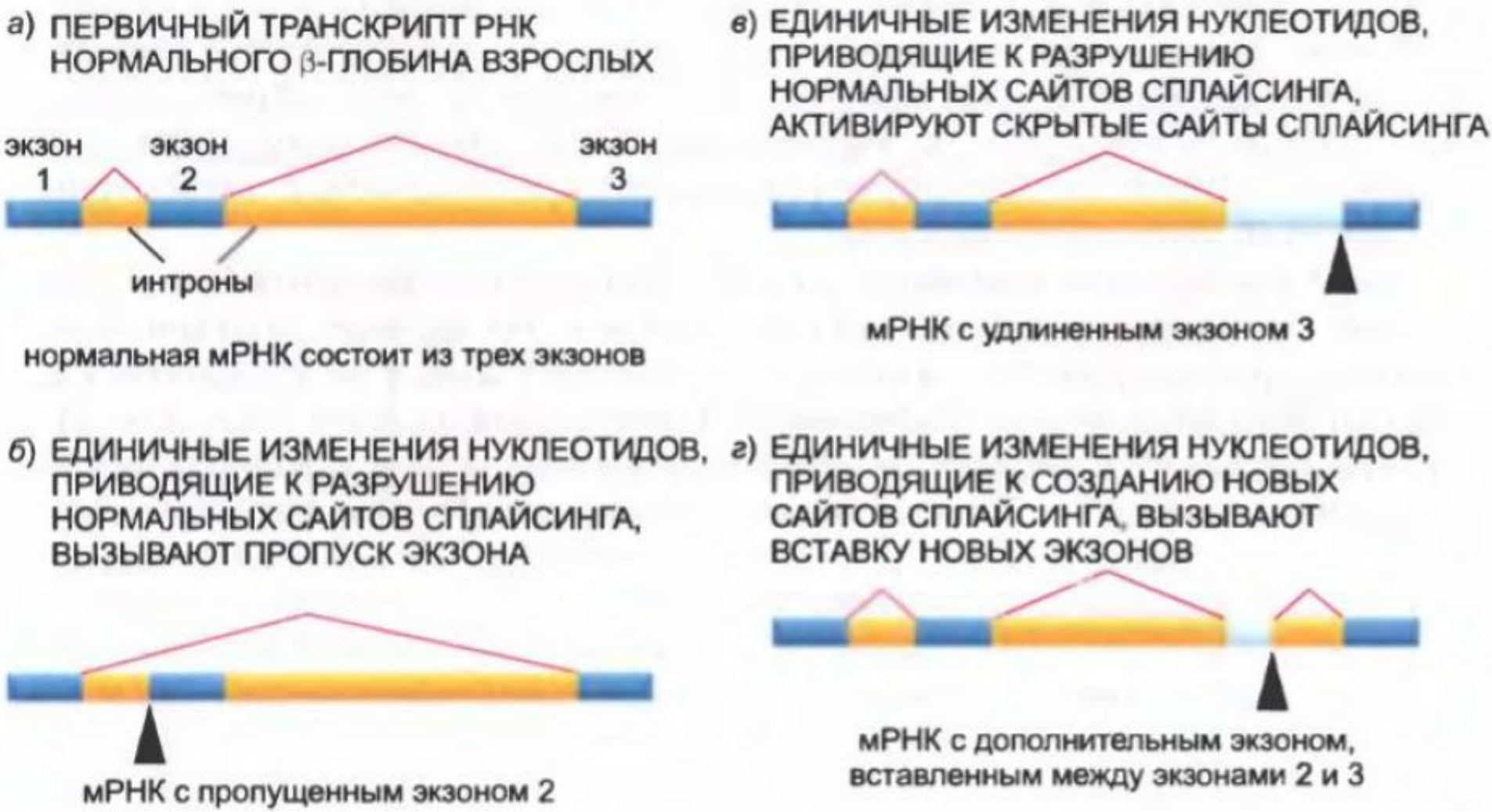
- Трипаносомдарда (адамдарда африкалық ұйқы ауруын тудыратын қарапайым жануарлар) және нематодтарда сплайсингтің ерекше түрі анықталған, оны транс-сплайсинг деп атайды.

- Транс-сплайсинг кезінде екі әртүрлі РНҚ-транскриптінің экзондары бір бірімен байланысады және пісіп жетілген мРНҚ молекуласын түзеді.

- Бір экзон жасуша арқылы түзілген көптеген әртүрлі РНҚ-транскриптінің 5 ‘ –ұшымен жалғасып кетеді; осылай транс сплайсингтің барлық өнімдері бірдей 5 ‘ –экзоннан және әртүрлі 3 ‘ экзоннан тұрады.



