

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



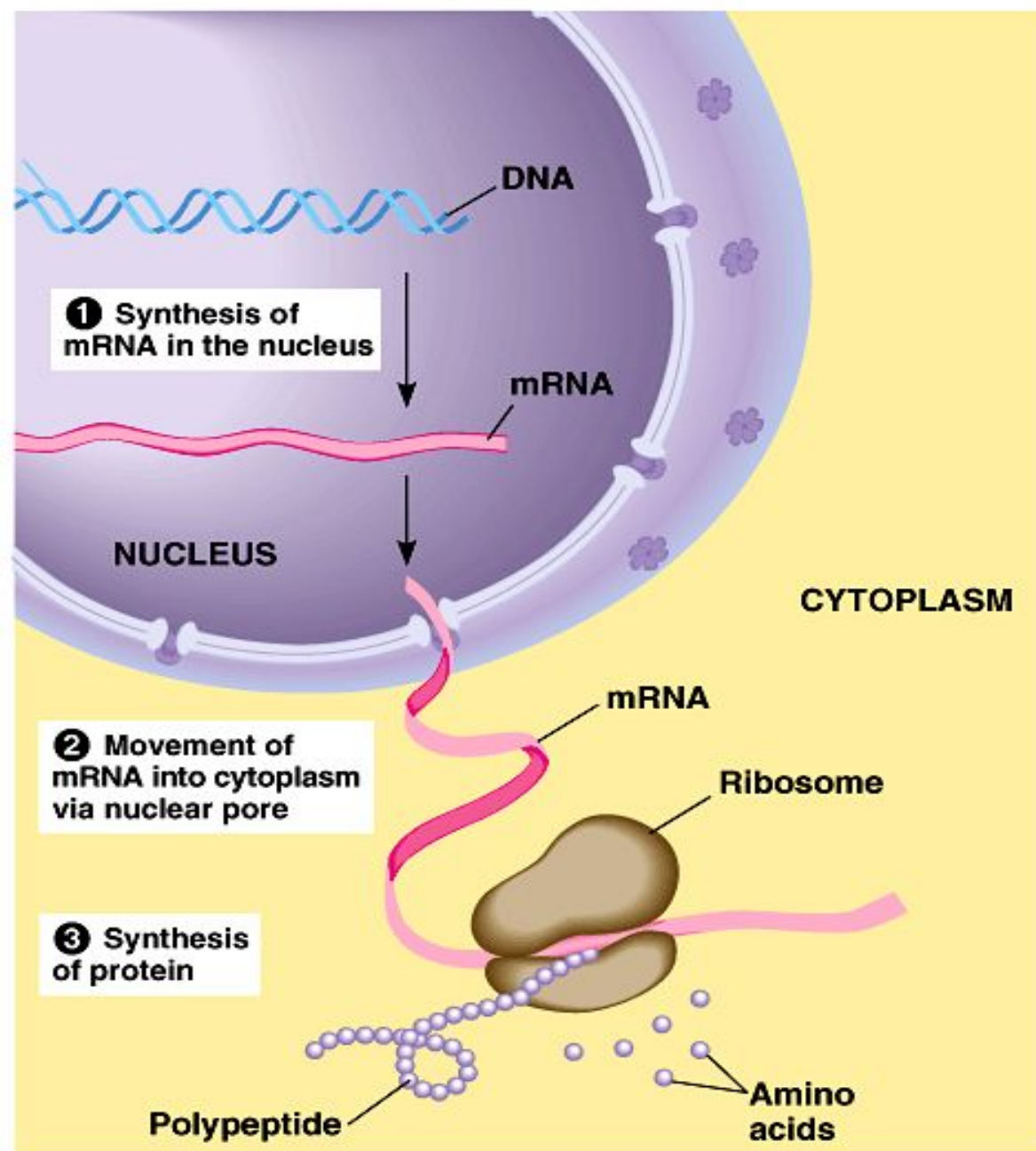
Оценка

- 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.

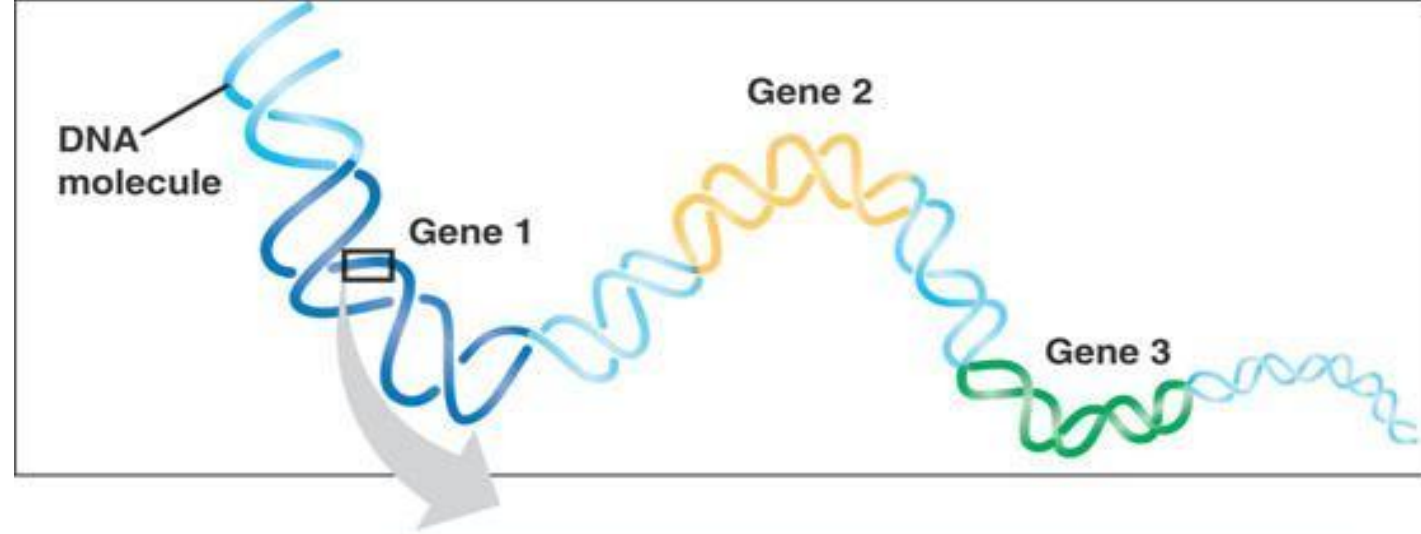
Регуляция этих процессов определяет все жизненные процессы организма (его физиологию).



