

БИОТЕХНОЛОГИЯ

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

Направление 050100 Педагогическое образование

Профиль 01 Биологическое образование

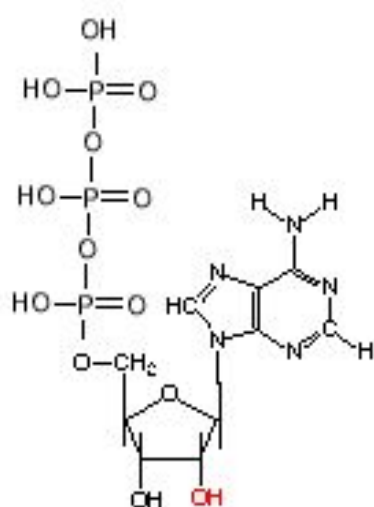
**Профессор кафедры Зоологии
проф. Цымбаленко Надежда Васильевна**

д.б.н.,

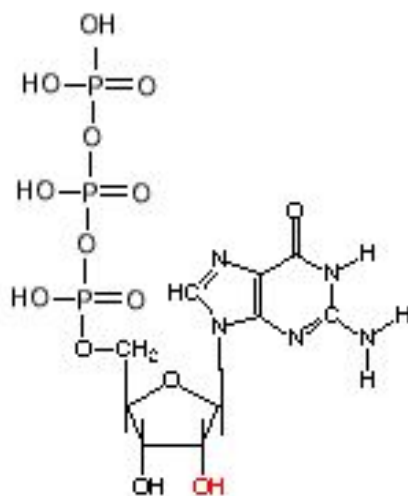
Т Р А Н С К Р И П Ц И Я

- **Транскрипция** - это синтез всех видов РНК по матрице ДНК, осуществляемый ферментом ДНК-зависимой РНК-полимеразой.

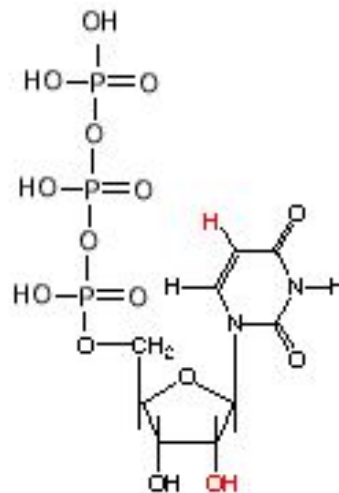
Активированные рибонуклеотиды



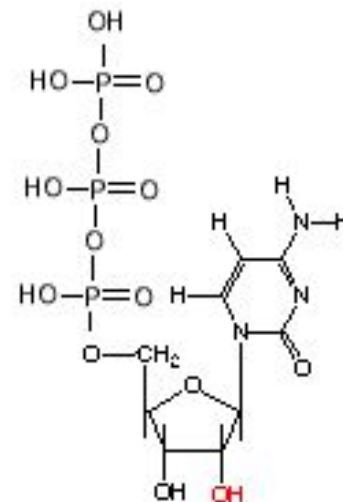
Аденозинтрифосфат
(АТФ)



Гуанозинтрифосфат
(GTP)



Уридинтрифосфат
(UTP)



Цитидинтрифосфат
(CTP)

Пуриновые

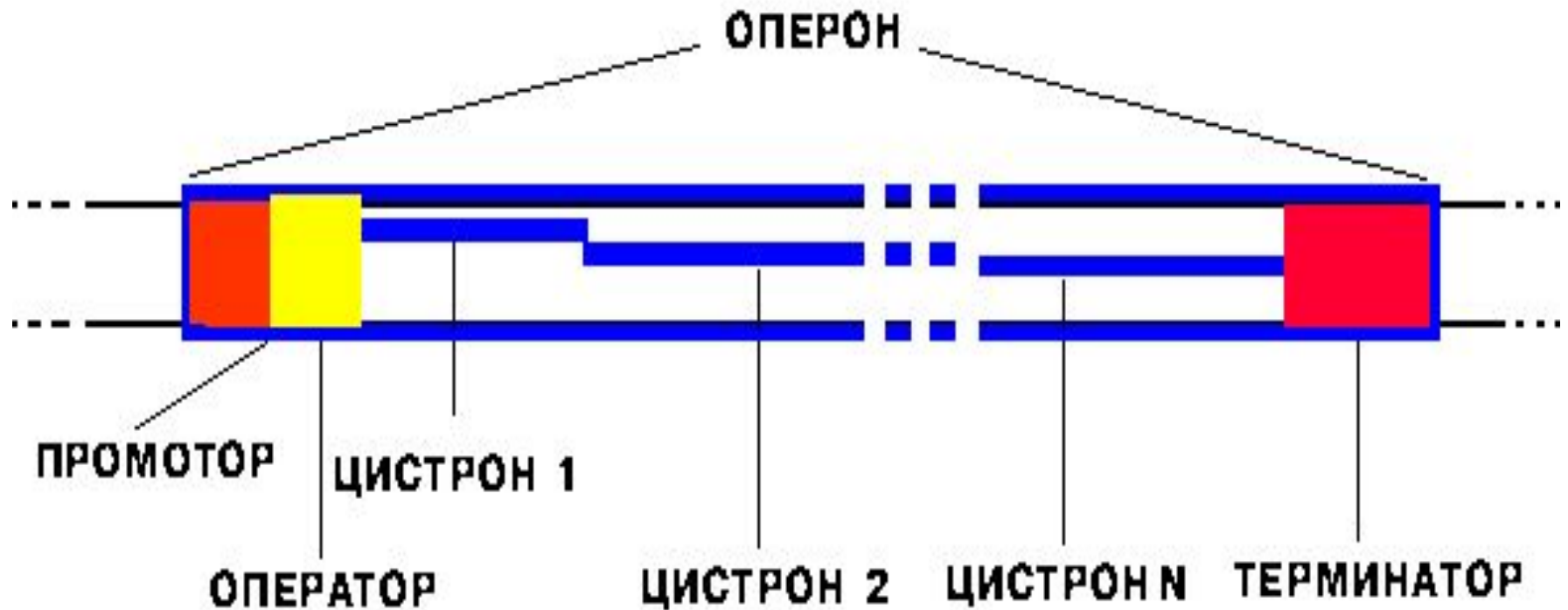
Пиримидиновые

Принципы транскрипции:

- 1. *Комплементарность.*
 - 2. *Антипараллельность.*
 - 3. *Униполярность.*
 - 4. *Беззатравочность.*
 - 5. *Асимметричность.*
-
- РНК синтезируется комплементарно и антипараллельно транскрибируемой цепи ДНК. Рост цепи РНК идет только в направлении $5' \rightarrow 3'$. Для начала синтеза РНК фермент не нуждается в поли- или олигонуклеотидной затравке.
 - *Первый нуклеотид в РНК всегда пурин в форме трифосфата.*

Поняtie об опероне

Оперон - единица транскрипции у прокариот



Промотор - особая последовательность нуклеотидов ДНК, узнаваемая РНК-полимеразой как посадочная площадка и старт синтеза РНК.

Только с промотора может начаться синтез специфической РНК.

Терминатор - особая последовательность нуклеотидов ДНК, узнаваемая РНК-полимеразой как финиш транскрипции.

