

ТЕМА 3. МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ТРАНСКРИПЦІЇ І ТРАНСЛЯЦІЇ

ПЛАН:

1. Особливості будови мРНК
2. Синтез мРНК
3. Процесінг мРНК
4. Транскрипція РНК на нуклеосомах
5. Синтез білка (трансляція)

1. ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ мРНК

Матрична РНК(мРНК)

- Має довгі прямі ланцюги
- Є копією гена ДНК
- Це програма (матриця), за якою будується певний білок
- Складається від 500 до 1000 нуклеотидів
- Послідовність з 3 нуклеотидів має назву - кодон
- AUG – старт кодон, який кодує амінокислоту метіонін
- UAA, UAG та UGA – стоп кодони

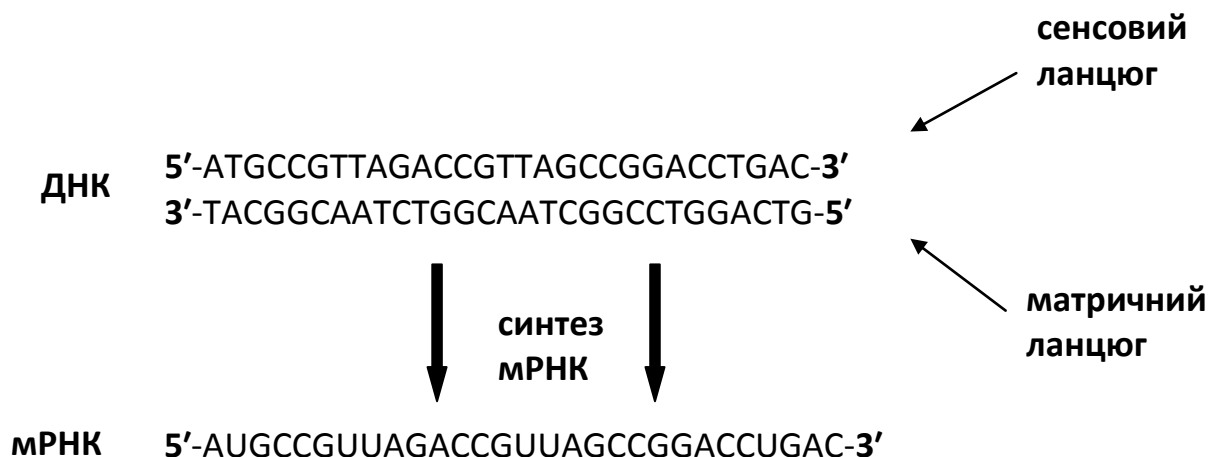
Ділянки мРНК у еукаріотів



1. КЕП
2. 5'-нетранслююча ділянка
3. Ініціюючий кодон (АУГ)
4. Частина, яка кодується
5. Кодон, який термінує (УАГ, УГА, УАА).
6. 3'-нетранслююча ділянка
7. Полі-(А) фрагмент

2. СИНТЕЗ РНК

Транскрипція – це синтез РНК на ДНК-матриці за допомогою РНК-полімерази



При транскрипції, РНК-полімераза пов'язується з ДНК та відокремлює ДНК ланцюги. РНК-полімераза потім використовує один з ланцюгів ДНК в якості матриці для збірки нуклеотидів РНК.

Етапи транскрипції:

1. Ініціація
2. Елонгація
3. Термінація.

Фермент – ДНК-залежна РНК-полімераза або РНК-полімераза.

Субстрат – рибонуклеозидтрифосфати.

Синтез РНК-транскрипту йде в напрямку від 5' – до 3'–кінця.

У еукаріотів різні види РНК синтезуються різними РНК-полімеразами:

РНК-полімераза 1 – для синтезу пре-рРНК,

РНК-полімераза 2 – для синтезу пре-мРНК,

РНК-полімераза 3 – для синтезу пре-тРНК.

У прокариот – однією.

Субодиничний склад РНК-полімерази *E.Coli*: (2 α), β , β' , σ – *holo*-фермент (повний фермент), без σ -фактору це *core*-фермент.

