Транскрипция

Исследования транскрипции

- В 1961 г. Франсуа Жакоб, Жак Моно предположили существование матричной РНК посредника.
- Триплетность кода: Эксперименты Френсиса Крика с мутациями сдвига рамки считывания у фага Т4. Вставка или делеция одного или двух нуклеотидов приводят к мутации, но не при вставке или делеции трех.

Метод связывания триплетов

В 1964 г. Ниренберг и Ледер разработали данный метод для установления точной последовательности кодонов.

Триплеты-кодоны иРНК комплементарны последовательностям тРНК , которые называются антикодонами.

Аминокислота метилась изотопом и прослеживалось какой из триплетов иРНК связывается с кодоном. Комплекс меченной тРНК и иРНК оставался на фильтре.

Использование повторяющихся кополимеров

Гобинд Корана синтезировал протяженные молекулы РНК с заданной последовательностью, многократно повторяющейся.

Из 2, 3-х, и тетрануклеотидные повторы:

UGUGUGUG

UUGUUGUUGUUG

UACGUACGUACGUACG

Определяли теоретически ожидаемые пропорции аминокислот при добавлении таких иРНК в бесклеточную систему синтеза белков

Wobble hypothesis

- В 1966 г. Ф.Крик сформулировал гипотезу качания (wobble hypothesis).
- Предположил, что для комплементации с тРНК важны только первых два рибонуклеотида, т.к. водородная связь в третьей позиции пары кодон-антикодон более свободная, чем между первыми двумя.
- Это позволяет антикодону одного типа тРНК спариваться с несколькими триплетами иРНК.
- Т.о. для кодирования аминокислот 61-м триплетом требуется около 30 различных тРНК.
- Экономичность, без ущерба точности трансляции.

Базис транскрипции

Транскрипция – биосинтез РНК на матрице ДНК.

Транскрипция - начальная стадия реализации генетической информации в клетке.

В процессе транскрипции синтезируются мРНК, тРНК, рРНК и другие виды РНК, выполняющие структурные, регуляторные и каталитические функции.

Процесс транскрипции осуществляется ДНК-зависимыми РНК-полимеразами.

РНК-полимераза

- РНК-полимераза - фермент, участвующий в синтезе РНК на ДНК-матрице.
- Использует в качестве субстрата рибонуклеозидтрифосфаты (NTP), не нуждается в праймерах.
- Катализирует полимеризацию нуклеотидмонофосфатов (NMP) в полинуклеотидную цепь (NMP)n.
- (NMP)n+NTP = (NMP)n+1 + Ppi
- Праймер — короткий фрагмент нуклеиновой кислоты (олигонуклеотид), комплементарный ДНК- или РНК-мишени; служит затравкой для синтеза комплементарной цепи с помощью ДНК-полимеразы (при репликации ДНК).

Виды РНК-полимераз

РНК-полимераза-I взаимодействует с инициатором I, который обеспечивает транскрипцию 45S рибосомальной РНК.

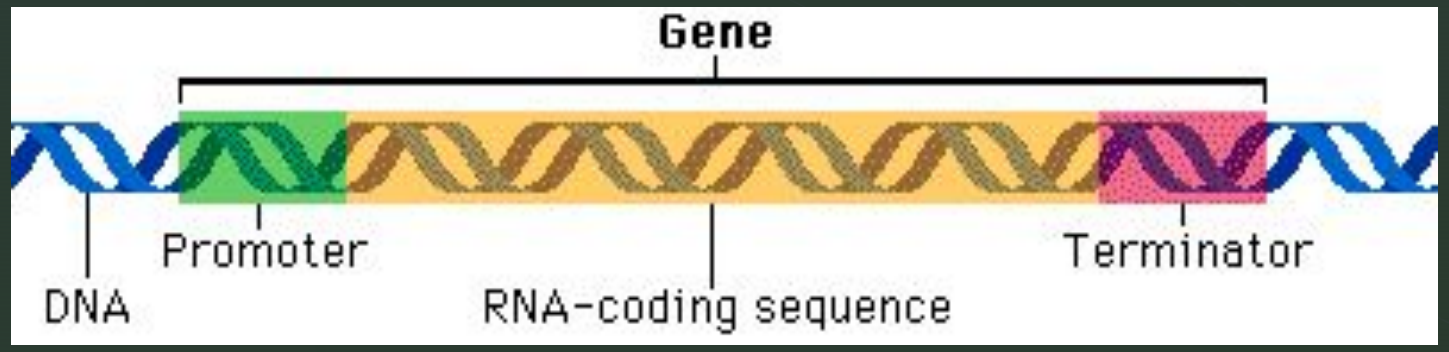
РНК-полимераза-II взаимодействует с инициатором II, который обеспечивает синтез информационных РНК и большинства малых ядерных РНК.