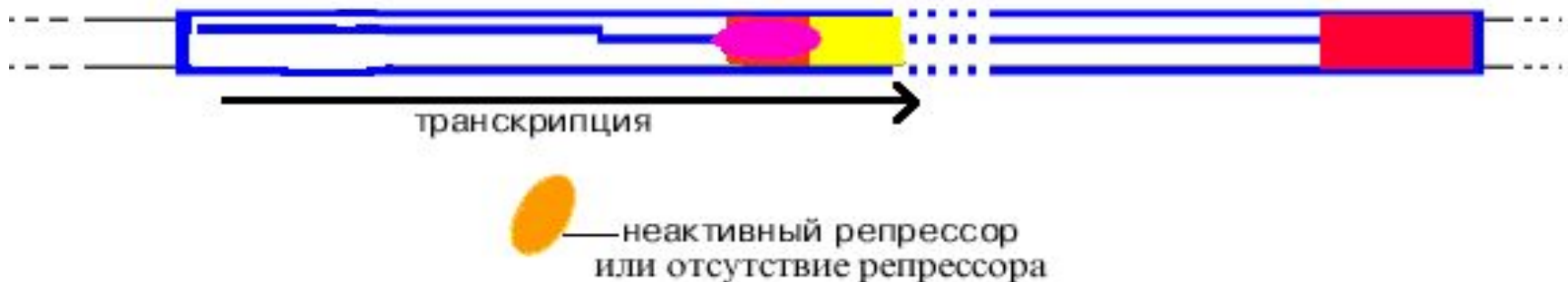
Цистрон - последовательность нуклеотидов ДНК, кодирующая один полипептид (в большинстве случаев - белок) или одну тРНК, или одну рРНК

Оператор - особая последовательность нуклеотидов ДНК, узнаваемая белком-репрессором.

- На операторе - белок репрессор. Оперон не транскрибируется.

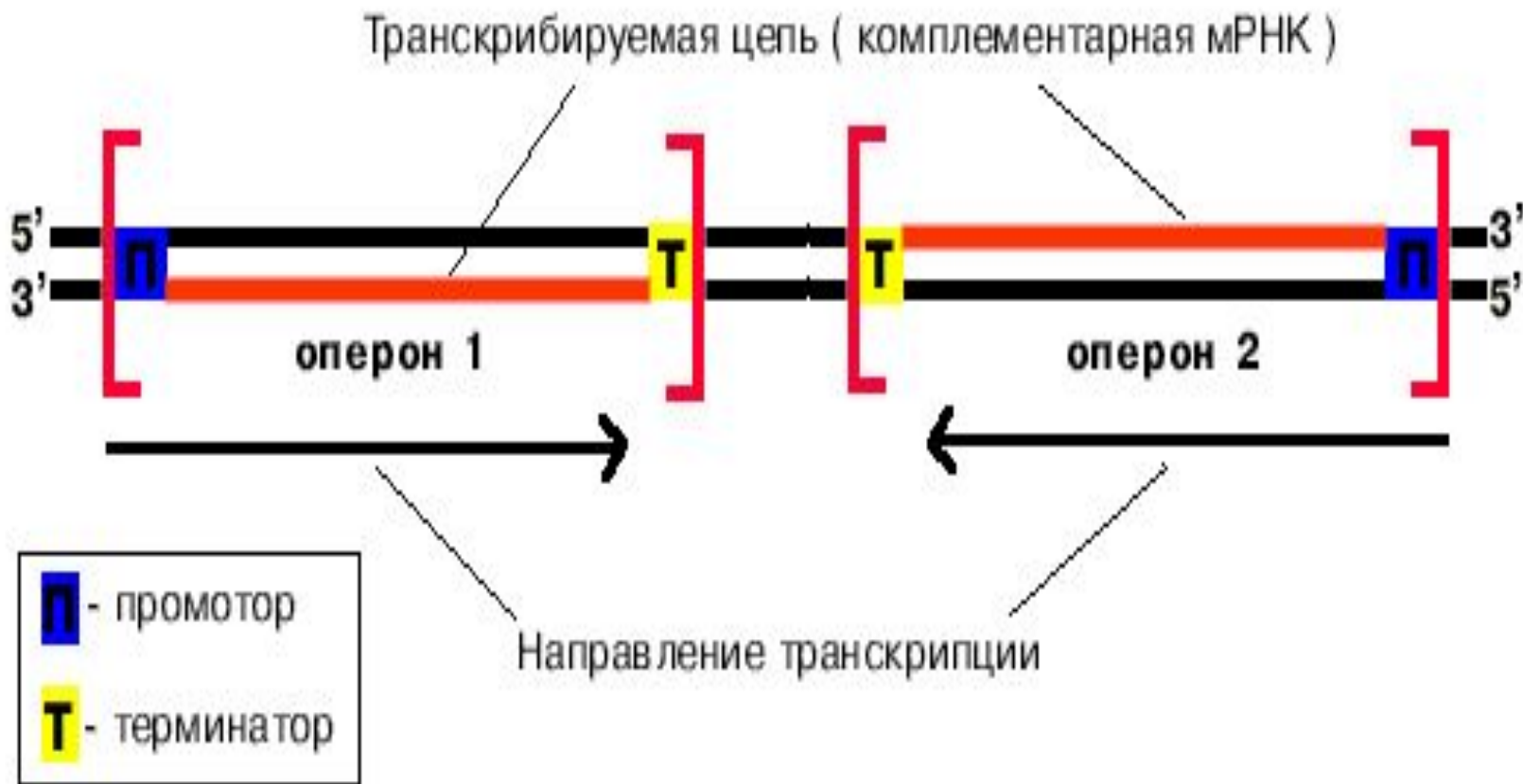


Оператор свободен. Оперон транскрибируется.

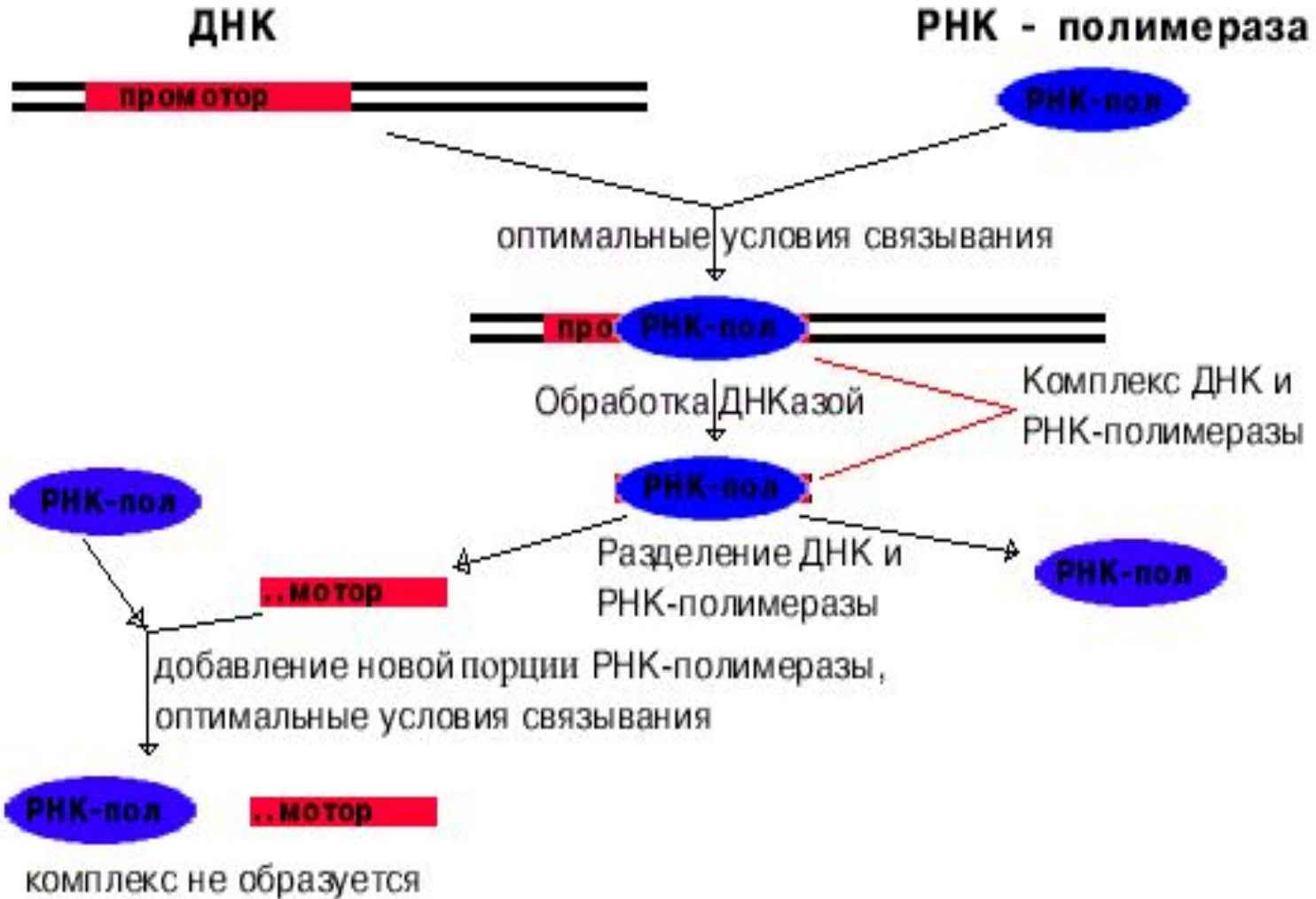


Асимметричность

Транскрибируются обе цепи ДНК, но в каждом отдельном опероне только одна из них. Какая именно, определяется положением промотора и терминатора.



