

СТРУКТУРА И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ

**Азербайджанский Медицинский Университет
кафедра Медицинской биологии и генетики
доцент Афлатун Полад оглы Азизов**

Обсуждаемые вопросы

- ***ДНК***
- ***Ген***
- ***Геном***
- ***Экспрессия***
- ***Транскрипция***
- ***Трансляция***
- ***Регуляция***

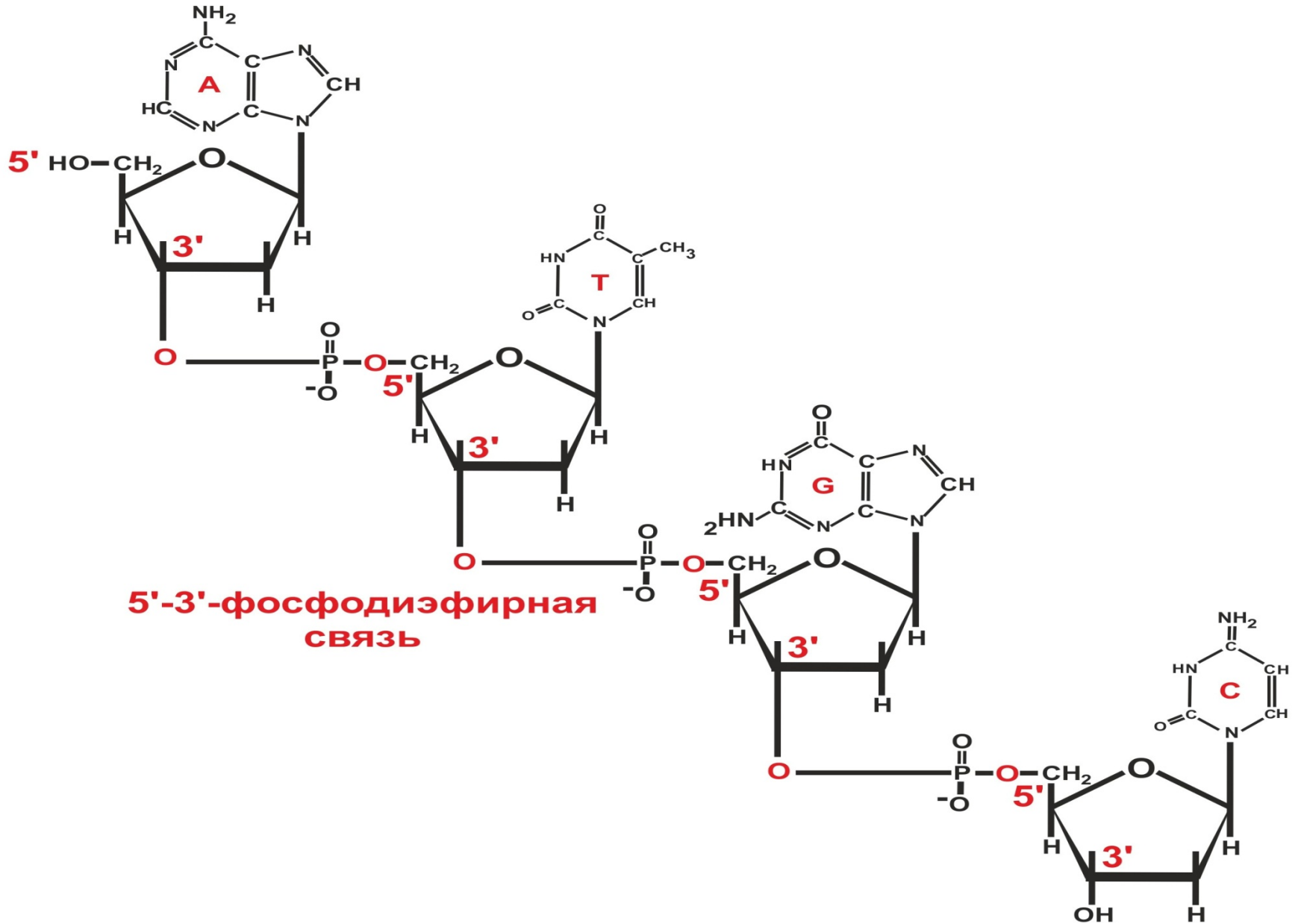
ДНК

- **ДНК - макромолекула обеспечивающая хранение, передачу в поколению и реализацию генетической программы развития и функционирования живых организмов.**
- **ДНК содержит информацию о структуре различных видов РНК и белков.**
- **В клетках эукариот ДНК находится в ядре клетки в составе хромосом, а также в некоторых клеточных органоидах.**

ДНК

- **С химической точки зрения ДНК - это длинная полимерная молекула состоящая из повторяющихся блоков – нуклеотидов.**
- **Каждый нуклеотид состоит из азотистого основания, сахара (дезоксирибозы) и фосфатной группы.**
- **Связь между нуклеотидами в цепи образуются за счет дезоксирибозы и фосфатной группы (фосфодиэфирные связи).**

ДНК



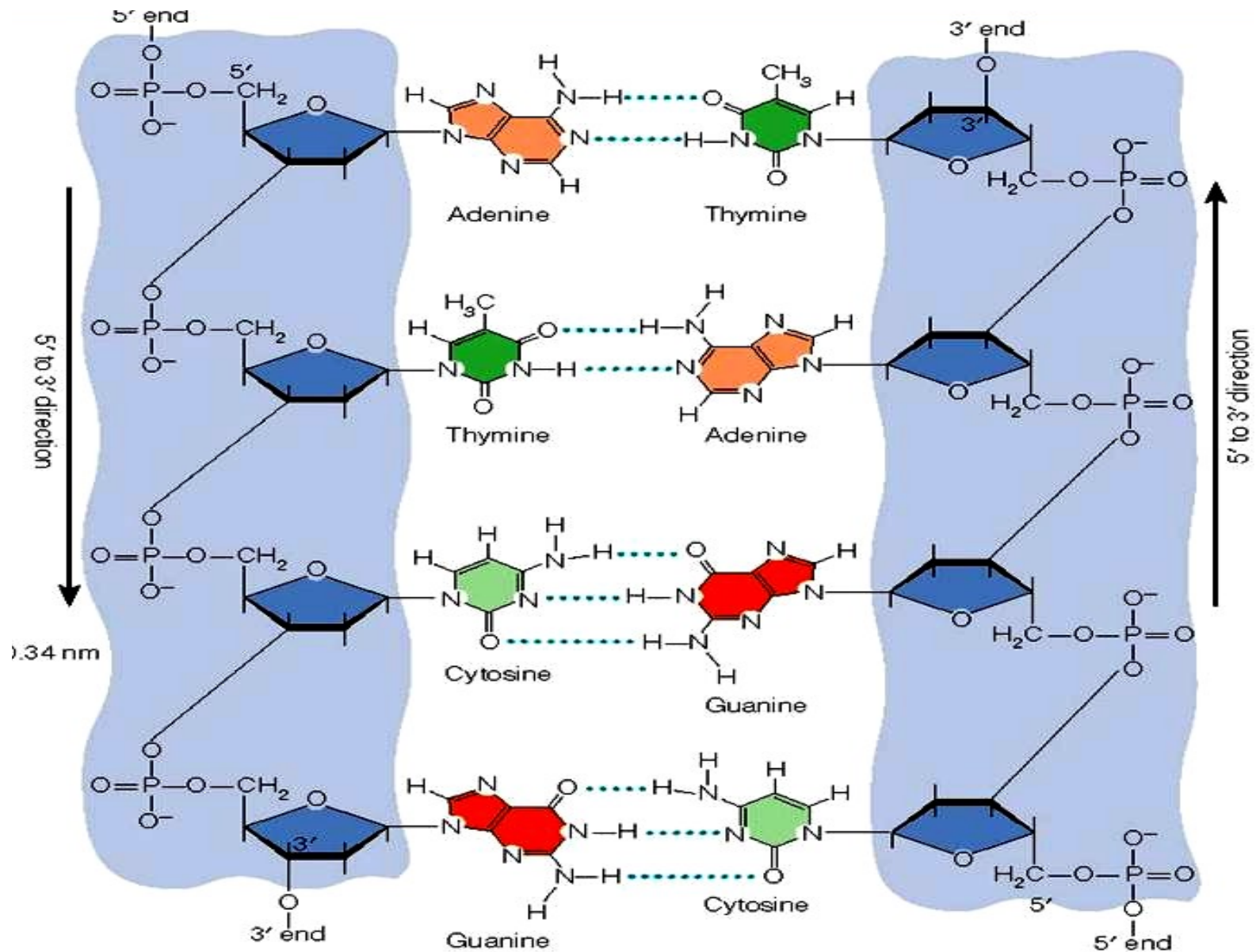
ДНК

- Макромолекула ДНК состоит из двух цепей, ориентированных азотистыми основаниями друг к другу. Это двухцепочечная молекула закручена по винтовой линии.
- В целом структура молекулы ДНК получила традиционное название двойной спирали, на самом же деле она является двойным винтом.
- Винтовая линия может быть правой (А- и В- формы ДНК) или левой (Z- форма ДНК).

ДНК

- В ДНК встречается четыре вида азотистых оснований (**A, G, C и T**).
- Азотистые основания одной из цепей соединены с основаниями другой водородными связями комплементарно: аденин соединяется только с тиминном, гуанин только с цитозинном.
- Последовательность нуклеотидов позволяет кодировать информацию о различных РНК, наиболее важными из которых являются **мРНК, рРНК и тРНК**.

ДНК



А-ДНК

- Представляет собой правозакрученную двухспиральную молекулу ДНК. На каждом витке имеется 11 пар оснований.
- Расстояние между соседними парами оснований — 0,34 нм, диаметр спирали — 2,3 нм, угол спирального вращения вдоль оси 32,7°.
- А- ДНК необходима в тех процессах, где образуются ДНК-РНК комплексы, так как РНК может принимать только А-форму спирали из-за ОН-группы и устойчивее к УФ-излучению.

В-ДНК

- **Правозакрученная двухспиральная молекула ДНК. На каждом витке имеется 10,4 пар оснований.**
- **Расстояние между соседними парами оснований — 0,34 нм, диаметр спирали — 2,0 нм, угол спирального вращения вдоль оси $34,6^\circ$.**
- **Пары оснований расположены на оси спирали. Так как ось спирали проходит через пары, поэтому в В-ДНК желобки менее выражены, чем в А-ДНК.**

В-ДНК

- **Глубина желобков В-ДНК примерно одинакова, но по ширине они различаются.**
- **В волокнах при высокой влажности и в водных растворах ДНК находится в В-форме.**
- **Принято считать, что именно эта форма отвечает состоянию нативной ДНК в клетке.**

Z-ДНК

- Представляет собой левоозакрученную двухспиральную молекулу ДНК из двух антипараллельных цепей, соединённых связями между парами оснований.
- На один виток спирали приходится 12 пар оснований.
- В отличие от А- и В-ДНК, в Z-ДНК большая бороздка слабо различима и широкая, малая бороздка узкая и глубокая.
- Диаметр спирали — 1,8 нм, угол спирального вращения вдоль оси $60,2^\circ$.

Z-ДНК

- Фосфаты в Z-ДНК не эквивалентны друг другу и удалены на различные расстояния от оси спирали.
- Для гуаниновых нуклеотидов это расстояние равно 0,62 нм, а цитозинового — 0,76 нм.
- При этом соседние сахара «смотрят» в противоположные стороны, и из-за этого линия, последовательно соединяющая атомы фосфора в цепи, становится зигзагообразной и отсюда название Z-ДНК.

Z-ДНК

- Z-ДНК практически не существует в стабильной форме двойной спирали.
- Левозакрученная спираль Z-ДНК является временной структурой, появляющейся в результате биологической активности и быстро исчезающей.
- B- и Z-формы способны переходить друг в друга. Это происходит при изменении ионной силы раствора или концентрации катионов, нейтрализующих отрицательный заряд фосфодиэфирного каркаса.

Z-ДНК

- Пока чётких биологических функций Z-ДНК не определено, однако предположительно она участвует в регуляции экспрессии генов на уровне транскрипции.
- Эта регуляция может быть опосредована сверхспирализацией, связыванием с белками, специфическим к Z-ДНК, определёнными катионами типа спермидина и метилированием дезоксицитидина.
- Z- ДНК обеспечивает сверхспирализацию ДНК во время транскрипции. Z-ДНК образуется непосредственно после начала транскрипции.

Z-ДНК

- **Z-ДНК была обнаружена в междисковых областях политенных хромосом.**
- **Нуклеосомы имеются только у В-ДНК, а переход в Z-ДНК разрушает структуру нуклеосомы и хроматина.**
- **В связи с этим предполагается, что Z-форма может выполнять какую-то регуляторную роль, тем более, переход В-ДНК в Z-ДНК обратим.**

Z-ДНК

- Установлено, что токсический эффект бромистого этидия на трипаносомы связан с переходом их ДНК в Z-форму.
- Этот эффект обусловлен интеркаляцией EtBr в ДНК, из-за чего B-ДНК теряет свою нативную структуру.
- B-ДНК расплетается, переходит в Z-ДНК и из-за этого становится неспособной к репликации и репарации.

ДНК

- Все типы РНК синтезируются на матрице ДНК за счет копирования ДНК в РНК, синтезируемой в процессе транскрипции, и принимают участие в биосинтезе белков.
- Помимо кодирующих, ДНК клеток содержит последовательности, которые выполняют регуляторные и структурные функции.
- Кроме того, в геноме эукариот часто встречаются участки, принадлежащие траспозонам.