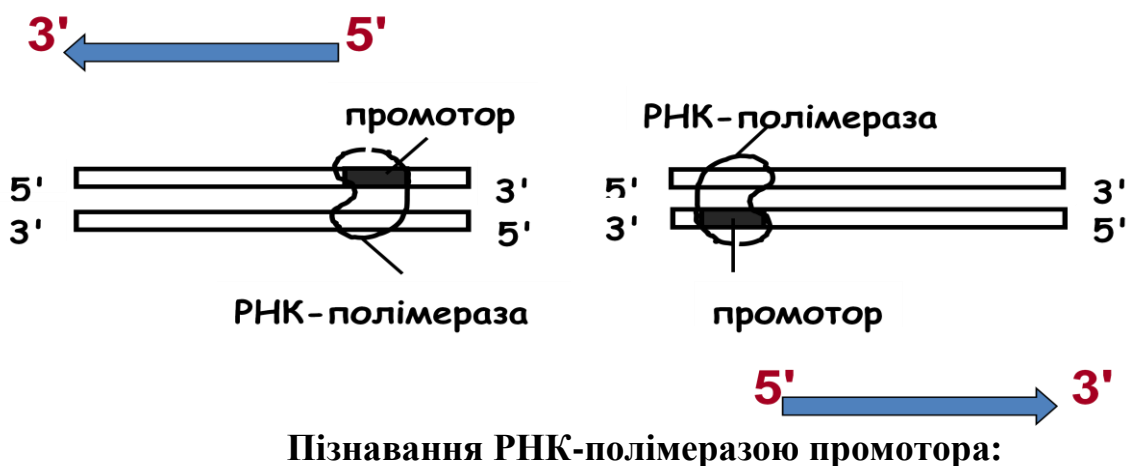
Функції:

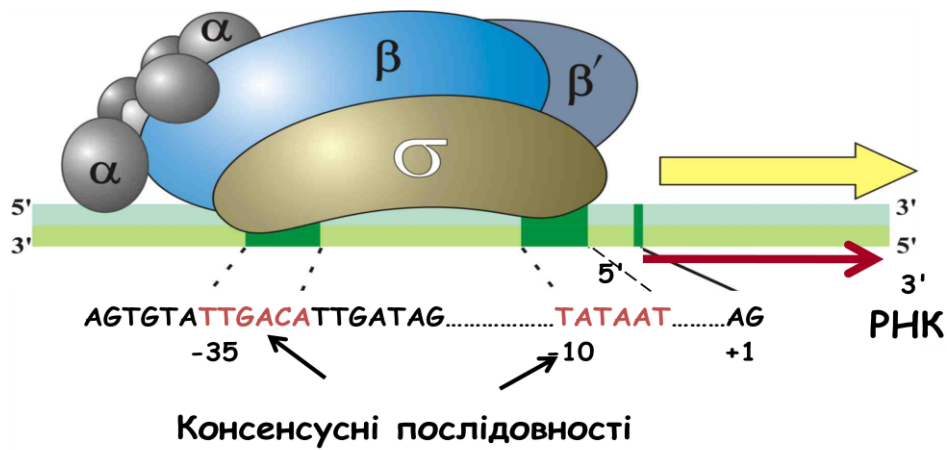
holo-ферменту – пізнання і пов'язування ферменту та ініціація синтезу РНК.

core-ферменту – елонгація і термінація синтезу РНК.

σ -фактор надає *holo*-ферменту таку конформацію, яка має підвищену спорідненість до промотору. Як тільки відбулася ініціація транскрипції, σ -фактор відокремлюється.

Для того, щоб почати транскрипцію, РНК-полімераза пов'язується з ділянкою гену ДНК, яка називається **промотором**





РНК-полімераза пізнає в першу чергу на промоторі дві суворо визначені 6-нуклеотидні послідовності, розташовані вище старт-сигналу та відокремлені одна від іншої ≈ 17 нуклеотидами. Вони називаються консенсусними послідовностями, до яких відноситься бокс-Прибнова (ТАТА-бокс).

Етапи транскрипції:

1. Ініціація транскрипції

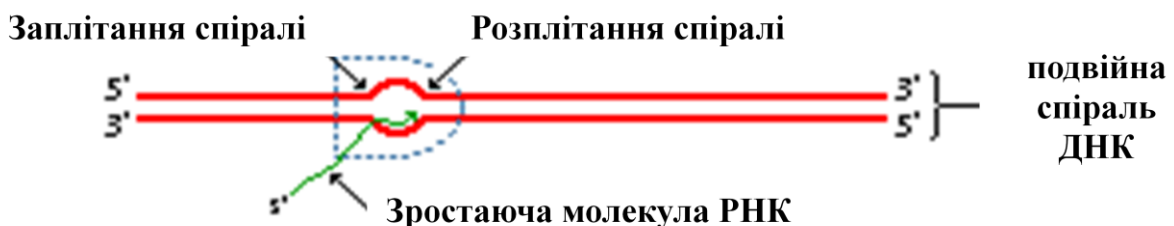


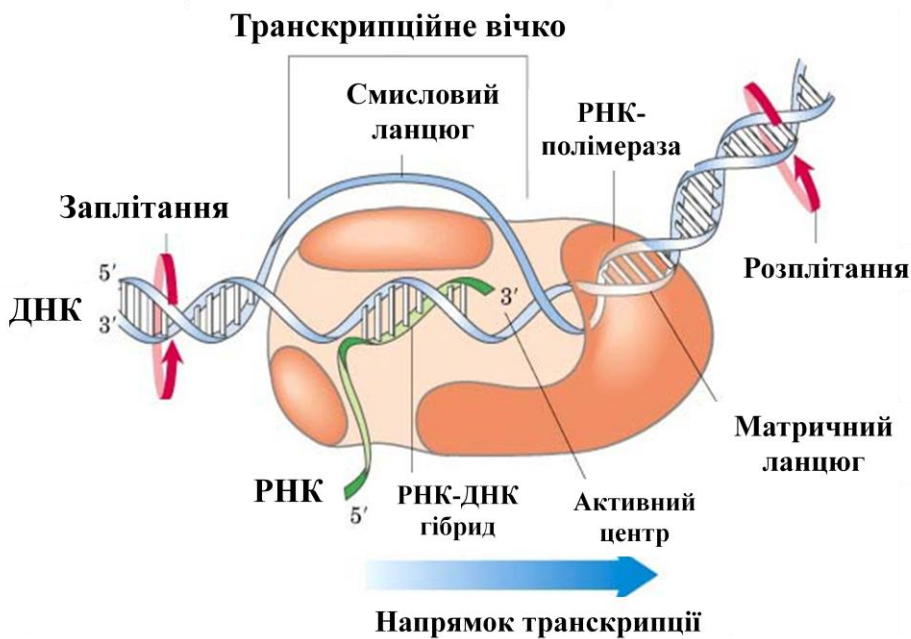
Вільні рНТР \rightarrow залишки рНМР у ланцюзі РНК, який будується + пірофосфат

- розплітання 2-х витків спіралі ДНК (16-18 п.о.)
- перший нуклеотид – пуриновий (АТФ або ГТФ)
- утворення першого 5',3'-фосфатного зв'язку з іншим нуклеотидом
- відокремлення σ -фактора

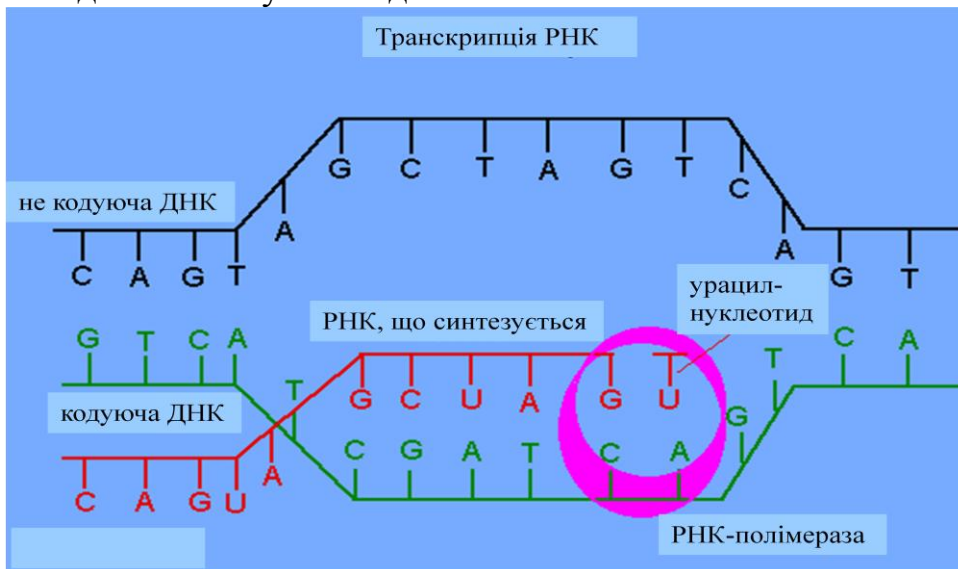
2. Елонгація транскрипції

Нарощування ланцюга РНК, яке відбувається шляхом додавання активованих рибонуклеозидтрифосфатів (АТР, УТР, ГТР И СТР)





Швидкість: 50 нуклеотидів за сек



3. Термінація транскрипції

Білок-кодуюча частина закінчується термінуючим триплетом (TAA, TAG або TGA).

