Лекции 1 и 2:

Структурно-функциональная организация генов и белков. Экспрессия генов и биосинтез белка, клеточный контроль этих процессов. Гены продуктивности растений.

Каким образом используется информация, заложенная в ДНК?

“Центральная догма”

ДНК

↓

РНК

↓

ПОЛИПЕПТИД
(белок)

Поток информации ↓

Оценка

1. Глубина и правильность изложения (3 балла)

2. Наглядность, «понятность» материала, время подачи (3 балла)

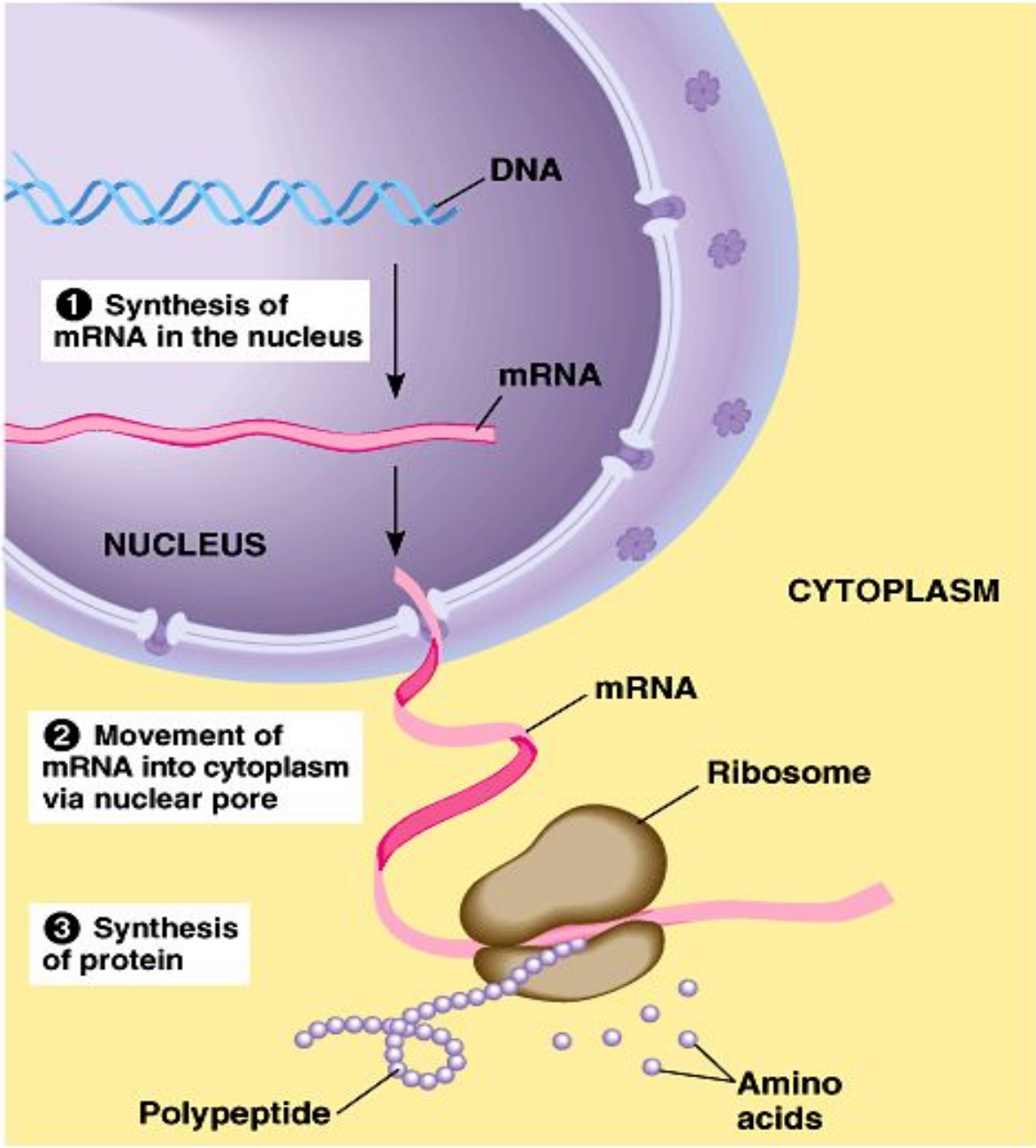
3. Ответы на вопросы (2 балла)

4. Контакт со слушателями (жестикуляция, мимика, голос, скорость подачи и т.д.) (2 балл)

Центральная догма

Промежуточная молекула, РНК (похожая на ДНК) переносит информацию от ДНК (из ядра) к рибосомам (в цитоплазме), где синтезируются белки.

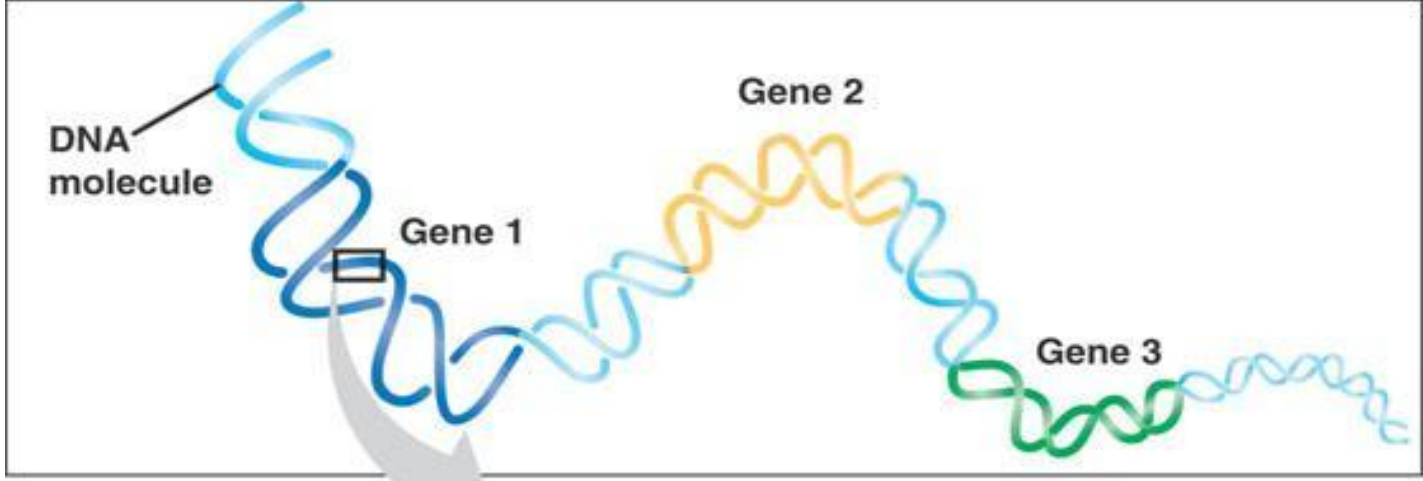
Регуляция этих процессов определяет все жизненные процессы организма (его физиологию).