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

Экспрессия генов и биосинтез белков

Экспрессия генов и биосинтез белков

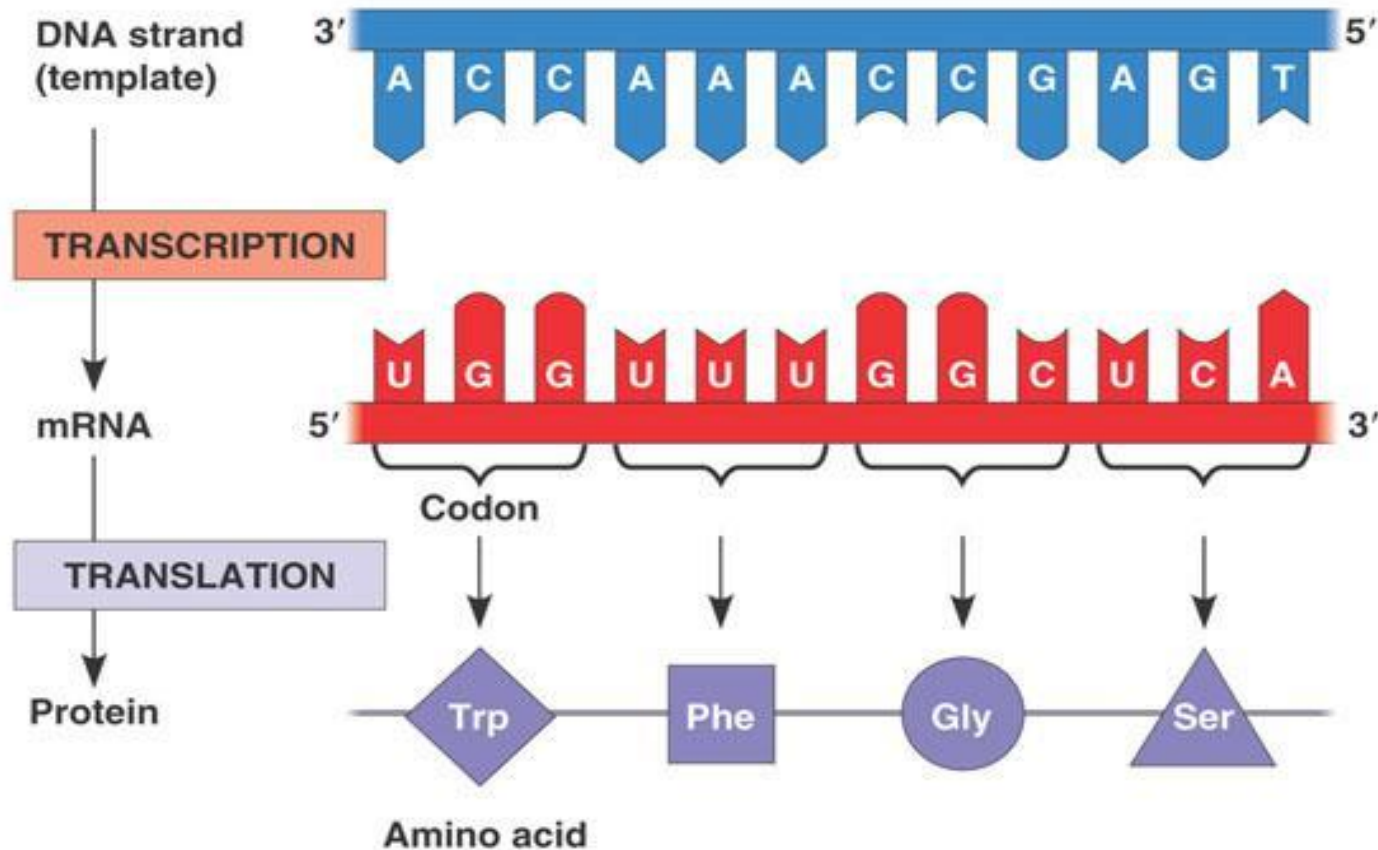


Первый этап в экспрессии генов



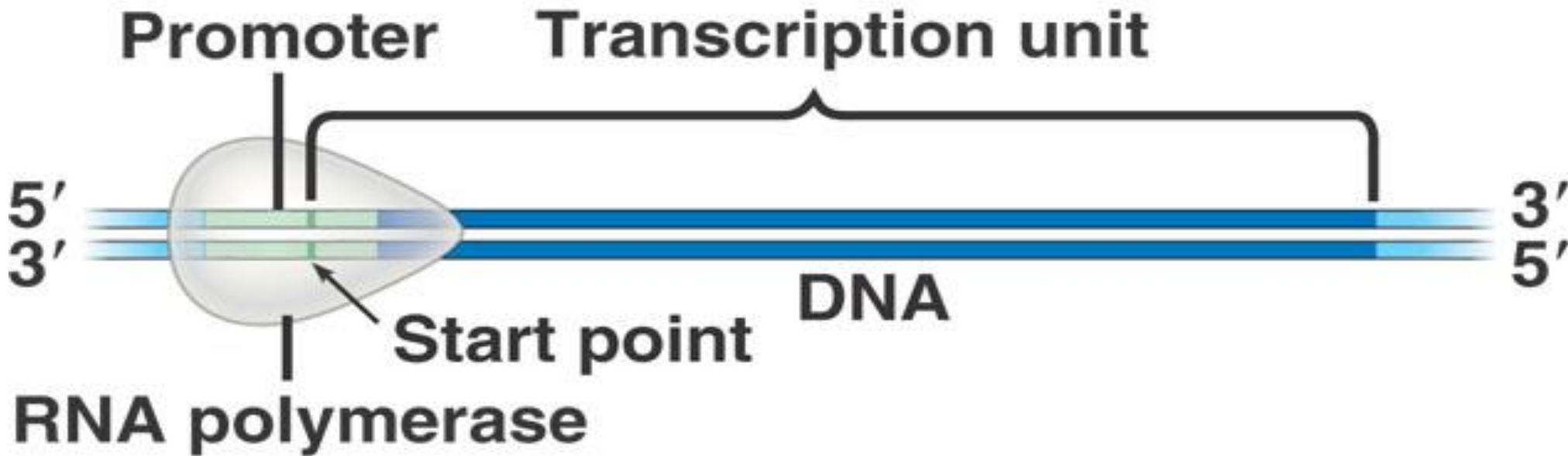
РНК-копия гена = мРНК

Матричная рибонуклейновая кислота (мРНК, синоним — информационная РНК, иРНК)