Пройшовши структурні гени і синтезувавши поліцістронну молекулу мРНК, РНК-полімераза вступає в область, яка називається **термінатором**. У термінаторній послідовності містяться ділянки, що складаються з повторюваних GC-пар, розташованих в протилежній орієнтації відносно один одного і взаємно комплементарних. У одноланцюговій мРНК, яка транскрибується ці ділянки комплементарно з'єднуються за допомогою водневих зв'язків, утворюючи т.зв. «шпильки». За термінатором, на відстані близько 20 нуклеотидів від вісі шпильки, розташована ділянка ДНК, що складається із залишків тимідину (TTT ...) (в мРНК, відповідно, UUU ...). На РНК-транскрипті утворюється поліуридиновий «хвіст». Тому як полі-U послідовність з'єднана з комплементарною їй послідовністю полі-A

(в ДНК) меншим числом водневих зв'язків, ніж ділянки, що складаються з G-C пар, то це сприяє від'єднанню РНК-транскрипту від ДНК-матриці.

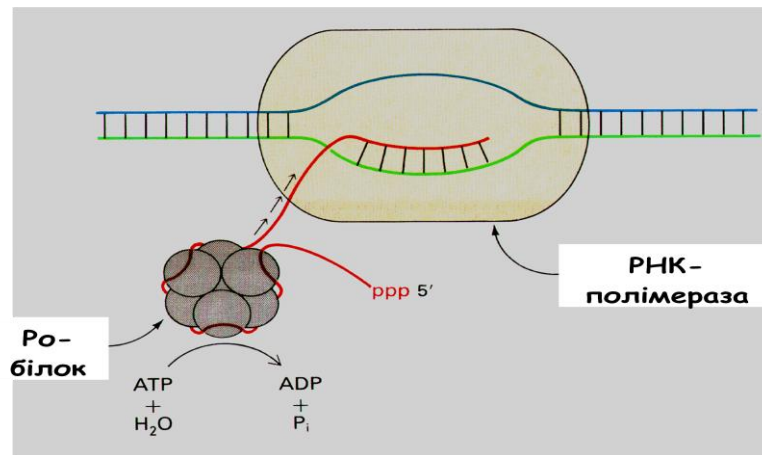
Таким чином, сигналом для початку термінації слугують GC-багаті ділянки в кінці генів:

- сила взаємодії пар Г-Ц велика (три водневі зв'язки)
- розкручування таких ділянок в ДНК відбувається важче
- це уповільнює рух РНК-полімерази
- синтез йде до одного з кодонів термінації
- полімераза відокремлюється від ДНК і РНК.

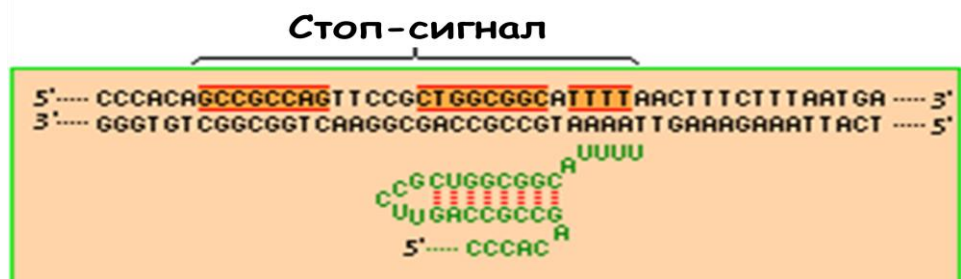
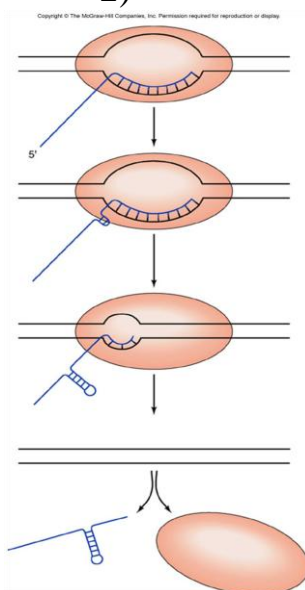
У бактерій є два механізми вивільнення РНК:

- 1) ро-залежний механізм, при якому білок Rho (ро) дестабілізує водневі зв'язки між матрицею ДНК и мРНК, вивільнюючи молекулу РНК.
- 2) ро-незалежний, при якому транскрипція зупиняється, коли тільки що синтезована молекула РНК формує стебло-петлю, за якою розташовано декілька урацилів (...УУУУ), що приводить до відокремлення молекули РНК від матриці ДНК.