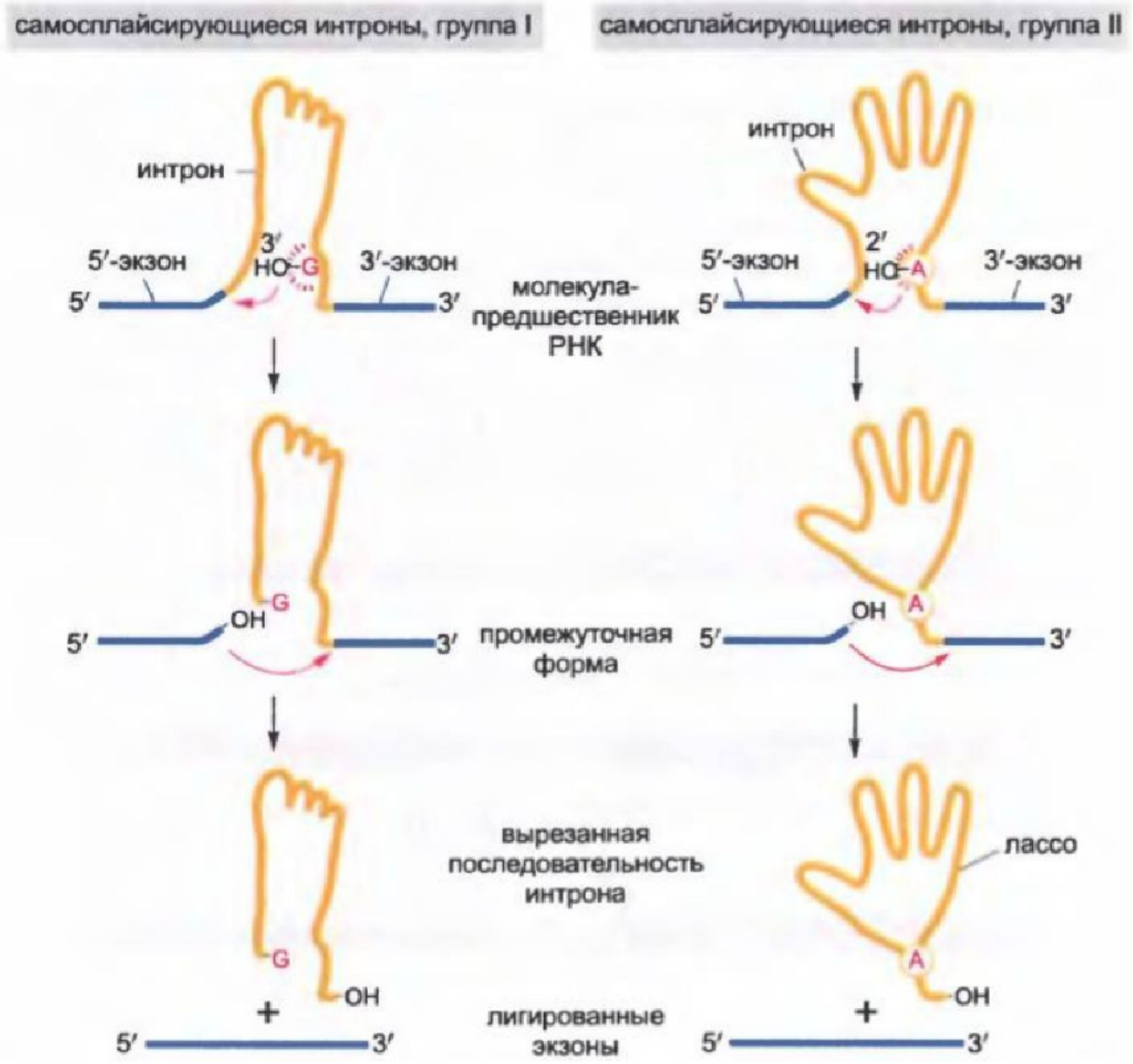
- РНҚ сплайсингтің үш типінде қолданылатын механизмнің жалпы схемасы



- β-талассемиямен ауыратын адамдардағы β-глобиннің біріншілік РНҚ транскриптінің дұрыс емес процессингі

- Эволюция кезінде жасушалар басты катализатор ретінде белоктарды емес, РНҚ молекуласын пайдалануы мүмкін және өзінің генетикалық ақпаратын ДНҚ-да емес, РНҚ тізбектерінде сақтаған.

- Сплайсингтің катализдейтін РНҚ реакциялары осы тарихқа дейінгі жасушаларда маңызды орын алуы мүмкін. Мысал ретінде өздігінен сплайсингтелетін РНҚ-ның кейбір интрондарын айтуға болады, олар Tetrahymena кірпікшелі инфузориясының ядролық рРНҚ генінде , Т4 бактериофагының бірнеше генінде және митохондрия және хлоропласттың кейбір генінде кездеседі.