РНК-полимераза связывается с промотором

Промотор - последовательность ДНК в самом начале гена

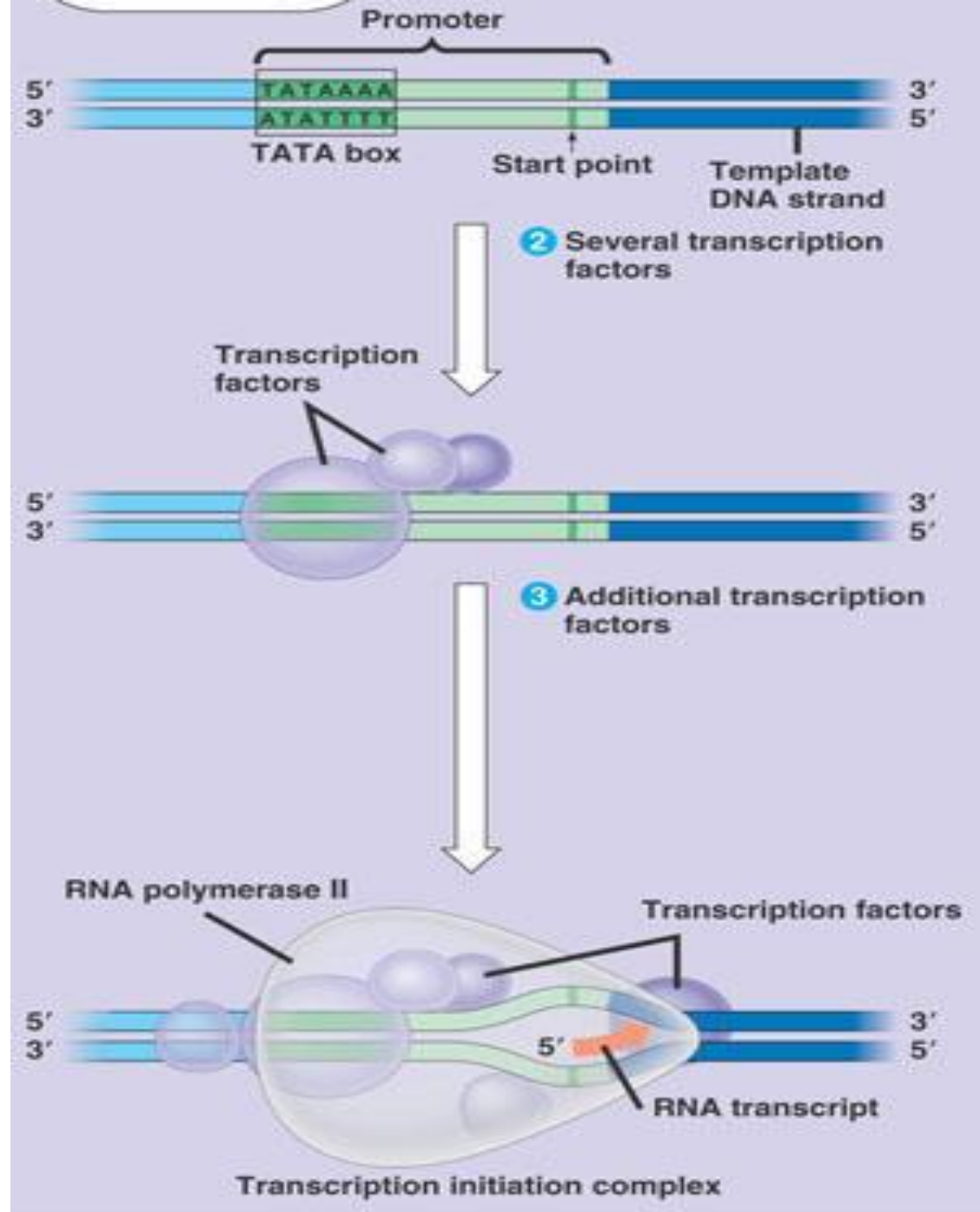


Комплементарная РНК-копия синтезируется в ходе работы РНК-полимеразы. Это т.н. «messenger RNA» (mRNA) или по-русски «матричная РНК».