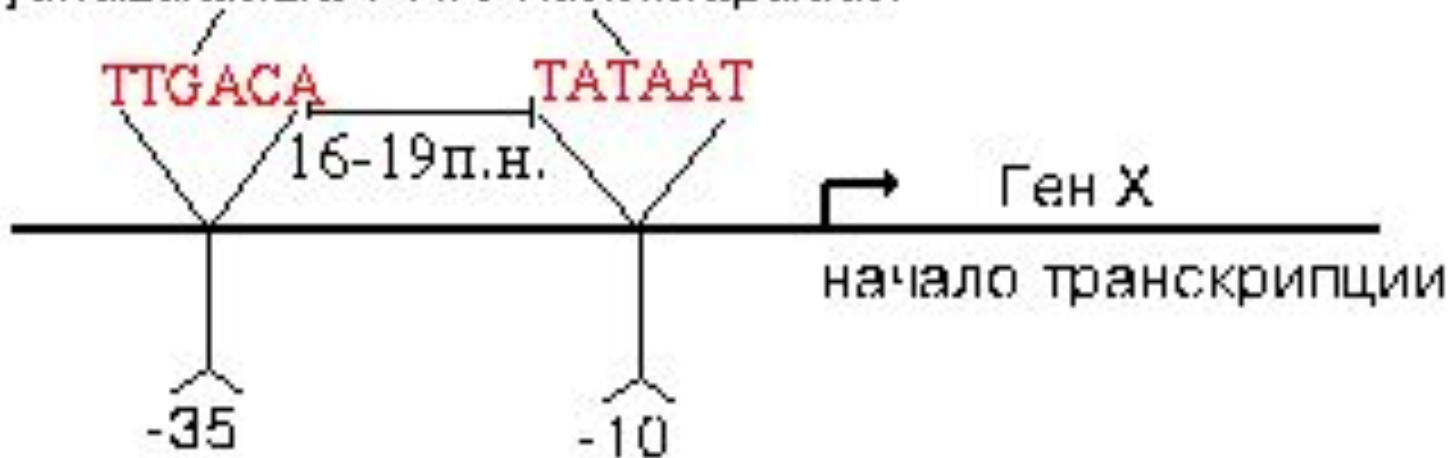
Особенности структуры промотора



Узнавание и прочное связывание происходит на разных участках ДНК.

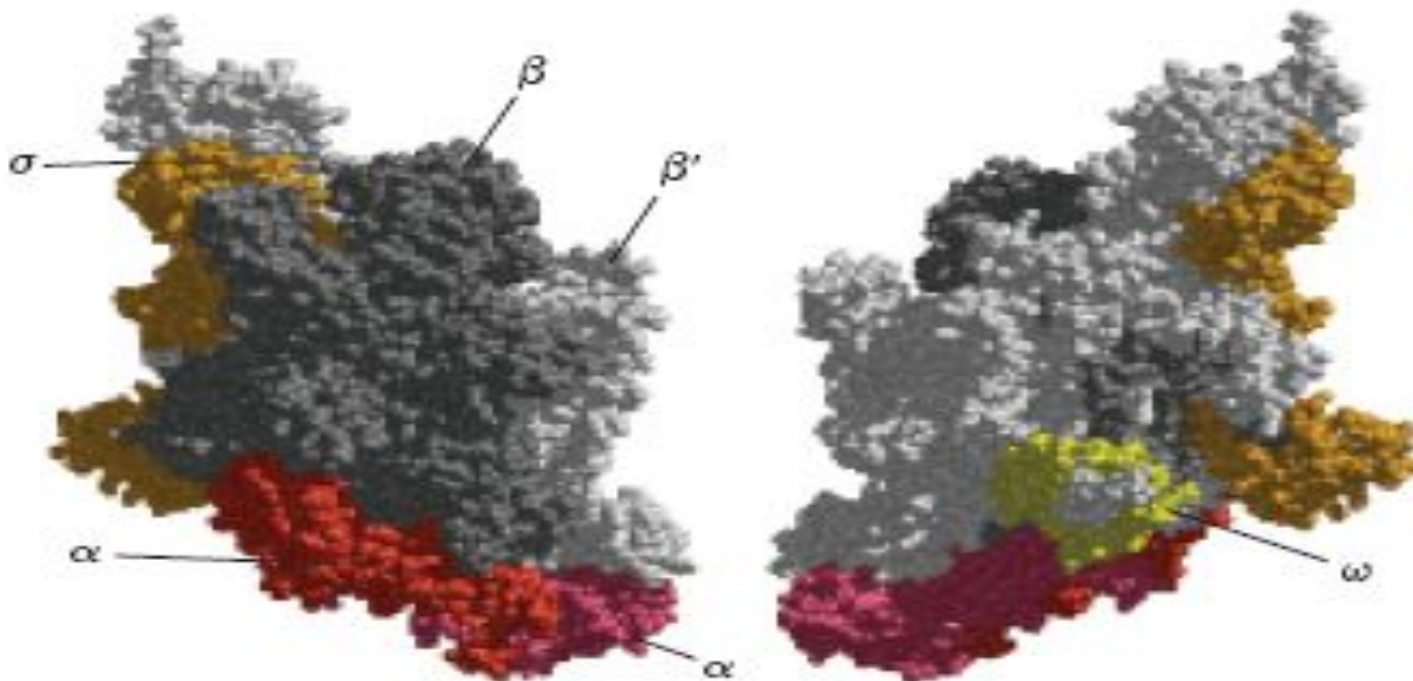
Эти участки отличаются и по первичной, и по вторичной структуре. Путем секвенирования выявили структуру многих промоторов. У большинства из них имеется общее свойство.

консенсусные АТ-богатые последовательности,
узнаваемые РНК-полимеразой



Структура ДНК-зависимой РНК-полимеразы *E.coli*

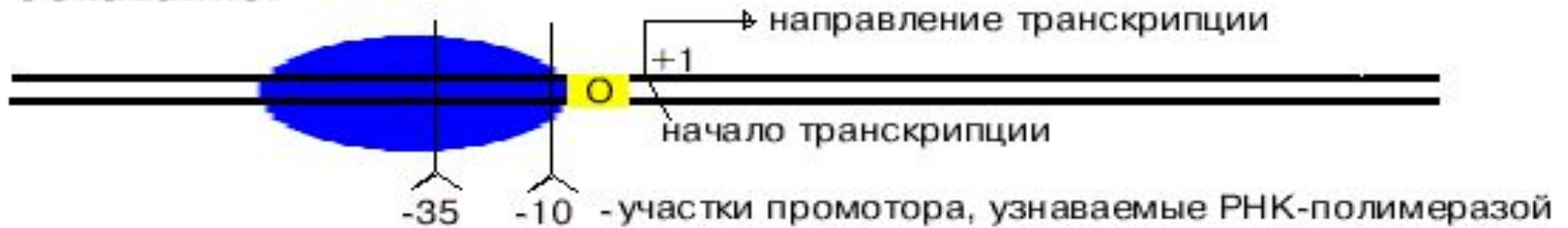
6 субъединиц: 2α β β' ω δ - **холо**фермент
 2α β β' ω - **core**-фермент
Кофактор: ионы Mg