РНК-полимераза-III взаимодействует с инициаторами III и IIIA. Инициатор III обеспечивает синтез всех транспортных РНК, а инициатор IIIA — малой рибосомальной РНК- 5S р-РНК.

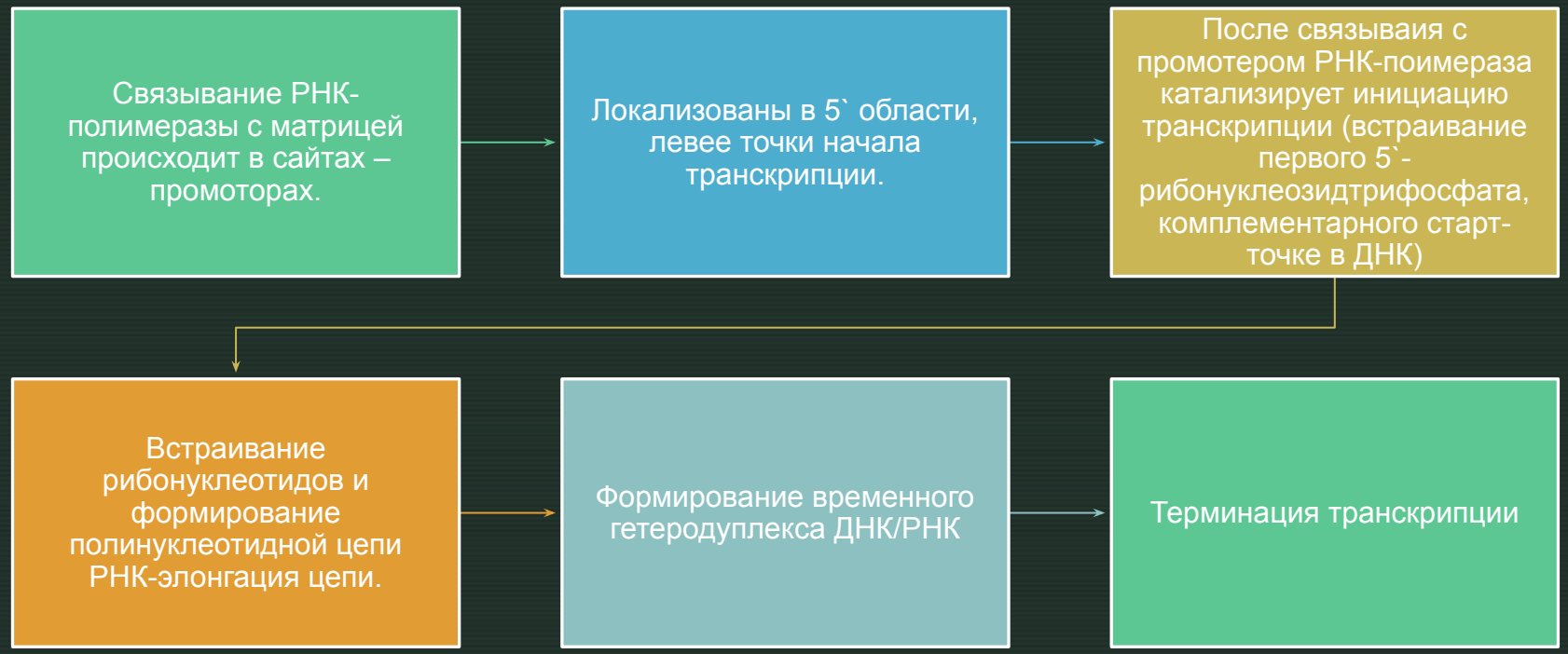
Терминация транскрипции у эукариот сопряжена с разрезанием и полиаденлированием и-РНК, а также с процессингом т- и р-РНК.

Базис транскрипции

Единица транскрипции – транскриптон, участок ДНК, ограниченный промотором (зоной начала транскрипции) и терминатором (зоной остановки транскрипции).
Участки молекулы ДНК, которые транскрибируются, называют структурными генами, а участки ДНК, которые не транскрибируются, но регулируют процесс синтеза РНК, — регуляторными генами (или регуляторными элементами).