Транспозоны

- Транспозоны или мобильные генетические элементы - это участки ДНК организмов, способные *к передвижению (транспозиции) и размножению* в пределах генома.
- Транспозоны формально относятся к так называемой некодирующей части генома.
- В этой последовательности пар оснований ДНК не несет информацию об аминокислотных последовательностях белков.

Траспозоны

- **Некоторые классы мобильных элементов содержат в своей последовательности информацию о ферментах, кодируются и катализируют белки.**
- **У разных видов они распространены в разной степени: так, у человека транспозоны составляют до 45 % всей последовательности ДНК.**
- **Транспозоны у дрозофилы составляют 15—20 % , у кукурузы с размером генома в 2,3миллиардов пар оснований, 85% всего генома.**

ДНК

- Расшифровка структуры ДНК (1953 г.) стала одним из поворотных моментов в истории биологии. За это открытие в 1962 г. *Ф.Крику, Дж.Уотсону и М. Уилкинсу* была присуждена Нобелевская премия.
- *Розалинд Франклин*, которая получила рентгенограммы, без которых Уотсон и Крик не имели бы возможность сделать выводы о структуре ДНК, умерла в у в 1958 г. от рака (Нобелевскую премию посмертно не дают).

•

Ф.Крик, Дж.Уотсон и М.Уилкинс



Розалинд Франклин



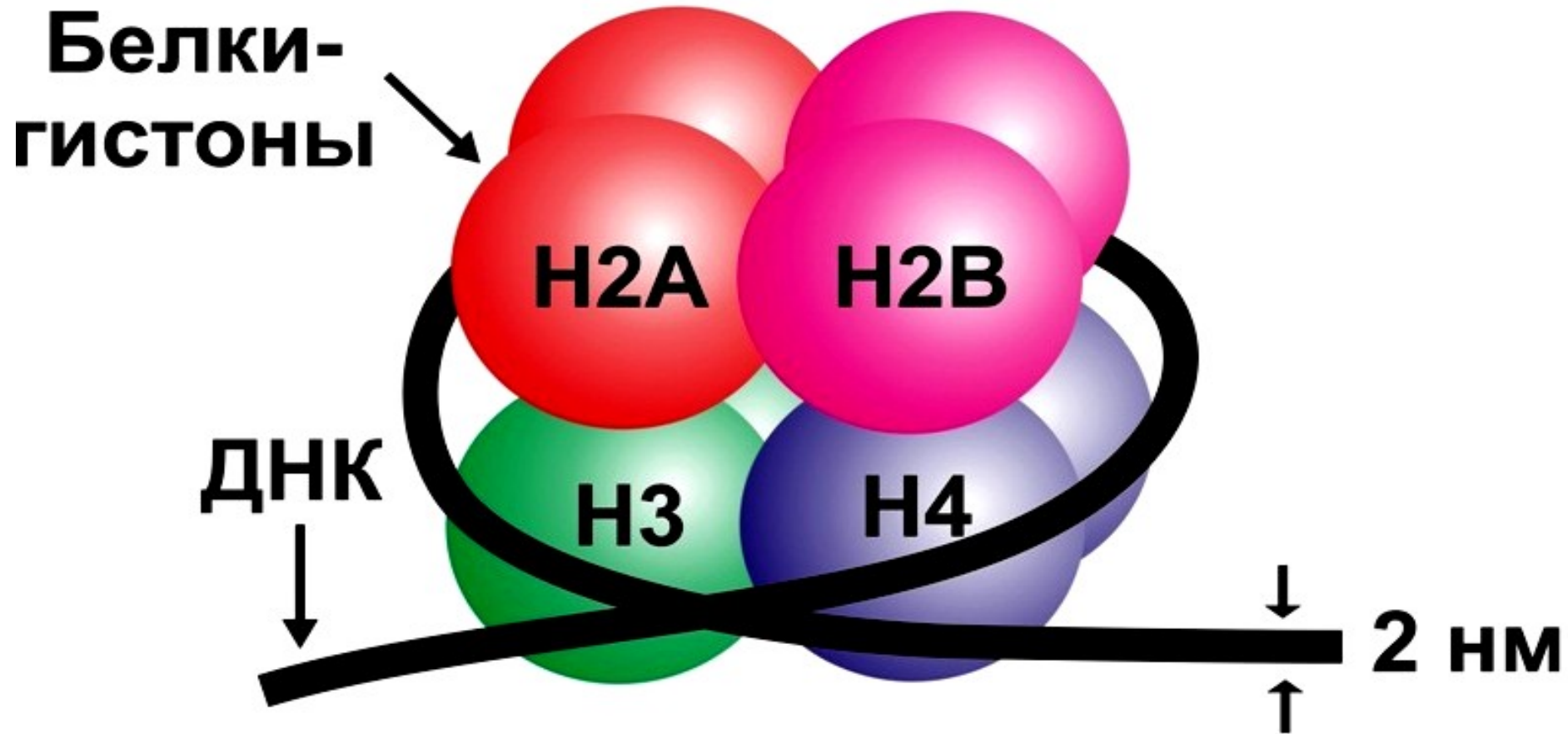
ДНК

- Естественным носителем генетической информации в эукариотической клетке является хроматин-нуклеопротеиновый комплекс, состоящий из **ДНК и гистонов**.
- Основной повторяющейся единицей хроматина является **нуклеосома**, состоящая из 147 пар нуклеотидов ДНК, закрученными вокруг октамера, образованного коровыми гистонами **H2A, H2B, H3, H4** и **ДНК-линкер (60 п.н.)**.

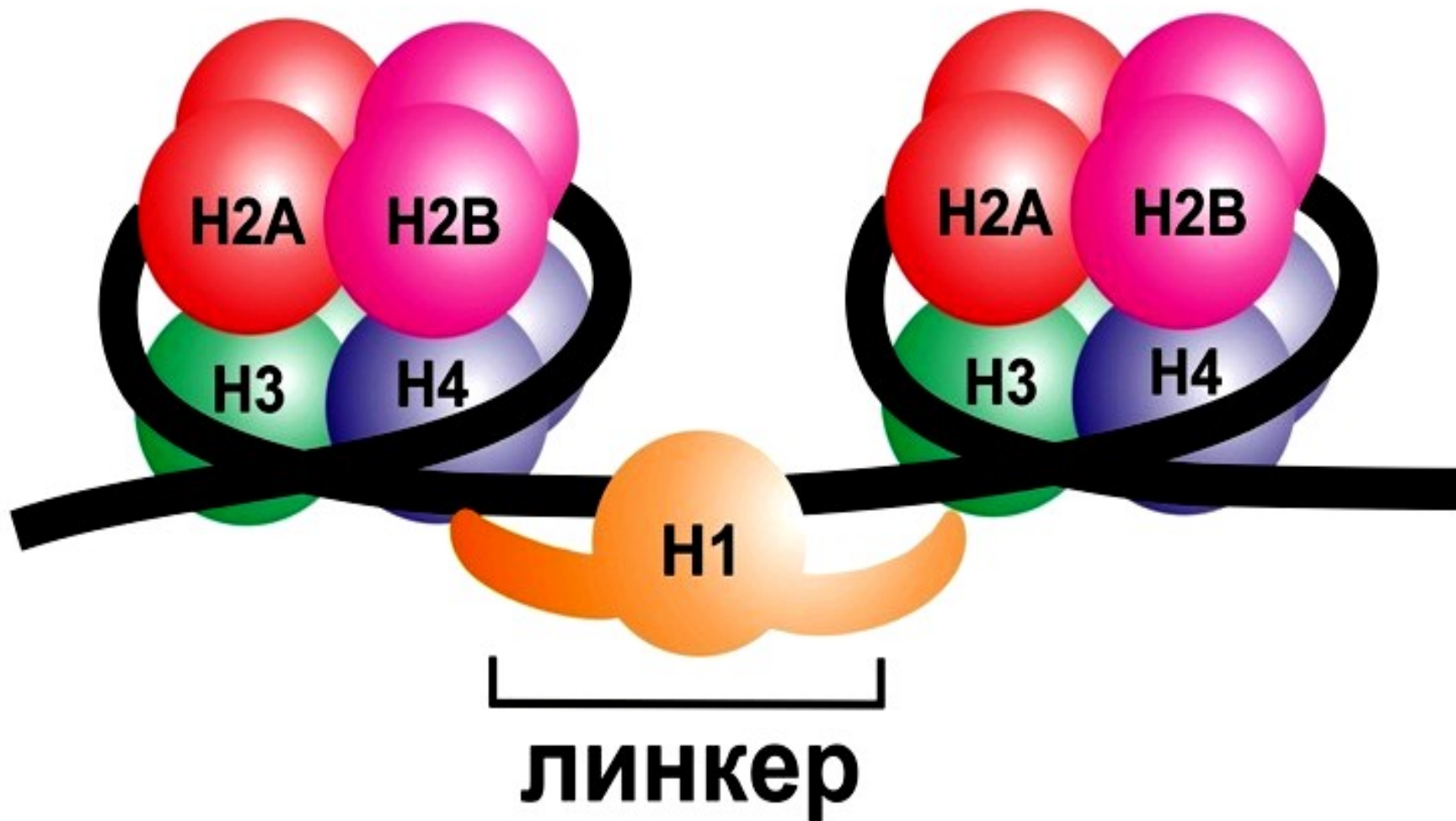
ДНК

- Гстоны включаются в хроматин исключительно **в S- фазе.**
- Экспрессия гистонов регулируется клеточным циклом и транскрибируются с нескольких генов, распределенных в кластеры.
- Гистон **H1** взаимодействует с концами линкерной ДНК в районе тетрамера **H3-H4.**
- Нуклеосома играет центральную роль в упаковке ДНК на всех уровнях.

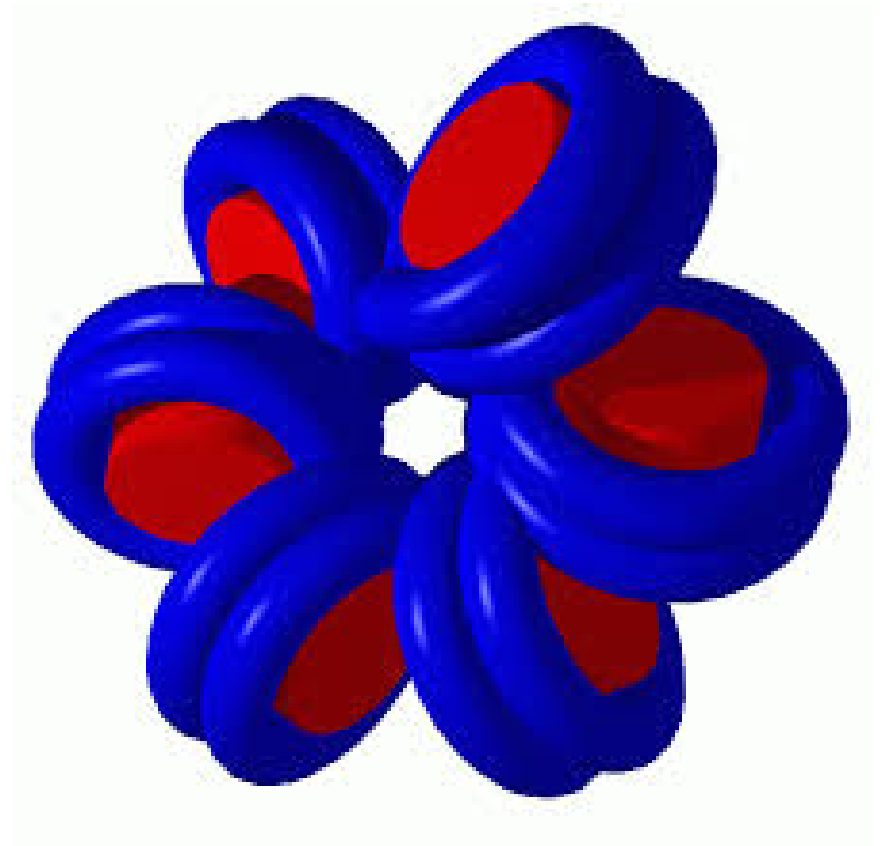
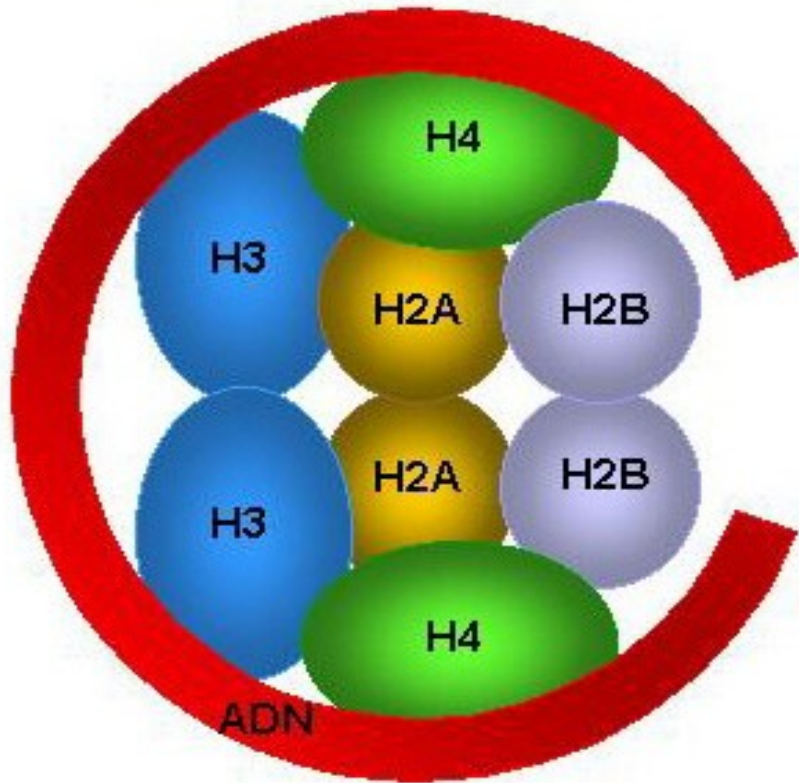
ДНК- нуклеосома