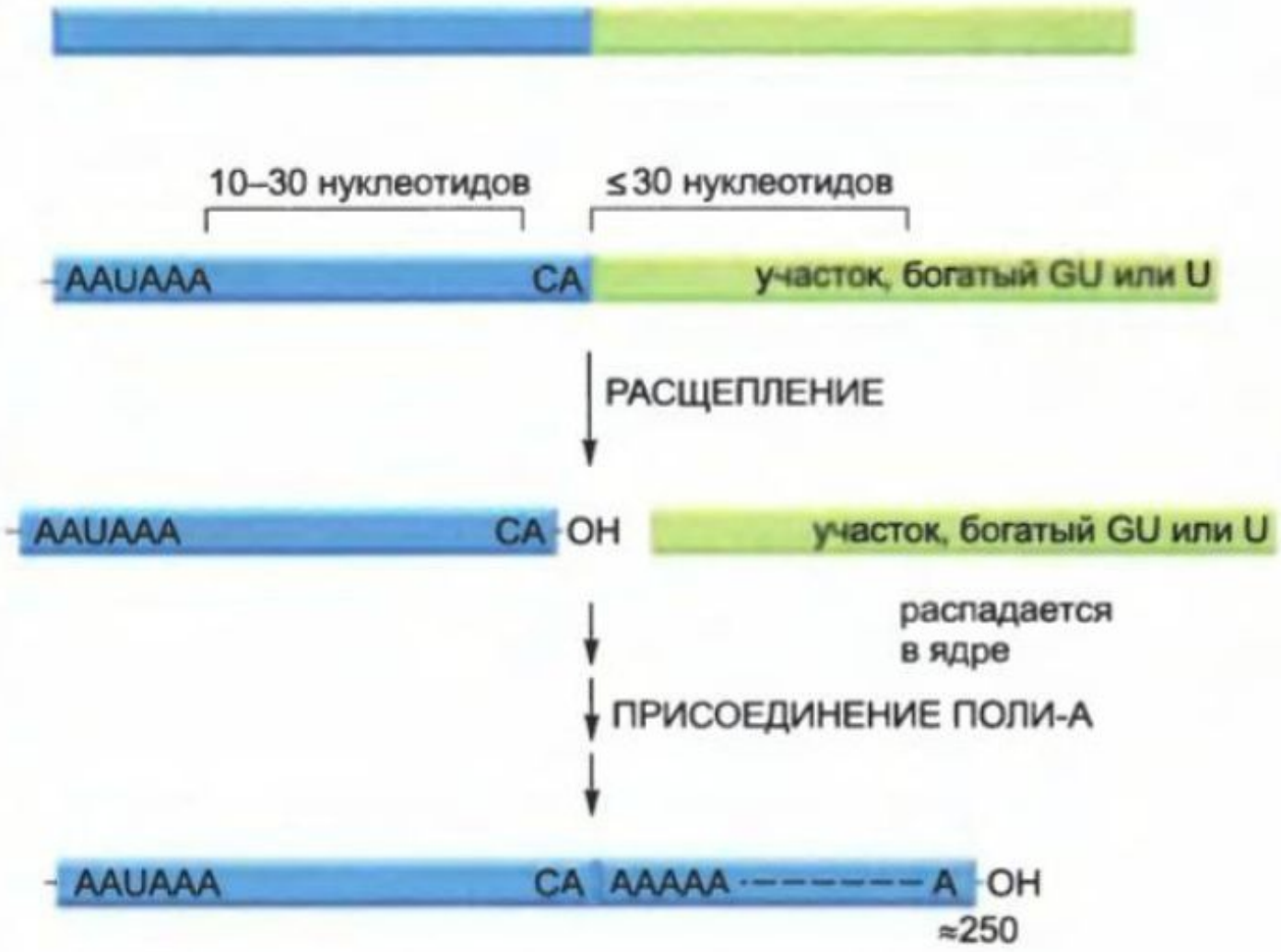
- Интронның өздігінен сплайсингтелетін тізбегінің екі танымал классы

- мРНҚ-ның әр молекуласындағы 3‘-ұшының позициясы геномда кодталған сигнал арқылы анықталады.

- Бұндай сигналдар РНҚ-да транскрипцияланады және РНҚ байланыстырушы белоктар және РНҚ процестеуші ферменттер арқылы танылады.

- Мультисуббірлікті екі белоктың- CstF (cleavage stimulation factors – ыдырауды стимудаушы фактор) және CPSF (cleavage and polyadenylation specificity factor – ыдыраудың спецификалық факторы және полиаденилдеу) маңызы өте зор.

- Бұл белоктар пайда болған РНҚ молекуласында спецификалық нуклеотид тізбегімен байланысқан кезде оларға қосалқы белоктар қосылады, яғни мРНҚ-ның 3‘-ұшын түзу үшін. Бірінші РНҚ ыдырайды, сосын поли-А-полимераза деп аталатын фермент 3 ‘ –ұшына шамамен 200-дей А нуклеотидін бір бірлеп қосады. АТФ осы қосылған нуклеотидтердің ізашары болып табылады және қарапайым РНҚ синтезіндегі сияқты 5 ‘ -3 ‘ типіндегі байланыстар түзіледі.
- Поли А «құйрығының» синтезіне байланысты поли –А-байланыстырушы белогы деп аталатын белоктар оған жиналады және құйрықтың соңғы ұзындығын анықтайды.



- Эукариоттық аРНҚ-ның 3 ‘ –ұшының түзілуі кезіндегі ыдырау мен полиаденилдеуді бағыттайтын консенсустық нуклеотидтік тізбектер

- Эукариоттардың мРНҚ 3 ‘ – ұшының түзілуі кезіндегі басты кезеңдерінің кейібіреулері