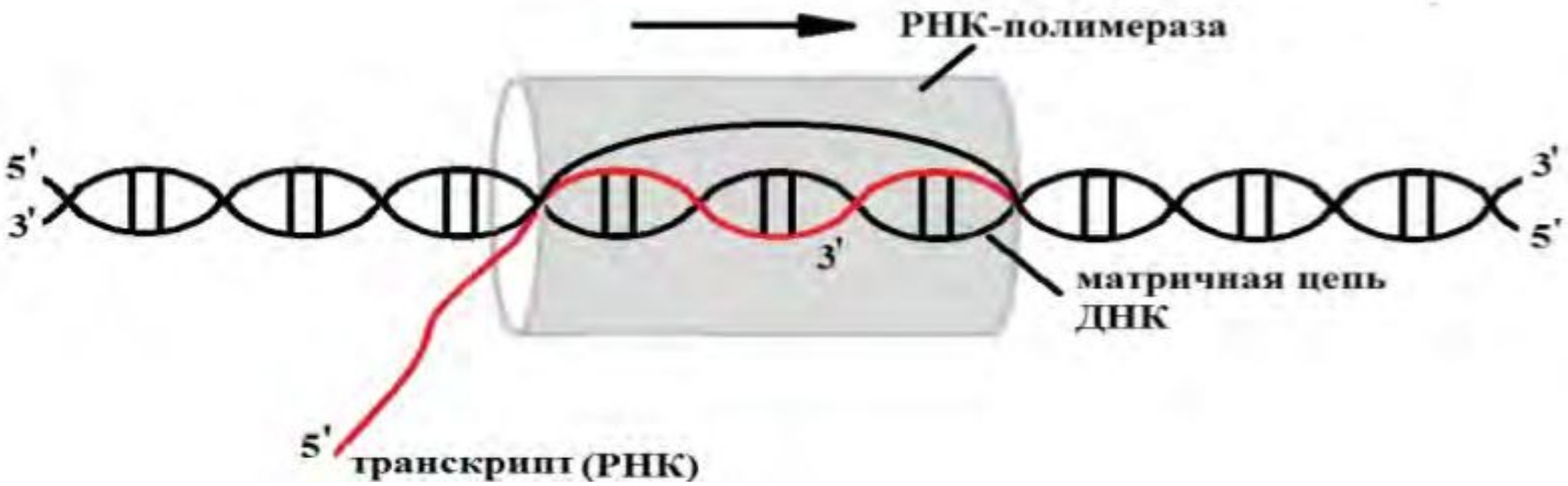


Последовательность транскрипции



Основные принципы транскрипции

- Комплементарность: РНК-полимераза синтезирует комплементарную реплику с транскрибируемого участка (A-U, G-C, C-G, T-A).
- Отсутствие потребности в затравке: транскрипция начинается с нуклеозидтрифосфата (ATP, либо GTP) и не требует затравочных олигонуклеотидов.
- Антипараллельность: синтезируемая цепь РНК направлена антипараллельно транскрибируемому участку.
- Ассиметричность: транскрибируется лишь одна из цепей ДНК - матричная цепь.
- Униполярность: синтез нуклеотидной цепи всегда направлен 5´→ 3´.