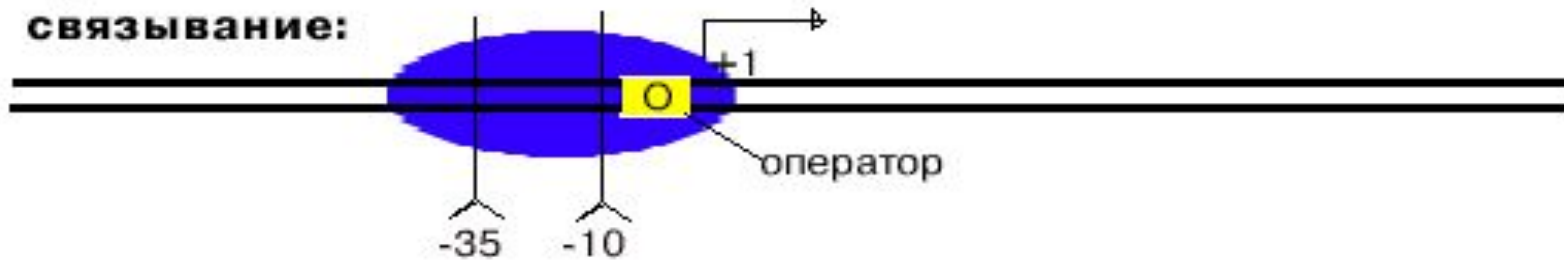
Этапы транскрипции

1. Узнавание и прочное связывание

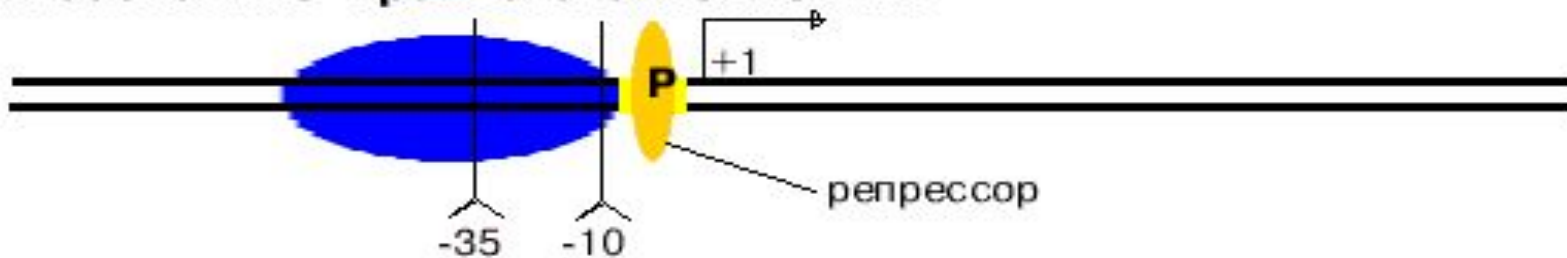
Узнавание:



Прочное связывание:



Белок-репрессор мешает переходу из состояния узнавания в состояние прочного связывания:



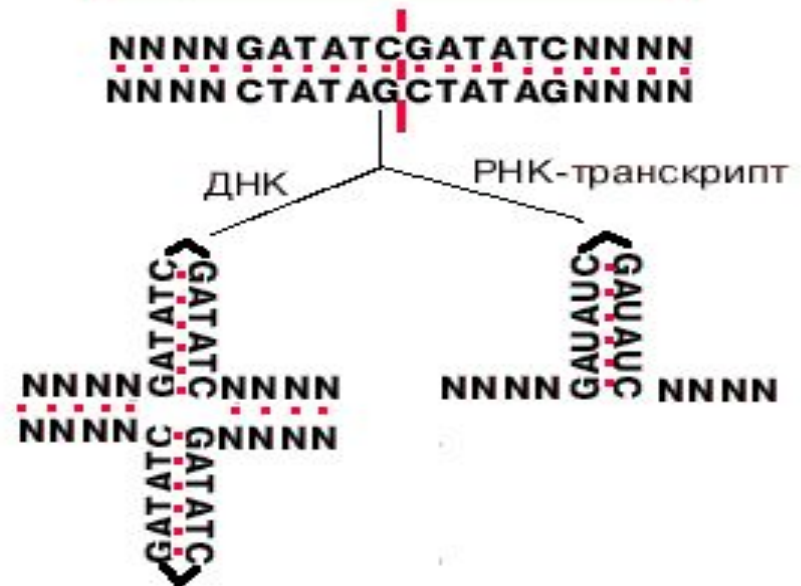
Примерно 5% промоторов у прокариот имеют только участок "-10", однако, тем не менее, хорошо узнаются РНК-полимеразой. Такие промоторы представлены **палиндромными** последовательностями, принимающими форму креста при суперспирализации кольцевых молекул ДНК.

Палиндромы - последовательности, которые читаются одинаково слева направо и справа налево.

Словесные палиндромы:

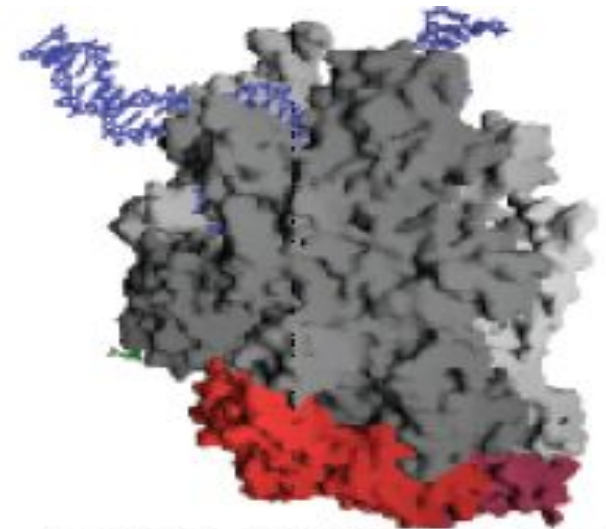
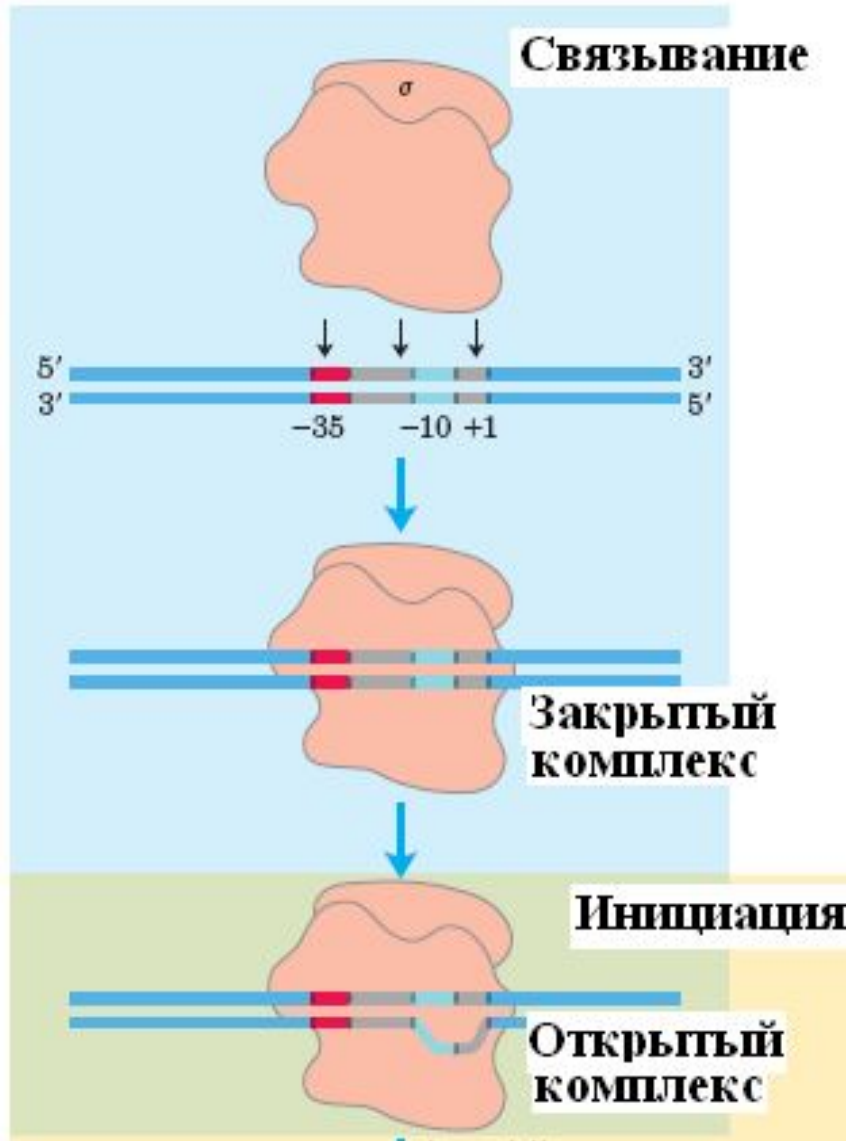
КАЗАК
А РОЗА УПАЛА НА ЛАПУ АЗОРА