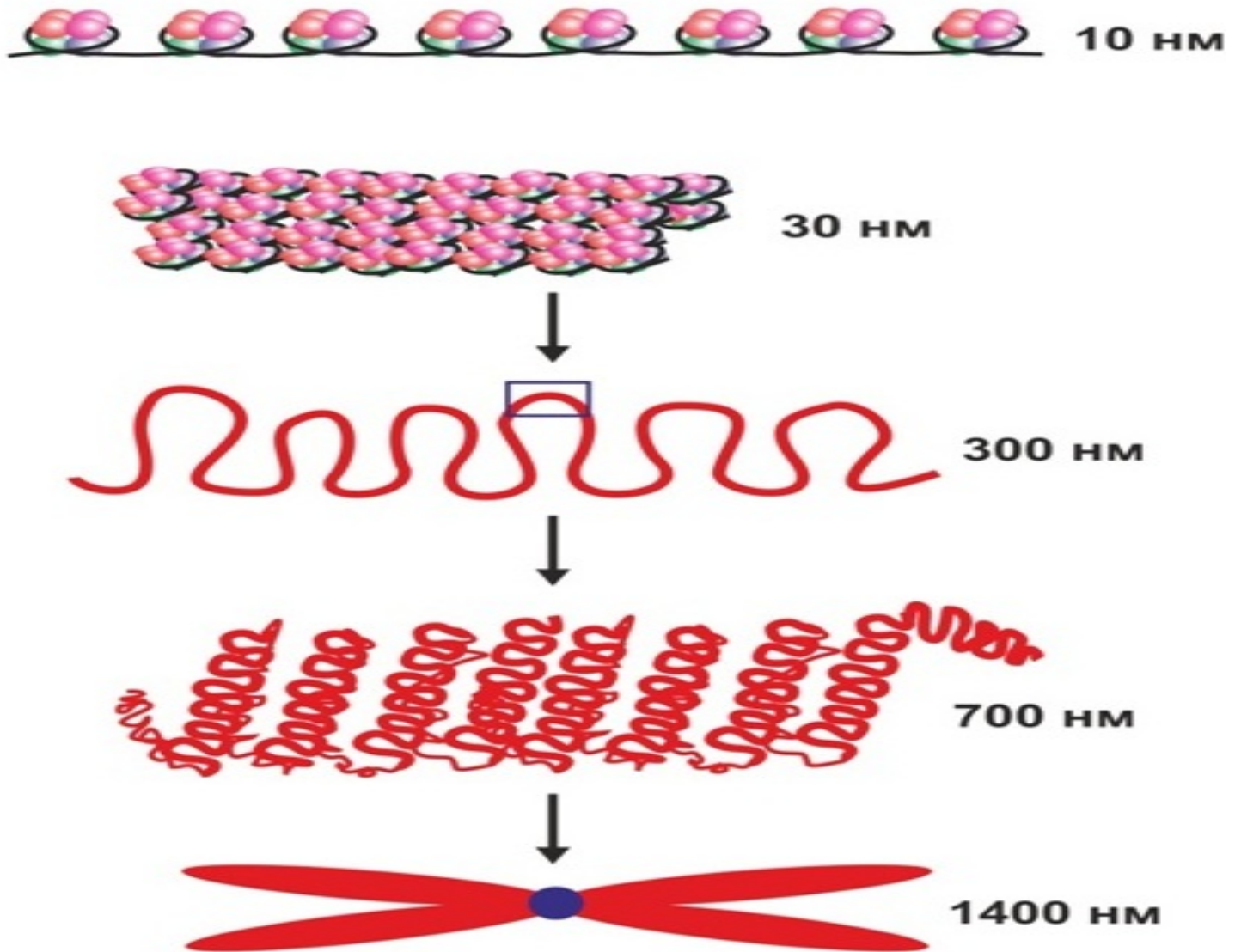
ДНК: нуклеосома-Н1-нуклеосома



Нуклеосома - соленоид



Уровни компактизации ДНК



Ген

- **Ген - структурная и функциональная единица наследственности живых организмов.**
- **Ген представляет собой участок ДНК, задающий последовательность определённого полипептида, либо функциональной РНК.**
- **Гены (точнее, аллели генов) определяют наследственные признаки организмов, передающиеся от родителей потомству при размножении.**

Ген

- Термин «ген» был введён в употребление в 1909 году Вильгельмом Иогансеном три года спустя после введения Уильямом Бэтсоном термина «генетика».
- В. Иогансен сразу же образовал производное понятие «генотип» для обозначения наследственной структуры гамет и зигот в противоположность фенотипу.

Ген

- Молекулярной биологией установлено, что гены - это участки ДНК, несущие целостную информацию о строении одной молекулы белка или м-РНК.
- Эти и другие функциональные молекулы определяют развитие, рост и функции организма.
- Ген отличается рядом специфических регуляторных последовательностей ДНК таких как промоторы. Промоторы непосредственно участвуют в регулировании проявления гена.

Ген

- Ген представляет собой последовательность нуклеотидов ДНК размером от нескольких сотен до миллиона пар нуклеотидов, в которых закодирована генетическая информация о первичной структуре белка (число и последовательность аминокислот).
- Для регулярного правильного считывания информации в гене должны присутствовать: кодон инициации, множество смысловых кодонов и кодон терминации.
- Три подряд расположенных нуклеотида представляют собой кодон, который и определяет, какая аминокислота будет располагаться в данной позиции в белке.

Ген

- Регуляторные последовательности могут находиться и на расстоянии многих миллионов пар нуклеотидов, как в случае с энхансерами, инсуляторами и сайленсерами - супрессорами (*trans*-регуляторные элементы).
- Таким образом, понятие гена не ограничено только кодирующим участком ДНК, а представляет собой более широкую концепцию, включающую в себя структурно-функциональные и регуляторные последовательности.

Структура гена прокариот



Структура гена прокариот

- Для прокариот характерна оперонная организации генома.
- Лактозный оперон *Escherichia coli* состоит из промотора, оператора, трех структурных генов, и терминатора.
- Ген-регулятор, который кодирует белок-репрессор, находится в другом участке генома на расстояние до 35 п.н. от оперона и не имеет общего с лактозным опероном промотора.

Структура гена прокариот

- **Характерным примером оперонной организации генома прокариот является лактозный, триптофановый и пиримидиновый опероны у *Escherichia coli*.**
- **Начинается и заканчивается оперон регуляторными областями — промотором в начале и терминатором в конце, кроме этого, каждый отдельный ген может иметь в своей структуре собственный промотор и терминатор.**
- **Между генами и внутри структурных генов некодирующие ДНК последовательности – гетерохроматиновые участки и интроны не имеется.**

Структура гена эукариот

- В отличие от генов прокариот гены эукариотических организмов не образуют оперонов.
- У каждого из них — свои собственные промотор и терминатор.
- Строение этих генов более сложное, в их составе есть участки ДНК, которые не содержат информации, необходимой для синтеза генного продукта.
- Участки гена не содержащие информации называют интронами. Те участки, которые содержат нужную информацию, называют экзонами.

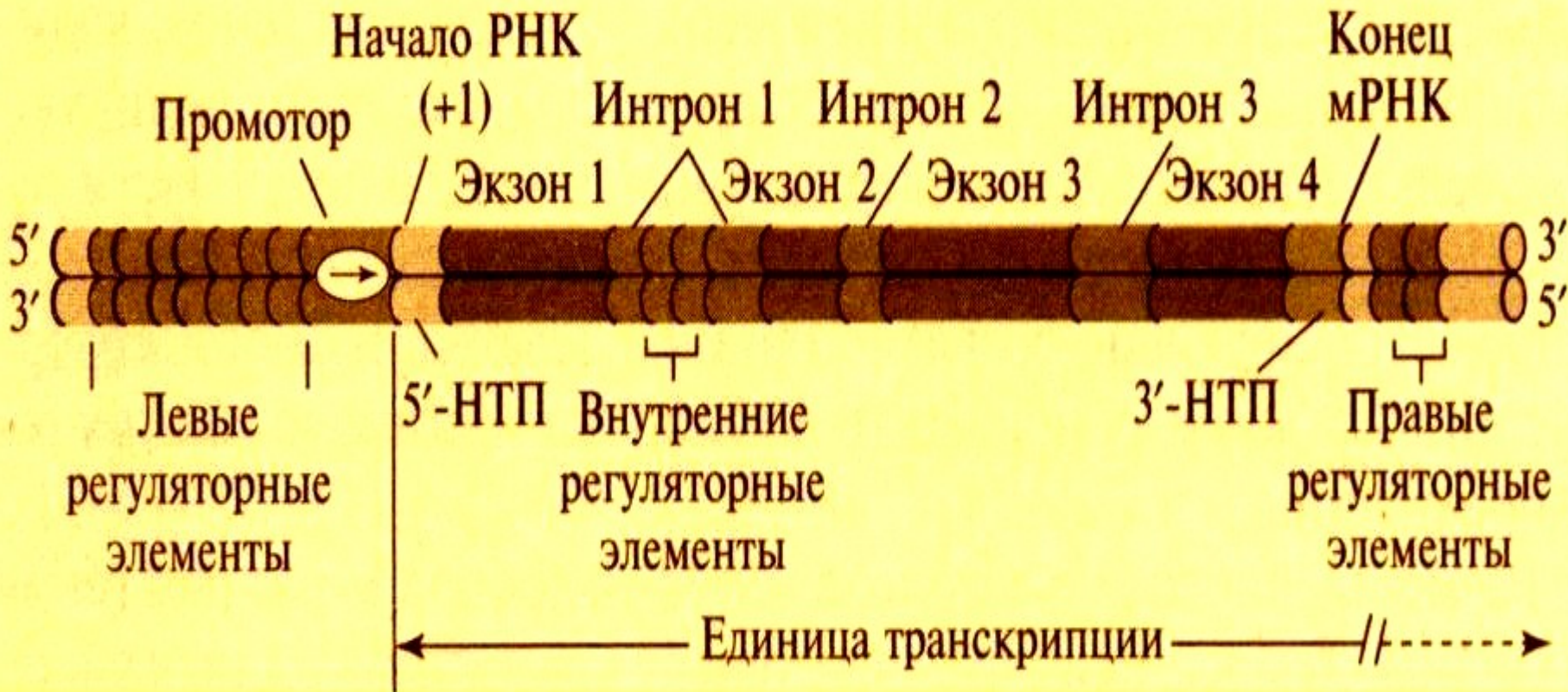
Структура гена эукариот

- Важными компонентами эукариотических генов являются регуляторные участки.
- С помощью этих участков клетка может ускорять или замедлять синтез генных продуктов.
- Такое строение позволяет эукариотам очень тонко регулировать работу генов.
- Промотор - один из важных регуляторной последовательности, расположен слева от точки начала транскрипции.

Структура гена эукариот

- **5' – нетранслируемая область (лидер) – начинается от точки начала транскрипции до старт-кодона, транскрибируется, но не транслируется, входит в состав зрелой мРНК)**
- **Кодирующая область - экзоны и интроны (транскрибируется, но интроны вырезаются из пре-мРНК, в зрелой РНК остаются только экзоны)**
- **3' – НТО - нетранслируемая область (трейлер) – начинается от стоп кодона до последовательности АААUАА , участка полиаденилирования.**

Структура гена эукариот



Структура гена эукариот

- **Большинство генов эукариот имеет прерывистое строение, они содержат кодирующие последовательности – экзоны, и некодирующие последовательности - интроны.**
- **Гены начинаются и заканчиваются экзонами, набор интронов может быть любой. Например, глобиновые гены, имеют 3 экзона и 2 интрона, а ген белка дистрофина – 79 интронов.**
- **Размеры интронов больше, чем размеры экзонов, поэтому экзоны составляют очень небольшую часть.**

Структура гена эукариот

- В зрелой молекуле мРНК присутствуют только экзоны, а интроны вырезаются из первичного транскрипта (пре-РНК) в процессе сплайсинга.
- Поэтому размеры зрелых мРНК эукариот всегда меньше размеров самого гена и пре- мРНК.
- Не все гены эукариот содержат интроны. Не содержат интронов гены гистоновых белков, гены интерферонов, гены митохондрий млекопитающих и человека.

- Благодаря альтернативному сплайсингу из одной молекулы первичного транскрипта (пре-мРНК) можно получить несколько различных вариантов молекул зрелых мРНК с разным набором экзонов.
- В связи с этим можно говорить о новой концепции гена: один ген – много РНК – много полипептидов и сформулировать новое определение гена.
- Ген - это участок молекулы ДНК, который кодирует синтез одной или нескольких функциональных молекул РНК.

Свойства гена

- ***Дискретность*** - несмешиваемость генов.
- ***Стабильность*** - способность сохранять структуру.
- ***Лабильность*** - способность многократно мутировать.
- ***Множественный аллелизм*** - многие гены существуют в популяции во множестве молекулярных форм.
- ***Аллельность*** - в генотипе диплоидных организмов только две формы гена.