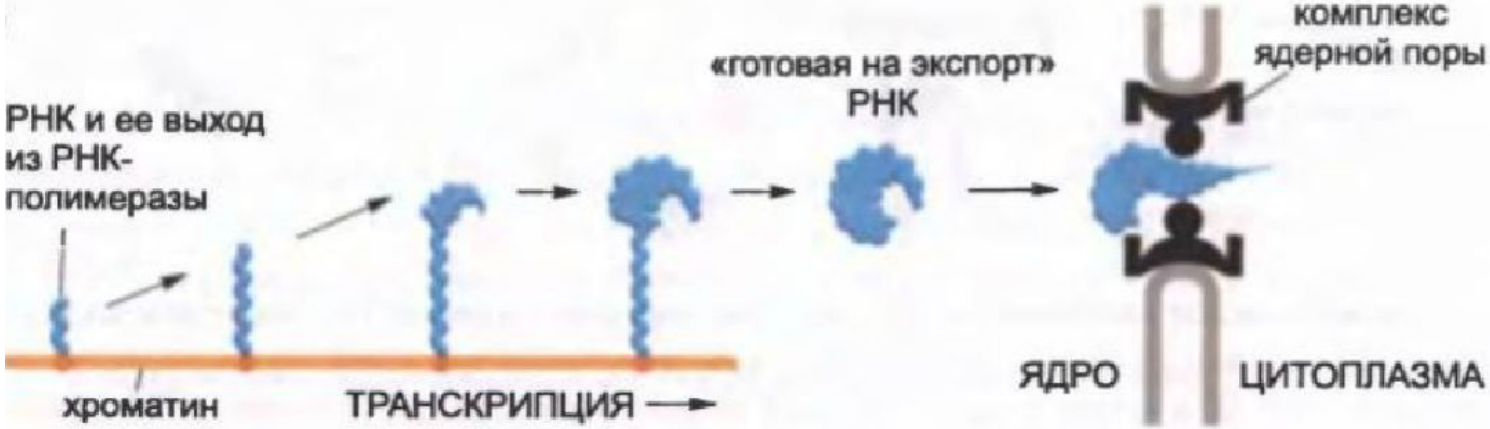
- Эукариоттың пре-мРНҚ-сының 3 ‘ –ұшы ыдырағаннан кейін РНҚ полимеразаII транскрипцияны бастайды, бірақ біраздан соң матрицаны қоршап алу бәсеңдеп, транскрипция аяқталады.

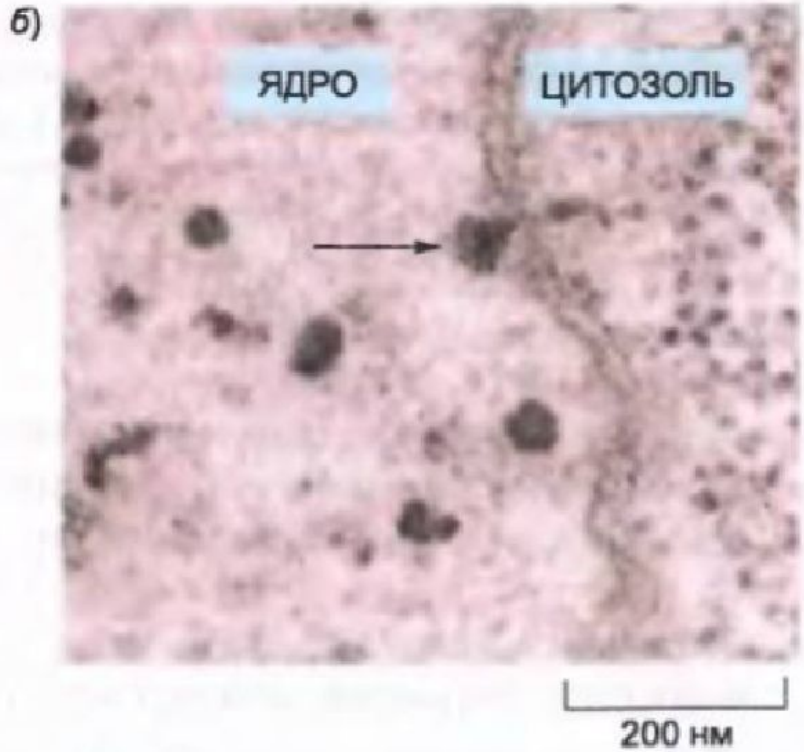
- Себебі бұл синтезделетін РНҚ 5 ‘ –ұшы жағынан мРНҚ-ның 3 ‘ –ұшының ыдырау өнімі болып табылады, полимеразадан шығар кезде онда 5‘ –кэп болмайды, бұндай қорғансыз РНҚ 5 ‘ →3 ‘ экзонуклеаза арқылы , ол полимеразаның құйрығы арқылы тасымалданады.

- Соңында осы РНҚ деградациясы ДНҚ-дан РНҚ полимеразаның ажырауын мәжбүрлейді.