Палиндромы
в нуклеиновых кислотах:

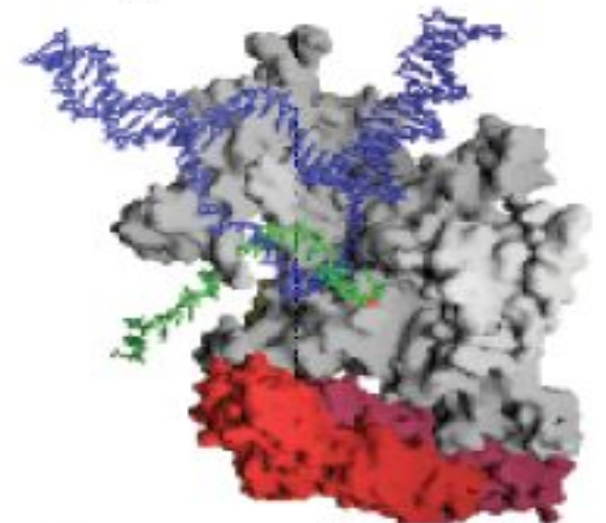


- 2. Инициация** заключается в образовании первой фосфодиэфирной связи между пури-трифосфатом (АТФ или ГТФ) и следующим нуклеотидом. После инициации - фактор покидает фермент.
- 3. Элонгация** - последовательное наращивание цепи РНК (или продолжение транскрипции).
- 4. Терминация.** Специфическая терминация бывает: - - рнезависимой и рзависимой.
- "Мотором" транскрипции является энергия, высвобождающаяся при отщеплении пирофосфата от каждого рибо-НТФ.
- **Ингибиторы транскрипции**
 - *Рифампицин* - ингибитор инициации. Связывается с центром инициации *holo*-РНК-полимеразы *E. coli*.
 - *Стрептолидигин* - ингибитор элонгации. Связывается с центром элонгации *core*-РНК-полимеразы *E. coli*.

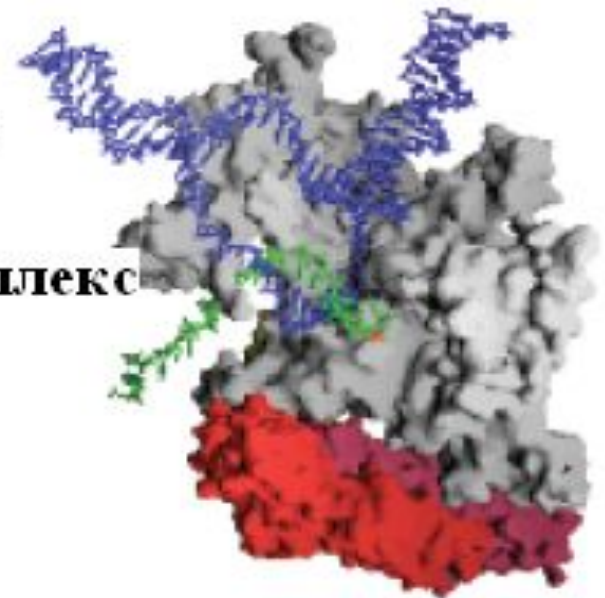
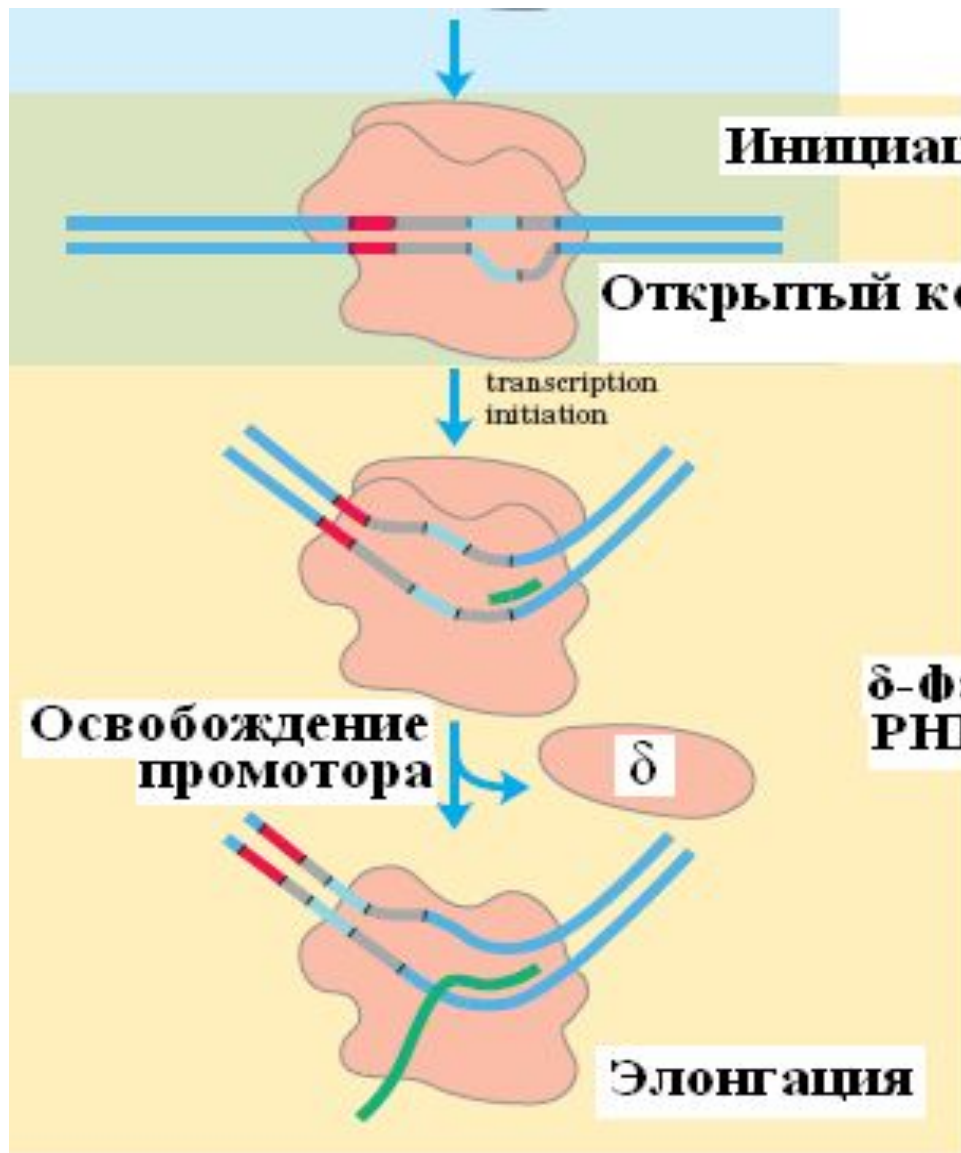
СХЕМА ЭТАПОВ ТРАНСКРИПЦИИ