Свойства гена

- **Специфичность** - каждый ген кодирует свой признак
- **Плейотропия** - множественный эффект гена.
- **Экспрессивность**-степень выраженности гена в признаке.
- **Пенетрантность** - частота проявления гена в фенотипе.
- **Амплификация** - увеличение количества копий гена.

Классификация генов

- ***Структурные гены*** - кодирующие синтез белков. Расположение нуклеотидных триплетов в структурных генах коллинеарно последовательности аминокислот в полипептидной цепи, кодируемой данным геном.
- ***Функциональные гены*** - которые регулируют, контролируют и направляют деятельность структурных генов.
- Выделяют также ***уникальных, домашнего хозяйства, повторяющихся и материнского эффекта*** генов.

Геном

- **Геном - совокупность наследственного материала, заключенного в клетке организма.**
- **Геном содержит биологическую информацию, необходимую для построения и поддержания организма.**
- **Большинство геномов, в том числе геном человека и геномы всех остальных клеточных форм жизни, построены из ДНК, однако некоторые вирусы имеют геномы из РНК**

Геном

- Существует и другое определение «геном», в котором понимают совокупность генетического материала гаплоидного набора хромосом вида.
- Когда говорят о размерах генома эукариот, то подразумевают именно это определение генома.
- Размер эукариотического генома измеряют *в парах нуклеотидов ДНК или пикограммах ДНК* на гаплоидный геном.

Геном

- У человека наследственный материал (ДНП) соматической клетки представлен 23 парами хромосом (22 пары аутосом и пара половых хромосом), находящихся в ядре.
- Кроме ядерной ДНК клетка имеет множество копий митохондриальной ДНК.
- 22 аутосомы, X- и Y- хромосомы, митохондриальная ДНК человека содержат вместе примерно 3,1 млрд. пар оснований (п.н.)
-

Геном

- Геном подавляющего числа *прокариот* представлен одиночной хромосомой, которая представляет собой *кольцевую* молекулу ДНК. Но у ряда бактерий обнаружено линейное строение как хромосомы, так и плазмид.
- Геномы большинства *прокариот* маленькие и компактные, гены плотно упакованы и между ними находится минимальное количество регуляторной ДНК.
- Геномы почти всех зубактерий и архей содержат от 10^6 до 10^7 пар нуклеотидов и кодируют 1000–4000 генов.

Геном

- Практически вся генетическая информация у эукариот содержится в линейно-организованных хромосомах, находящихся в клеточном ядре.
- Термин «геном» был предложен Хансом Винклером в 1920 г. для описания совокупности генов, заключённых в гаплоидном наборе хромосом.
- По соотношению размера генома и числа генов геномы могут быть разделены на два чётко выделенных класса: Небольшие геномы размером, не более 10 млн пар, обширные геномы размером более 100 млн пар оснований.

Митохондриальный геном человека

- Митохондрии содержат собственную ДНК, причем в каждой митохондрии человека обычно содержится *от 5 до 10 копий* кольцевой молекулы *мтДНК* и все митохондрии наследуются от матери.
- У человека каждая молекула *мтДНК* содержит 16569 пар оснований и содержит 37 генов — 13 кодируют белки, 22 — гены тРНК, 2 — рРНК (по одному гену для 12S и 16S рРНК).

Экспрессия

- **Экспрессия генов - это процесс, в ходе которого наследственная информация от гена преобразуется в функциональный продукт - РНК или белок.**
- **Некоторые этапы экспрессии генов могут регулироваться: это транскрипция, трансляция, сплайсинг РНК, модификация белков (посттрансляционных).**
- **Регуляция экспрессии генов позволяет клеткам контролировать собственную структуру и функцию.**

Экспрессия

- **Экспрессия генов процесс, посредством которого закодированная в генах информация превращается в структуры, присутствующие или действующие в клетке.**
- **Экспрессируемым генам относятся гены, с которых транскрибируется мРНК , далее транслируемая в белок , а также гены, с которых транскрибируется РНК, но не транслируется белок.**

Экспрессия

- **Экспрессия генов с качественной (какие гены экспрессируются) и количественной (в каком количестве образуется продукт того или иного гена) сторон определяется характерными особенностями клеток и ее роль в организме.**
- **Регуляция экспрессии генов является основой дифференцировки клеток, морфогенеза и адаптации.**
- **Экспрессия одного гена может иметь влияние на функции других генов в целом организме.**

Экспрессия

- У прокариот экспрессируется одновременно 90-96% генов в геноме.
- Транскрибируемая часть каждого гена содержит только кодирующие последовательности нуклеотидов.
- Регулируемая часть оперона состоит из следующих нуклеотидных последовательностей: 1.Промотор, 2.Оператор, 3.Терминатор.

Экспрессия

- У эукариот экспрессируется в клетке примерно 8,2% генов генома.
- Отсутствуют опероны. Каждый ген имеет свой промотор и терминатор.
- Гены имеют прерывистое строение, так как состоят из интронов и экзонов.
- Основная часть наследственной информации у эукариот содержится в ДНК хромосом в ядре.

Экспрессия

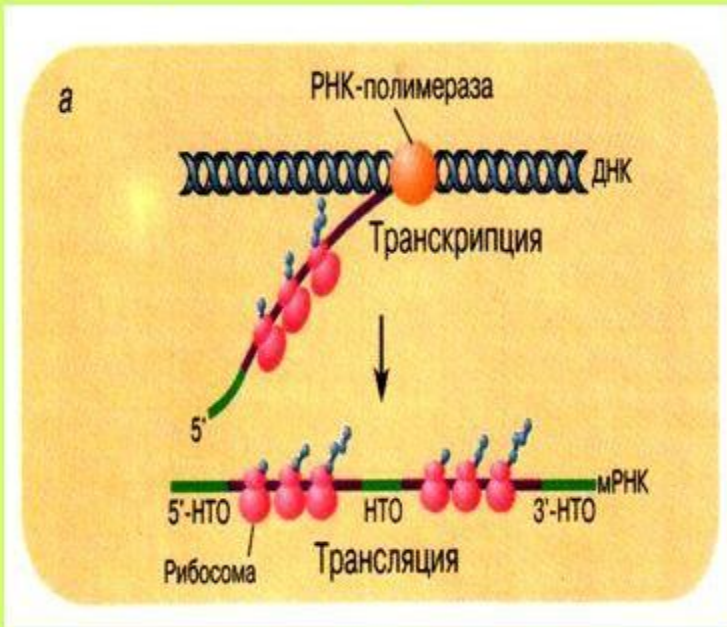
- У эукариот синтез белка осуществляется в 3 этапа: транскрипция, процессинг и трансляция. Первые два этапа протекают в ядре, а третий в цитоплазме.
- Транскрипцию осуществляют РНК-полимераза I, РНК-полимераза II, РНК-полимераза III.
- В процессе транскрипции белок-кодирующих генов РНК-полимераза II синтезирует незрелые иРНК, которые подвергаются процессингу.

Сравнительная экспрессия

• У прокариот

Этапы

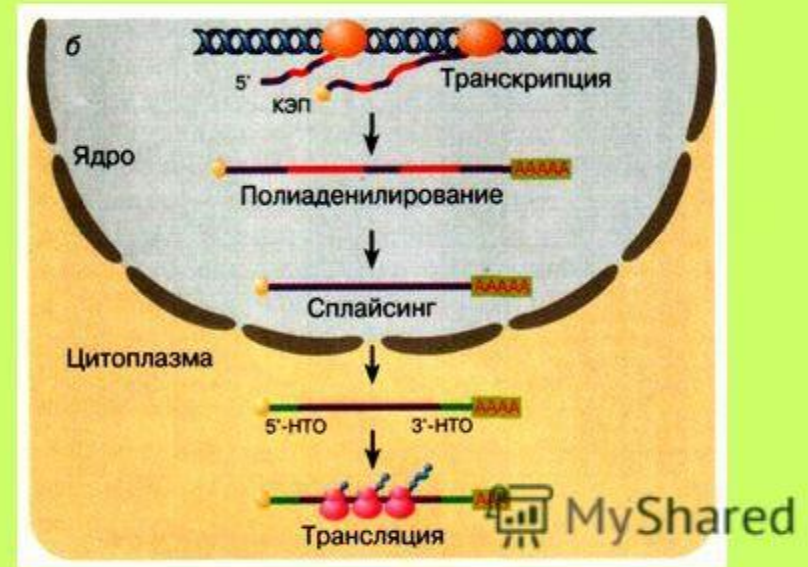
- ❖ Транскрипция
- ❖ Активация и транспорт аминокислот
- ❖ Трансляция



У эукариот

Этапы

- ❖ Транскрипция
- ❖ Процессинг
- ❖ Активация и транспорт аминокислот
- ❖ Трансляция



Транскрипция

- Транскрипция — процесс синтеза РНК с использованием ДНК в качестве матрицы, происходящий во всех живых клетках. Это перенос информации с ДНК на РНК.
- Транскрипция катализируется ферментом РНК-полимеразой. Фермент движется по молекуле ДНК в направлении $3' \rightarrow 5'$.
- Транскрипция состоит из стадий инициации, элонгации и терминации.
- Единицей транскрипции у прокариот является *оперон*: промотор, оператор транскрибируемая часть и терминатор.

Транскрипция

- **Экспрессия всех генов начинается с транскрипции их нуклеотидной последовательности, т.е. перевода ее на язык РНК.**
- **При этом определенный участок одной из двух цепей ДНК используется как матрица для синтеза РНК путем комплементарного спаривания оснований.**
- **В результате транскрипции генов, в которых закодирована структурная информация о белках, образуются молекулы мРНК.**

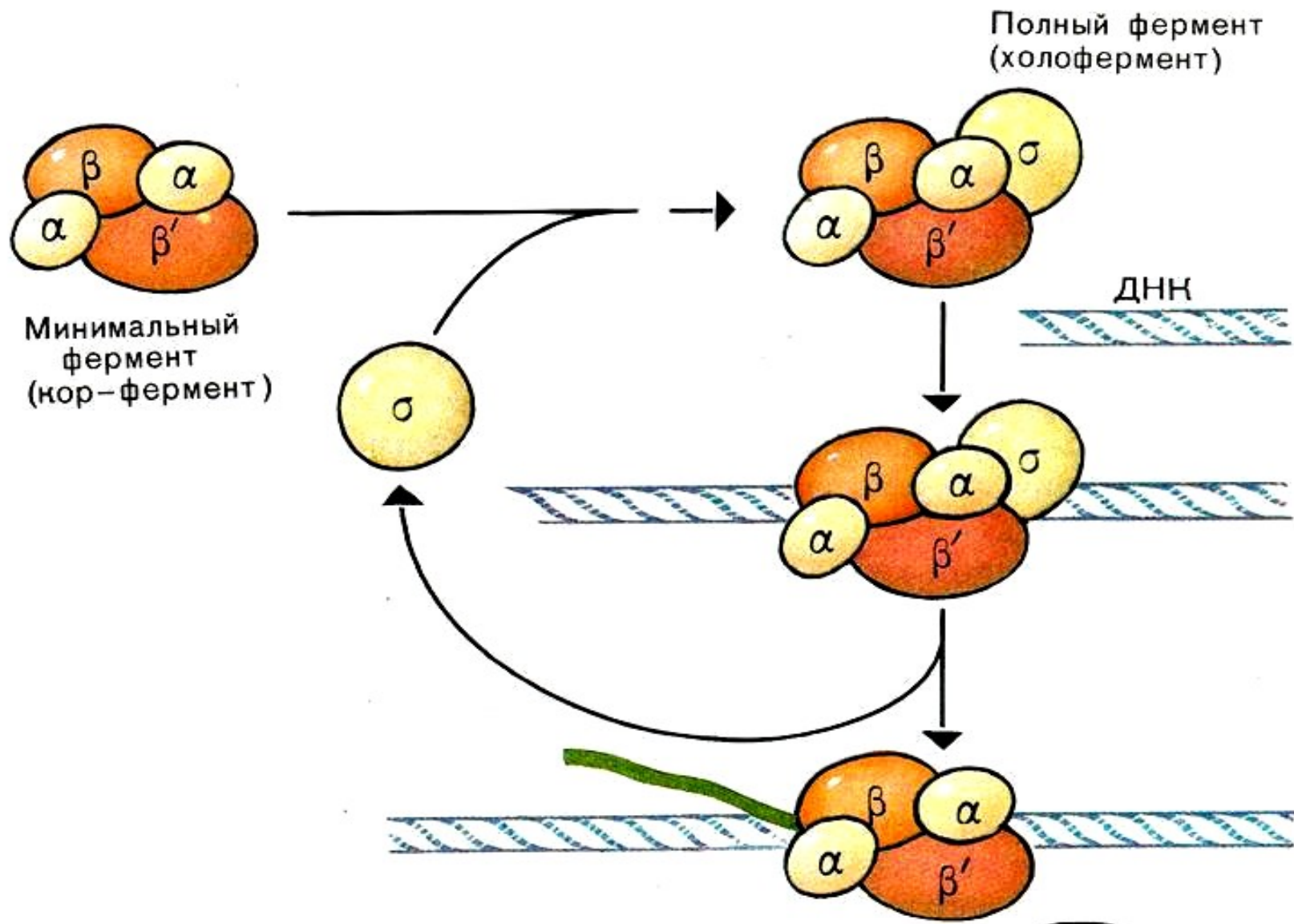
Транскрипция

- Другие гены кодируют молекулы РНК, являющиеся частью аппарата, необходимого для трансляции мРНК с образованием белков.
- У прокариот ДНК транскрибируется с помощью одного фермента – ДНК-зависимой РНК-полимеразы, который участвует в синтезе всех типов РНК.
- Для процесса транскрипции необходимо присутствие нуклеотидов (для роста цепи мРНК), матрицы ДНК и ферментов транскрипции – РНК-полимеразы.

