

# **БИОТЕХНОЛОГИЯ**

**Курс лекций для студентов IV курса факультета  
биологии РГПУ им. А.И. Герцена**

**Направление 050100 Педагогическое образование**

**Профиль 01 Биологическое образование**

**Профессор кафедры Зоологии  
проф. Цымбаленко Надежда Васильевна**

**д.б.н.,**

# **Т Р А Н С К Р И П Ц И Я**

## **(эукариоты)**

- У эукариотов процессы транскрипции и трансляции разобщены во времени и пространстве (транскрипция - в ядре, трансляция - в цитоплазме).
- У эукариотов существуют **специализированные РНК-полимеразы**.

В ядре выделяют 3 типа РНК-полимераз:

**РНК-полимераза I** - синтезирует рРНК (кроме 5S рРНК).

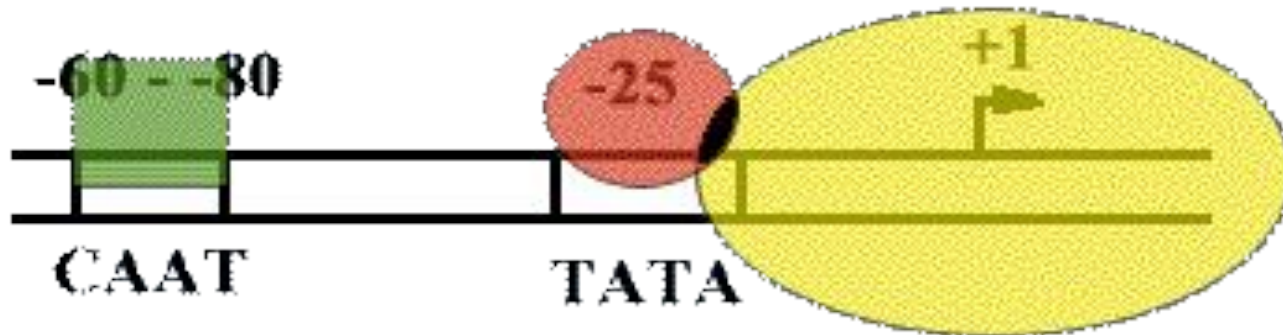
**РНК-полимераза II** - синтезирует мРНК и некоторые sРНК.

**РНК-полимераза III** - синтезирует тРНК, некоторые sРНК и 5SpРНК.

РНК-полимеразы различаются количеством субъединиц, их аминокислотным составом, и зависимостью от катионов магния и марганца. Для РНК-полимераз I и III необходимое для работы соотношение  $[Mn^{2+}]/[Mg^{2+}] = 2$ . Для РНК-полимеразы II -  $[Mn^{2+}]/[Mg^{2+}] = 5$ .

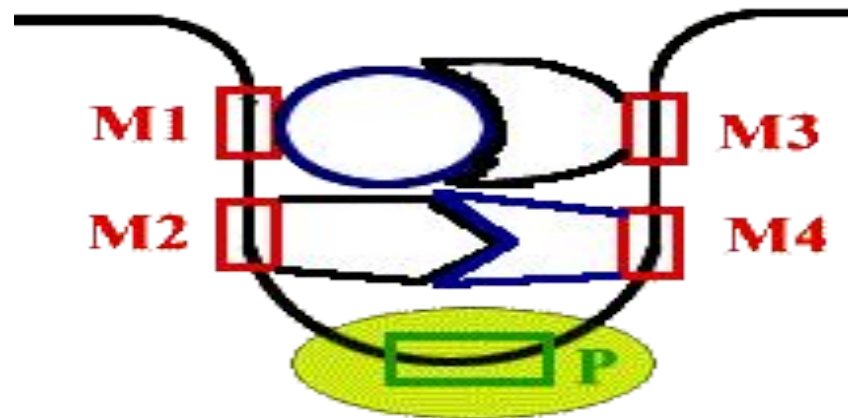
Помимо ядерных РНК-полимераз у эукариот есть еще РНК-полимеразы хлоропластов и митохондрий.

- Особенности транскрипции эукариот
- Единицей транскрипции у эукариот является отдельный **ген**, а не оперон, как у прокариот.
- Оператор, как таковой, отсутствует. Промотор есть, но он организован иначе.



- **Базальные факторы транскрипции** - белки, необходимые для инициации транскрипции
- **Базальные факторы транскрипции необходимы для инициации транскрипции всеми тремя ядерными РНК-полимеразами.**

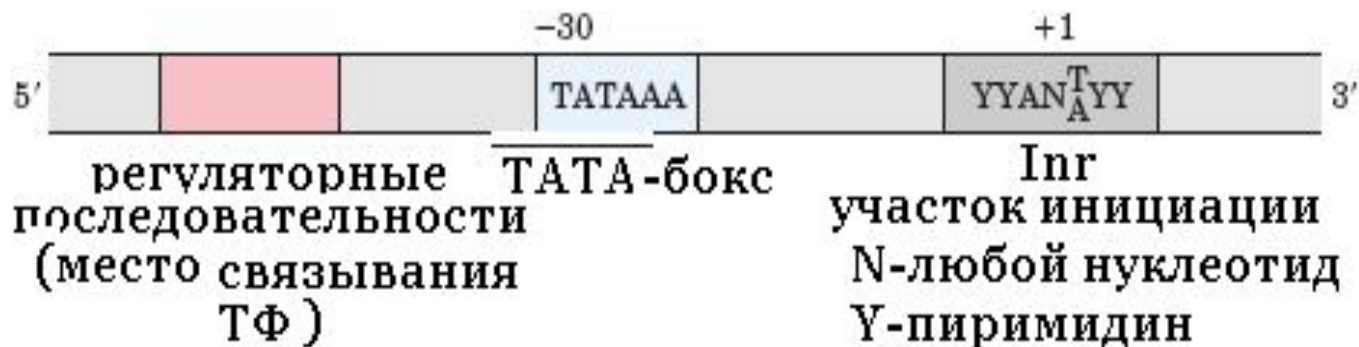
- Для любого гена, кодирующего белок, есть **энхансеры** (усилители).
- **Энхансеры** - последовательности ДНК, усиливающие транскрипцию при взаимодействии со специфическими белками.
- $M1+M2+M3+M4$  - один энхансер, но он состоит из 4-х модулей.