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Экспрессия генов и биосинтез белков

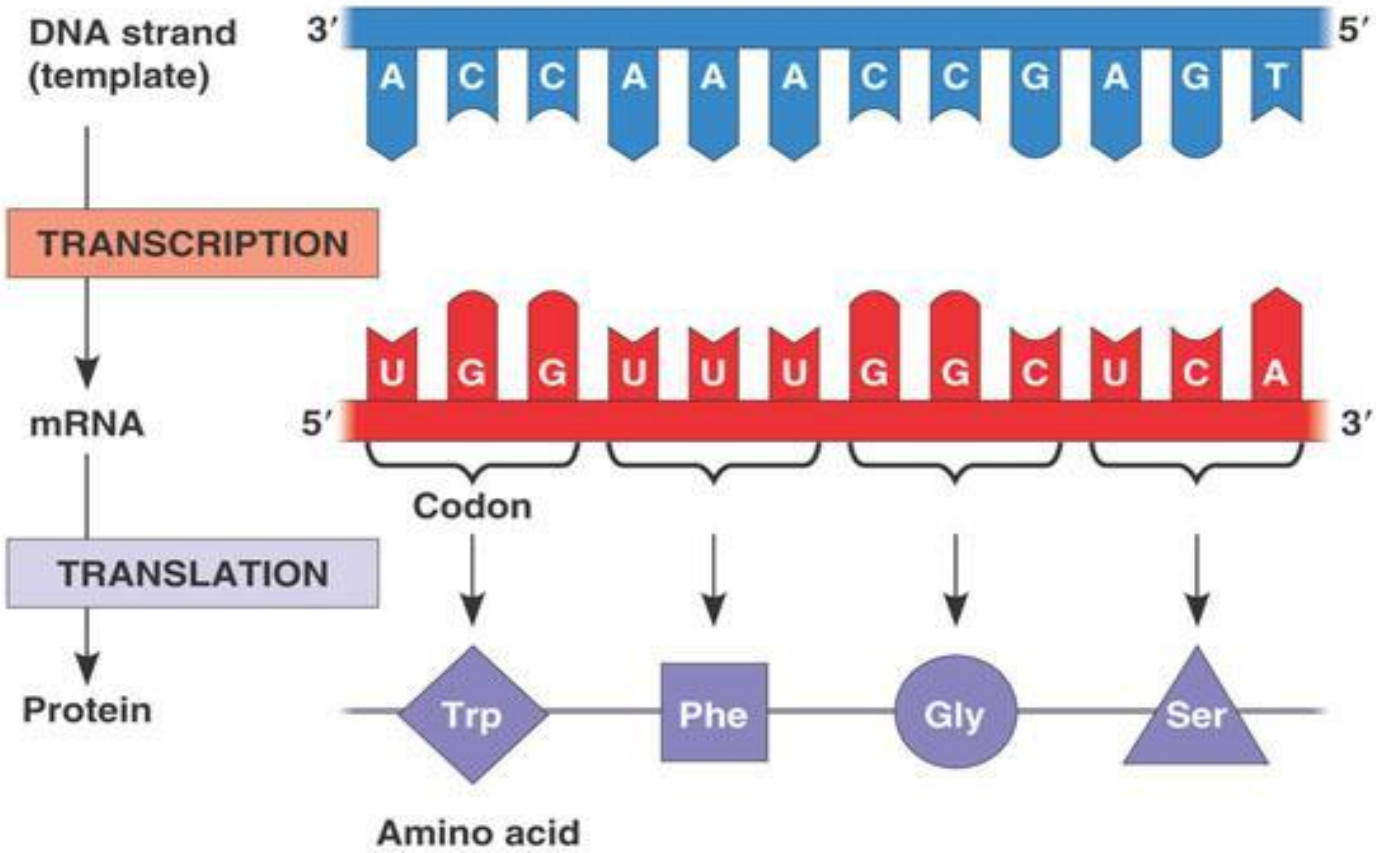
Экспрессия генов и биосинтез белков



Первый этап в экспрессии генов

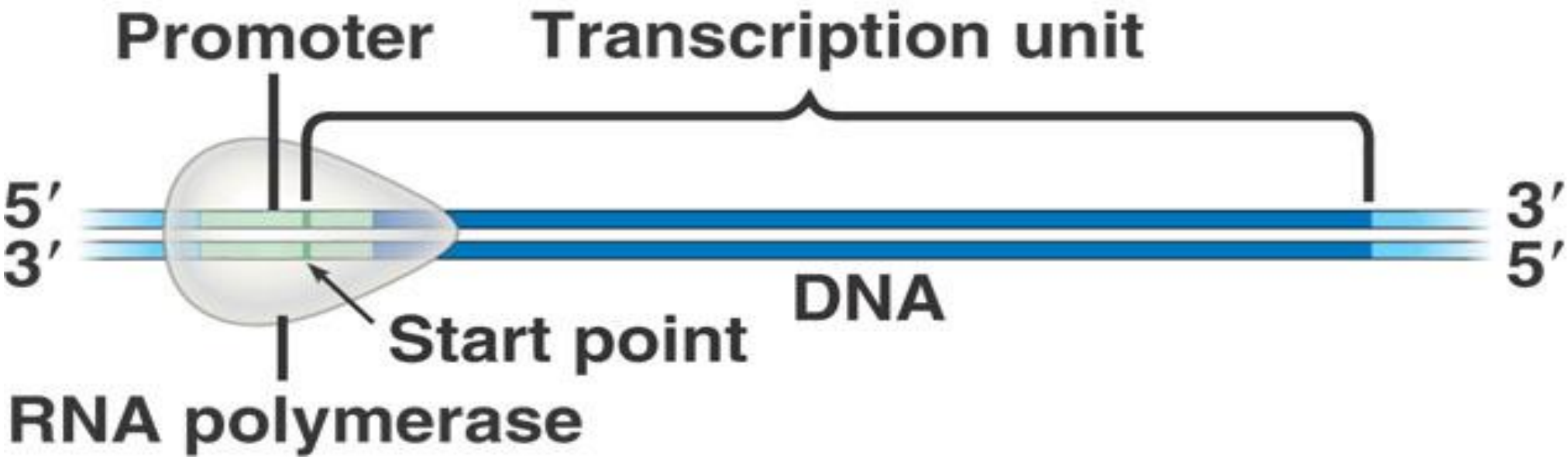
РНК-копия гена = мРНК

Ма́тричная рибонуклеи́новая кислота́ (мРНК, синоним — информацио́нная РНК, иРНК)