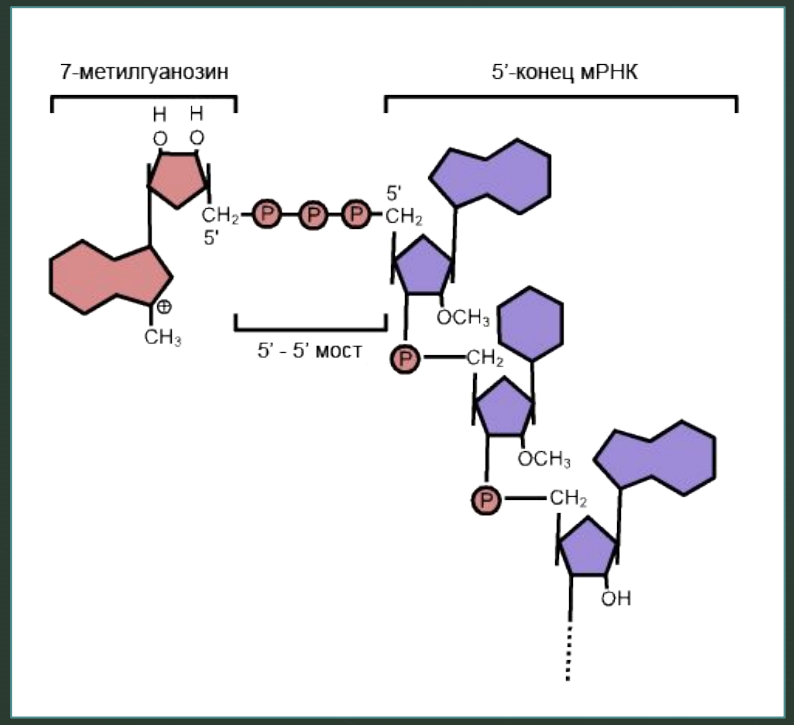

РНК-полимераза
5'
3'
3'
5'
3'
матричная цепь ДНК
5'
транскрипт (РНК)

Процессинг

- 1.Кэпирование 5'-конца – присоединении к этому концу иРНК так называемой шапочки (кэп-структуры – 7-метилгуанозина);
- 2.Полиаденилирование 3'-конца – образование поли(А)-шлейфа, длиной до 200 нуклеотидов.
- 3. Сплайсинг – вырезание протяженных внутренних участков иРНК, так называемых интронов, и ковалентное воссоединение оставшихся фрагментов (экзонов) через обычную фосфодиэфирную связь.
- Экзоны-последовательности, которые транскрибируются в зрелые РНК и с которых транслируются полипептиды.

Кэпирование

- Функции кэпа: защита 5'-конца транскрипта от экзонуклеаз; участие в сплайсинге; экспорт мРНК из ядра; участие в инициации трансляции.



Сплайсинг

- В зависимости от специфичности механихма сплайсинга, интроны подразделяются на группы:
  - Интроны, которые сами обладают ферментативной активностью для вырезания
  - Интроны, которые сами не способны вырезаться.
  - Вырезаются с помощью сплайсосом.
- Сплайсосома-комплекс из специфичных белков, акцептируемых концевыми последовательностями длинных интронов.
- Существует также альтернативный сплайсинг.