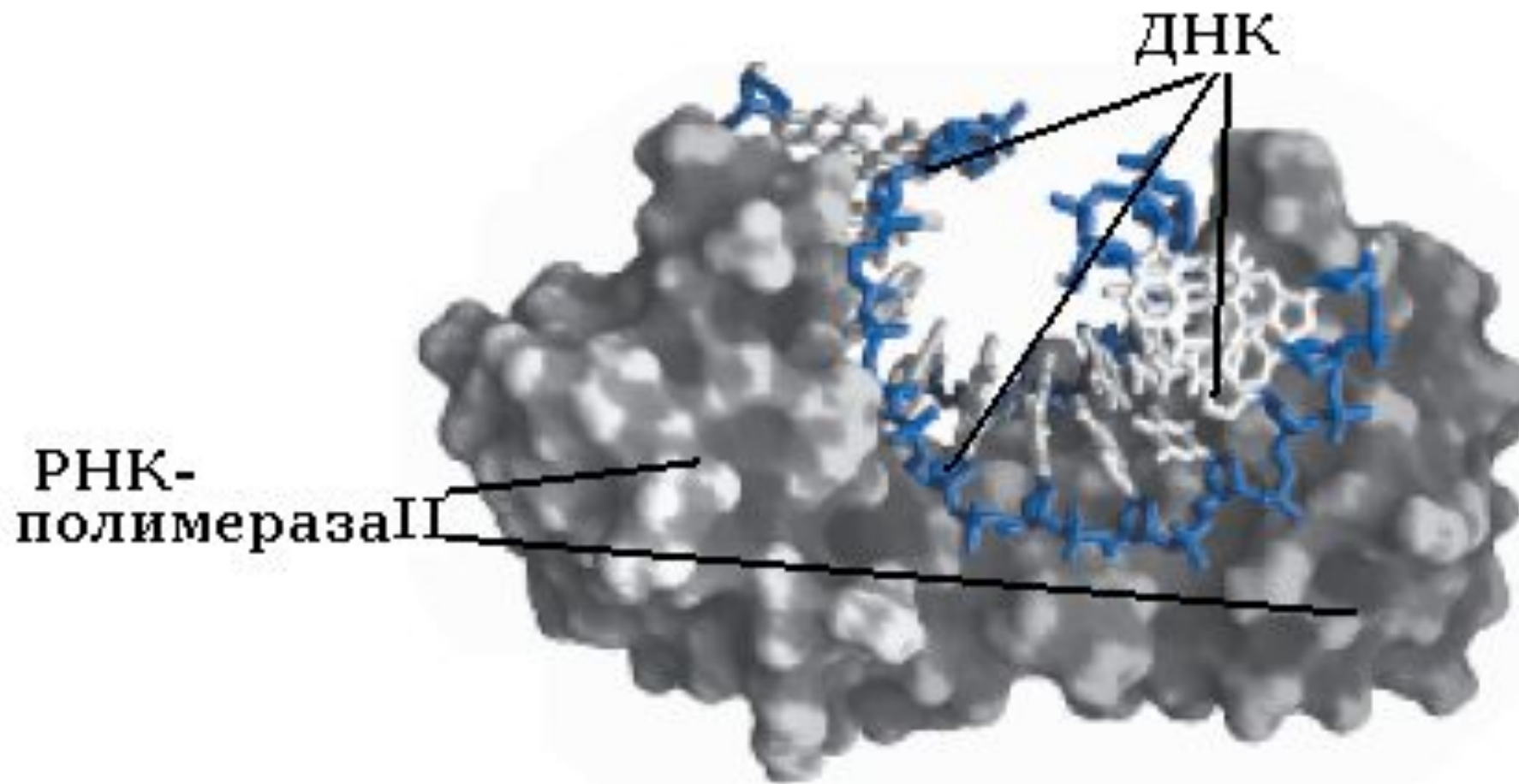
- Экспрессируются лишь те гены, у которых все энхансерные модули узнаны своими белками и эти белки взаимодействуют друг с другом

- Экспрессируются лишь те гены, у которых все энхансерные модули узнаны своими белками и эти белки взаимодействуют друг с другом.
- Кроме энхансеров есть **сайленсеры** (ослабители).
- **Сайленсеры** - последовательности ДНК, ослабляющие транскрипцию при взаимодействии с белками.
- При соответствующем наборе белков экспрессия отдельных генов в клетке может быть подавлена

- РНК-полимераза II для осуществления своей работы требует много различных белковых факторов (транскрипционные факторы – ТФ).
- РНК-полимераза II состоит из 12 субъединиц, часть которых выполняют функции, подобные субъединицам РНК-полимеразы прокариотов.
- Самая большая субъединица на С-конце содержит много раз повторяющийся (консенсусный) гепта-повтор, очень важный для функции этого фермента.