РНК-полимераза связывается с промотором

Промотор - последовательность ДНК в самом начале гена

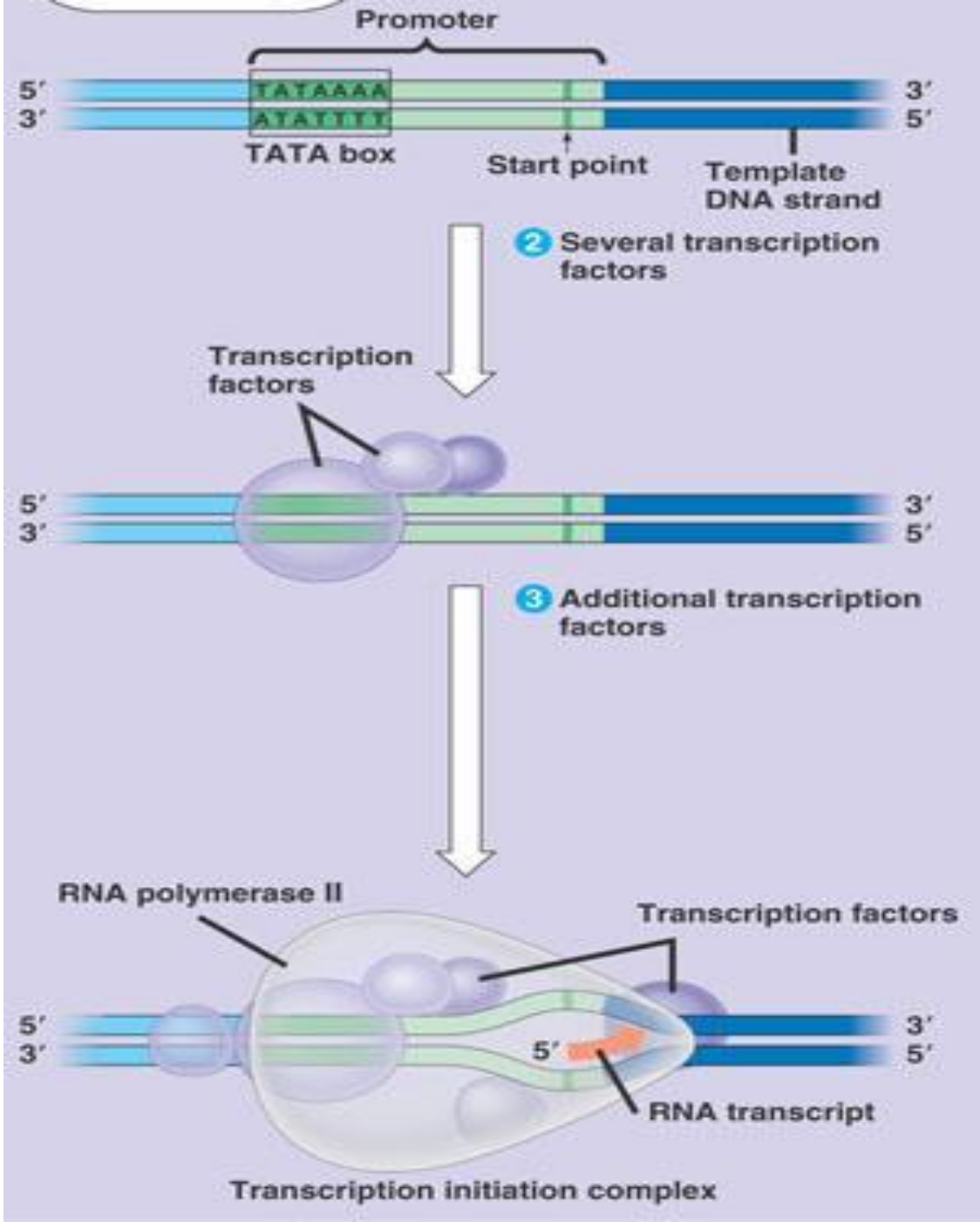


Комплиментраная РНК-копия синтезируется в ходе работы РНК-полимеразы. Это т.н. «messenger RNA» (mRNA) или по-русски «матричная РНК».

Эукариотические промотеры:

«TATA box» = особая последовательсность нуклеотидов ДНК

Факторы транскрипции: связываются с промотером и «объединяются» с РНК-полимеразой в большой комплекс



Роль факторов транскрипции

Для инициации транскрипции эукариотическая РНК полимераза требует помощи белков, называемых факторами транскрипции.

Общие факторы транскрипции необходимы для транскрипции всех белок-кодирующих генов

Факторы транскрипции – обеспечивают снижение (репрессоры) или повышение (активаторы) константы связывания РНК-полимеразы с регуляторными последовательностями регулируемого гена

У эукариот высокие уровни транскрипции отдельных генов зависят от *контролирующих элементов*, взаимодействующих с определенными факторами транскрипции

Контролирующие элементы (энхансеры)

- **Проксимальные контролирующие элементы (Proximal control elements) – расположены близко к промотеру**
- **Дистальные контролирующие элементы (Distal control elements) – называются энхансерами и располагаются «где угодно», даже в интронах и соседних хромосомах.**

