

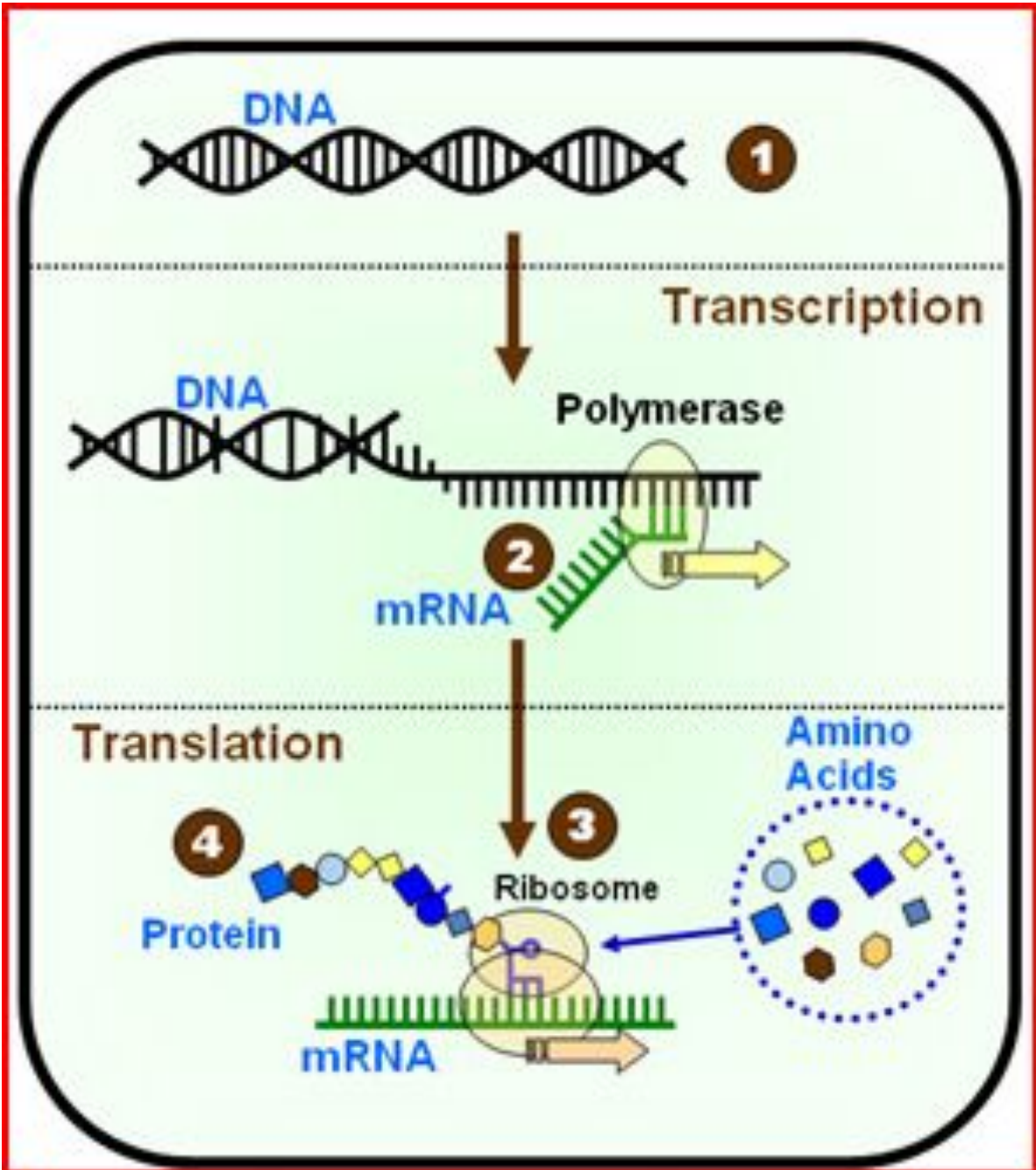


Транскрипция

- Транскрипция - **биосинтез РНК на матрице ДНК**
- Последовательность рибонуклеотидов в молекуле РНК **комплементарна последовательности дезоксирибонуклеотидов** одной из цепи ДНК.
- Цепь ДНК, по которой непосредственно идет транскрипция РНК-молекул, называется **кодирующей цепью**.
- Другую цепь называют **некодирующей цепью** соответствующего гена.

- Считывание информации с ДНК-матрицы на РНК, синтез идет с помощью РНК-полимераз.
У эукариот три РНК-полимеразы: (для **синтеза тРНК, мРНК, рРНК**).
У прокариот одна РНК-полимераза синтезирует все виды РНК.
- **Транскрипция не связана с определенным этапом клеточного цикла.**
Она предшествует трансляции – синтезу белка.

- **Механизм РНК-полимеразной реакции** тот же, что и ДНК-полимеразной, направление синтеза 5' → 3', (субстратами служат нуклеозидтрифосфаты, **тимину ДНК комплементарен урацил в РНК**).
- РНК-полимераза – олигомерный белок из 6-ти субъединиц. При этом, **σ** – одинакова для всех полимераз и отвечает за связывание **с промотором**.
- РНК-полимераза не требует «затравки».
- РНК-полимераза не редактирует свои ошибки.