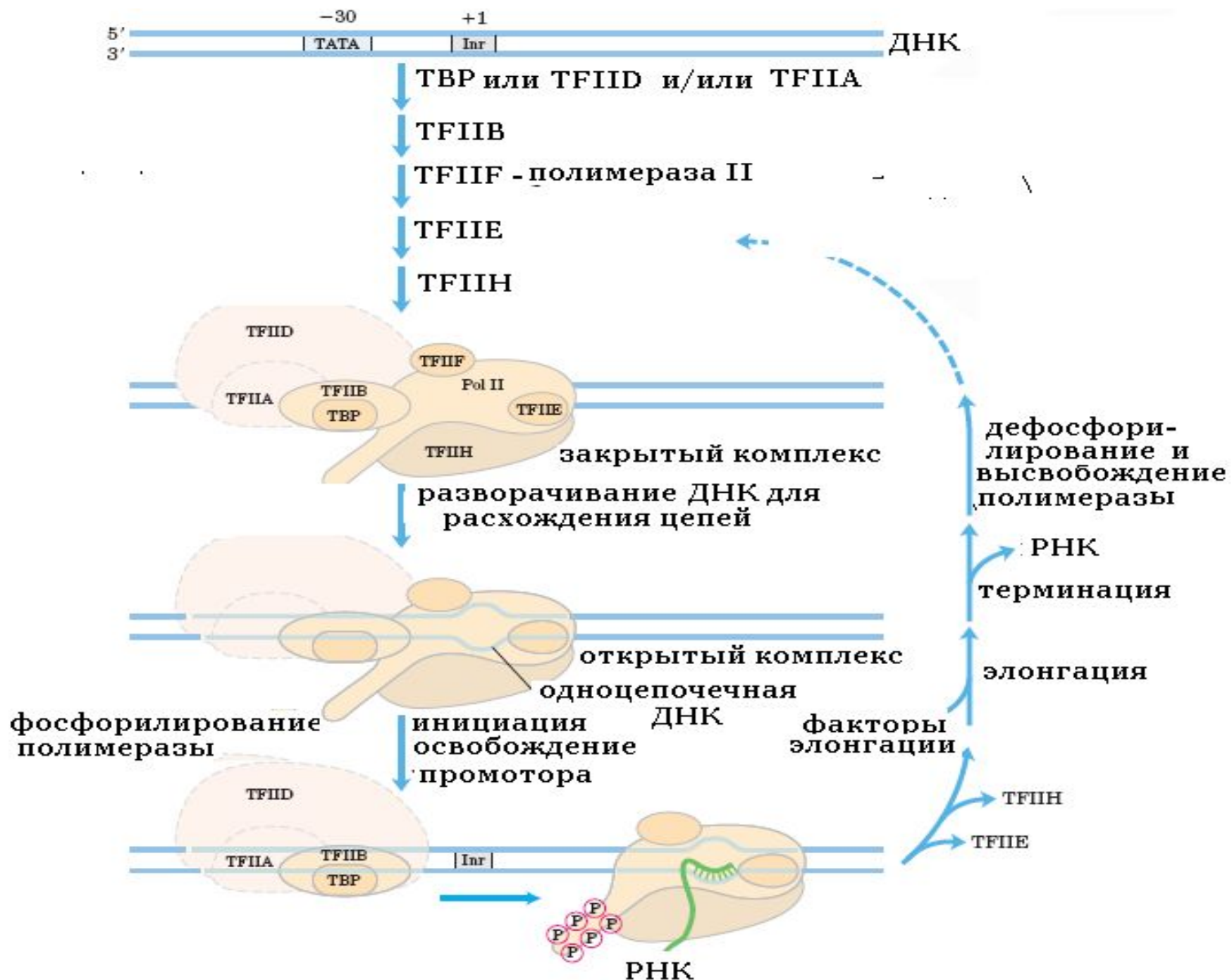
## Комплекс ДНК и РНК-полимеразы II





## Белки, необходимые для инициации транскрипции на эукариотических промоторах РНК-полимеразой II

<i>Transcription protein</i>	<i>Number of subunits</i>	<i>Subunit(s) M<sub>r</sub></i>	<i>Function(s)</i>
<b>Initiation</b>			
Pol II	12	10,000–220,000	Catalyzes RNA synthesis
TBP (TATA-binding protein)	1	38,000	Specifically recognizes the TATA box
TFIIA	3	12,000, 19,000, 35,000	Stabilizes binding of TFIIIB and TBP to the promoter
TFIIB	1	35,000	Binds to TBP; recruits Pol II–TFIIF complex
TFIIE	2	34,000, 57,000	Recruits TFIIH; has ATPase and helicase activities
TFIIF	2	30,000, 74,000	Binds tightly to Pol II; binds to TFIIB and prevents binding of Pol II to nonspecific DNA sequences
TFIIH	12	35,000–89,000	Unwinds DNA at promoter (helicase activity); phosphorylates Pol II (within the CTD); recruits nucleotide-excision repair proteins
<b>Elongation*</b>			
ELL <sup>†</sup>	1	80,000	
p-TEFb	2	43,000, 124,000	Phosphorylates Pol II (within the CTD)
SII (TFIIS)	1	38,000	
Elongin (SIII)	3	15,000, 18,000, 110,000	



# ИНГИБИТОРЫ РНК-ПОЛИМЕРАЗ

**Актиномицин D и акридин** – подавляют работу на стадии элонгации

**$\alpha$ -аманитин** (токсин бледной поганки) полностью подавляет работу РНК-полимеразы II в концентрации  $10^{-8}$  М и РНК-полимеразы III ( в концентрации  $10^{-6}$  М). РНК-полимераза I фактически нечувствительна к этому токсину.

## Процессинг мРНК

Процессинг мРНК состоит из нескольких этапов.

1. **Кепирование** 100% мРНК
2. **Полиаденилирование** ~95% мРНК
3. **Сплайсинг** ~95% мРНК. Сплайсингу подвергаются только полиаденилированные мРНК.
4. **Редактирование**. Показано лишь для нескольких мРНК.

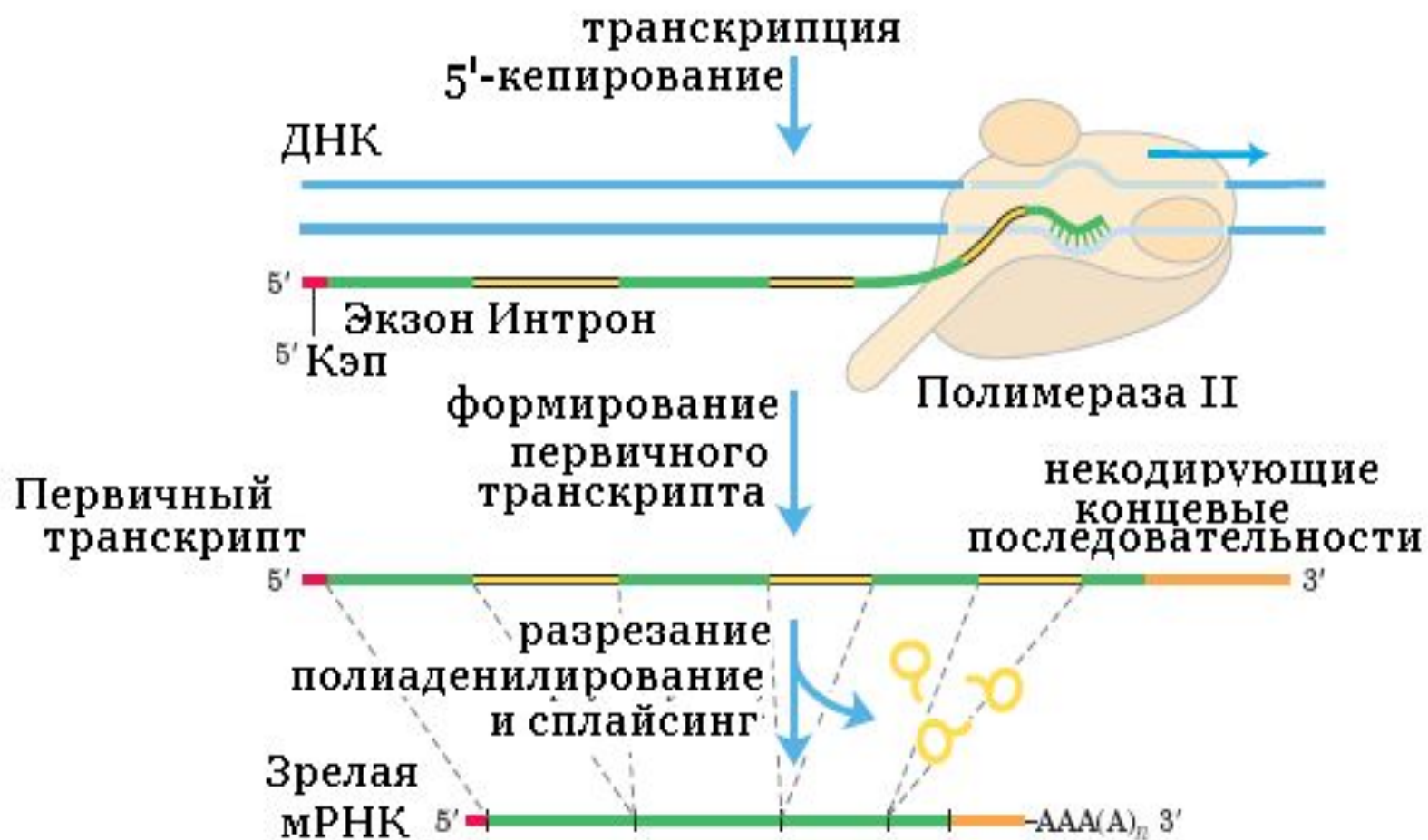
Все стадии процессинга мРНК происходят в РНП-частицах (рибонуклеопротеидных комплексах).