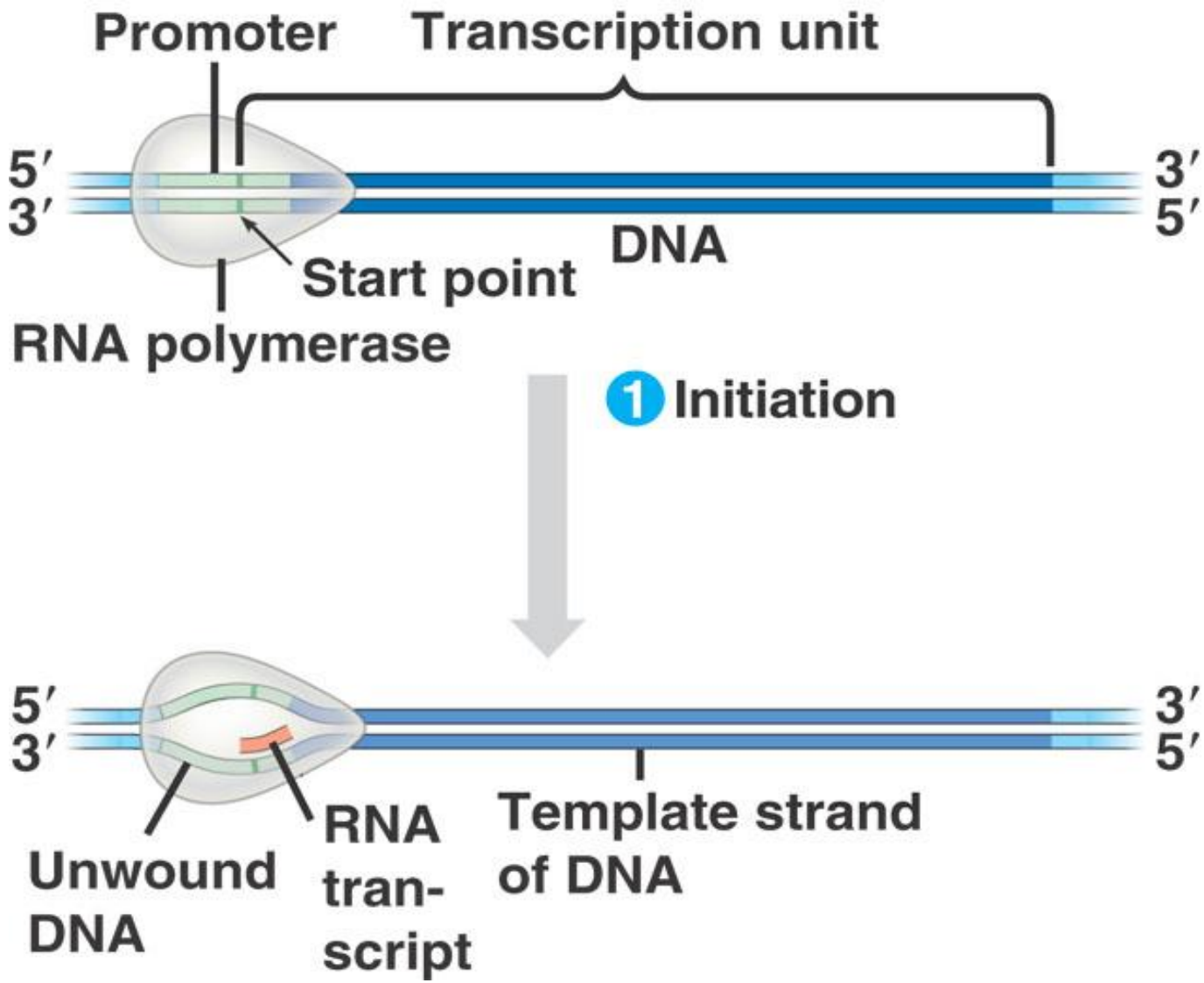
- **Активатор - это белок, который связывается с энхансером и стимулирует транскрипцию гена**
- **Связанные активаторы вызывают взаимодействие белков-посредников с белками промотера**

Транскрипция мРНК может быть подразделена на 3 стадии:

- **Initiation (Инициация)**
- **Elongation (Элонгация)**
- **Termination (Терминация)**

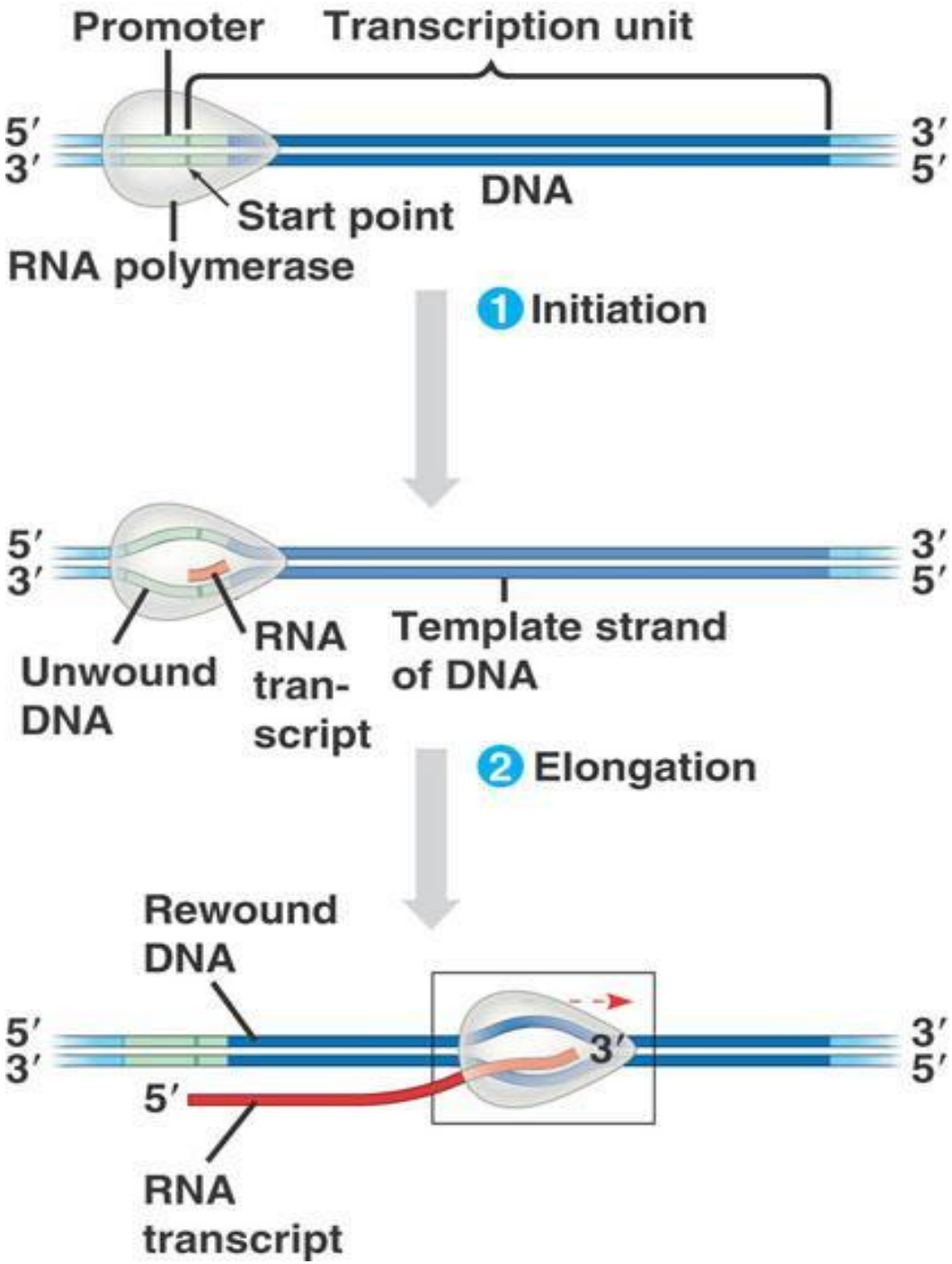
Инициация:

- РНК-полимераза связывается
- ДНК расплетается (DNA unwinds)
- синтезируется РНК-цепочка по темплейту ДНК (template strand copied)
- образуется начальный мРНК-транскрипт



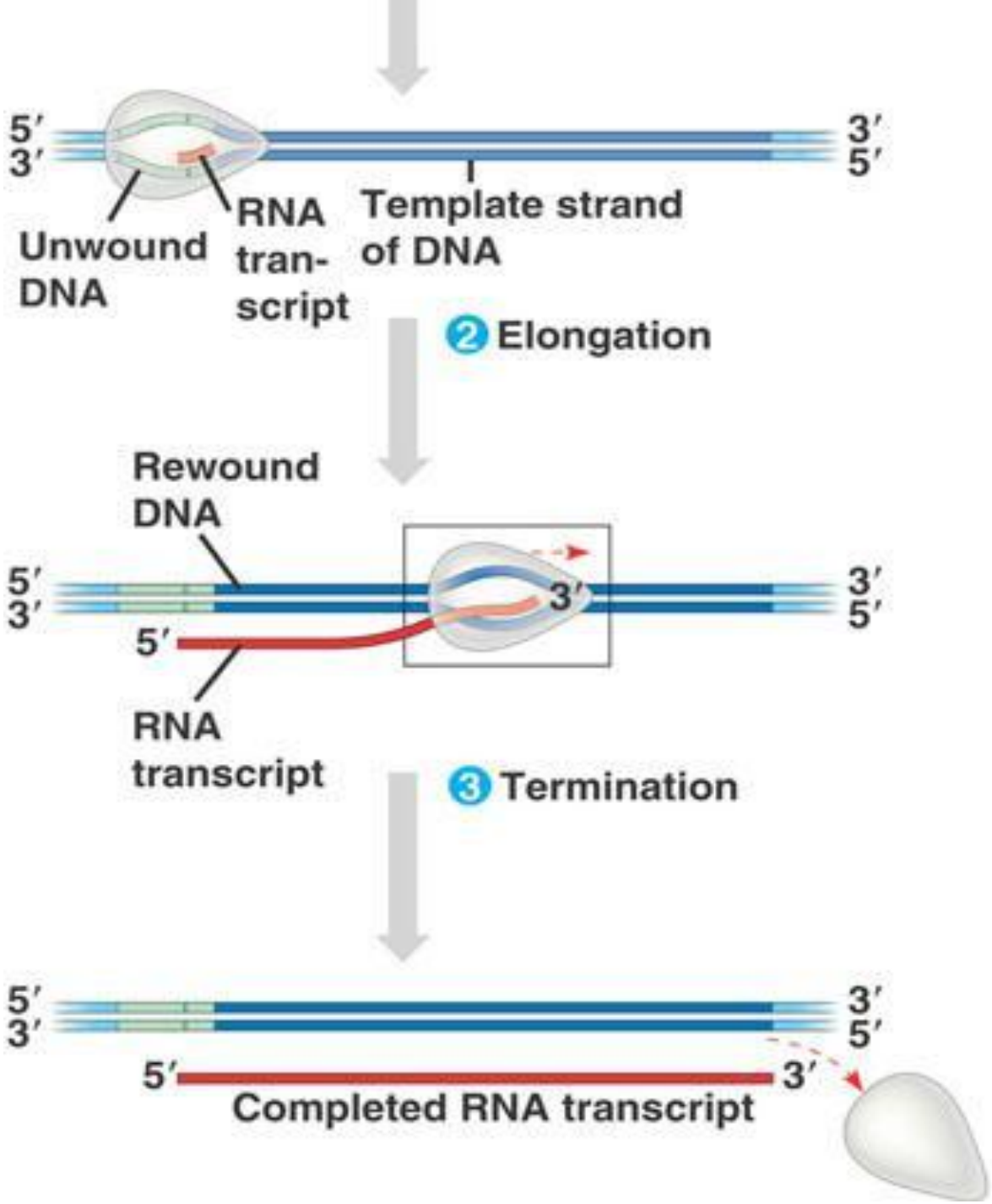
Элонгация:

- РНК-полимераза двигается вдоль гена
- расплетаестя в среднем 12-15 оснований ДНК
- мРНК-траснкрипт «транскрибируется» и выходит (удлиняется) наружу



Терминация:

- РНК-полимераза достигает специфической терминирующей последовательности
- транскрипция заверщена
- комплекс мРНК диссоциирует



Некоторые дополнительные усложнения у эукариот при транскрипции генов:

1. Специальные модификации на 5’- и 3’-концах

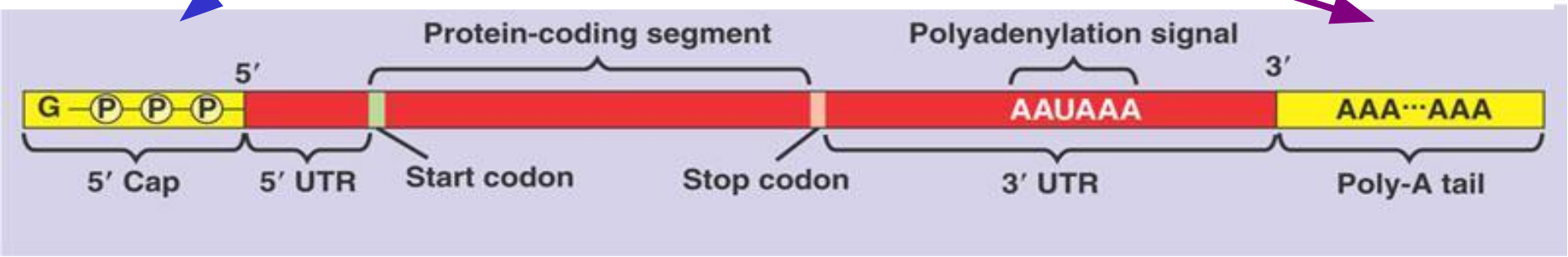
2. Гены прерываются некодирующими последовательностями, которые должны быть удалены.