Эукариотические промотеры:

«TATA box» = особая последовательность 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.

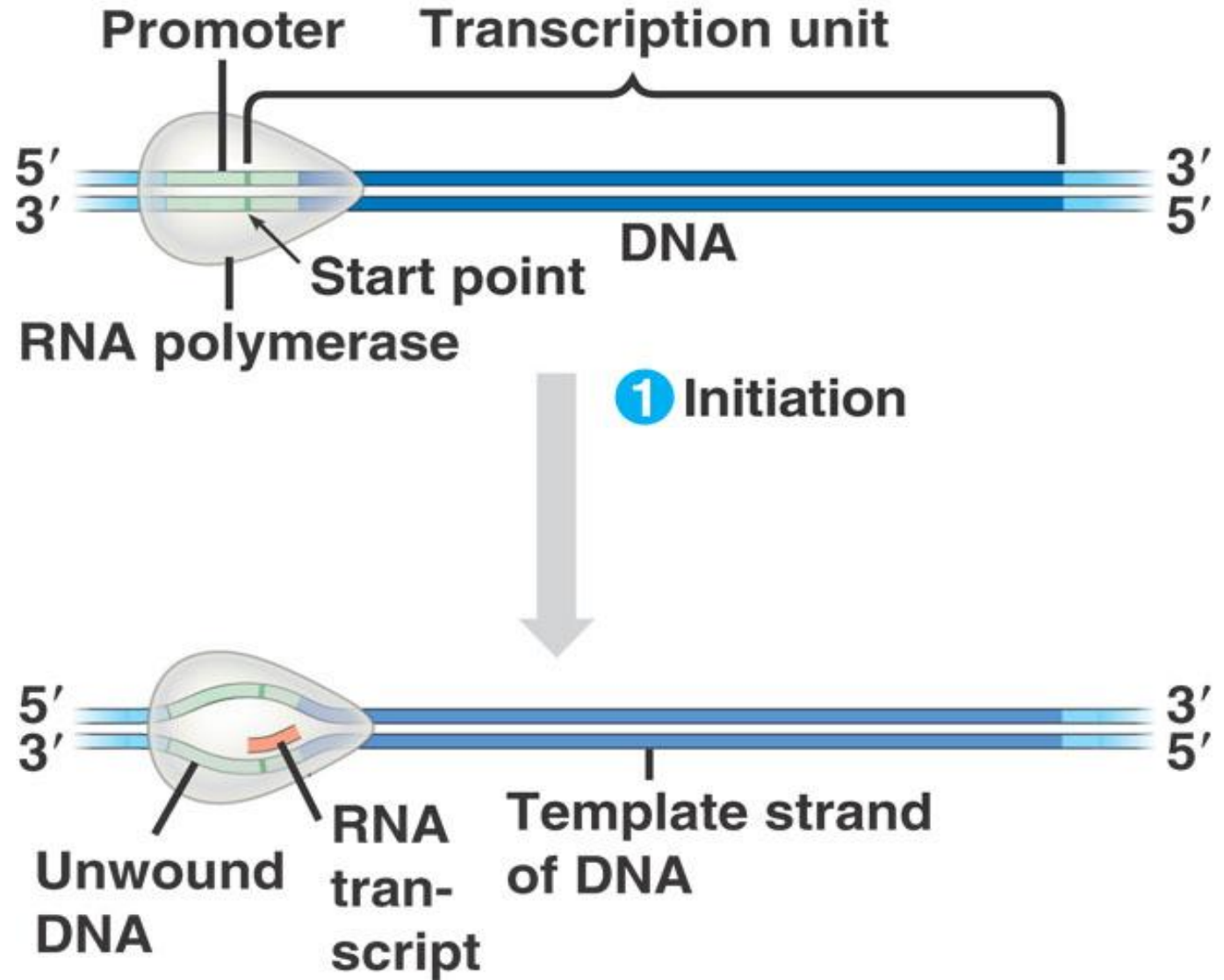
- **Активатор** - это белок, который связывается с энхансером и стимулирует транскрипцию гена
- Связанные активаторы вызывают взаимодействие белков-посредников с белками промотера

Транскрипция мРНК может быть подразделена на 3 стадии:

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

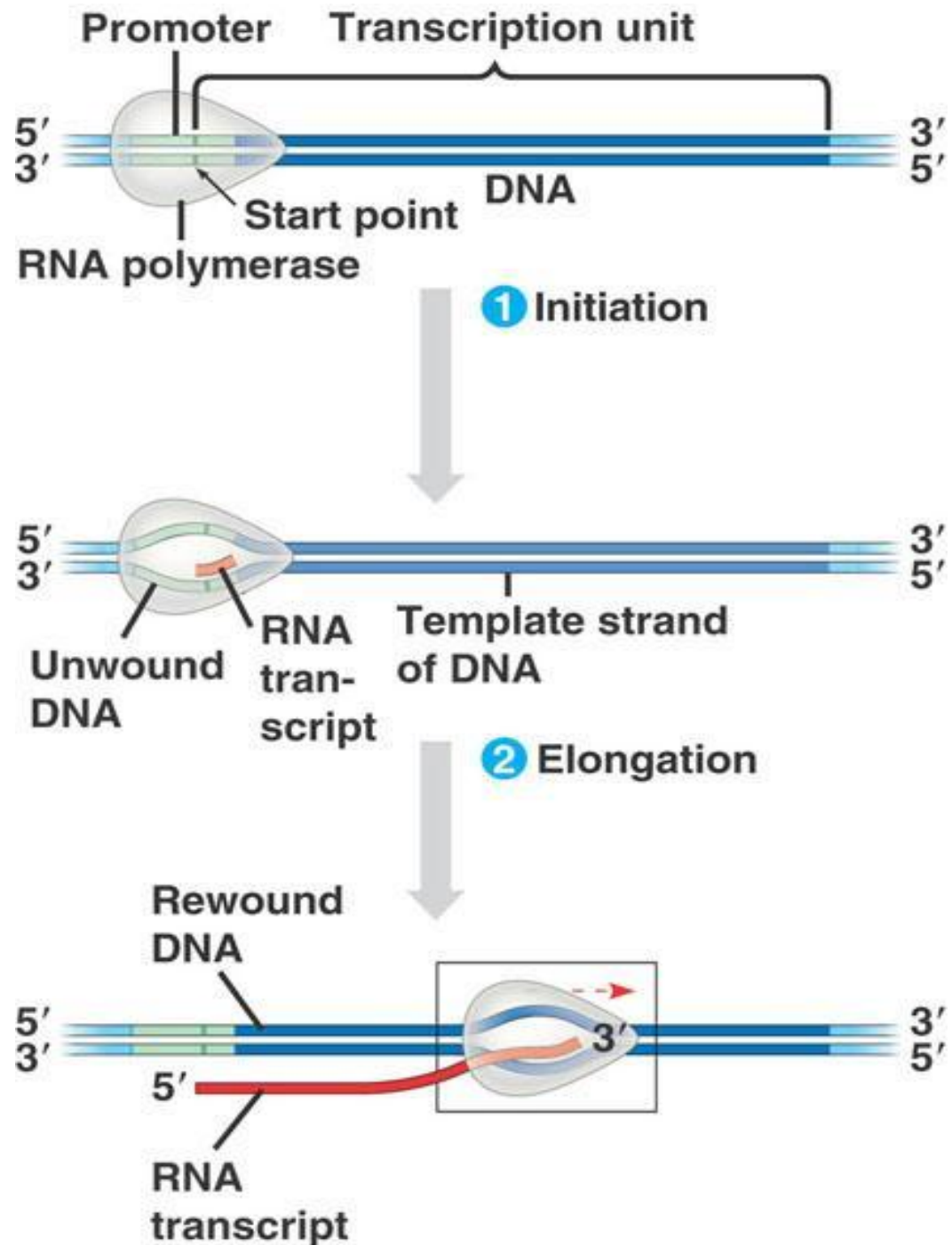
Инициация:

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



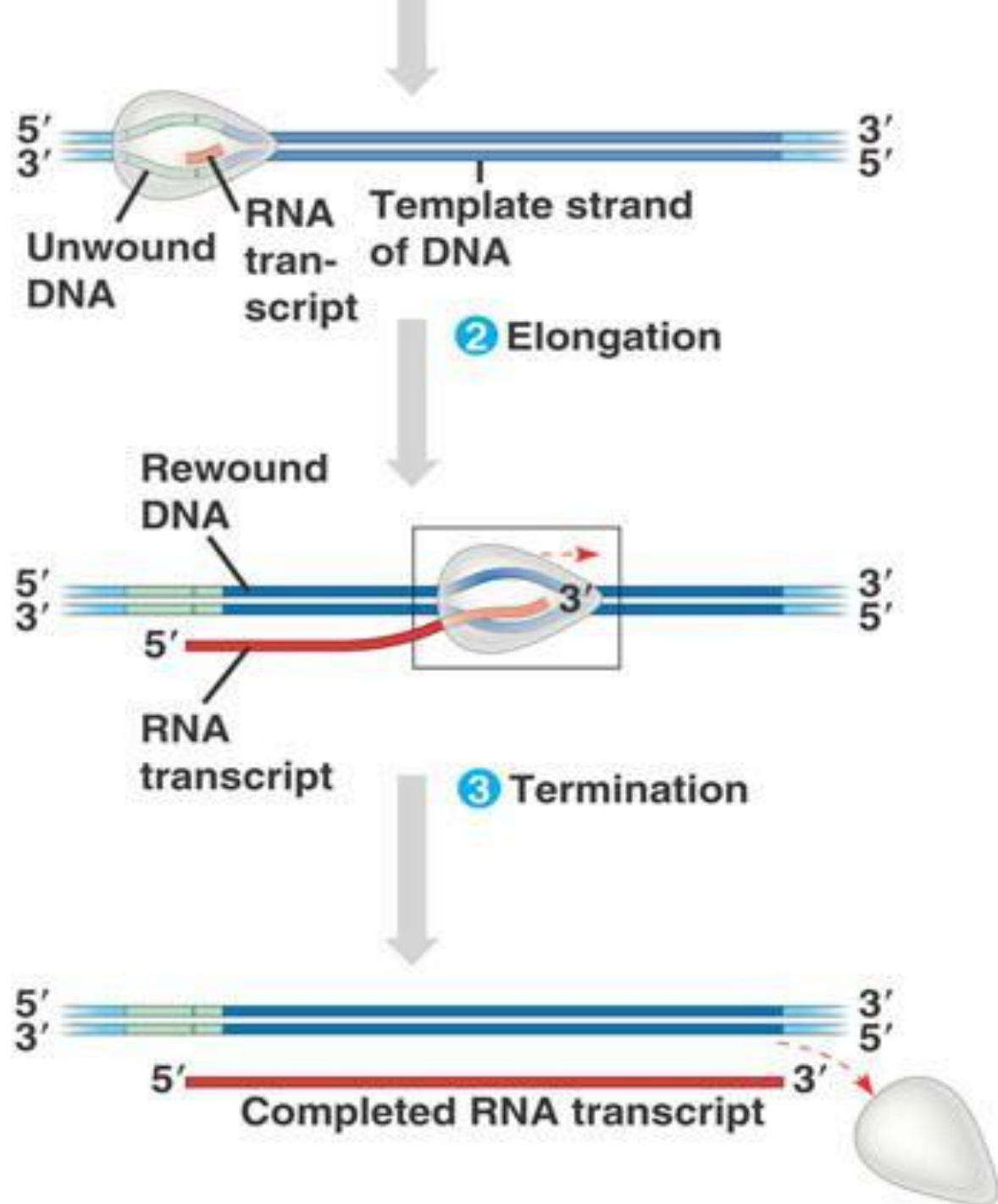
Элонгация:

- РНК-полимераза двигается вдоль гена
- расплетается в среднем 12-15 оснований ДНК
- мРНК-транскрипт «транскрибируется» и выходит (удлинняется) наружу



Терминация:

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



Некоторые дополнительные усложнения у эукариот при транскрипции генов:

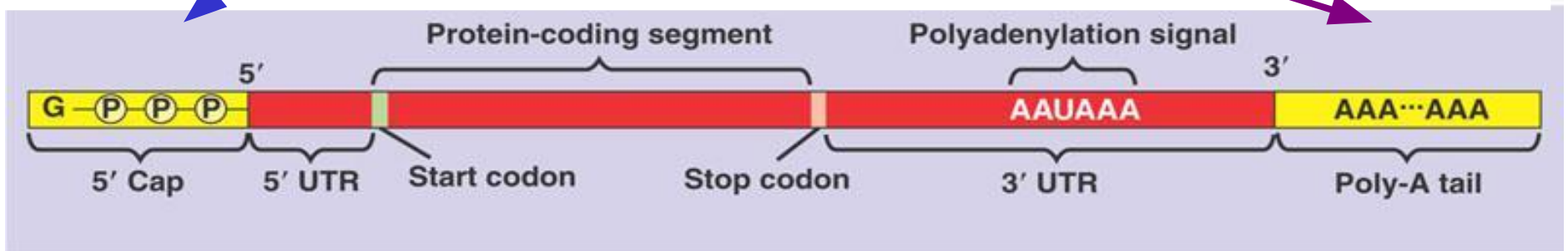
- 1. Специальные модификации на 5'- и 3'-концах**
- 2. Гены прерываются некодирующими последовательностями, которые должны быть удалены.**

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

Эукариотическая РНК (is processed)
претерпевает «процессинг»:

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.

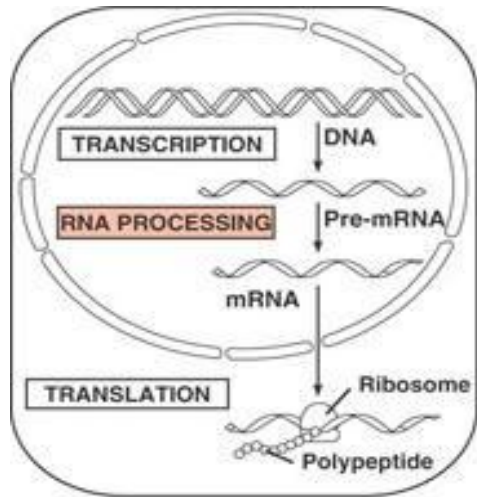
Кэп - 7-метилгуанозин, соединённый 5',5'-трифосфатным мостиком с первым нуклеотидным остатком транскрипта.