*мРНК не бывает свободной от белков.*

**Полисома** - комплекс мРНК с несколькими или многими рибосомами.

В составе информосом мРНК может жить от нескольких минут до нескольких дней, не подвергаясь действию нуклеаз

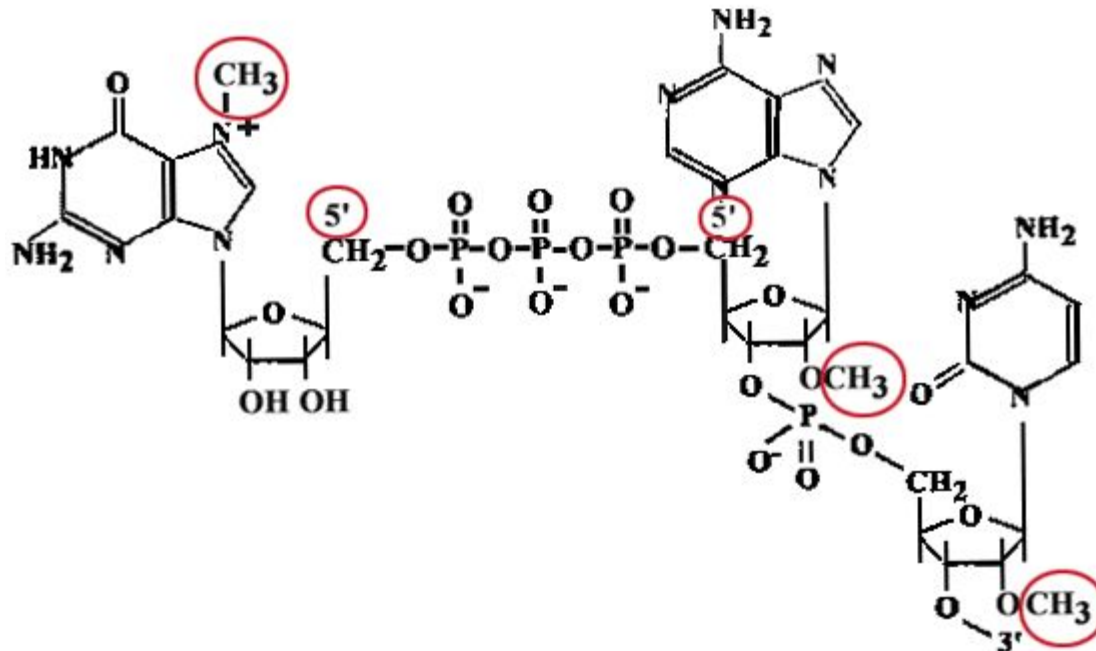
# Процессинг мРНК



# Кепирование

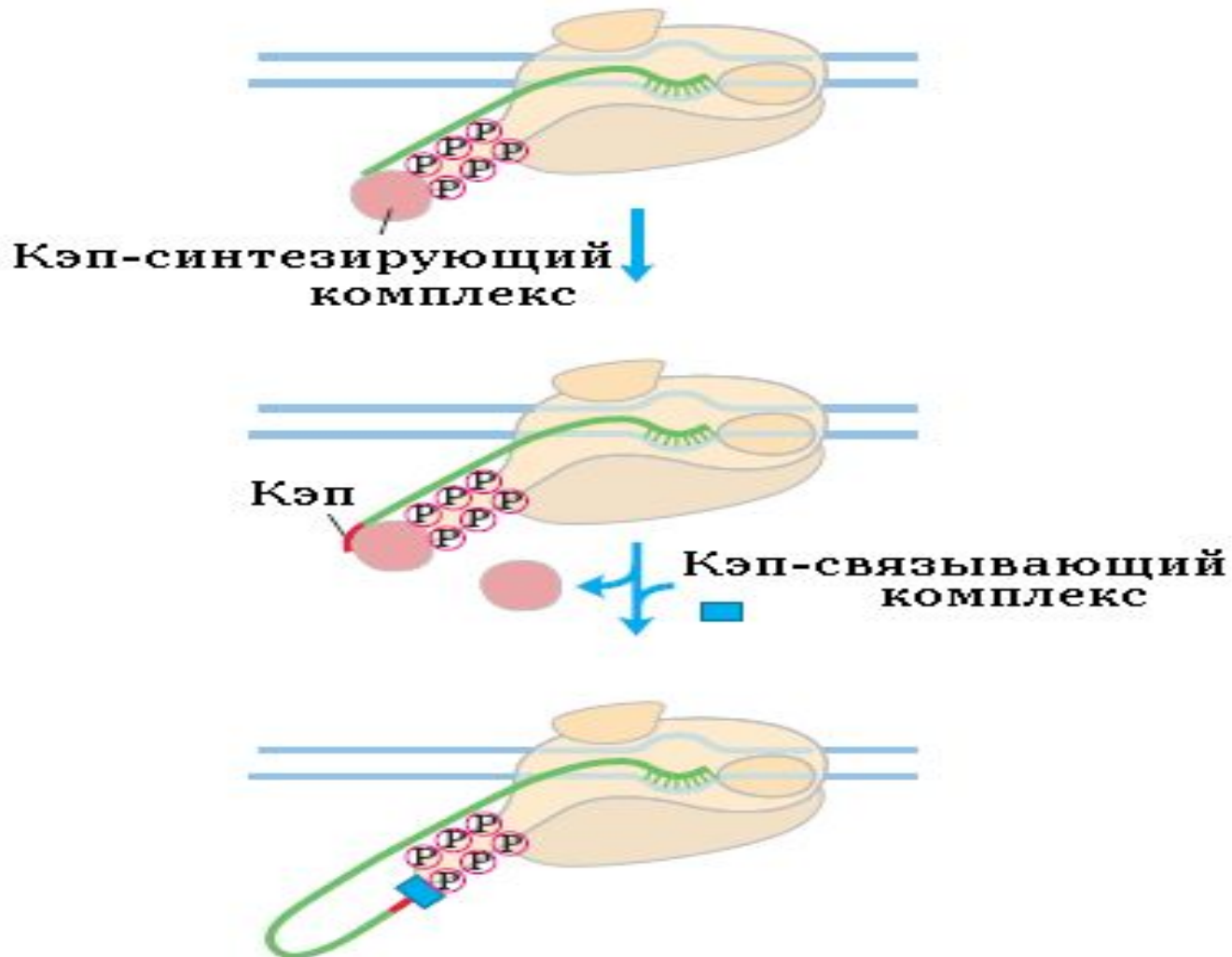
**Кепирование** - надевание "шапочки".