Транскрипция у прокариот

- РНК-полимераза *E.coli* транскрибирует все гены, которых у кишечной палочки 4200.
- В клетке одновременно содержится до 7000 копий РНК-полимераз, а заняты своей работой от 2000-5000 полимераз.
- РНК-полимераза состоит из 4х типов субъединиц, каждая из которых имеют собственные активности.

Транскрипция у прокариот



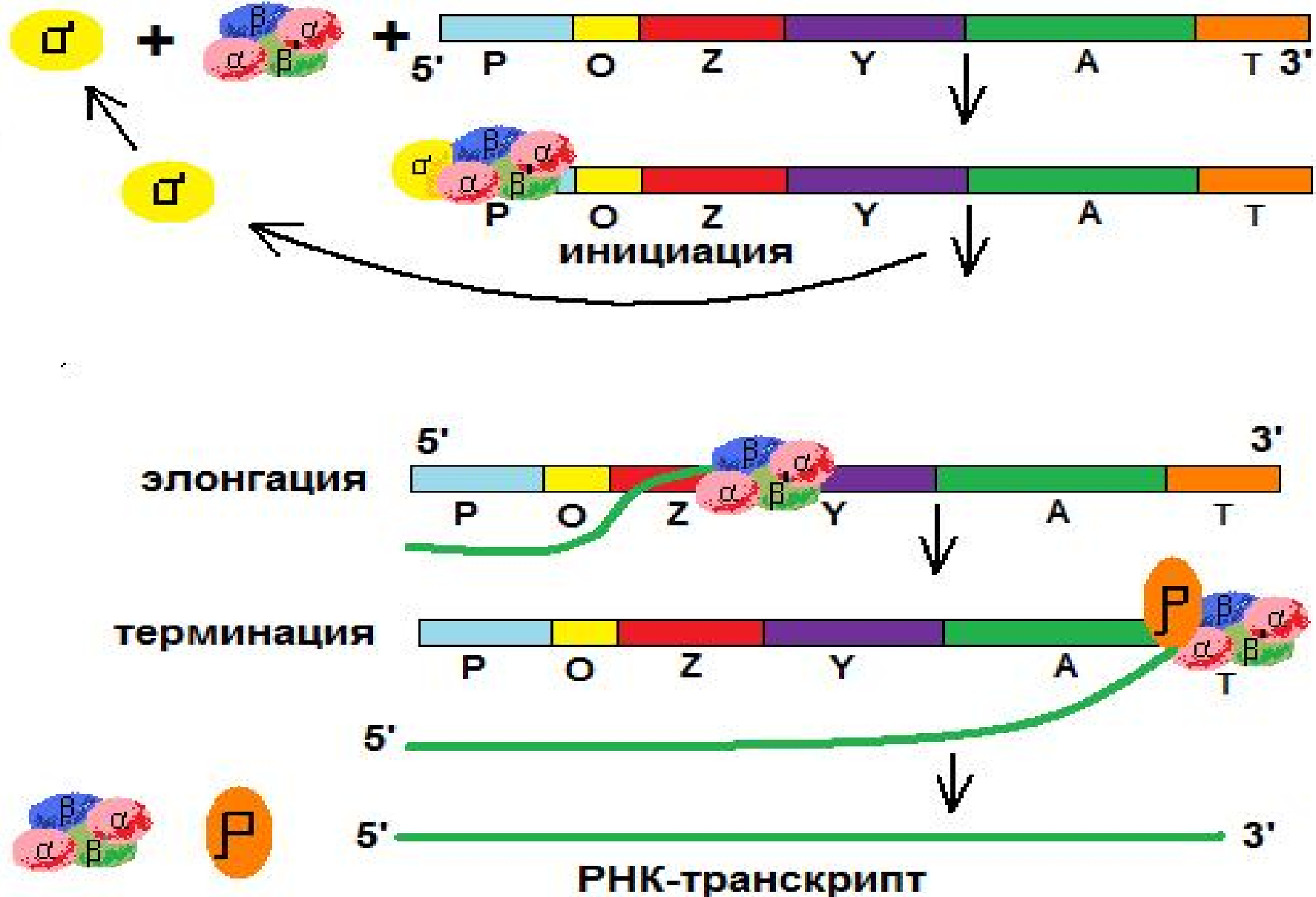
Транскрипция у прокариот

- РНК-полимераза существует в виде двух состояний: минимального – корфермента и полного- холофермента.
- Корфермент свободно передвигается по ДНК. Субъединицы (СЕ) корфермента : 2 альфа, 1 бэта, 1 бэта'.
- Холофермент отличается наличием в своем составе сигма.
- Именно этот сигма-фактор и отвечает за правильную транскрипцию гена, а точнее за инициацию транскрипции именно на промоторе гена.

Функции сигма-факторов

- **Обеспечивает узнавание промотора**
- **Физически связывается с промотором**
- **Участвует в плавлении промотора или разрыв нитей. Образуется локальный разрыв, в виде транскрипционного пузыря.**
- **Обеспечивает выбор матричной нити.**
- **Запускает элонгацию (своим уходом)**
- **Для каждого типа промотора существует свой сигма-фактор, *это составляет основу регуляции экспрессии генов.***

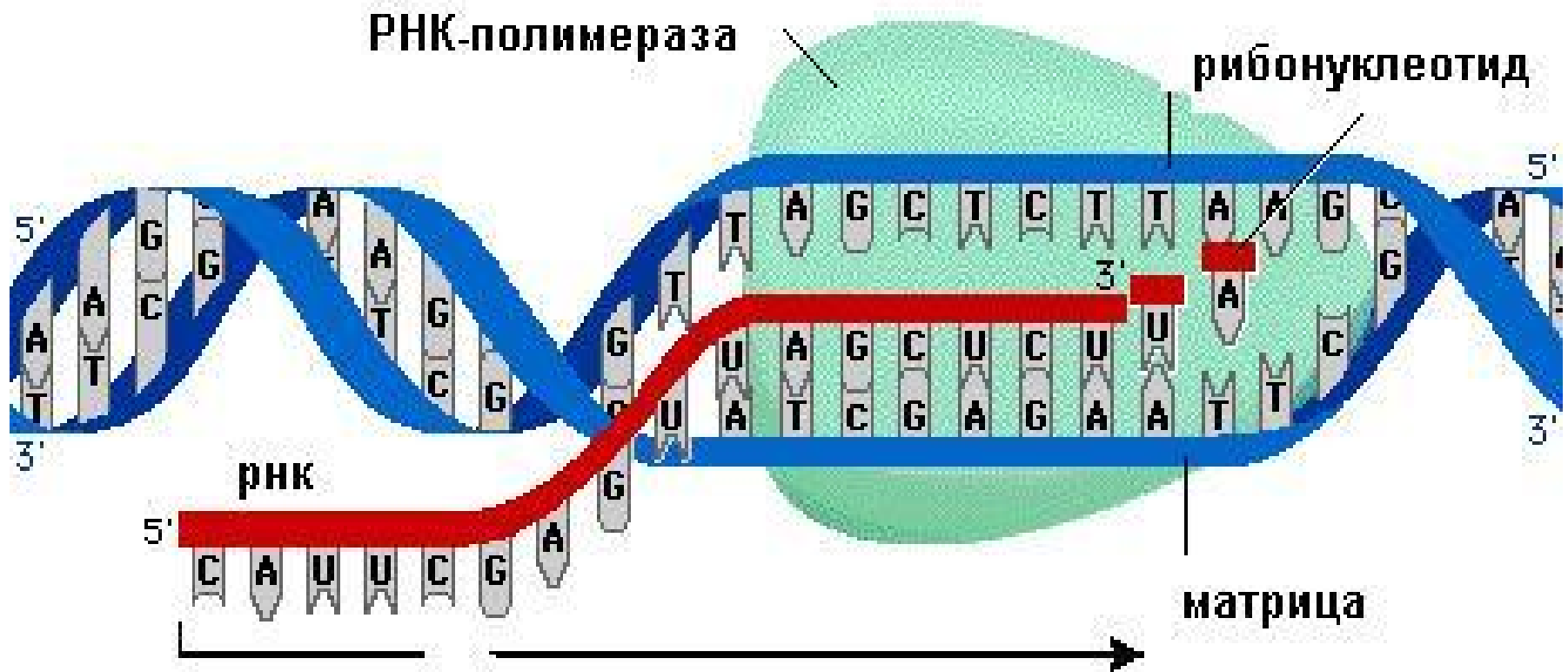
Транскрипция у прокариот



Транскрипция у эукариот

- У эукариот отсутствуют опероны. Каждый ген имеет свой промотор и терминатор.
- Гены имеют прерывистое строение, так как состоят из интронов и экзонов.
- Основная часть наследственной информации у эукариот содержится в ДНК хромосом в ядре.
- У эукариот синтез белка осуществляется в 3 этапа: транскрипция, процессинг и трансляция. Первые два этапа протекают в ядре, а третий в цитоплазме.

Транскрипция у эукариот

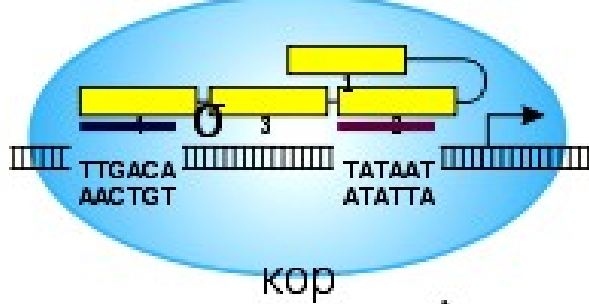


Транскрипция у эукариот

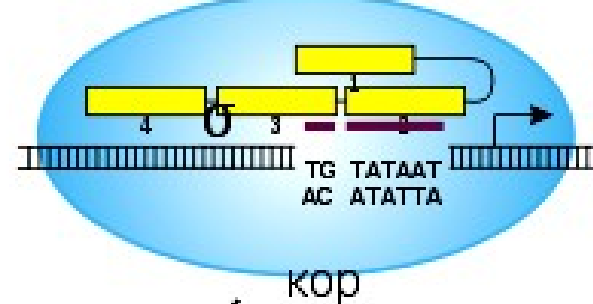
- **Механизмы транскрипции у эукариот сходны с транскрипцией прокариот, но имеются и значительные различия.**
- **Транскрипция у эукариот происходит в ядре с участием трех разных РНК-полимераз.**
- **В отличие от прокариот, РНК-транскрипты у эукариот не соединяются с рибосомами до завершения транскрипции.**
- **Трансляция (синтез белка) на иРНК происходит после ее выхода из ядра в цитоплазму клетки.**

Инициация транскрипции у эукариот

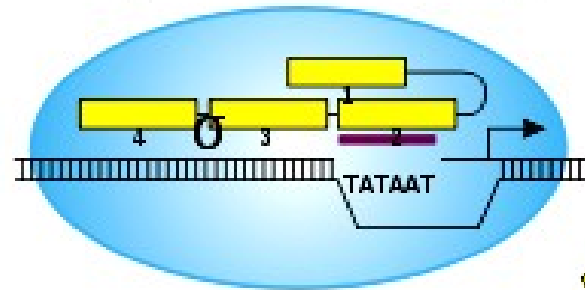
Взаимодействие холофермента с классическим промотором



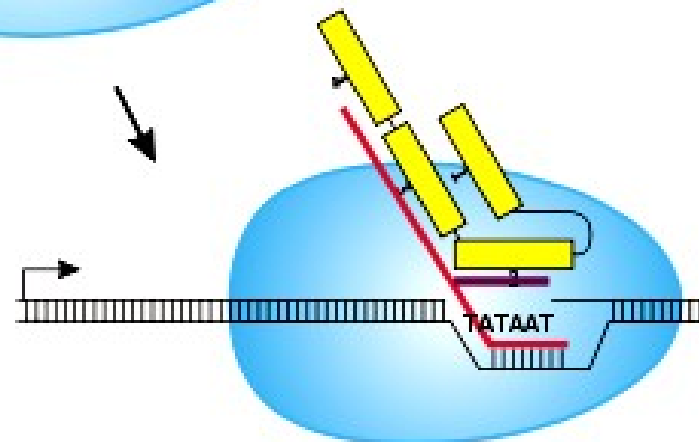
Взаимодействие холофермента с "расширенным промотором"



Образование "открытого комплекса" (плавление участка ДНК)



синтезируемая РНК вытесняет σ-единицу



Транскрипция у эукариот

- Ни одна из полимераз эукариот не способна самостоятельно связываться с промоторами транскрибируемых ими генов.
- Для присоединения к транскриптонам эукариот служат специфичные для каждой РНК-полимеразы белковые факторы транскрипции (ТФ-факторы).
- РНК-полимеразы I, II и III требуют участия факторов транскрипции, называемых TFI, TFII, TFIII соответственно.