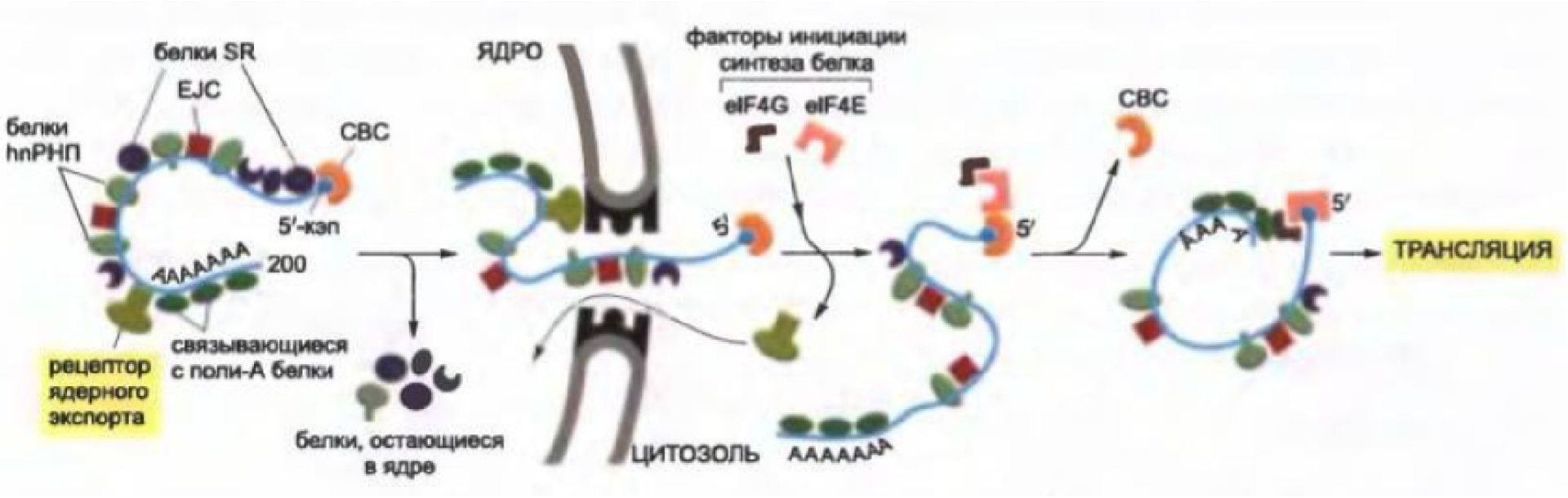
- Сәтті өңделген мРНҚ молекуласы нуклеоплазма мен цитозольды байланыстыратын ядролық кеуекті кешен арқылы өтеді.

- Макромолекулалар ядролық немесе ядролық-цитоплазмалық транспорт рецепторлары арқылы тасымалданады.





- Ірі мРНҚ молекуласының ядролық кеуектік кешен арқылы тасымалдануы



- Экспортталуға дайын мРНҚ молекуласының және оның ядролық кеуек арқылы тасымалының схемалық суреті

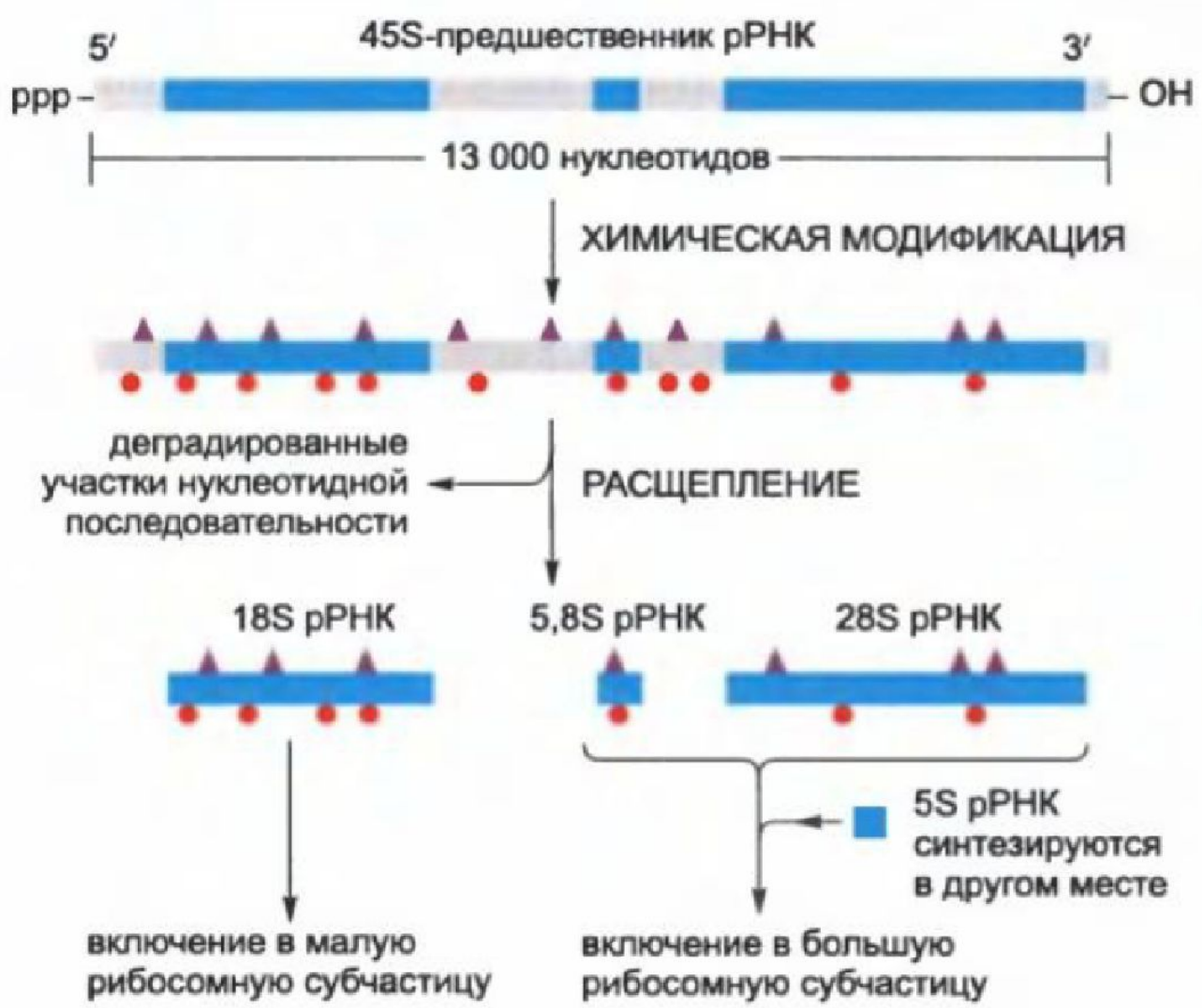
- Эукариоттарда РРНҚ-ның төрт типі бар, олардың әрқайсысы бір рибосомаға ұқсас көшірме түрінде кездеседі.