1. Специальные модификации на 5’- и 3’-концах

Эукариотическая РНК (is <u>processed)</u> <u>претерпевает «процессинг»</u>:

5’-кэп добавляется «спереди»

3’-polyA tail «сзади»



UTR = untranslated region

1. Специальные модификации на 5’- и 3’-концах

Кэп (5'-кэп, кэп-структура) (от англ. cap — шапочка) — один или несколько модифицированных нуклеотидов на 5'-конце транскриптов, синтезированных РНК-полимеразой II.

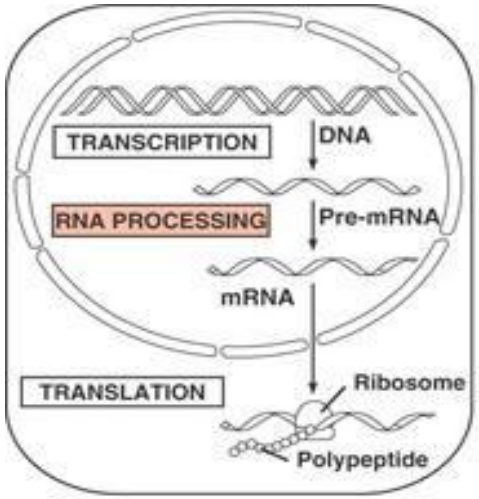
Кэп - 7-метилгуанозин, соединённый 5',5'-трифосфатным мостиком с первым нуклеотидным остатком транскрипта.

В узком смысле под кэпом часто понимают только 7-метилгуанозин.

Кроме того, первые два нуклеотида транскрипта могут метилироваться по 2'-О-положению рибозы.

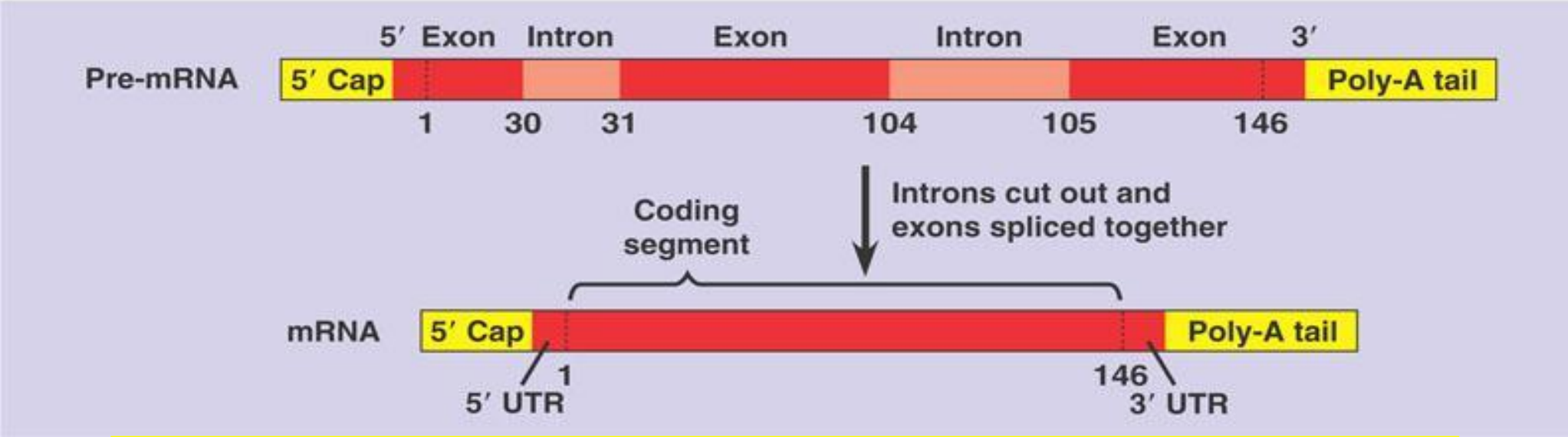
Кэп способствует эффективному процессингу пре-мРНК, экспорту мРНК из ядра, её трансляции и защите от быстрой деградаци

2. Гены, прерываемые некодирующими последовательностями = *интроны*; эти последовательности должны быть удалены



Эукариотическая РНК процессируется:

Интроны удаляются



INTRONS = последовательности, некодирующие белки
EXONS = последовательности, совместно некодирующие один белок

Почему должны регулироваться экспрессия генов?

- Различные типы клеток должны синтезировать различные белки

- На разных стадиях развития, и даже времени суток, необходимы разные белки и метаболиты

- Программы онтогенеза и многие физиологические процессы связаны с работой целых генетических программ и экспрессией больших групп генов (кластеров из 100 и более генов)

Как регулируется экспрессия?