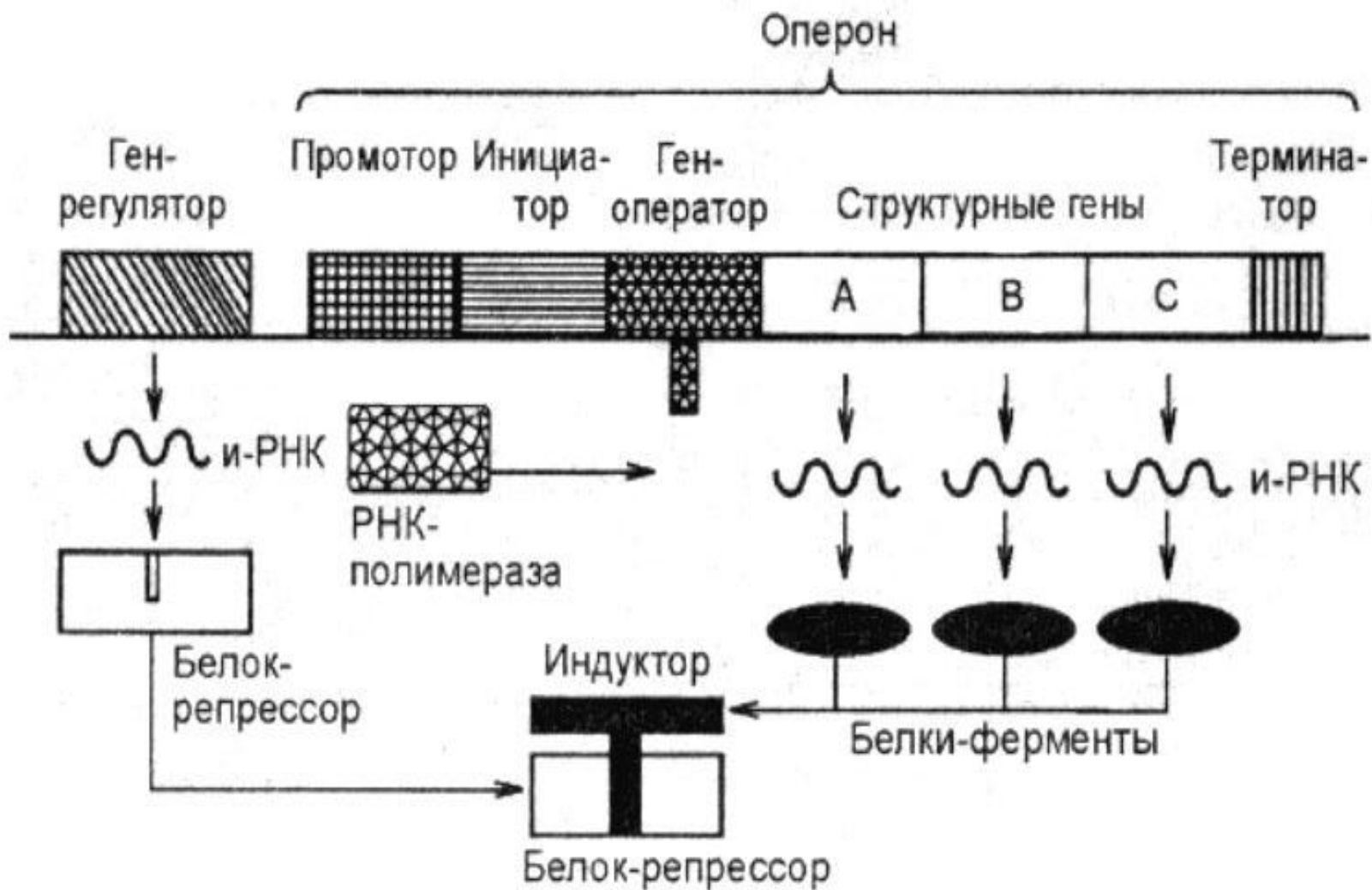
Оперон и транскриптон

- Единицей транскрипции *у прокариот* является ***оперон***
- Единицей транскрипции *у эукариот* ***транскриптон***

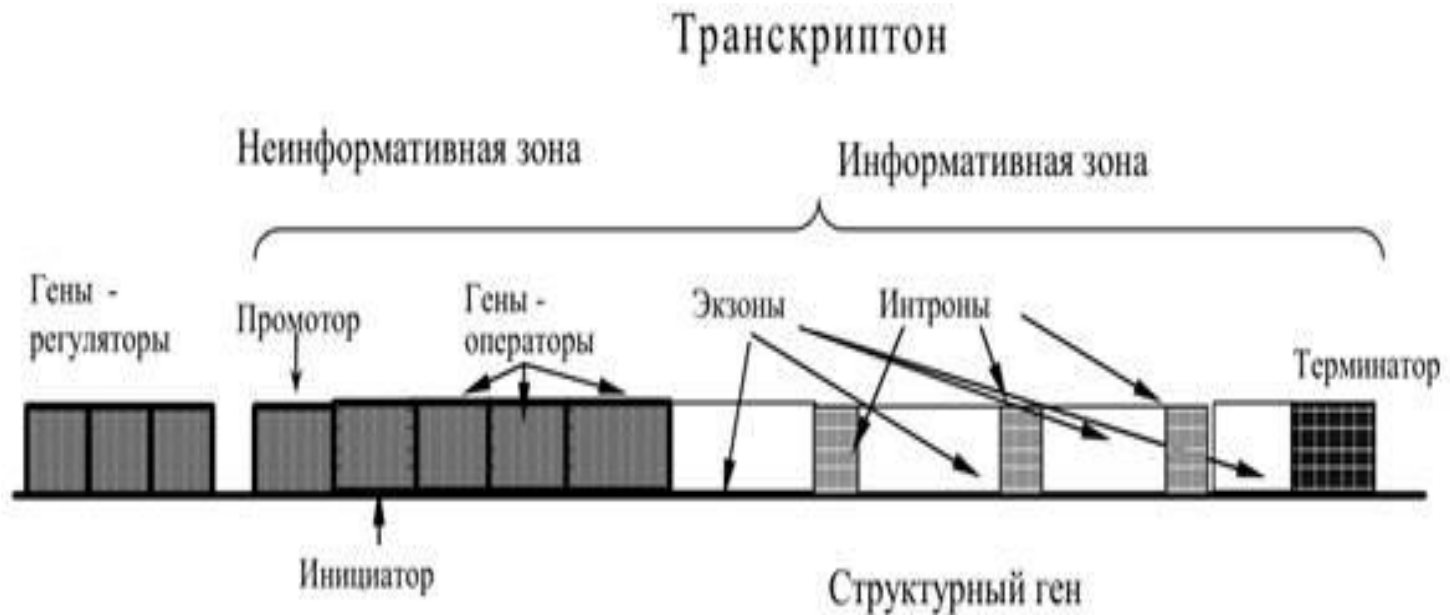
Структура оперона

- **Промотор** - место инициации транскрипции, к которому присоединяется фермент РНК-полимераза; в ДНК *E. coli* имеется 2000 промоторов на $4,8 \times 10^6$ пар оснований;
- **Ген-оператор** (или **акцепторная зона** у эукариот) - место связывания регуляторных белков, например, белка-репрессора;
- **Структурные гены**, включающие информативные участки - **экзоны** и неинформативные участки - **интроны**;
- **Терминатор** - последовательность нуклеотидов, сигнализирующая о завершении транскрипции.