Закранный комплекс



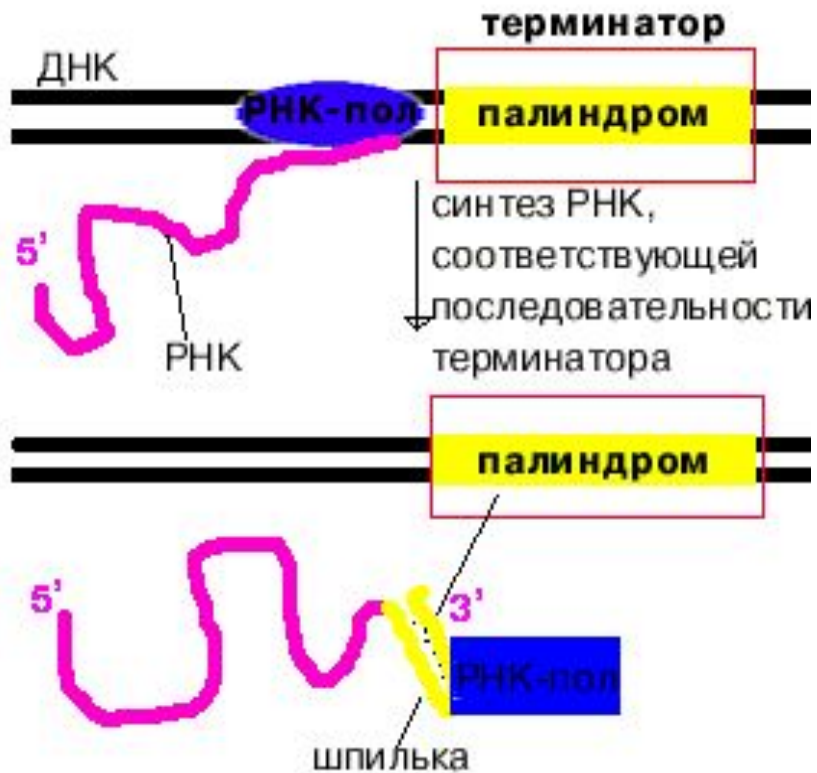
Открытый комплекс



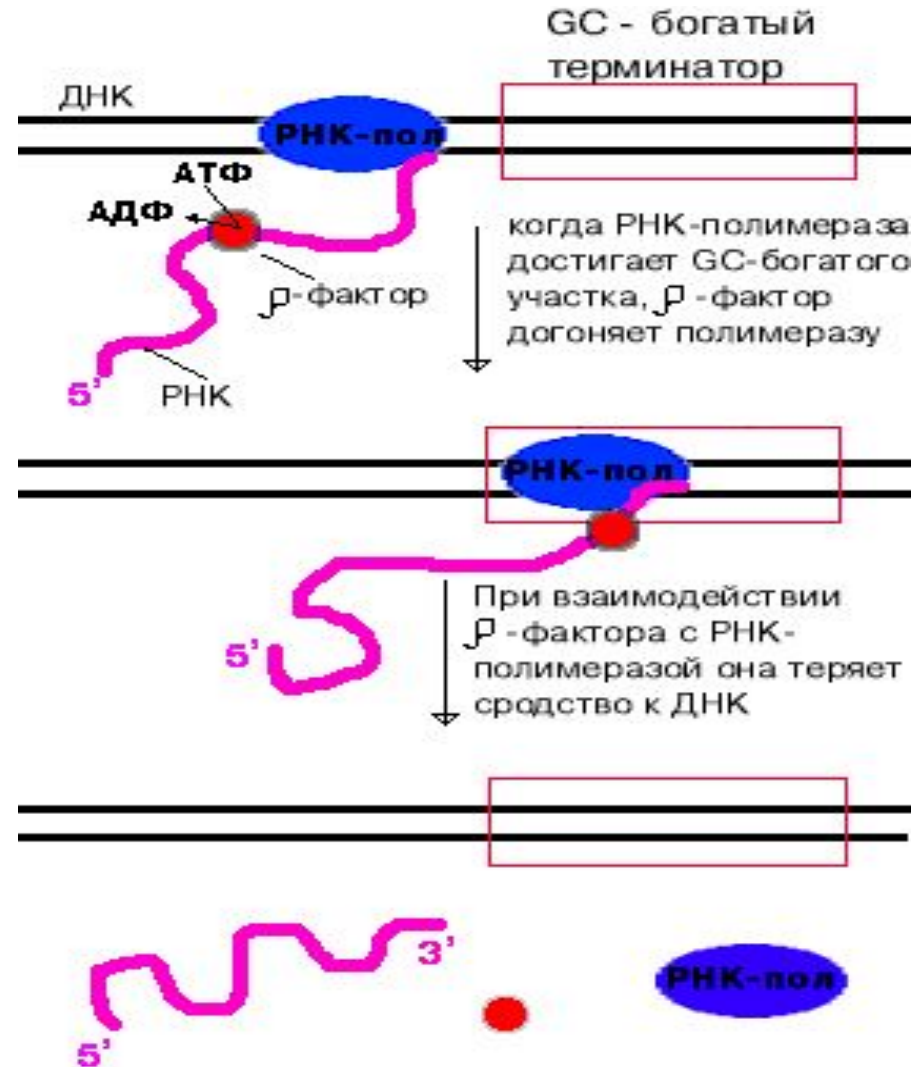
δ -Фактор покидает РНК-полимеразу



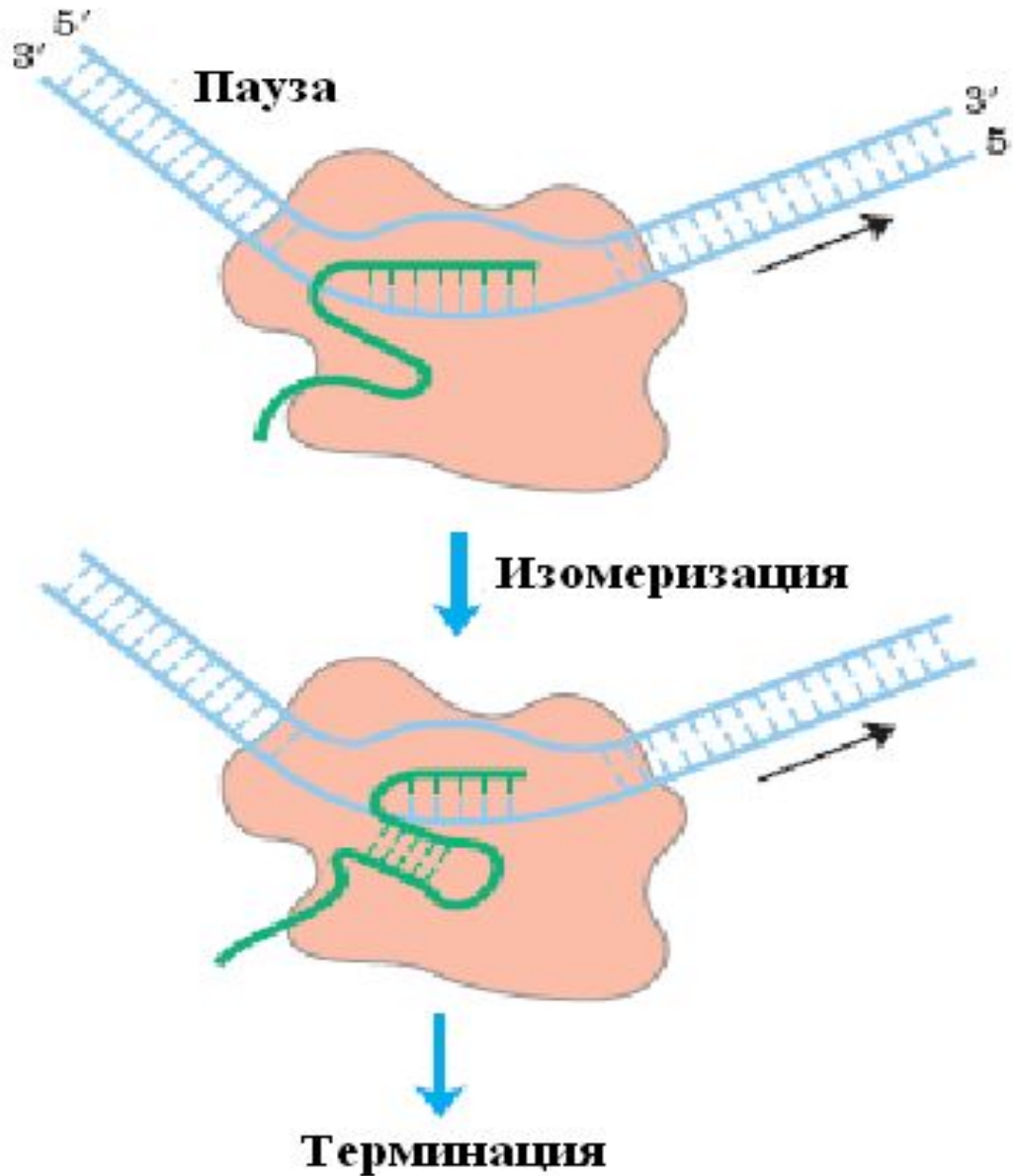
ρ - независимая терминация



ρ - зависимая терминация



ρ - независимая терминация



Регуляция транскрипции у прокариот

Схема негативной индукции Жакоба и Моно

- ***Lac-оперон*** *E. coli* содержит 3 гена, отвечающие за образование белков, участвующих в переносе в клетку дисахарида лактозы и в ее расщеплении.
- ***Z - галактозидаза*** (расщепляет лактозу на глюкозу и галактозу).
- ***Y - галактозидпермеаза*** (переносит лактозу через мембрану клетки).