Основные точки регуляции экспрессии генов

Распаковка хроматина

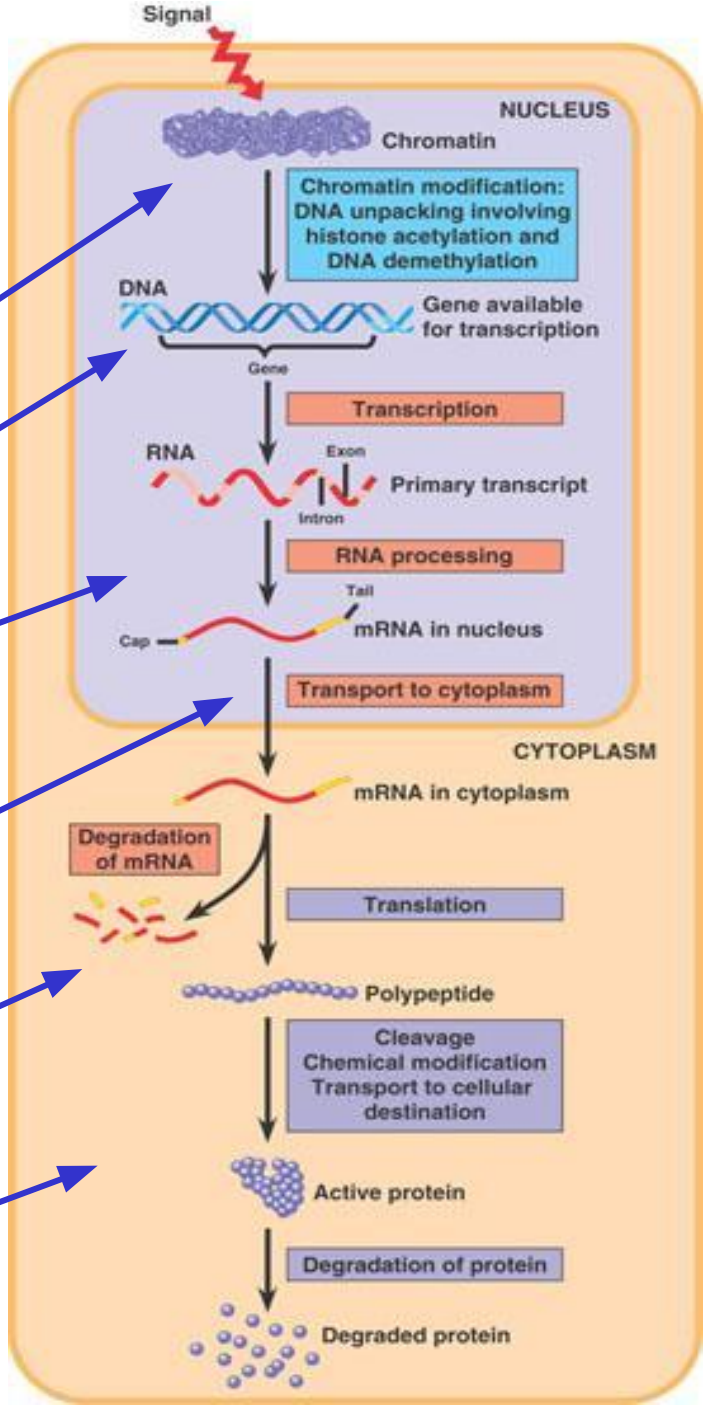
Инициация транскрипции

РНК-процессинг

Транспорт РНК в цитоплазму

Устранение зрелой мРНК вследствие РНК-интерференции

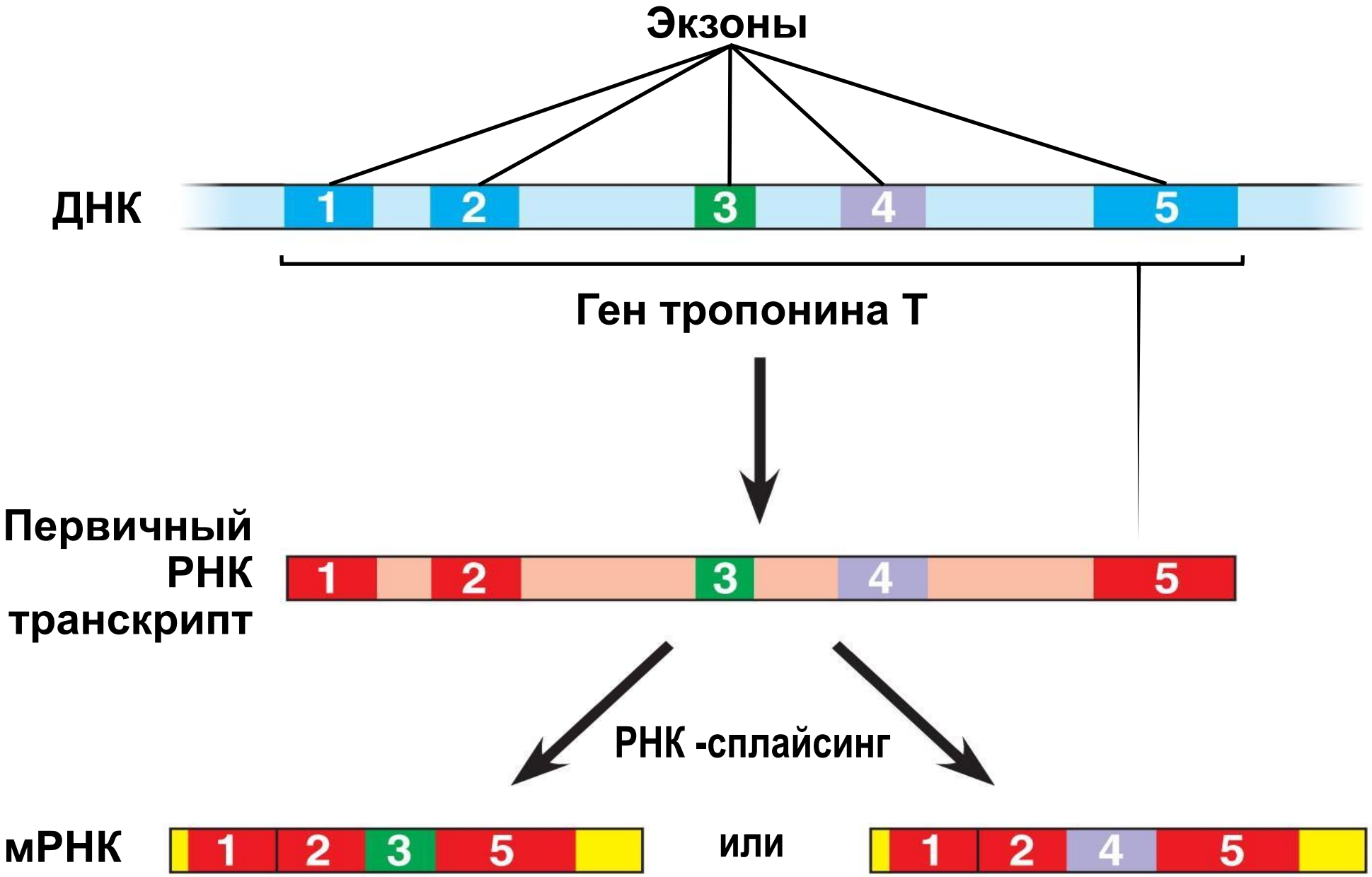
Контроль синтеза белка



Пример

Альтернативный сплайсинг:

при этом различные мРНК-молекулы продуцируются из одного и того же транскрипта в зависимости от какие последовательности «обрабатываются» как интроны, а какие как экзоны.



Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

Деградация мРНК

- Время жизни мРНК в цитоплазме является ключевым регулятором продолжительности синтеза белка
- Эукариотическая мРНК живет дольше прокариотической
- Время жизни мРНК частично регулируется строением последовательности в начале и в конце мРНК (leader and trailer regions)
- Более половины актов деградации РНК приходится на РНК-интерференцию

Некодирующие РНК играют множественные роли при контроле экспрессии генов

- Только небольшая фракция ДНК кодирует белки, рибосомальные РНК или тРНК (25% или меньше)
- Большая часть генома (dark genome) транскрибируется в некодирующие молекулы
- Некодирующие РНК регулируют экспрессию генов на на уровне мРНК-трансляции и конфигурации хроматина, но главное при помощи микроРНК (РНК-интерференции).

Некодирующие РНК:

- **Английский: non-protein-coding DNA**
- **Известны более 50 лет**
- **Главным образом это микроРНК, рибозимы и длинные некодирующие РНК (long ncRNA)**

The Encyclopedia of DNA Elements (ENCODE) project reported in September 2012 that over 80% of DNA in the human genome *«serves some purpose, biochemically speaking»*

Некодирующие РНК:

Типы некодирующих ДНК:

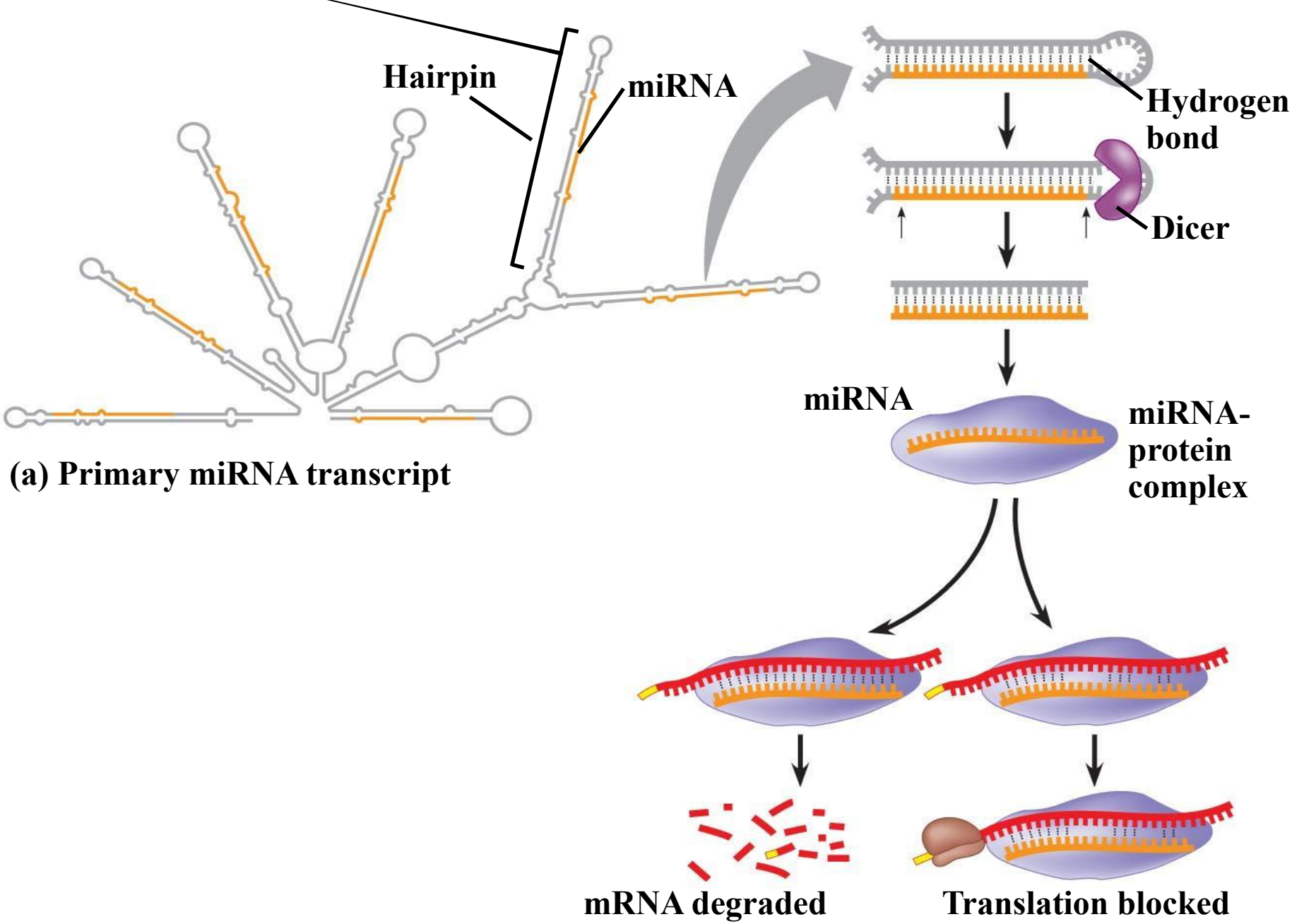
1. Некодирующая функциональная РНК (рибосомальная РНК, транспортная РНК, Piwi-РНК – 26-31, microRNA – 21-24).
2. Цис- и транс-регуляторные элементы
3. Интроны
4. Псевдогены
5. Повторые последовательности, транспозоны и вирусные элементы
6. Теломеры

Функции:

- Регуляция экспрессии генов, Защита генома, генетические переключатели, факторы транскрипции, операторы, энхансеры, инсуляторы

МикроРНК

- МикроРНК - MicroRNAs (miRNAs) – 21-24 нуклеотидов
- Они вызывают деградацию РНК или блокируют ее трансляцию



(a) Primary miRNA transcript

(b) Generation and function of miRNAs

Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

- **Феномен ингибирования экспрессии при помощи короткоцепочных молекл РНК называется РНК-интерференцией (RNA interference, RNAi)**
- **это явление связано с синтезом так-называемых коротких интерферирующих РНК (siRNAs) или микроРНК (miRNAs)**
- **siRNAs и miRNAs имеют схожую функцию, но разные источники синтеза**

Gene silencing mechanisms:

http://www.youtube.com/watch?v=D-77BvIOLd0