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

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

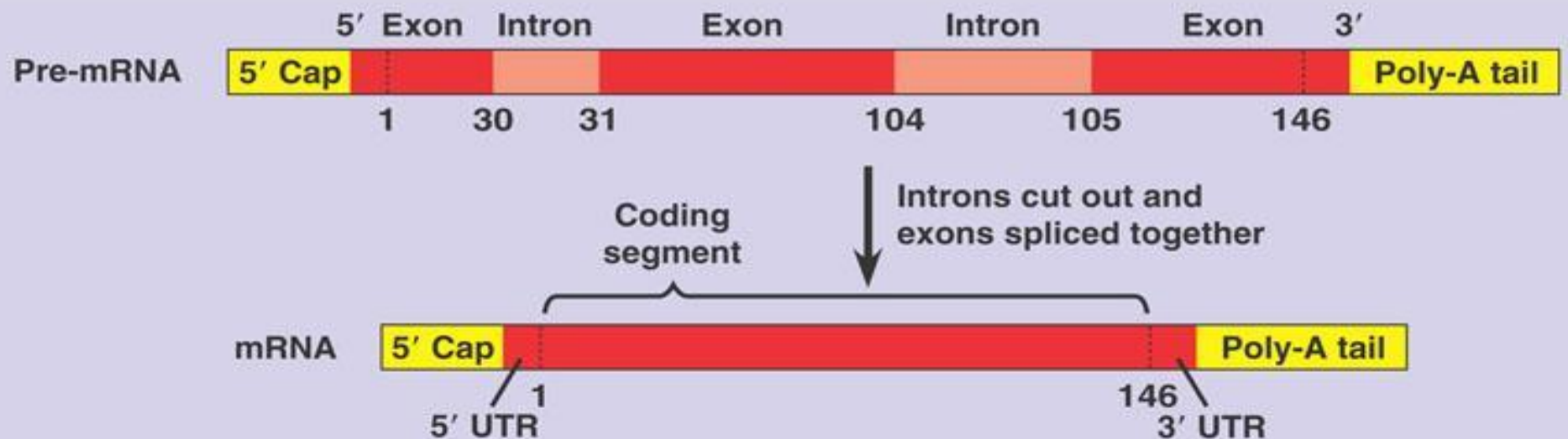
Кэп способствует эффективному процессингу пре-мРНК, экспорту мРНК из ядра, её трансляции и защите от быстрой деградации

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

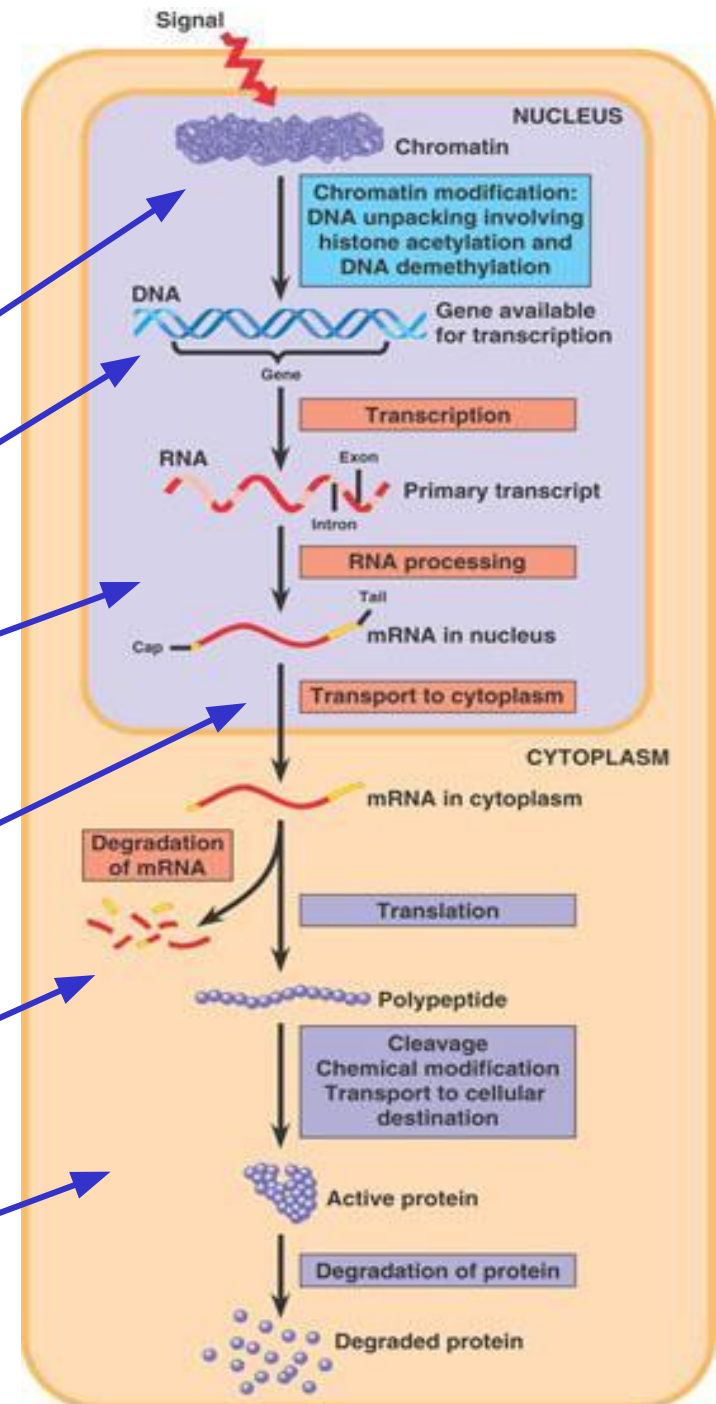
Инициация транскрипции

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.