Структура оперона



Структура транскрипта



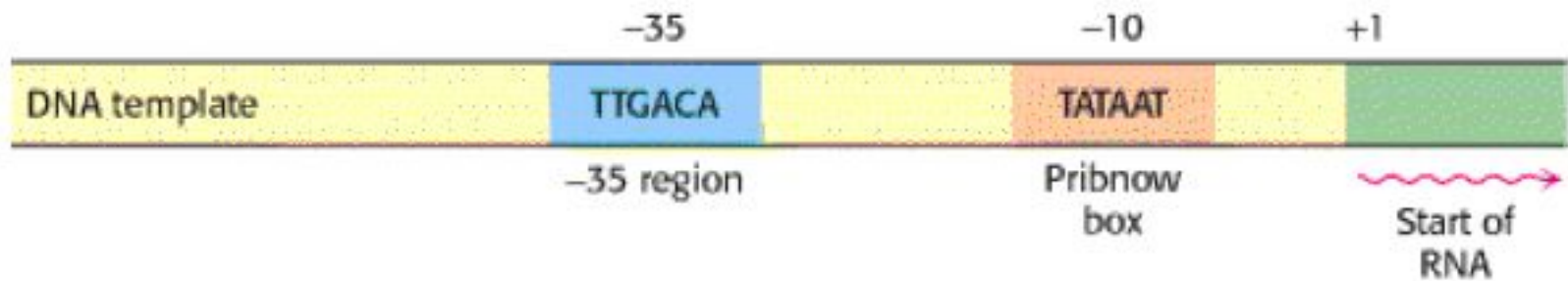
Промотор прокариот

- У бактерий функцию промотора выполняют **две последовательности** нуклеотидов на 5'-конце молекулы.
- Одна из них называется **блок Прибнова** (TATAAT), центр которого располагается в положении **-10** (10 нуклеотидов на 5'-конце от первого транскрибируемого нуклеотида, обозначаемого +1).
- Другая последовательность, называемая **-35** область, имеет последовательность **TTGAЦА**.

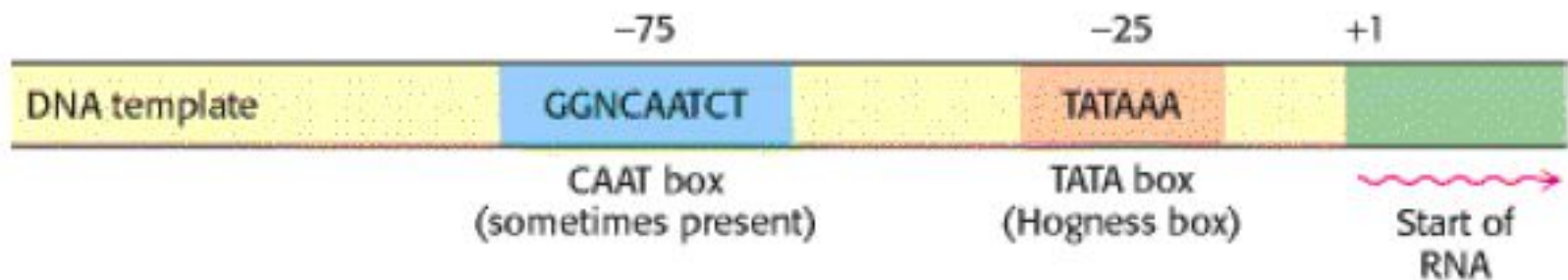
Промотор эукариот

- Эукариотические гены, кодирующие белки, имеют **блок Хогнесса** (ТАТААА) в положении **-25**, а также **ЦААТ-блок** (ГГЦЦААТЦТ) в положении **-75**.
- Транскрипция у эукариот регулируется **энхансерными** (усиливающими) последовательностями, которые находятся далеко от стартового нуклеотида.

Промотор прокариот и эукариот



(A) Prokaryotic promoter site



(B) Eukaryotic promoter site

Терминация синтеза

- Терминацию синтеза РНК вызывают длинные **блоки АТ-последовательностей** нуклеотидов в ДНК - терминатор (стоп-сигнал);
- У ряда прокариот обнаружен белок, называемый ρ -фактором, который в участке терминации освобождает РНК от матрицы ДНК.