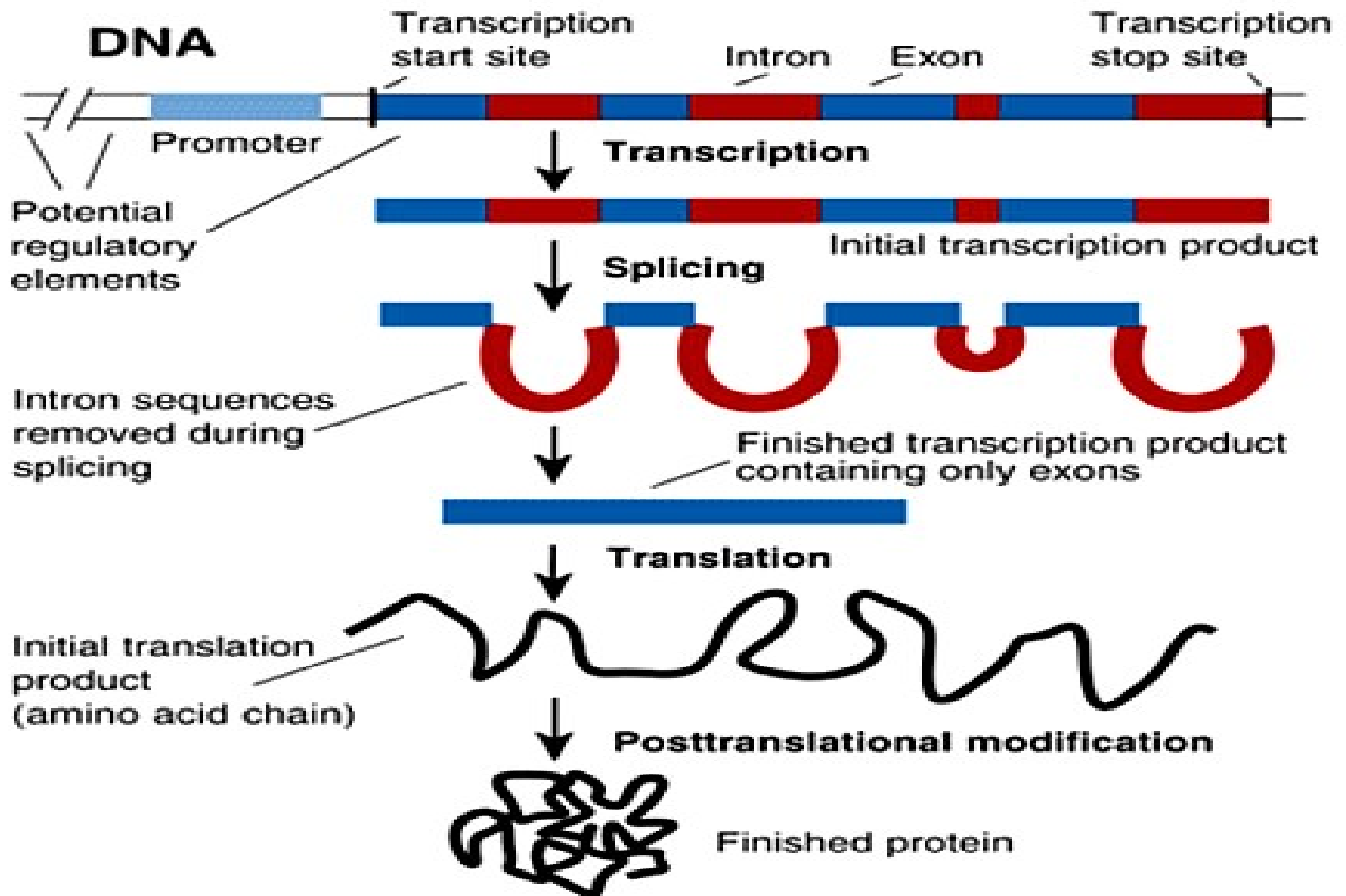
Процессинг и сплайсинг

- Первичный РНК-транскрипт подвергается процессингу или созреванию: обычно к 5'-концу добавляется кэп (шапочка), а к 3'-концу – хвост (поли (А)-фрагмент).
- Внутренняя последовательность РНК подвергается сплайсингу.
- Первичные транскрипты (пре-мРНК) намного длиннее зрелых мРНК и локализованы в ядре клетки, образуя группу гетерогенных ядерных РНК (гя РНК).
- Укорочение происходит за счет вырезания не кодирующих белка последовательностей-интронов и сшивания смысловых последовательностей (сплайсинг).

РНК-полимеразы эукариот

- РНК-полимераза I транскрибирует гены класса I: это гены 28S рРНК, 18S рРНК и 5,8S рРНК (т.е. все типы рРНК, кроме 5S рРНК).
- РНК-полимераза II транскрибирует гены класса II: это гены, кодирующие белки. Продуктом РНК-полимеразы II является мРНК. Кроме того, РНК-полимераза II синтезирует малые ядерные РНК (***U1-U5***).
- РНК-полимераза III транскрибирует гены класса III, т.е. осуществляет синтез тРНК, 5S рРНК, ***U6*** (это одна из мяРНК).
- РНК-полимераза IV транскрибирует все виды РНК митохондрий, по строению сходна с прокариотической.

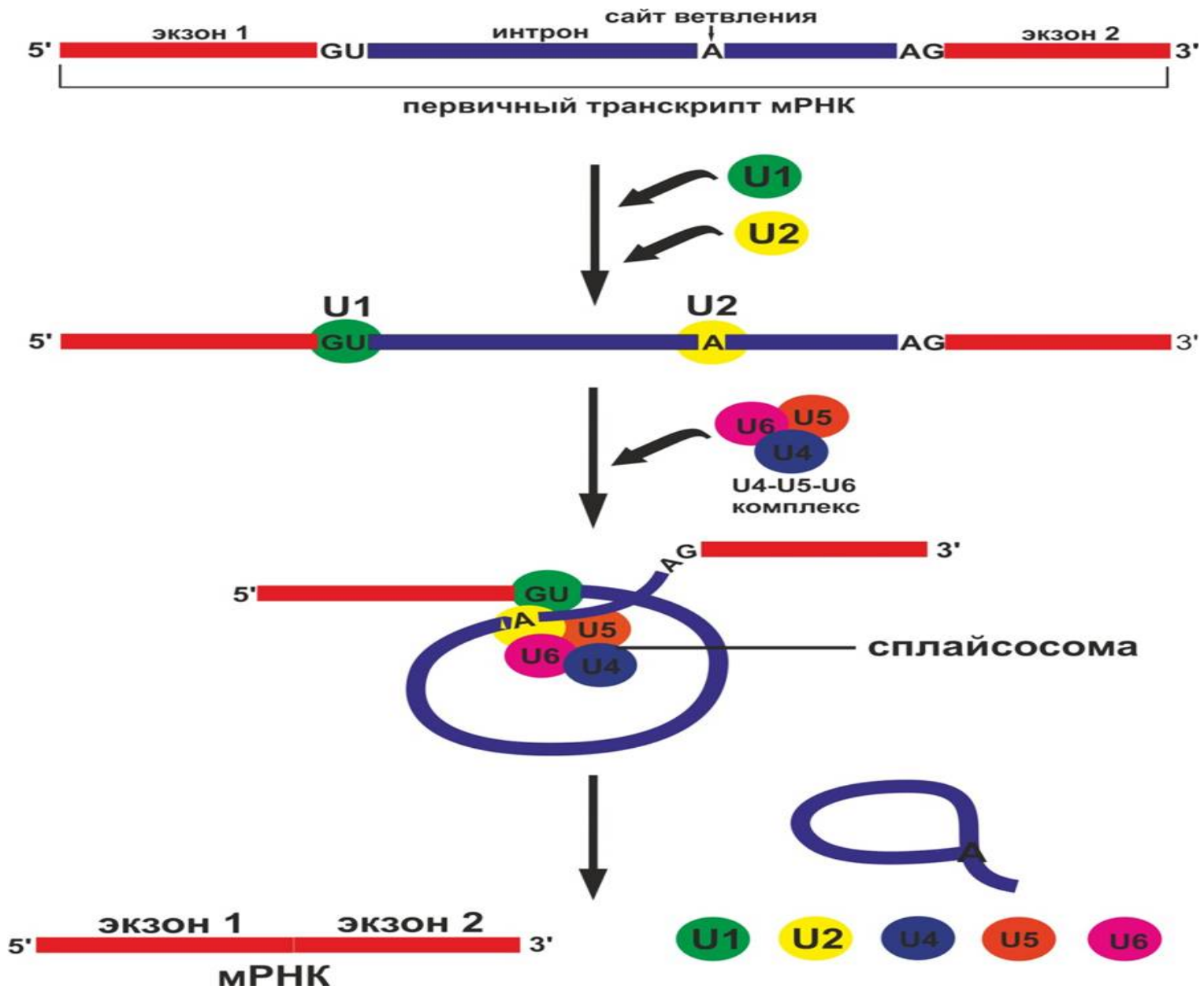
Экспрессия у эукариот



Сплайсинг

- **Сплайсинг процесс вырезания определённых нуклеотидных последовательностей из молекул пре-РНК и соединения последовательностей, сохраняющихся в «зрелой» молекуле, в ходе процессинга м-РНК.**
- **Этот процесс встречается при созревании матричной, (мРНК) у эукариот, при этом путём биохимических реакций с участием РНК и белков из мРНК интроны удаляются.**
- **После удаления участков, не кодирующие белок (интроны) и соединяются друг с другом кодирующие аминокислотную последовательность участки — экзоны.**

Собственно сплайсинг



Собственно сплайсинг

- **Собственно сплайсинг характерен для пре-мРНК высших эукариот.**
- **Интроны в незрелых предшественниках ядерных мРНК могут достигать большой длины и их удаление требует более сложного механизма.**
- **В сплайсинге пре-мРНК у высших эукариот задействован ряд белков, а также РНК особого вида – малые ядерные РНК (мяРНК). мяРНК богаты урацилом, поэтому они обозначаются как U1, U2, U3, U4, U5 и U6.**

Сплайсингосома

- **Гены мяРНК транскрибируются РНК-полимеразой II и имеют различную локализацию в геноме.**
- **Часть из них представляет собой независимые гены, не имеющие интронов, другая часть располагается внутри интронов генов, кодирующих белки (чаще рибосомальных).**
- **мяРНК присутствуют в ядрах в комплексах с белками, получившими название малые рибонуклеопротеиновые частицы (мяРНП).**
- **Комплекс мяРНК и мяРНП носит название сплайсингосомы.**

Сплайсингосома

- Сплайсингосома собирается на интроне перед его выщеплением.
- Различные мяРНК по принципу комплементарности связываются с пограничными участками интронов в РНК.
- Для этого взаимодействия существенны короткие последовательности, находящиеся на концах интронов.
- На 5'-конце находится последовательность GU, на 3'-конце – AG. Взаимодействие мяРНК и мяРНП с концами интрона придает ему петлеобразную структуру.

Сплайсингосома

- При этом сближаются концы экзонов, чему способствует образование неканонических водородных связей между двумя гуанинами, на 5'- и 3'-сайтах сплайсинга.
- Сближение экзонов создает условия для реакций трансэтерификации.
- В результате в интроне образуется структура типа «лассо» и он выщепляется с соединением экзонов.
- Несколько экзонов, содержащихся в составе мРНК, могут сшиваться в разных комбинациях с образованием различных мРНК.

- **Несколько экзонов, содержащихся в составе мРНК, могут сшиваться в разных комбинациях с образованием различных мРНК.**
- **У эукариот альтернативный сплайсинг мРНК, содержащих большое количество интронов, является эффективным способом регуляции активности генов.**
- **Создает возможность для возникновения изоформ белков, наборы которых могут существенно различаться в различных клетках, тканях и органах организмов.**

- **Альтернативный сплайсинг позволяет организму синтезировать разные по структуре и свойствам белки на базе одного гена.**
- **Такие гены кодируют семейства родственных белков, участвующих в мышечных сокращениях, формировании цитоскелета, нервных волокон, молекул иммуноглобулинов, пептидных гормонов.**
- **В формировании альтернативных мРНК могут быть задействованы три основные механизма.**

- **Первый из них состоит в том, что для образования различных мРНК могут использоваться разные промоторы.**
- **В этом случае образуются транскрипты, имеющие по длине 5'-концы и разное число экзонов.**
- **Такой механизм выявлен для пре-мРНК легкой цепи *миозина* позвоночных животных.**