"Cap" представляет собой метилированный GTP, присоединенный в необычной позиции 5'-5' и две метилированные рибозы в первых двух нуклеотидах мРНК. По мере образования пре-мРНК (еще до 30-ого нуклеотида), к 5'-концу, несущему пуринтрифосфат, присоединяется гуанин, после чего происходит метилирование



## Назначение “Кэп”

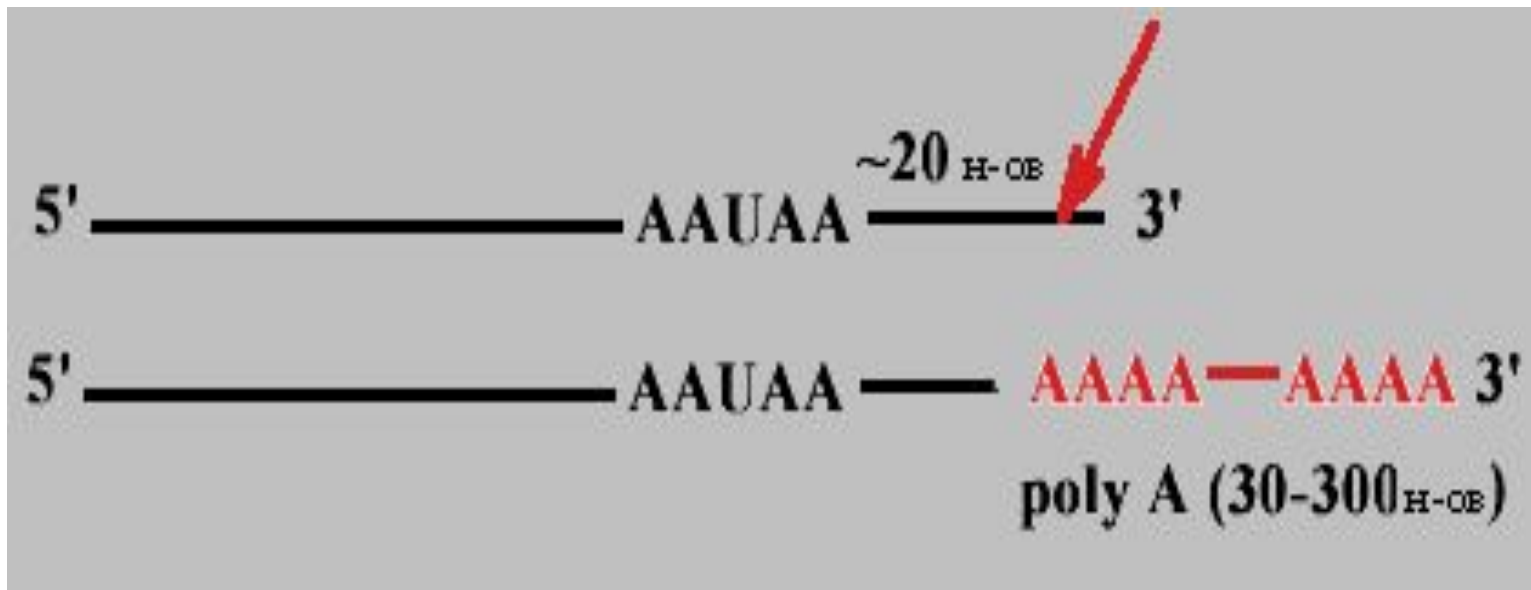
- 1. *Защита 5'-конца мРНК от действия экзонуклеаз.*
- 2. *За счет узнавания “Кэп” связывающими белками происходит правильная установка мРНК на рибосоме*