- Төрт типтің үшеуі (18S, 5,8S және 28S) химиялық модификация жолымен және рРНҚ ізашарының бірдей ірі молекуласының ыдырауы арқылы алынған; төртіншісі (5S РНК) басқа полимераза арқылы(РНК-полимераз III) жеке гендік кластер арқылы синтезделеді және химиялық модификацияны қажет етпейді.

- Электрондық микроскоп арқылы бақыланған рРНҚ –ның тандемді орналасқан генінің транскрипциясы

- Кең ауқымды химиялық модификациялар 13000-нуклеотидтік рРНҚ ізашарында жүреді,яғни одан рРНҚ молекулалары кесіліп тасталмағанға және рибосомаға жинақталғанға дейін жүреді.

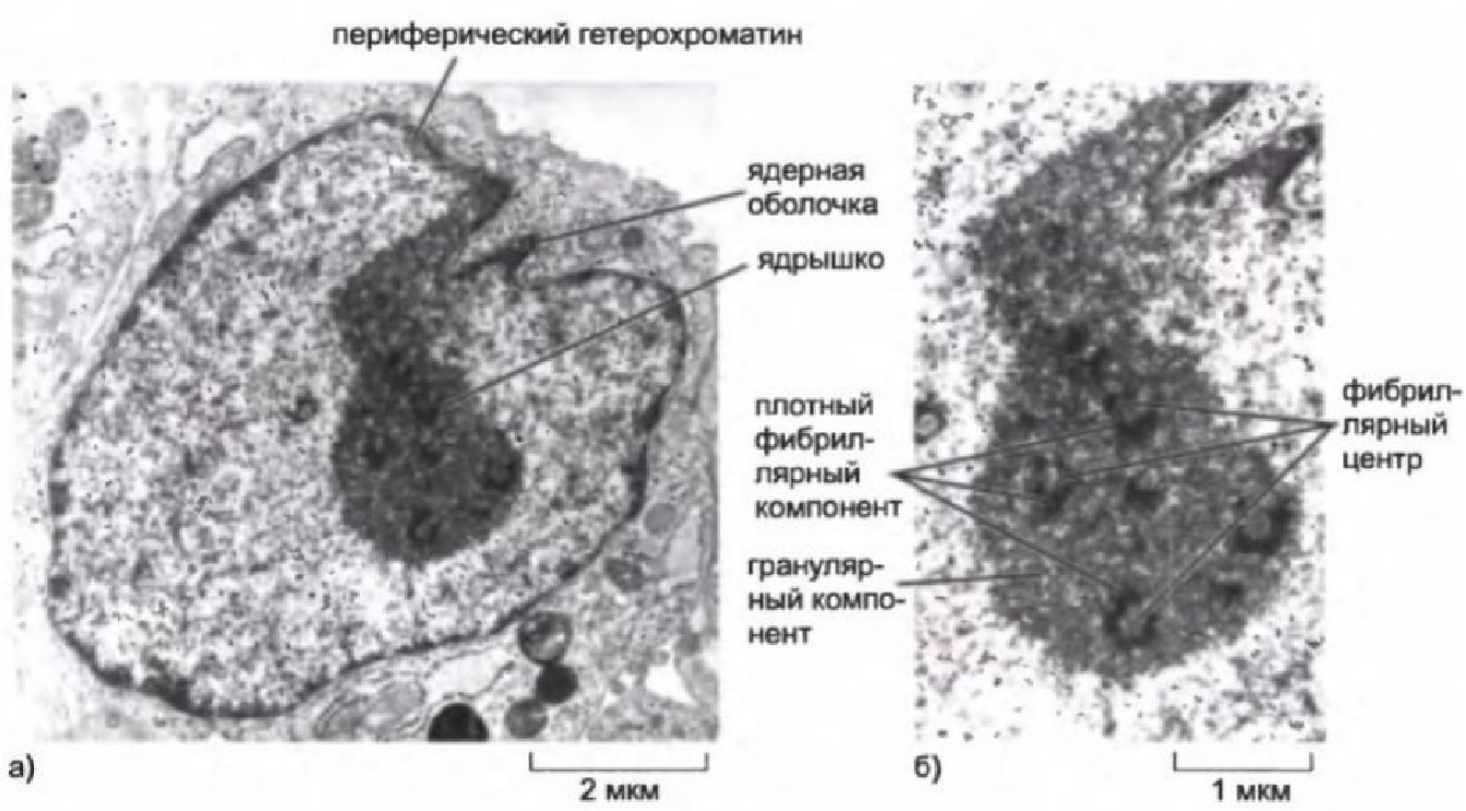
- Бұндай модификацияның қатарына 2 ‘ –ОН рибоза позициясы бойынша 100 нуклеотидті метилдеу және 100 уридинді псевдоуридинге изомерлеу жатады. Бұл модификацияның фунционалдық рөлі әлі белгісіз.