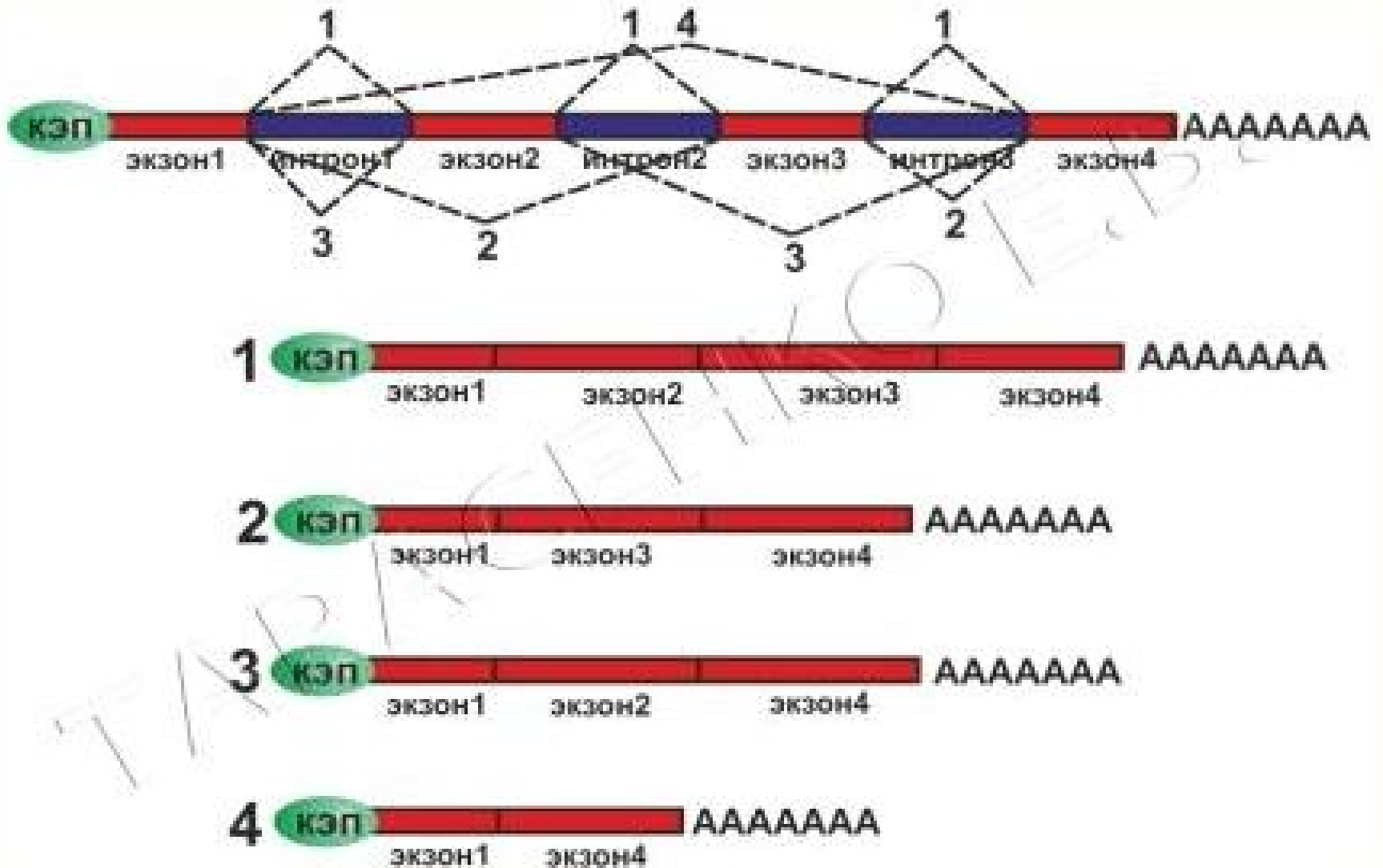
Механизмы альтернативный сплайсинг

- **Второй тип альтернативного сплайсинга имеет место при изменении сайта полиаденилирования.**
- **В этом случае изменяются размеры и структура 3'-концевого участка пре-мРНК.**
- **Таким способом образуются два вида мРНК тяжелой цепи иммуноглобулинов.**
- **Одной из причин возникновения альтернативных продуктов могут служить мутации, нарушающие последовательности сайтов сплайсинга и возникновение новых сайтов.**

Механизмы альтернативный сплайсинга

- Третий тип альтернативного сплайсинга включает выбор различных экзонов из одинаковых пре-мРНК.
- При этом часть интронов не включается в сплайсинг.
- Таким образом происходит сплайсинг пре-мРНК тропонина Т скелетных мышц млекопитающих, содержащий 18 экзонов.
- Выбор экзонов зависит от стадии развития организма: экзон 16 присутствует в мРНК тропонина Т у взрослых, экзон 17 – у эмбрионов.

Альтернативный сплайсинг



Альтернативный сплайсинг

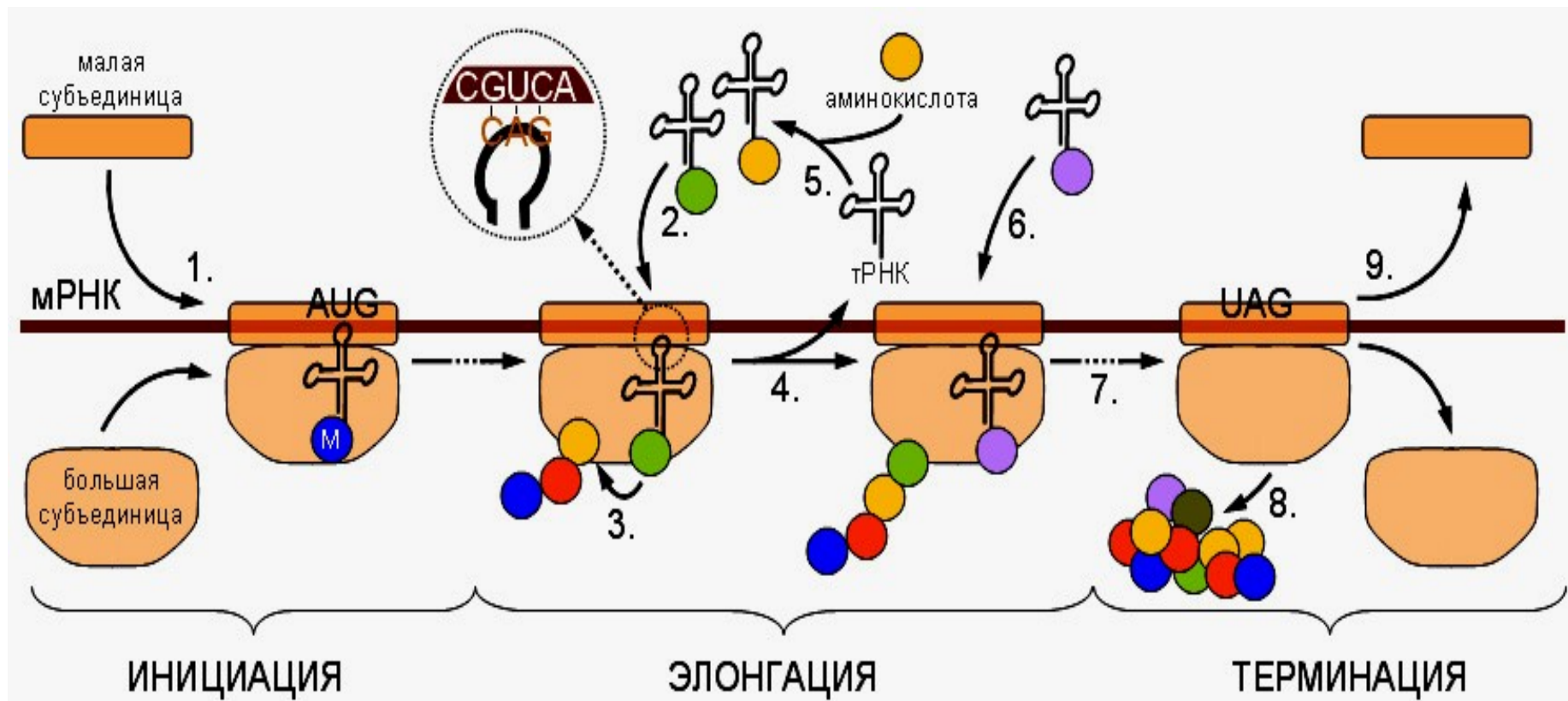
- **Пре - мРНК некоторых генов эукариот могут подвергаться альтернативному сплайсингу.**
- **При этом интроны в составе пре-мРНК вырезаются в разных альтернативных комбинациях, при которых вырезаются и некоторые экзоны.**
- **Разные варианты альтернативного сплайсинга одной пре-мРНК могут осуществляться в разные периоды развития организма или в разных тканях, а также у разных особей одного вида.**

- Нередко в результате альтернативного сплайсинга пре-мРНК одного гена образуются многочисленные мРНК и их белковые продукты.
- Показано, что у человека 94 % генов подвержено альтернативному сплайсингу, а у остальных 6 % генов нет интронов.
- Геном круглого червя *C. elegans* по количеству генов практически не отличается от генома человека.
- Однако альтернативному сплайсингу подвергаются пре-мРНК только 15 % генов.

- Таким образом, альтернативный сплайсинг позволяет увеличить разнообразие белковых продуктов генов, не увеличивая пропорционально этому размер генома, в том числе не создавая дополнительных копий генов.
- Биологический смысл альтернативного сплайсинга для многоклеточных эукариот состоит в том, что он, по-видимому, является ключевым механизмом увеличения разнообразия белков, а также позволяет осуществлять сложную систему регуляции экспрессии генов, в том числе тканеспецифической.

- **Трансляция - биосинтез белков в живой клетке на рибосомах.**
- **Это второй этап реализации генетической информации, в процессе которого последовательность нуклеотидов мРНК «переводится» в аминокислотную последовательность синтезирующегося белка.**
- **Синтез белка является основой жизнедеятельности клетки.**
- **Для осуществления этого процесса в клетках всех без исключения организмов имеются рибосомы.**

Трансляция



Трансляция

- **Трансляция - это сборка полипептидной цепи из аминокислот, которая происходит на рибосомах и с использованием в качестве матрицы зрелой иРНК.**
- **На стадии инициации трансляции образуется иницирующий комплекс, состоящего из *субчастицы рибосом, иРНК*, и первой *аминоацил-тРНК*, транспортирующей иницирующую аминокислоту - *метионин*.**

Трансляция-инициация

- Рибосомы представляют собой рибонуклеопротеидные комплексы, построенные из 2 субъединиц: большой и малой.
- Инициация или узнавание стартового кодона (AUG), сопровождается присоединением аминоацилированной метионином (M) тРНК.
- Далее происходит сборка рибосомы из большой и малой субъединиц посредством мРНК.

Трансляция-элонгация

- Узнавание текущего кодона соответствующей ему аминоацил-тРНК, комплементарное взаимодействие кодона мРНК и антикодона тРНК.
- Присоединение аминокислоты, принесённой тРНК, к концу растущей полипептидной цепи.
- Продвижение рибосомы вдоль матрицы, сопровождающееся высвобождением молекулы тРНК.

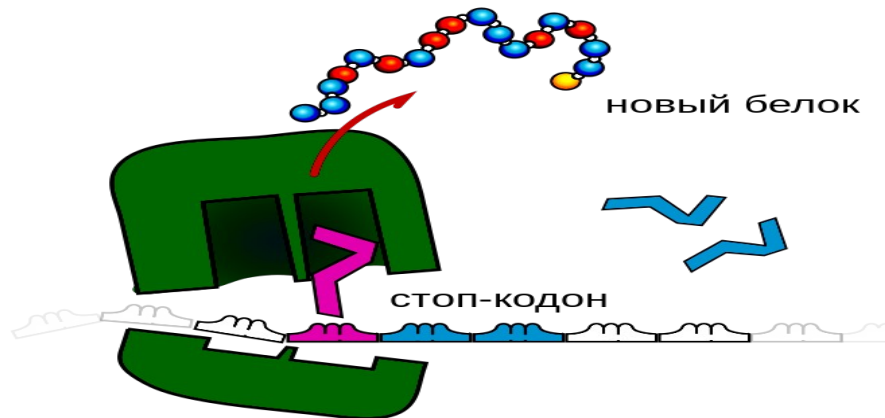
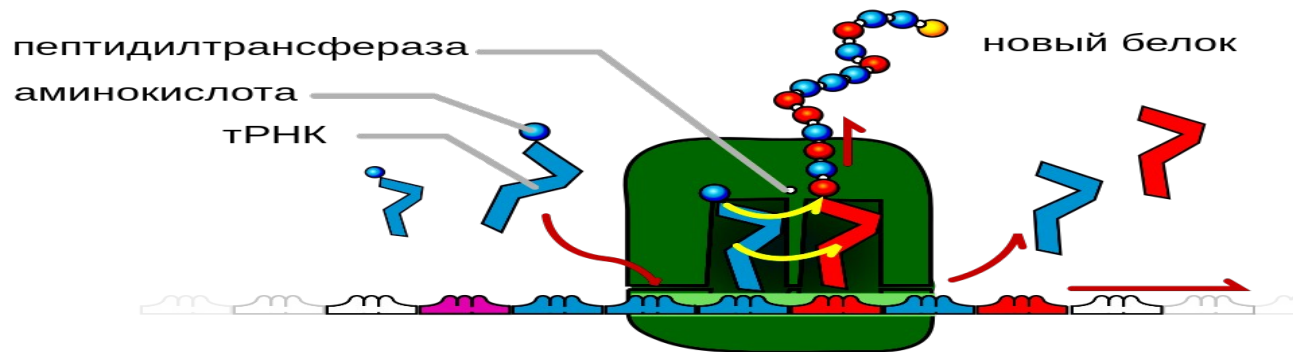
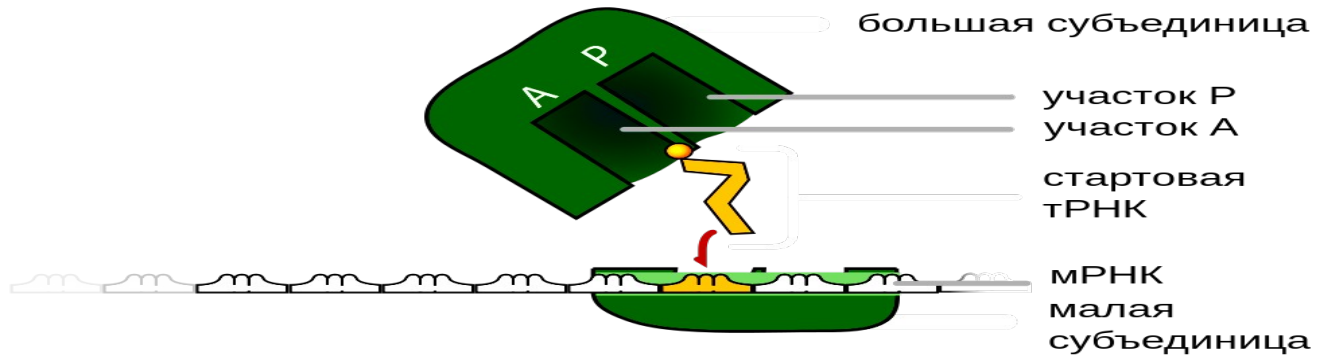
Трансляция-элонгация

- **Аминоацилирование высвободившейся молекулы тРНК соответствующей ей аминоацил-тРНК-синтетазой.**
- **Присоединение следующей молекулы аминоацил-тРНК.**
- **Повторное узнавание текущего и далее каждого кодона соответствующей ему аминоацил-тРНК, комплементарное взаимодействие кодона мРНК и антикодона тРНК.**
- **Движение рибосомы по молекуле мРНК до стоп-кодона (в данном случае UAG).**

Трансляция-терминация

- **Узнавание рибосомой один из стоп-кодонов UAA, UAG, UGA сопровождается отсоединением новосинтезированного белка и диссоциацией рибосомы.**
- **При терминации синтезированная полипептидная цепь отделяется от рибосомы и от иРНК.**
- **В процессе посттрансляции происходит удаление первой иницирующей аминокислоты, белки приобретают вторичную, третичную или четвертичную структуры.**

Трансляция



Регулирующие элементы

- **Регулирующие элементы экспрессии генов:**
- **Промотор**
- **Энхансер**
- **Сайленсер**
- **Инсулятор**
- **Репрессор**
- **Терминатор**
- **5' -НТО и 3' -НТО**

Промотор

- Промотор — последовательность нуклеотидов ДНК, узнаваемая РНК-полимеразой как стартовая площадка для начала специфической, или осмысленной транскрипции.
- Промотор — это участок ДНК, который обеспечивает транскрипцию конкретного гена.
- Промотор обычно располагается около гена, транскрипцию которого регулирует.
- Промотор асимметричен, что позволяет РНК-полимеразе начать транскрипцию в правильном направлении и указывает на то, какая из двух цепей ДНК будет служить матрицей для синтеза РНК.