- ***A - тиогалактозидтрансациетилаза*** (ацетилирует галактозу).

Эта схема называется так потому, что контролирующим транскрипцию фактором является **негативный** фактор, "выключатель" - белок - **репрессор**. **Индукция** (включение) происходит при потере сродства белка - репрессора к оператору

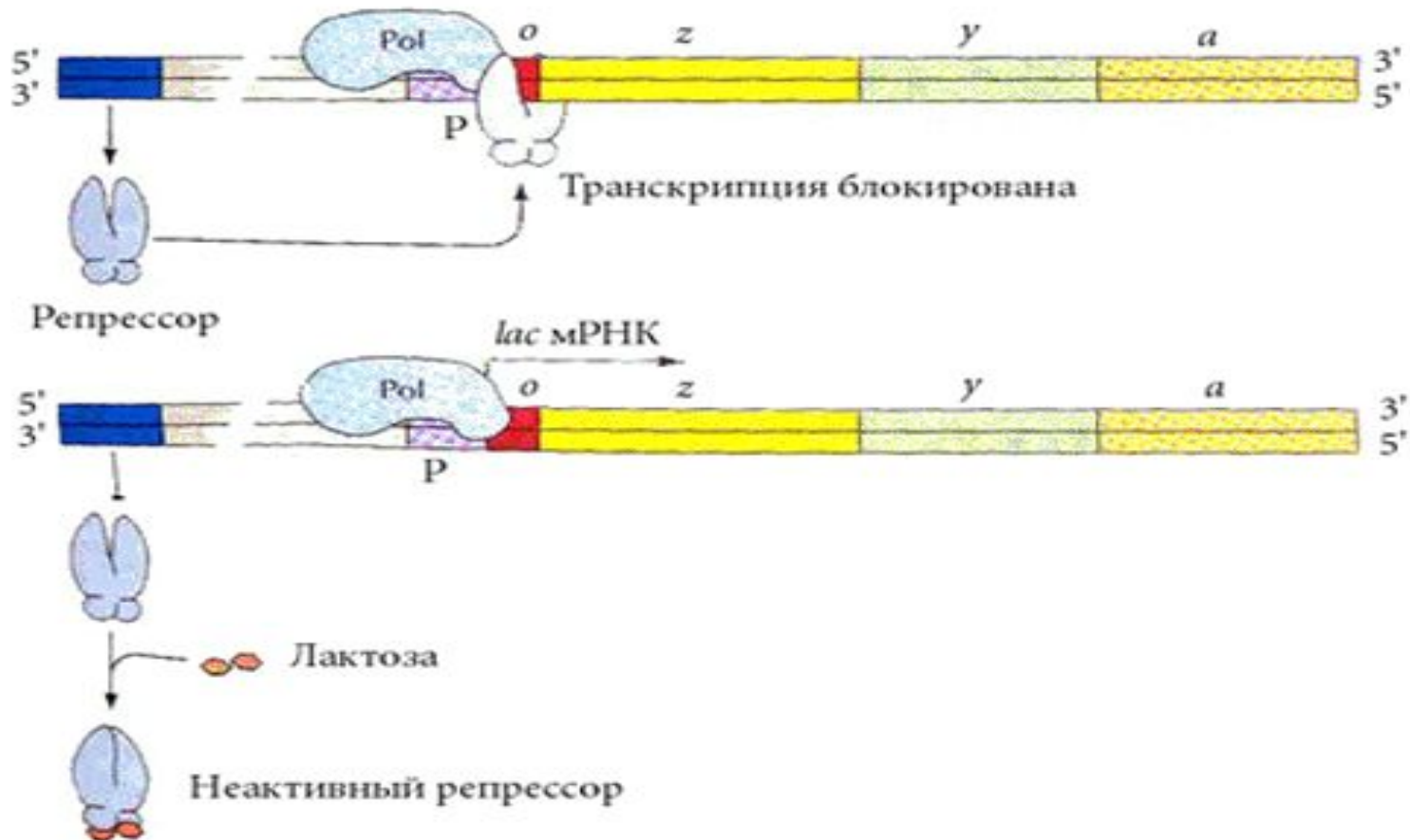


Схема позитивной индукции Ara-оперон E. coli

Эта схема регуляции называется **ПОЗИТИВНОЙ индукцией**, поскольку контролирующий элемент - белок - **активатор** "включает" работу оперона.

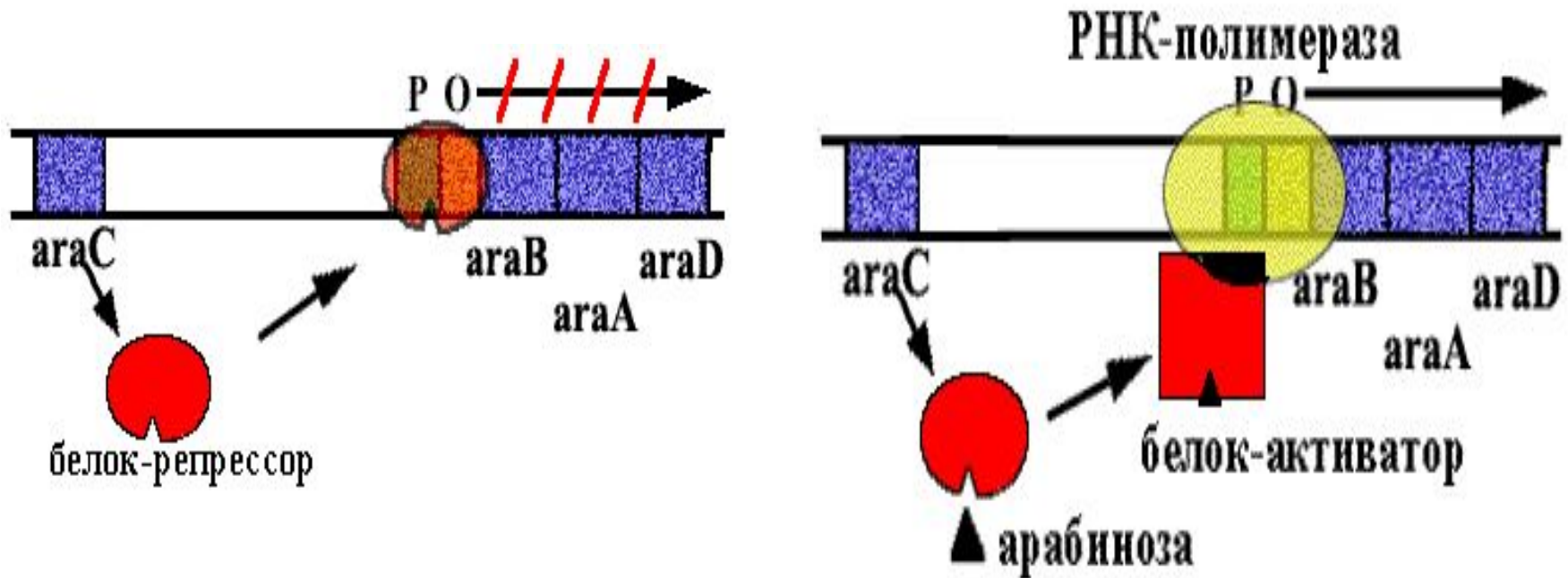


Схема позитивной репрессии

Оперон синтеза *рибофлавина* у *Bacillus subtilis*.