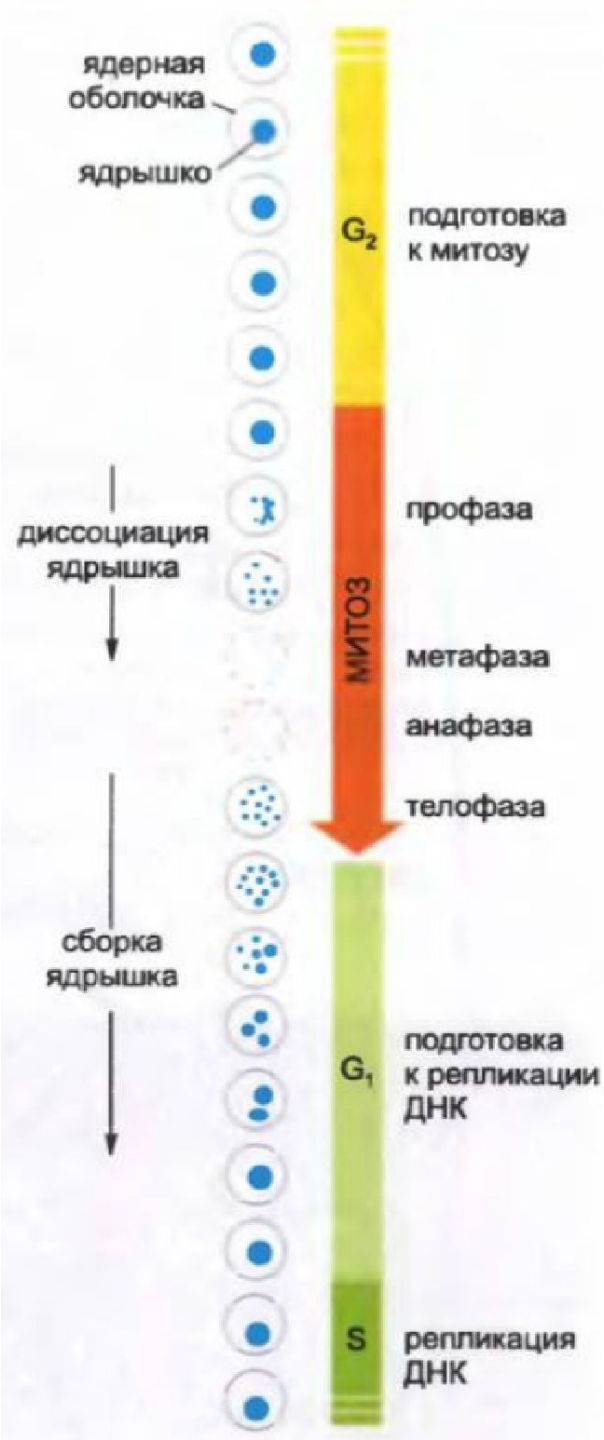
- Үш рибосомалық РНҚ-ның түзілуі арқылы эукариоттың рРНҚ-сының 45 S ізашары молекуласының нуклеотидтік процессингі және химиялық модификациясы.

- Бағыттаушы РНҚ арқылы рРНҚ ізашарының модификациясы

Модификации предшественника рРНК с помощью направляющих РНК.