Энхансер

- **Энхансер — это участок ДНК, который может связываться с белками, обычно с набором транскрипционных факторов, увеличивая уровень транскрипции генов в генном кластере.**
- **Энхансеры не обязательно находятся в непосредственной близости от генов, активность которых они регулируют, и даже не обязательно располагаются с ними на одной хромосоме.**

Энхансер

- Энхансеры могут располагаться как в 5'-, так и в 3'-положении относительно матричной цепи регулируемого гена и в любой ориентации к ней.
- Энхансеры также могут находиться внутри интронов.
- Для работы энхансера необходим его физический контакт с промотором.
- Это осуществляется за счёт раскручивания ДНК между энхансером и промотором.

Энхансер

- Молекулярный механизм действия энхансера заключается в том, что он благодаря собранному на нём белковому комплексу привлекает РНК-полимеразу II и кофакторы транскрипции в область промотора.
- Энхансеры не обладают специфичностью действия, следовательно, у эукариот должны были выработаться механизмы, обеспечивающие невозможность активации генов в ненужном месте или в ненужное время развития энхансерами соседнего гена.

Сайленсер

- Сайленсер — это участок ДНК, который инактивирует экспрессию гена, когда с ним связываются регуляторные белки. Его функция очень схожа с функцией энхансера, но с тем отличием, что он инактивирует ген.
- Сайленсер - определенная нуклеотидная последовательность ДНК, являющаяся регулятором транскрипции гена, с которой связываются белки-репрессоры (факторы транскрипции).
- Связывание белков-репрессоров с сайленсерами приводит к понижению или к полному подавлению синтеза РНК ДНК - зависимой РНК полимеразой. Сайленсеры могут находиться на расстоянии до 2500 пар нуклеотидов от промотора.

Инсулятор

- **Инсуляторы — последовательности ДНК, особые регуляторные элементы, которые обладают способностью блокировать сигналы, исходящие от окружения.**
- **Эта функция инсуляторов включает две активности.**
- **Во-первых, они блокируют взаимодействие между энхансером и промотором, если находится между ними.**
- **При этом инсулятор выполняет только разделительную функцию и не влияет на активность энхансера и промотора.**

Инсулятор

- Во-вторых, инсулятор выполняет барьерную функцию для распространяющегося конденсированного хроматина.
- Показано, что существуют инсуляторы, как выполняющие одну из двух функций, так и обе.
- Инсуляторы представляют собой сайты связывания особых, инсуляторных белков.
- Инсулятор в последовательности ДНК показывает где границы последовательностей с активированным или репрессированным уровнем экспрессии.

Регуляция

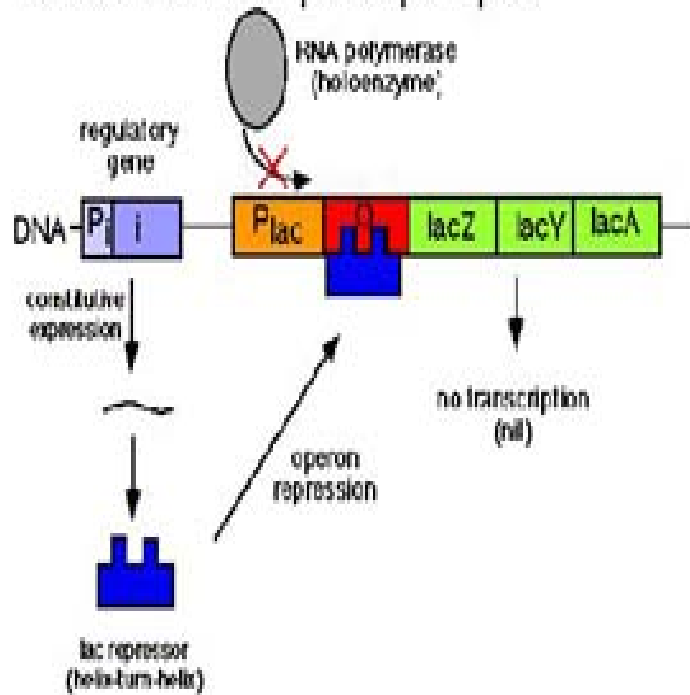
- **Экспрессия генов прокариот (пример – лактозный оперон) обеспечивается связыванием РНК-полимеразы с промотором.**
- **С оператором специфически связывается белок-репрессор.**
- **Когда репрессор связывается с оператором, РНК-полимераза не может начать транскрипцию и экспрессия генов оперона выключается.**

Регуляция

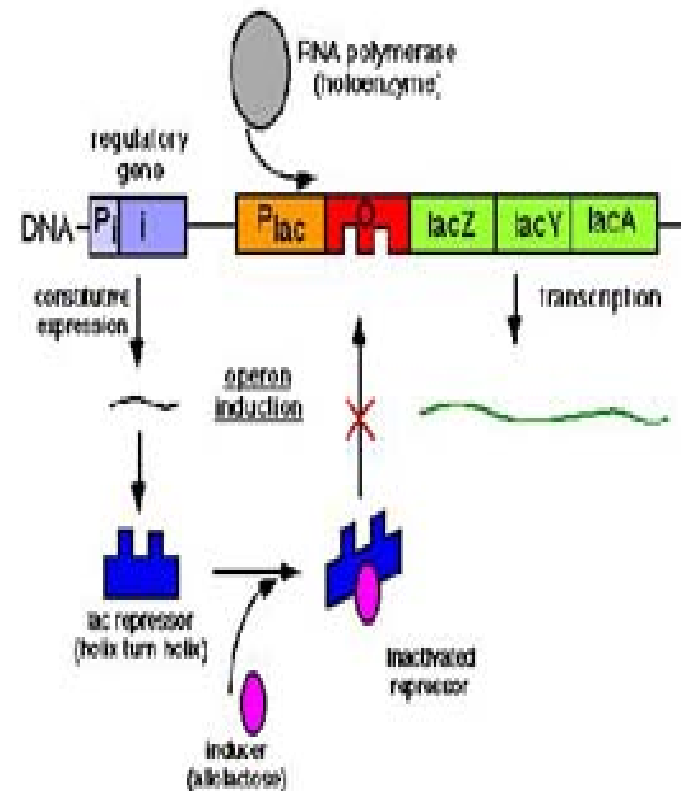
- Оперон- группа генов транскрибируемых с одного промотора.
- В *Lac*- опероне бактерии *E.coli* гены метаболизма лактозы работают, когда лактоза есть в клетке.
- В отсутствии лактозы белок – репрессор связывается с оператором.
- РНК-полимераза не может начать транскрипцию.
- Лактоза инактивирует белок – репрессор, он теряет сродство к оперону и транскрипция возможна.

Лак- опероне бактерии E.coli

В отсутствии лактозы белок-репрессор связывается с оператором. РНК-полимераза не может начать транскрипцию



Лактоза инактивирует белок-репрессор и он теряет сродство к оперону. Транскрипция возможна.



Регуляция

- Промоторный участок в пределах оперона может частично перекрываться или вовсе не перекрываться оператором гена.
- В конкретном типе клеток под каким промотором находится кодирующий РНК участок ДНК, играет решающее значение в интенсивности экспрессии этого гена.
- Активация промотора определяется присутствием в клетках своего набора транскрипционных факторов

Регуляция

- **Многоклеточные эукариоты состоят из различных типов клеток.**
- **Их разнообразие обусловлено дифференциальной экспрессией генов, определяющих синтез белков, специфичных для каждой ткани.**
- **Дифференциальная экспрессия генов в основном осуществляется на уровне транскрипции.**

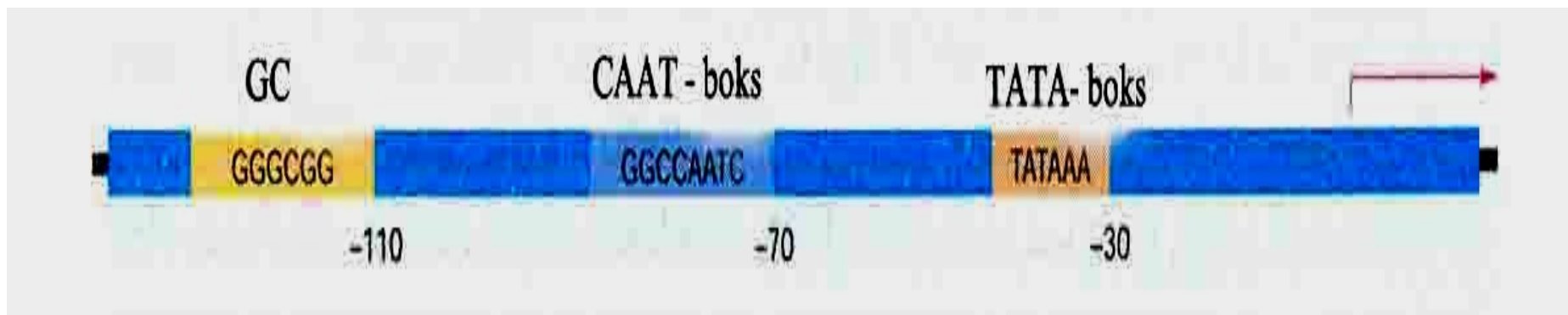
Регуляция

- У эукариот продукты регуляторных генов могут как подавлять, так и активировать экспрессию регулируемых генов.
- При этом у них преобладает позитивный контроль транскрипции.
- У эукариот каждый ген регулируется самостоятельно.
- Репрессоры и активаторы, регулирующие транскрипцию, могут связываться или с промотором или другими регуляторными последовательностями, расположенными в пределах или по обе стороны от промотора.

Регуляция

- В регуляции активности эукариотических генов кроме промотора принимают участие также энхансеры, инсуляторы и сайленсеры.
- Промотор последовательность нуклеотидов ДНК, узнаваемая РНК-полимеразой как стартовая площадка для начала специфической, или осмысленной, транскрипции.
- Промотор — это участок ДНК, который обеспечивает транскрипцию конкретного гена. Промотор обычно располагается около гена, транскрипцию которого регулирует.

Специфические нуклеотидные последовательности, расположенные до промотора эукариотических генов



Регуляция

- У эукариот перед промотором, слева от него, на 5'-конце расположены специфические последовательности в виде боксов или модуляторных элементов.
- ТАТА бокс расположен ~30 п.н. слева от промотора, СААТ ~70 п.н. и GC ~110 п.н., без которых присоединение РНК-полимеразы II к промотору не происходит.

Регуляция

- **Контроль экспрессии генов осуществляется на любом из этапов реализации наследственной информации.**
- **Функционально гены у про- и эукариот подразделяются на структурные и регуляторные.**
- **Структурные гены кодируют РНК или структурные, ферментативные и др. белки, обеспечивающие разнообразные функции в клетке.**
- **Регуляторные гены кодируют белки или РНК, осуществляющие генетическую регуляцию экспрессии структурных генов.**

Регуляция

- Концепция регуляции транскрипции у прокариот была сформулирована на модели оперона, предложенной Жакобом и Мано.
- Оперон включает в себя функционально-связанные структурные гены, промотор, оператор и терминатор.
- Экспрессия генов контролируется регуляторным геном, который расположен на некотором расстоянии от оперона. Продукт регуляторного гена - белок - репрессор.

Регуляция

- **Многоклеточные эукариоты состоят из различных типов клеток.**
- **Их разнообразие обусловлено дифференциальной экспрессией генов, определяющих синтез белков, специфичных для каждой ткани.**
- **Дифференциальная экспрессия генов в основном осуществляется на уровне транскрипции.**

***СПАСИБО ЗА
ВНИМАНИЕ !***