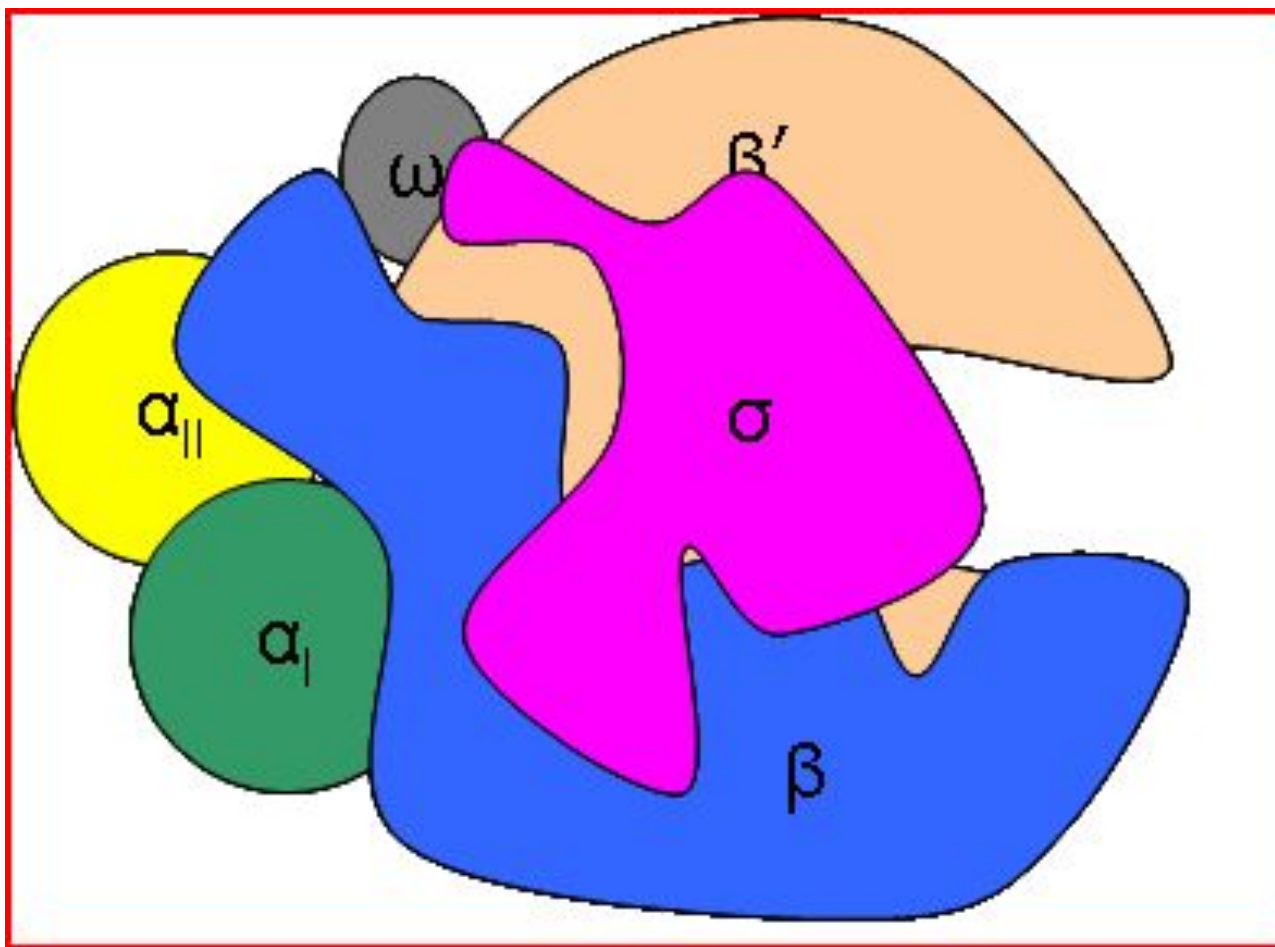
Факторы, необходимые для транскрипции

- **Матрица**, которой является неспаренная цепь ДНК. В отличие от репликации транскрипция происходит на определенном фрагменте ДНК.
- **Субстраты**. Для синтеза РНК необходимы четыре типа рибонуклеозид-5'-трифосфатов: АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ. Разрыв макроэргической связи между α и β -остатками фосфорной кислоты обеспечивает процесс синтеза энергией.
- Фермент **ДНК-зависимая РНК-полимераза**.

РНК-полимераза

- РНК-полимераза *E. coli* состоит из **5 субъединиц** ($\alpha_2\beta\beta'\omega$, м.м. 390 000) и шестой **σ -субъединицы**.
- Фермент, состоящий из 6 субъединиц, называется **холоферментом**.
- **β -субъединица** участвует в связывании рибонуклеозидтрифосфатов (катализирует синтез РНК),
- **β' -субъединица** – в связывании фермента с ДНК-матрицей,
- **2α - субъединицы** участвуют в инициации транскрипции;
- **ω -субъединица** восстанавливает.
- Структура фермента без σ -субъединицы называется **кор-ферментом**.