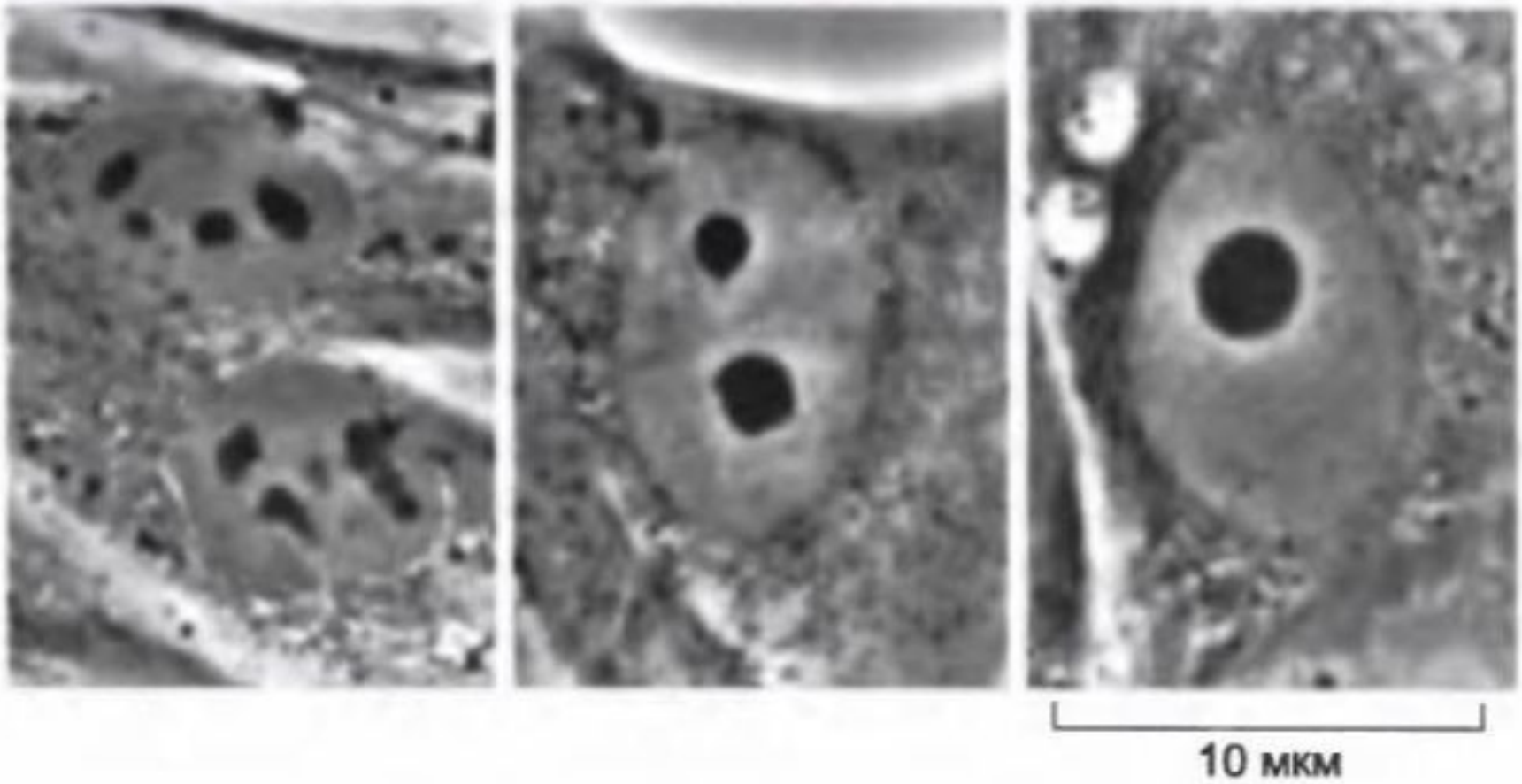


- Адам фибробластындағы ядрошықтың жұқа кесіндісінің электрондық микрофотографиясы; ядрошықта үш әртүрлі зона көрінген

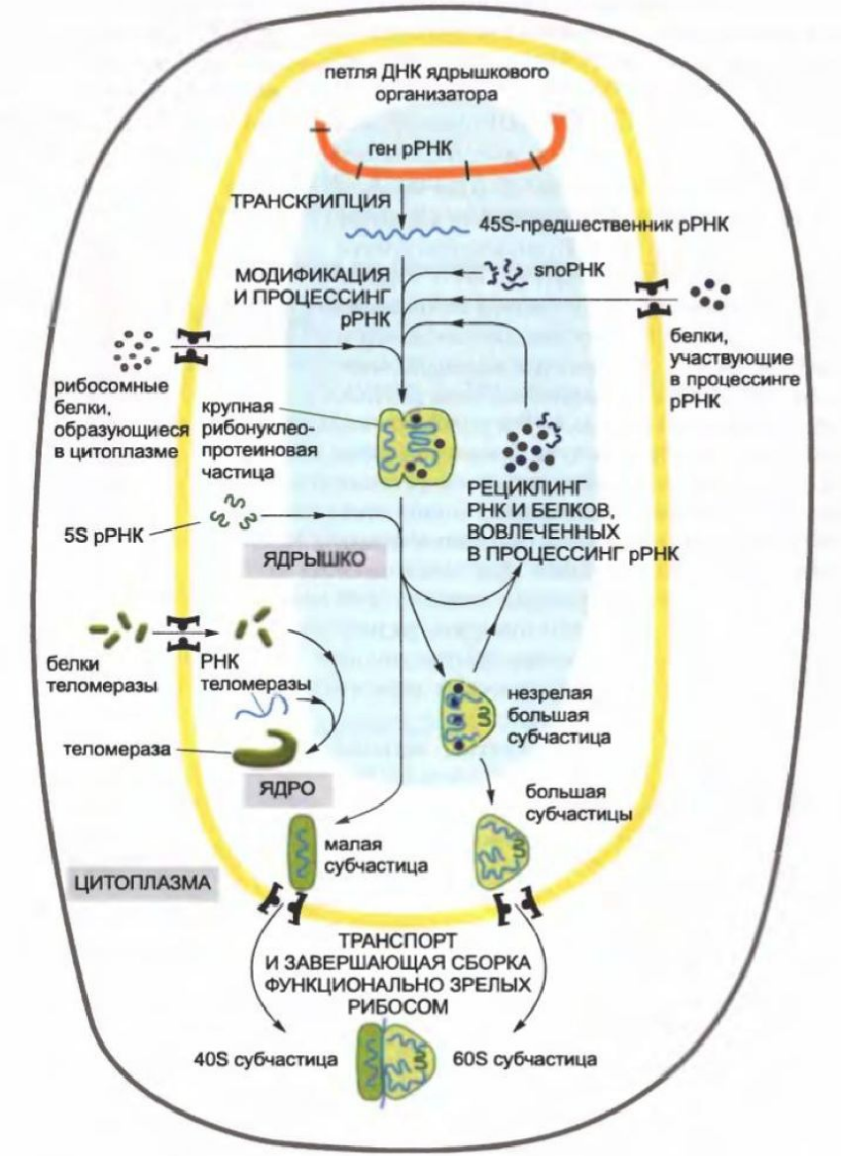


- Адам жасушасында ядрошықтың сыртқы түрі жасушалық циклдың әр сатысында өзгеріске ұшырап отырады

Ядрошықтың бірігуі



Слияние ядрышек



- Ядрошық қызметі, дәлірек аитқанда: риоосома және рибонуклеопротеидтің синтезі

Назар салғандарыңызға рахмет!