Сплайсосома

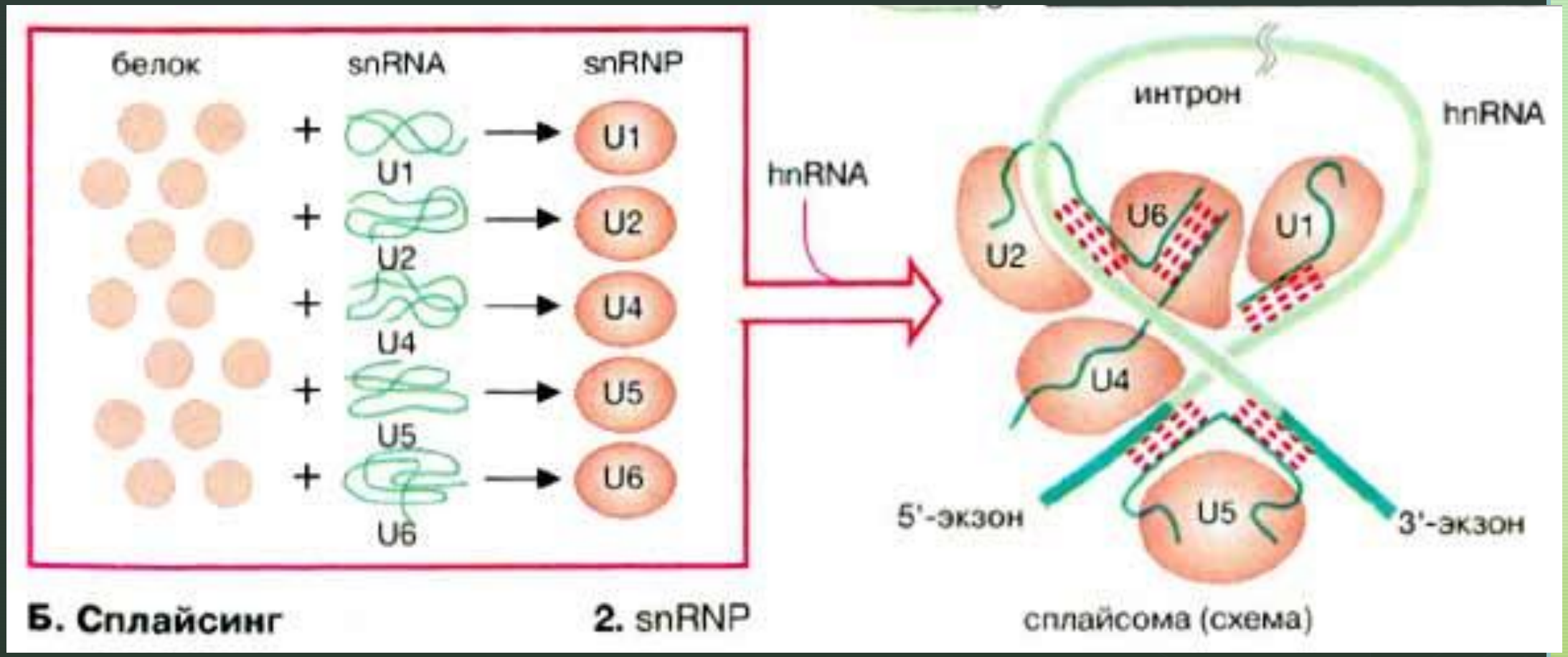
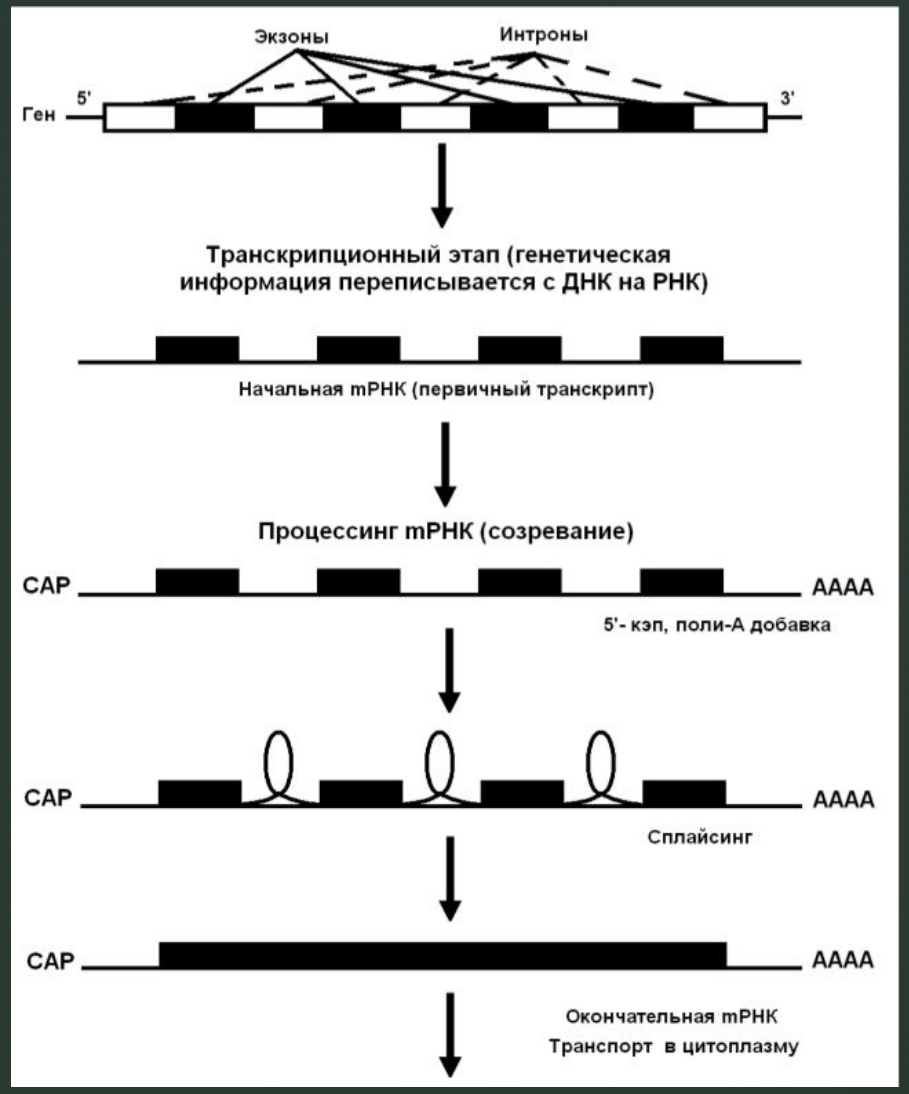
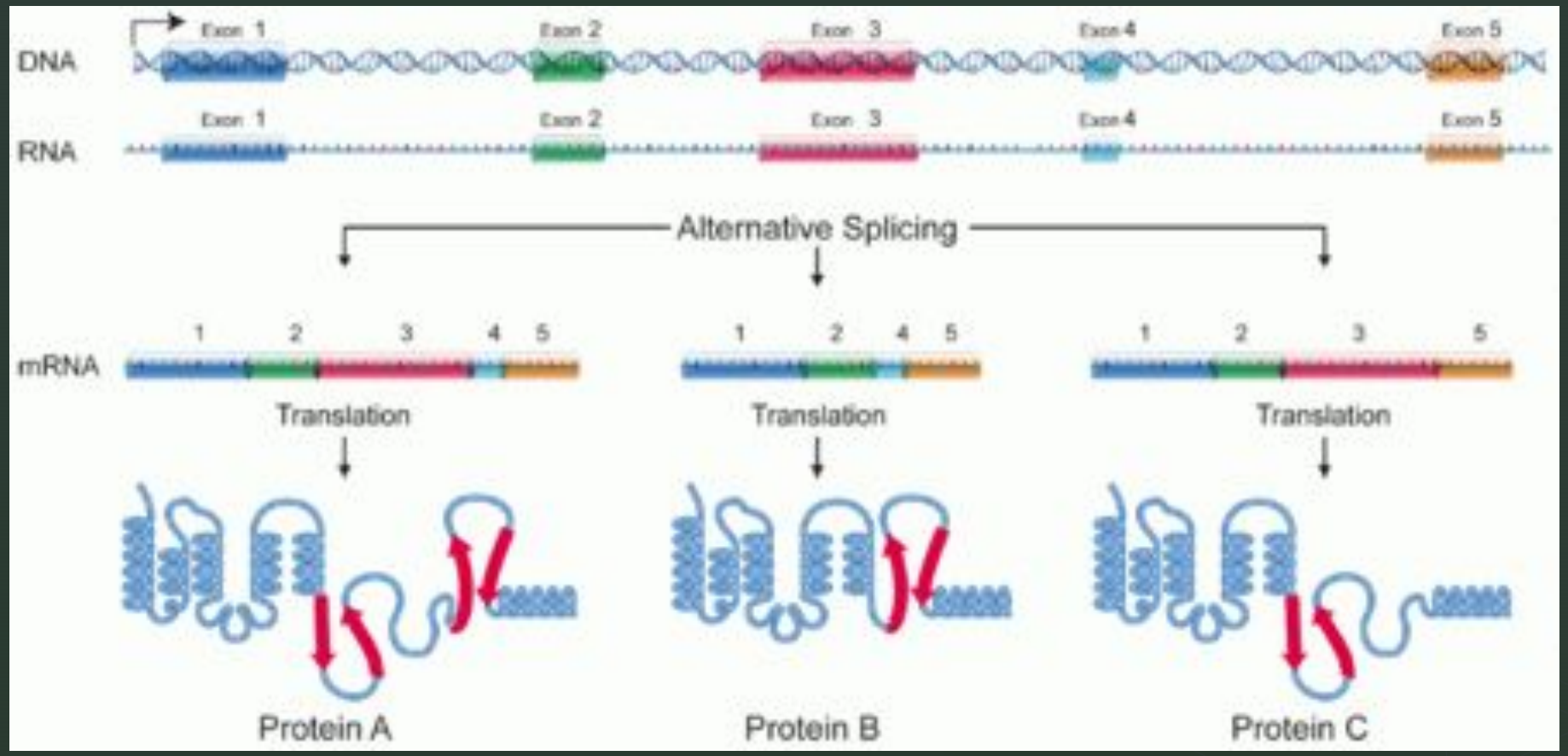


Схема сплайсинга с сплайсосомой



Альтернативный сплайсинг



Эдитинг

Эдитинг-редактирование РНК

В процессе эдитинга последовательность зрелой РНК отличается от последовательности, кодируемой экзонами ДНК.

2 типа эдитинга:

1.Замещающий

2.Инсерционно-делеционный