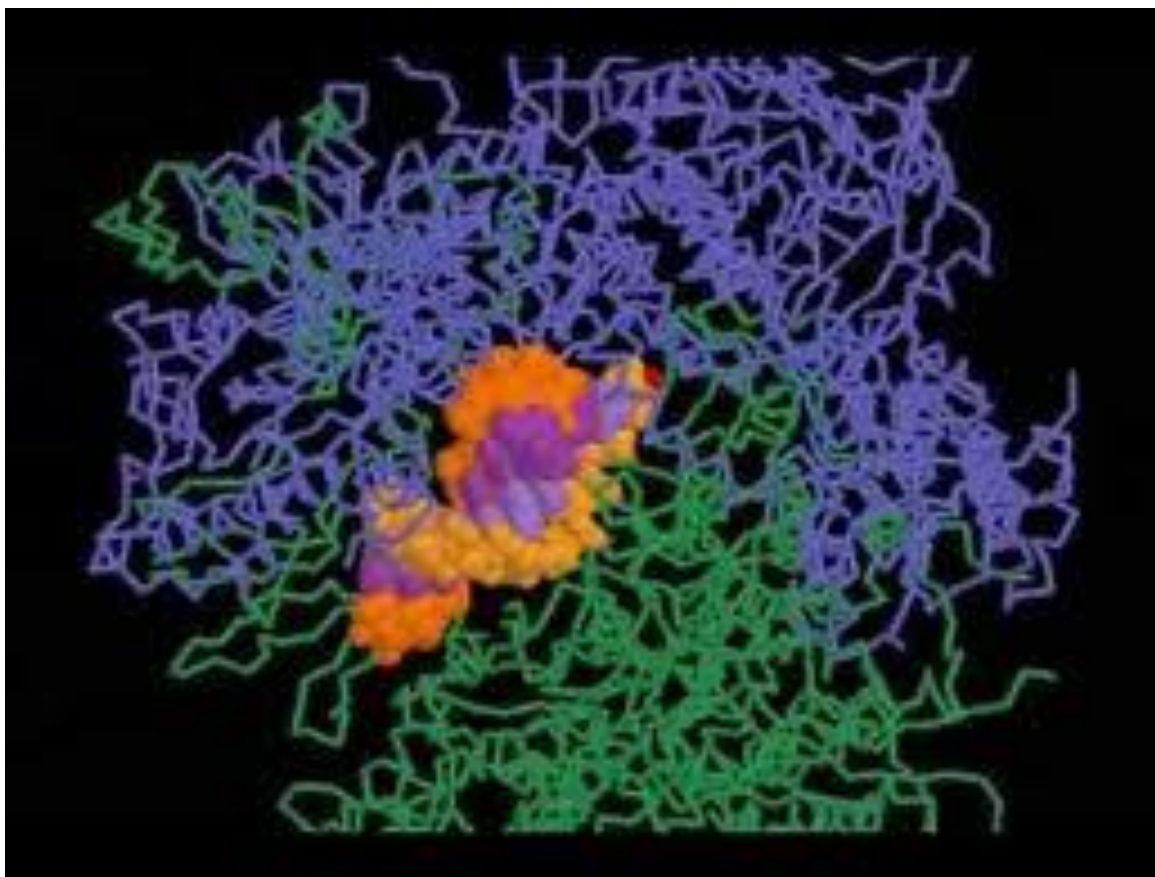
РНК-полимераза



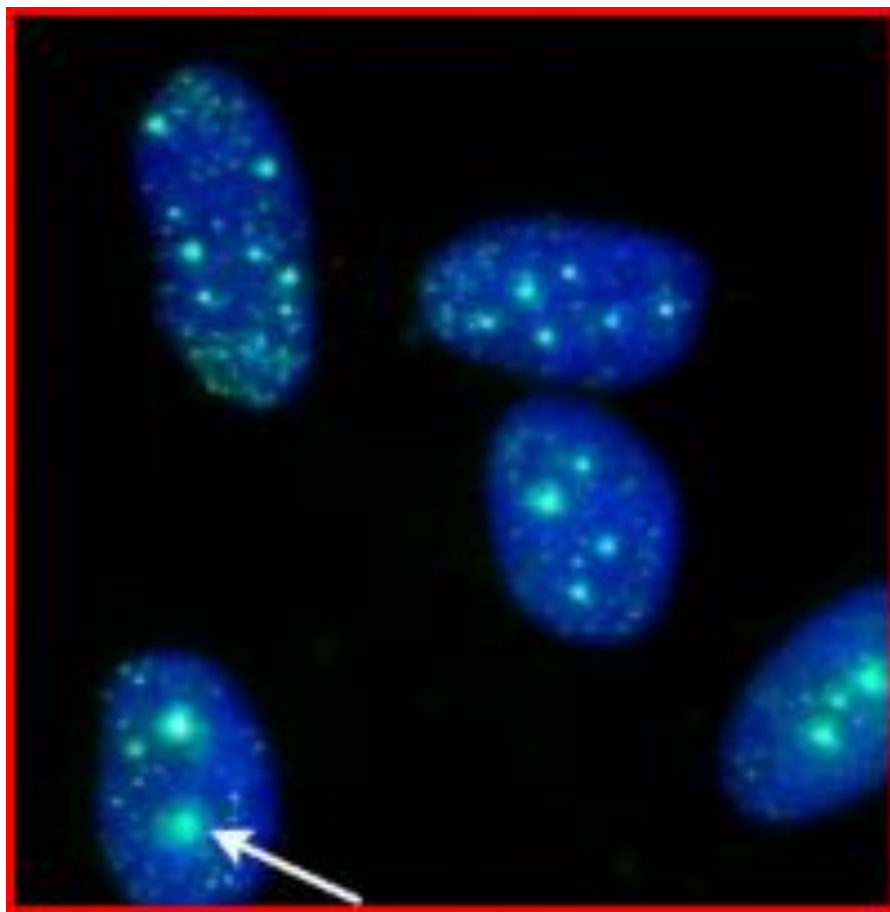
РНК-полимераза (продолжение)

- В эукариотических клетках присутствуют 3 ядерные **РНК-полимеразы** – I, II, III.
- РНК полимераза I находится в ядрышке и участвует главным образом в биосинтезе рРНК;
- РНК-полимераза II – осуществляет синтез мРНК;
- РНК-полимераза III отвечает за синтез тРНК и 5S-рРНК.