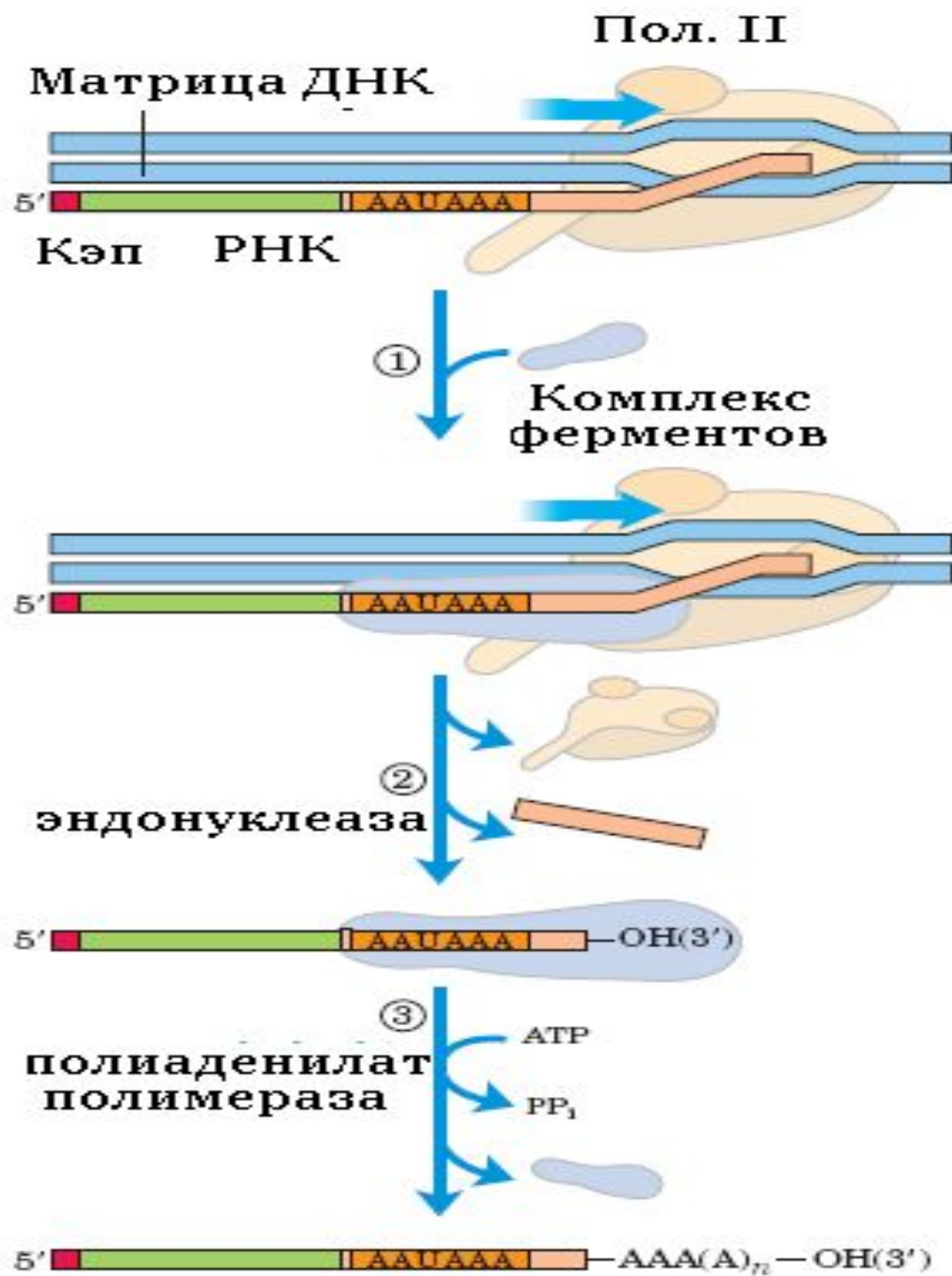


## Полиаденилирование

Когда синтез пре-мРНК завершен, то на расстоянии примерно 20 нуклеотидов в направлении к 3' - концу от последовательности 5'-AAUAA-3' происходит разрезание специфической эндонуклеазой и к новому 3'-концу присоединяется от 30 до 300 остатков АМР (безматричный синтез).







***мРНК ряда генов не  
полиаденилируется (например  
гистоновых генов).***

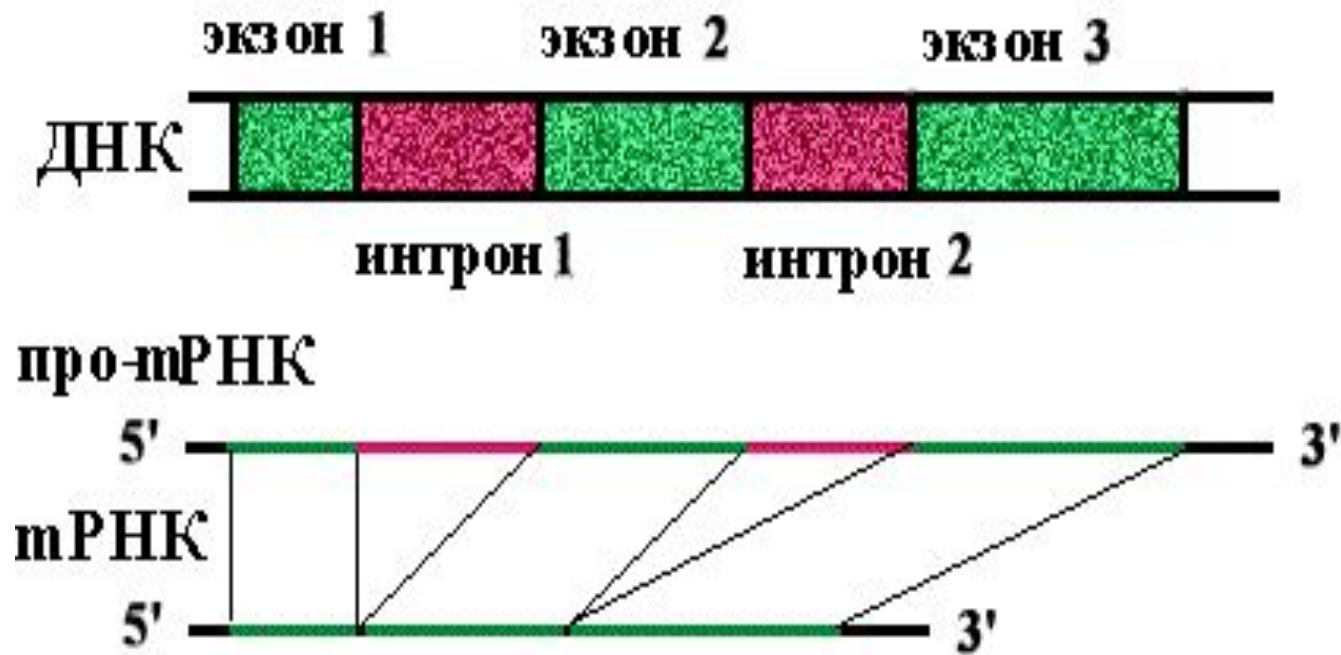
***Полиаденилированные пре-мРНК  
подвергаются сплайсингу.***

# Сплайсинг

**Экзоны** - кодирующие участки генов.

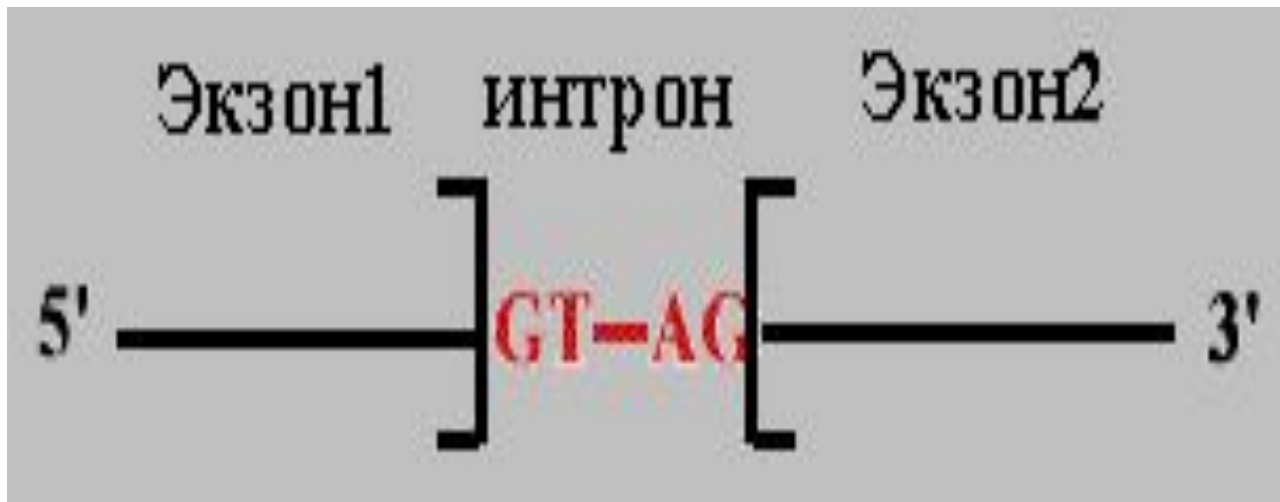
**Интроны** - некодирующие участки генов.