Позитивная репрессия, поскольку в регуляции участвует белок - *активатор*, а сама регуляция заключается в *выключении* транскрипции.

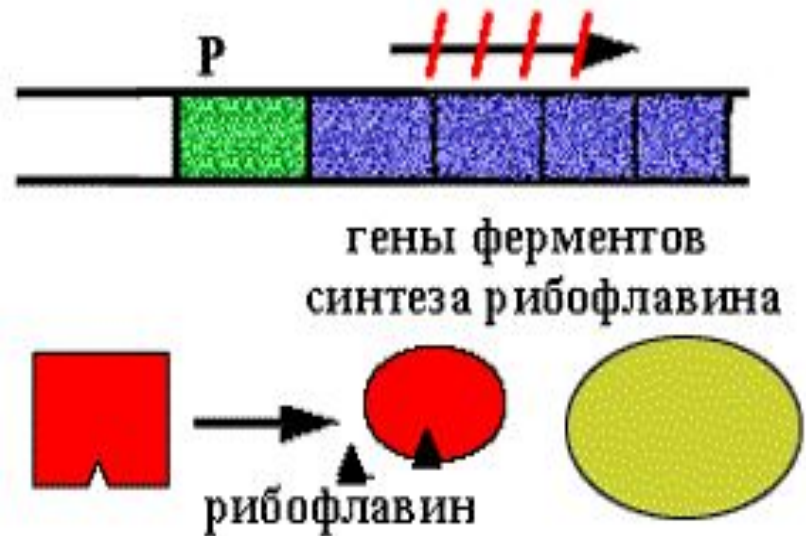
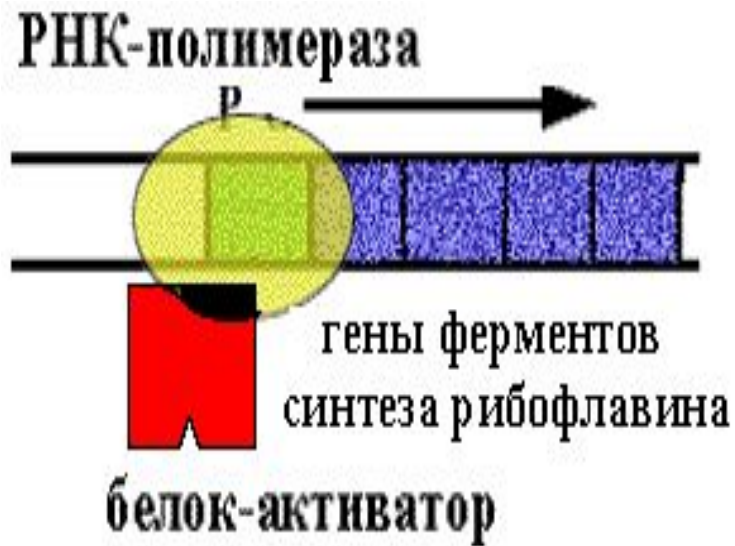
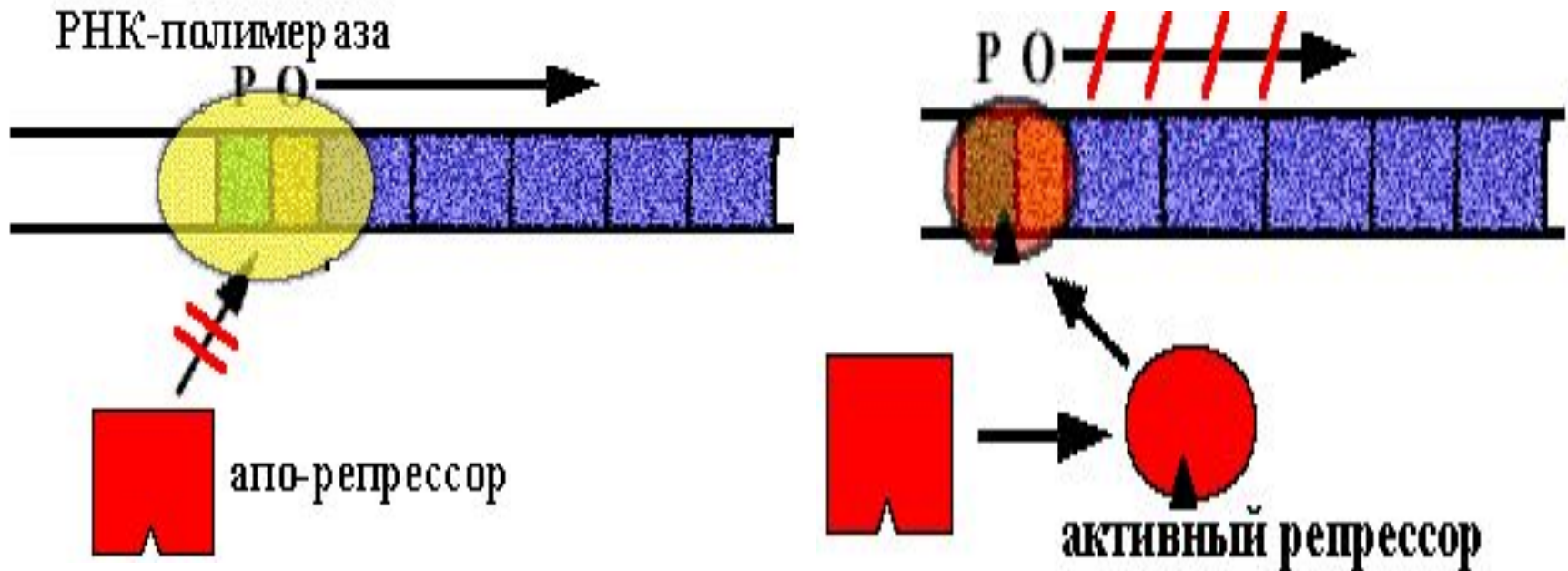


Схема негативной репрессии

Оперон синтеза *триптофана* у *E. coli*.

Схема регуляции - **негативная репрессия**, потому что белок **репрессор** "выключает" оперон



Задание

1. Термины по темам структура нуклеиновых кислот, репликация и транскрипция.
2. Каков порядок нуклеотидов в мРНК, синтез которой осуществляется по ДНК со следующим порядком пар нуклеотидов

промотор 5'- TGCCAGGTTGA – 3'

3' – ACGGTSSAАСТ – 5'

3. По приведенной ниже последовательности нуклеотидов одной из цепочек ДНК постройте комплементарную цепочку. Найдите в этой последовательности палиндром. Изобразите возможную вторичную структуру этого участка ДНК.

- ATССCAGACTGGTATССAGССAGTCTGGCAA.

• Таблица матричных синтезов

	Репликация	Транскрипция	Трансляция
Субстрат			
Источник энергии			
Ферменты			
Кофакторы			
Направление синтеза новой цепи			
Локализация процесса			
Характеристика продукта			