РНК-полимераза



РНК-полимераза



Стадии транскрипции

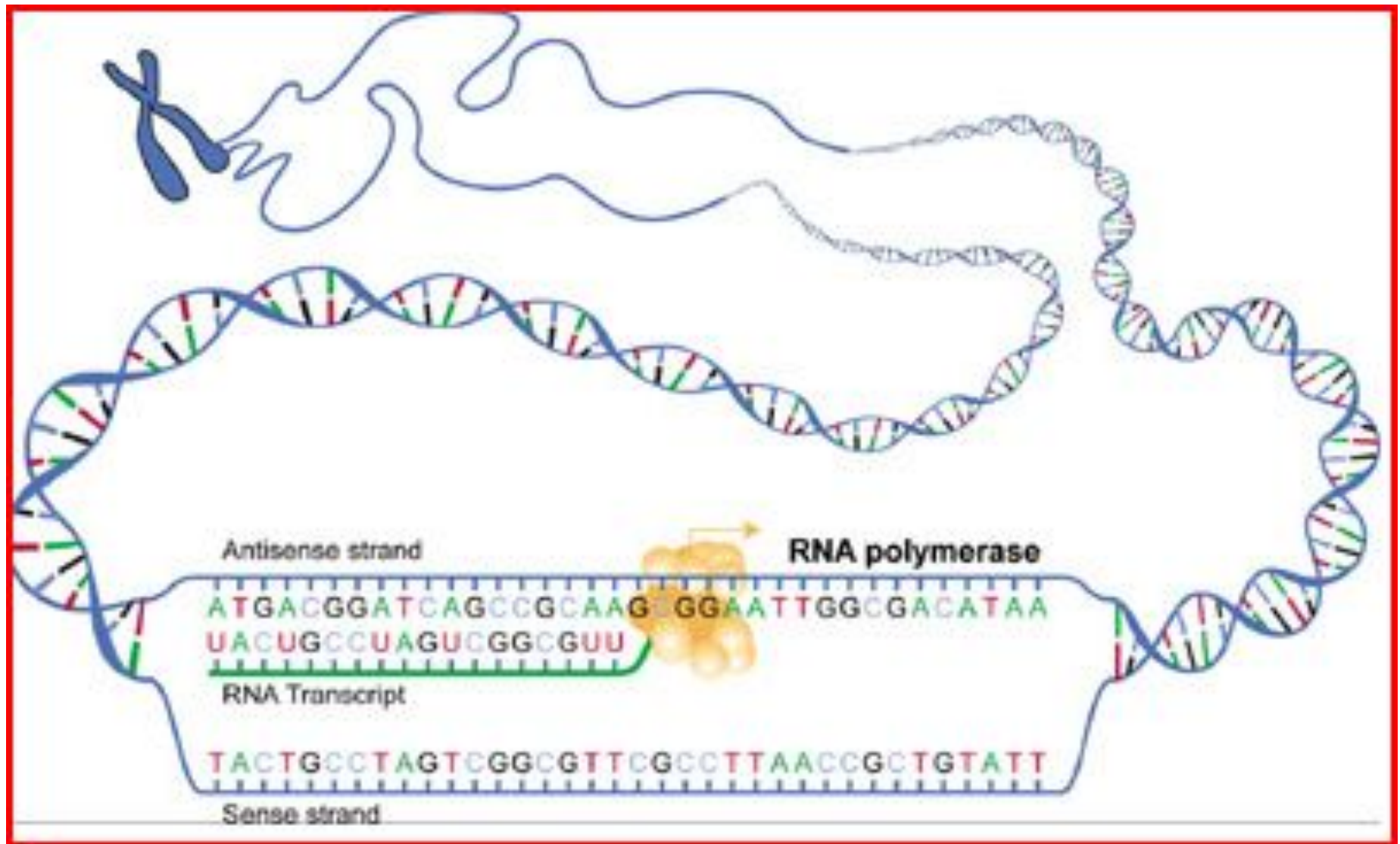
- Инициация
- Элонгация
- Терминация

Стадия инициации

- **РНК-полимераза** с помощью σ -субъединицы через серию случайных актов ассоциации-диссоциации **находит промотор** и происходит присоединение всей молекулы фермента.
- **После синтеза** цепочки РНК примерно из **8** рибонуклеотидов **σ -субъединица отделяется** от холофермента и присоединяется к другой молекуле РНК-полимеразы.
- Синтезируемые цепи РНК имеют на **5'-конце** обычно остаток **ГТФ** или **АТФ** (pppA, либо pppG).
- В отличие от синтеза ДНК **затравка** в этом случае **не нужна**.
- Новообразованная цепь РНК имеет трифосфатную группу на 5'-конце и свободную **ОН-группу на 3'-конце**.

Стадия элонгации

- РНК полимераза синтезирует цепь РНК в направлении **$5' \rightarrow 3'$ антипараллельно матричной** цепи ДНК (т.е. матричная ДНК копируется в направлении $3' \rightarrow 5'$).
- В ходе транскрипции новосинтезированная цепь РНК временно образует короткие отрезки ***гибридной спирали ДНК-РНК***.
- По мере того, как расплетается очередной участок ДНК, транскрибированный участок ***восстанавливает свою двуспиральную конформацию***.

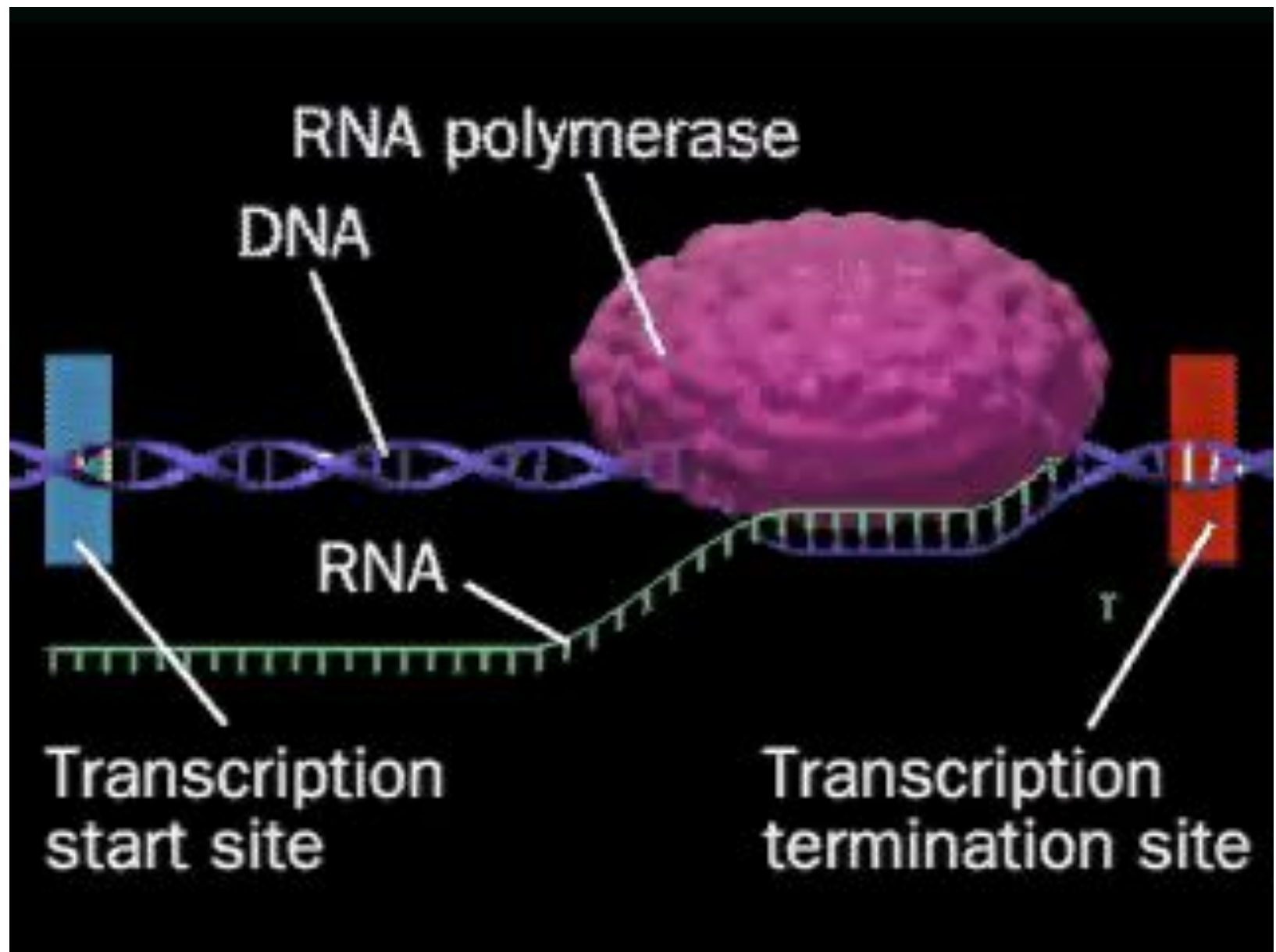


Стадия элонгации (продолжение)

- Максимальная скорость элонгации составляет примерно **50 нуклеотидов в секунду**.
- В отличие от ДНК-полимеразы **РНК-полимераза не проверяет** правильности **новообразованной полинуклеотидной цепи**.
- В связи с этим **надежность транскрипции значительно ниже**, чем **надежность репликации**.
- Частота ошибок при синтезе РНК составляет примерно одну ошибку на 10^4 - 10^5 нуклеотидов, что в **10^5 раз выше**, чем при синтезе ДНК.
- Гораздо более низкую надежность синтеза РНК клетка обходит тем, что с одного **гена синтезируется много копий РНК-транскриптов**.