**Сплайсинг** - вырезание копий интронов из пре-мРНК и сшивание копий экзонов с образованием мРНК.

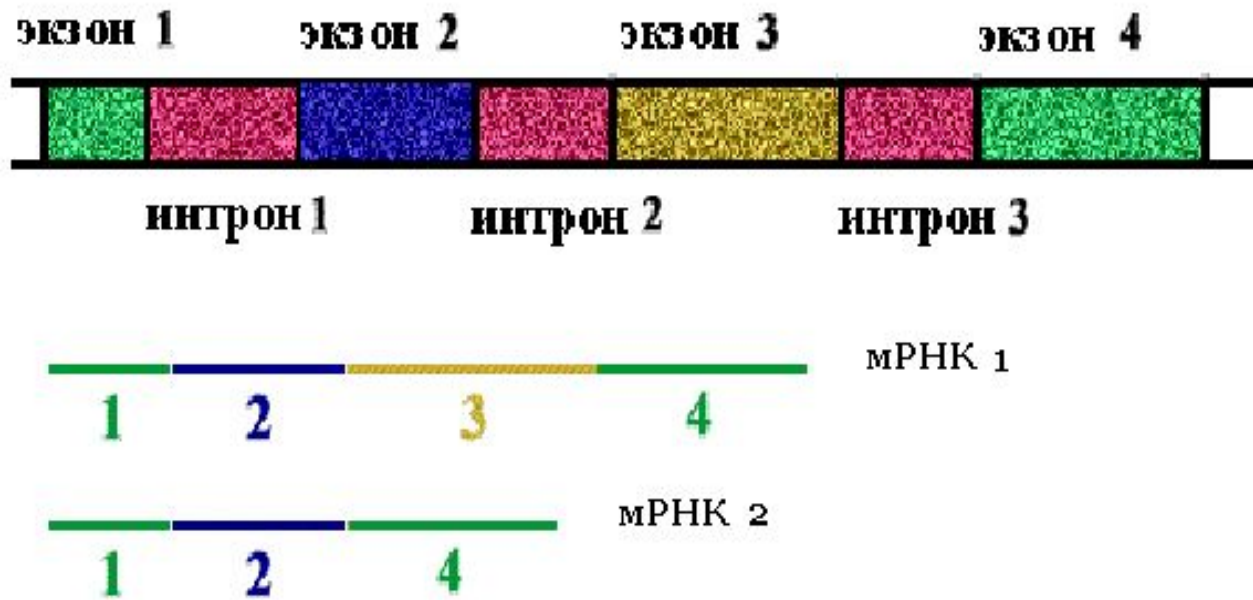


**Для мРНК высших организмов существуют обязательные правила сплайсинга:**

**Правило 1. 5' и 3' концы интрона очень консервативны:  $5'(GT-интрон-AG)3'$ .**



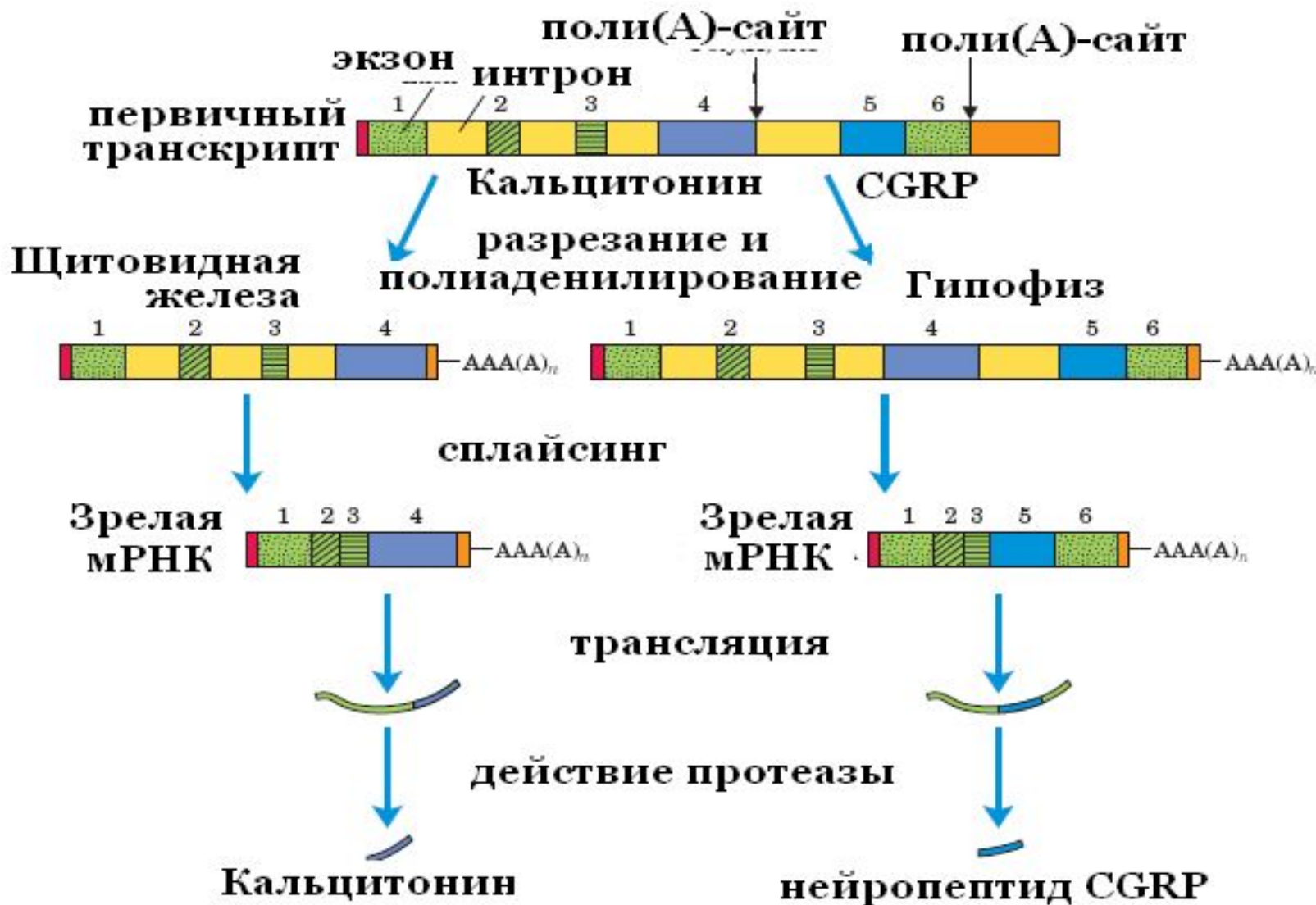
**Правило 2. При сшивании копий экзонов соблюдается порядок их расположения в гене, но могут быть выброшены некоторые из них.**