Экзоны

ДНК



Ген тропонина Т

Первичный
РНК
транскрипт



РНК -сплайсинг

мРНК



или



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 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:

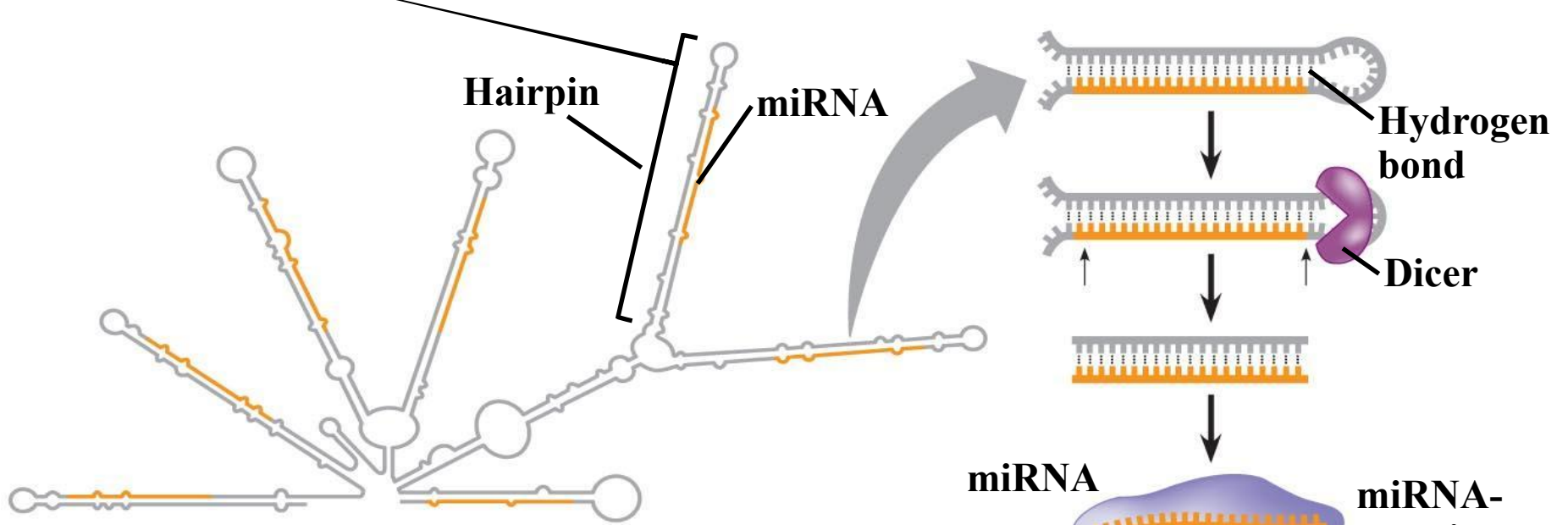
1. Некодирующая функциональная РНК (рибосомальная РНК, транспортная РНК, Рiwi-РНК – 26-31, microRNA – 21-24).
2. Цис- и транс-регуляторные элементы
3. Интроны
4. Псевдогены
5. Повторные последовательности, транспозоны и вирусные элементы
6. Теломеры

Функции:

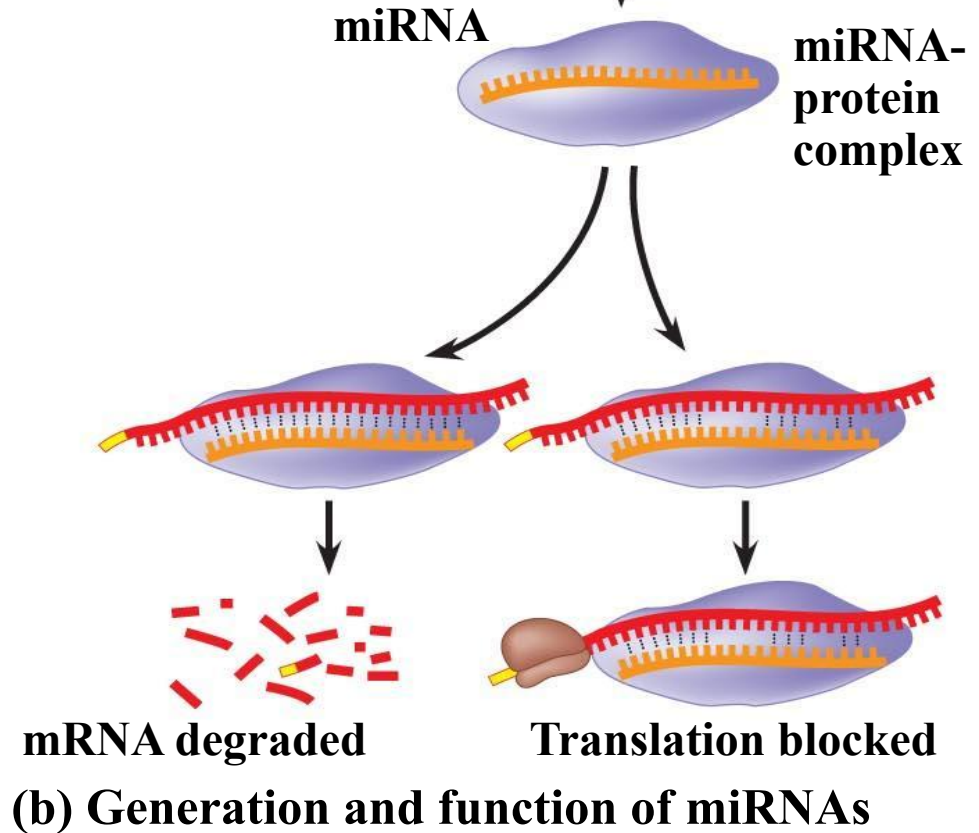
- Регуляция экспрессии генов, Защита генома, генетические переключатели, факторы транскрипции, операторы, энхансеры, инсуляторы

МикроРНК

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



(a) Primary miRNA transcript



mRNA degraded

Translation blocked

(b) Generation and function of miRNAs

- **Феномен ингибирования экспрессии при помощи короткоцепочных молекул 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>