Стадия терминации

- *Сигнал терминации* синтеза молекулы РНК представляет собой **определенную последовательность нуклеотидов**, расположенную в рамках кодирующей цепи ДНК.
- Процесс терминации у эукариот не достаточно изучен. У *E.coli* существует два механизма терминации: 1) с участием специфического белка, называемого ***ρ-фактором*** и 2) ***ρ-независимый механизм***.



Посттрансляционная модификация РНК

- В результате транскрипции образуются *три типа предшественников РНК* (первичные транскрипты): предшественник мРНК, или гетерогенная ядерная РНК (пре-мРНК или гяРНК), предшественники рРНК (пре-рРНК).
- Они представляют ***собой копию оперона*** и содержат информативные и неинформативные последовательности.
- ***Образование функционально активных*** молекул РНК называется ***процессингом*** и продолжается после завершения транскрипции.

Посттрансляционная модификация РНК

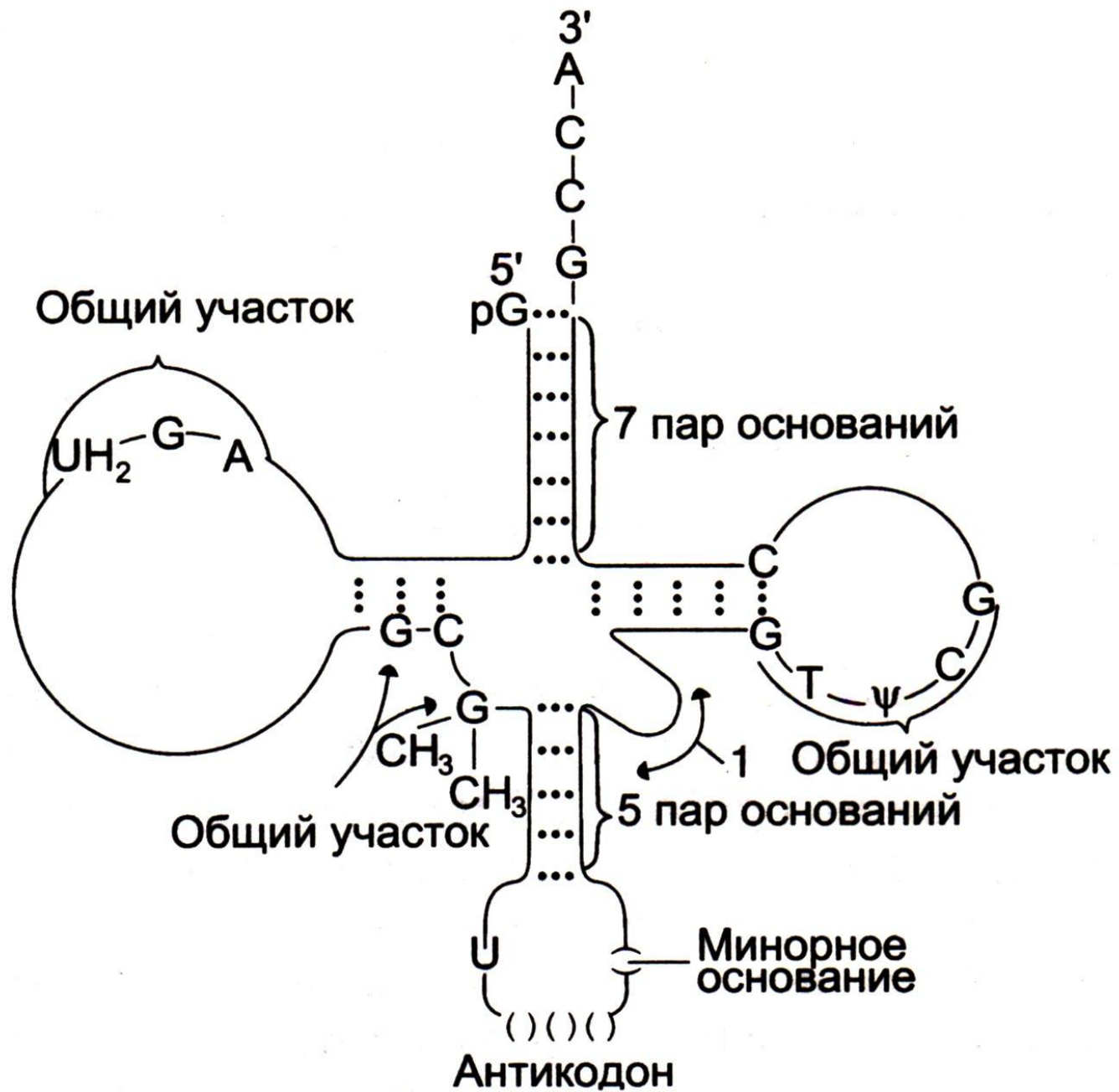
- **Вырезание** неинформативных участков (интронов) из пре-мРНК.
- **Сращивание** информативных участков (экзонов) – **сплайсинг**.
- **Модификация 5'- и 3'-концевых** участков РНК.

Посттрансляционная модификация мРНК

- Вырезание неинформативных участков пре-мРНК происходит с помощью **рибонуклеаз и/или рибозимов**
- В ядре происходит **модификация 5' и 3'-концов мРНК**.
- К **5'-концу мРНК** присоединяется олигонуклеотид, называемый «кэпом» (cap), который способствует стабилизации мРНК и связыванию мРНК с рибосомой для инициации трансляции.
- К **3'-концу** присоединяется полиадениловая последовательность (поли-А), состоящая из 50-200 нуклеотидов, который также защищает мРНК от ферментативного разрушения.
- Затем мРНК связывается с белком **информофером** и транспортируется в цитоплазму к рибосомам.