**Сплайсинг осуществляется белковыми комплексами - *сплайсосомами*, в которых помимо ферментов, вырезающих и сшивающих участки пре-мРНК, имеются белки, придающие про-мРНК нужную конформацию, и несколько sРНК. Сплайосома непосредственно связана с ферментами, занимающимися полиаденилированием.**

# Альтернативный сплайсинг мРНК

## кальцитонинового гена у млекопитающих (крыса)



# Редактирование

- **Редактирование** - изменение генетической информации на уровне мРНК.
- Пример- редактирование мРНК цитохромоксидазы у трипаносомы: когда трипаносома в человеке – синтезируется только две субъединицы цитохромоксидазы, в мухе – три.
- Происходит сдвиг рамки считывания и отредактированная мРНК кодирует новый полипептид - третью субъединицу цитохромоксидазы

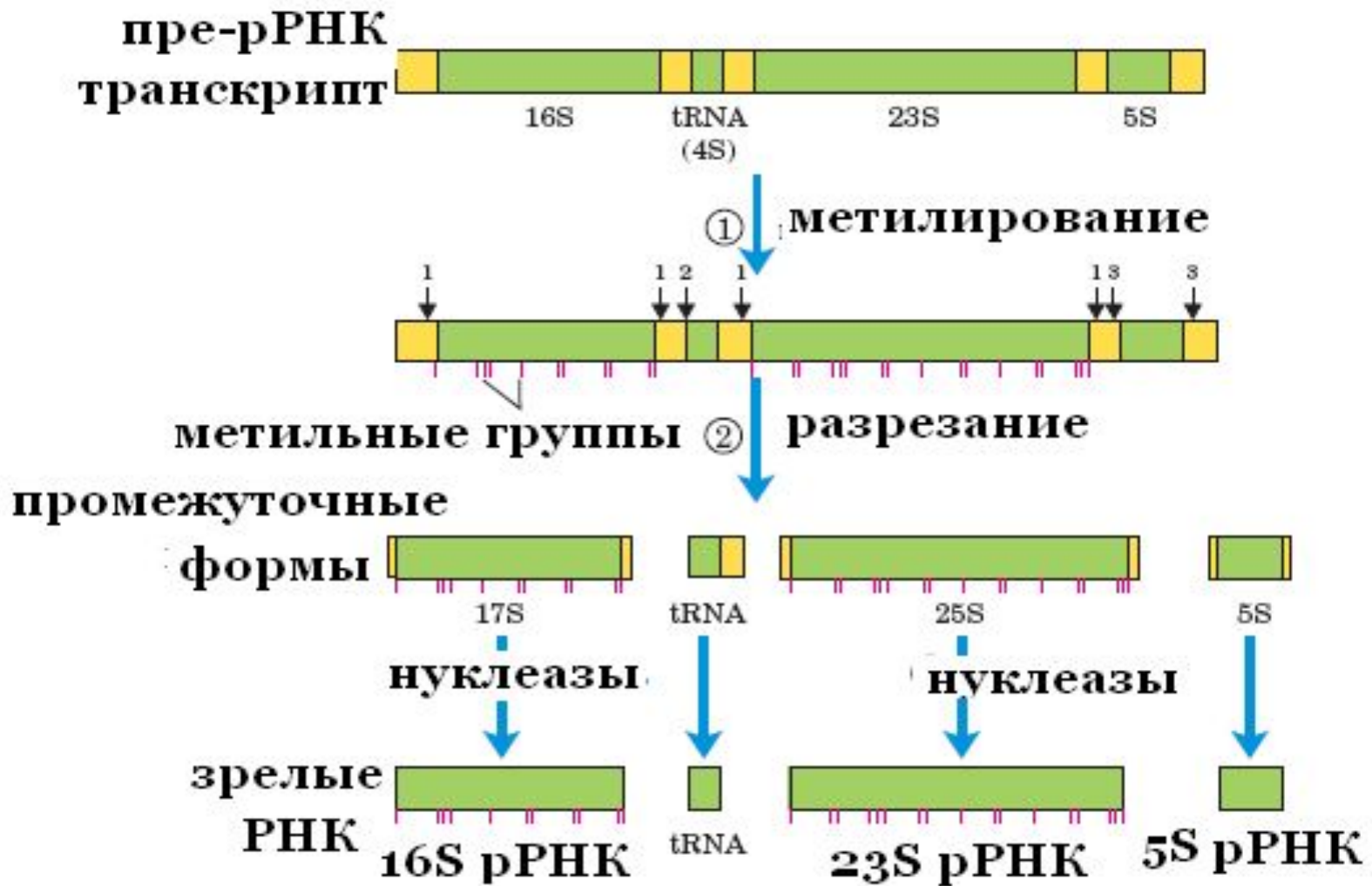
*coxII*



*coxIII*

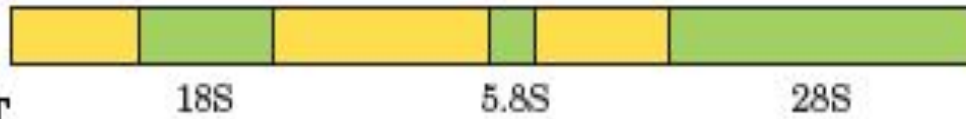


# Процессинг пре-рРНК у бактерий

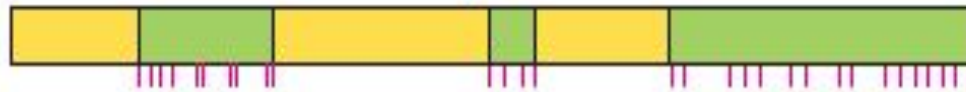


# Процессинг пре-рРНК у эукариотов

пре-рРНК  
транскрипт  
(45S)

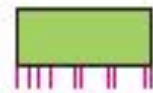


① метилирование



② метильные группы  
разрезание

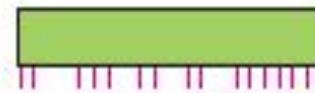
зрелые рРНК



18S  
рРНК



5,8S  
рРНК



28S  
рРНК