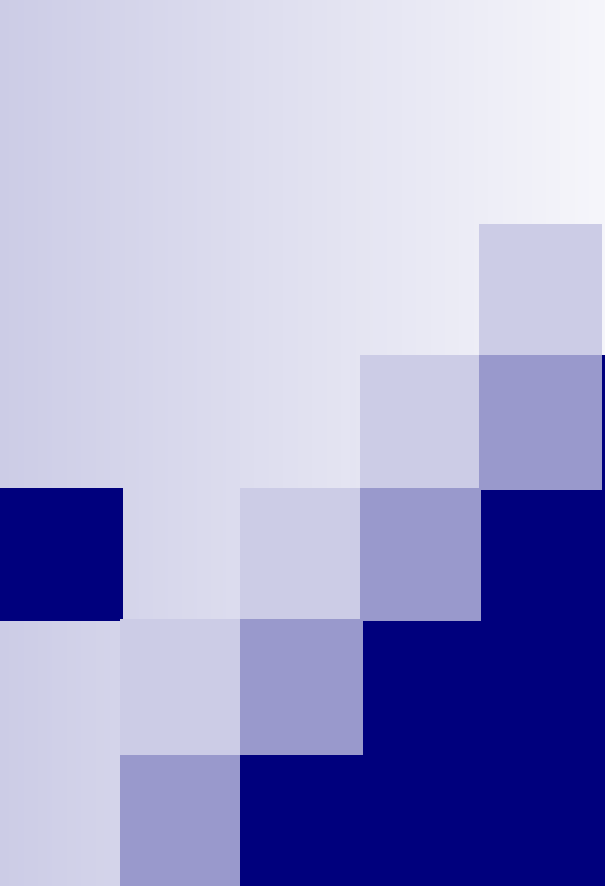
Посттрансляционная модификация тРНК

- **Расщепление** большого предшественника на молекулы тРНК.
- **Присоединение характерного ЦЦА-триплета** к 3'-концу молекулы (акцепторный участок), к которому будет присоединяться соответствующая аминокислота.
- **Метилирование** предшественников тРНК млекопитающих происходит в ядре, в расщепление и присоединение ЦЦА-триплета – в цитоплазме.



Посттрансляционная модификация рРНК

- **Метилирование** на участках, формирующих в дальнейшем **зрелые молекулы рРНК**.
- Расщепление общего первичного транскрипта на зрелые рРНК.
- Формирование рибосом (большой и малой субъединицы) происходит в комплексе с белками.



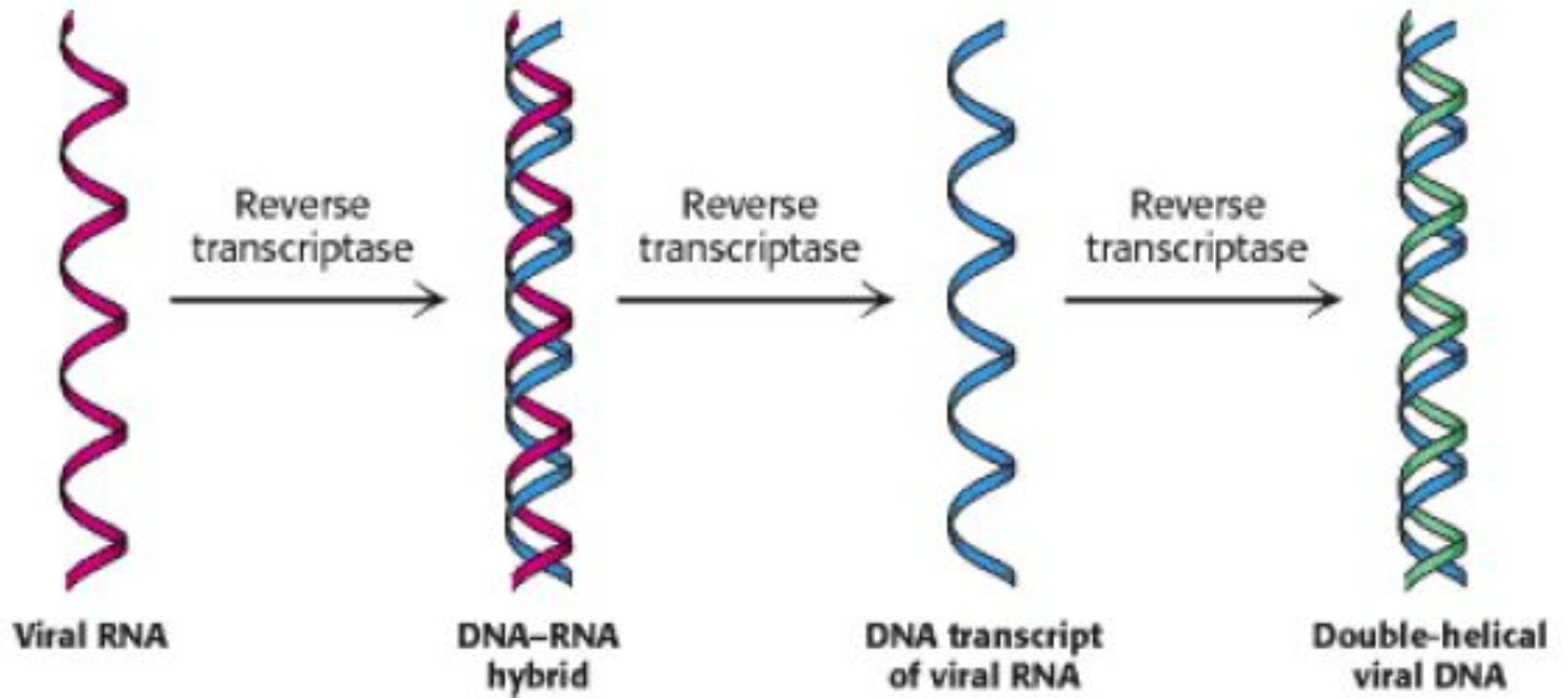
Обратная транскрипция

ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ

- Обратная транскриптаза содержится в ***РНК-ретровирусах***, обладает тремя видами активности:
 - 1) РНК-зависимой ДНК-полимеразной;
 - 2) рибонуклеазной;
 - 3) ДНК-зависимой ДНК-полимеразной.

Стадии обратной транскрипции

- На матрице РНК по принципу комплементарности синтезируется ДНК - **комплементарная ДНК** (кДНК).
- Происходит гидролиз РНК.
- На кДНК синтезируется 2-я цепь ДНК.



Ингибиторы обратной транскриптазы

- По принципу действия ингибиторы обратной транскриптазы делятся на нуклеозидные (НИОТ), нуклеотидные (НТИОТ) и ненуклеозидные (ННИОТ).
- НИОТ поставляют для вирусной ДНК - неправильные нуклеозиды. Действие НТИОТ поставляют неправильные нуклеотиды.

Ингибиторы обратной транскриптазы