1)



2)



Термінація транскрипції у еукаріот менш вивчена. Вона завершується відокремленням РНК, після чого до її 3'-кінця фермент poly(A)-полімераза додає

100-200 залишків аденілової кислоти (...АААА), від кількості яких залежить стабільність даного транскрипту. Синтезовані в ядрі транскрипти називають **гетерогенною ядерною РНК (гяРНК)**

Після термінації *core*-фермент відділяється від ДНК-матриці і, зв'язавшись з новою молекулою σ -фактора, приступає до синтезу нової молекули РНК.

3. ПРОЦЕСІНГ РНК

Процесінг - це дозрівання мРНК. Після транскрипції гяРНК **редагується**, для того щоб бути функціонуючою мРНК.

Редагування мРНК:

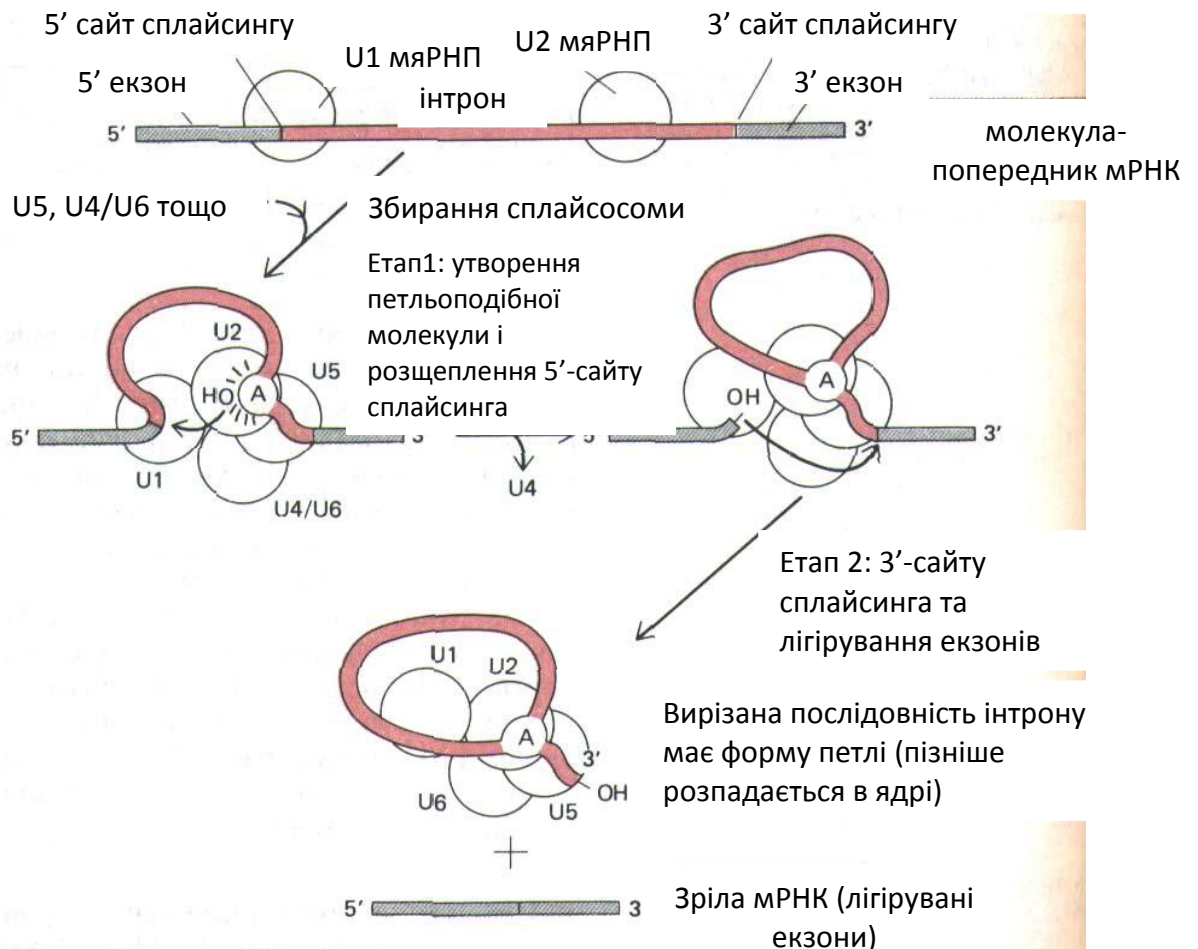
- Додавання КЕПу до 5' кінця гяРНК (7-метилгуанозинтрифосфат) (відбувається в ядрі, в процесі елонгації, коли довжина ланцюга РНК досягає близько 30 нуклеотидів)
- Додавання до 3' кінця полі-А-последовності (полі-А-хвіст) із 100-200 залишків аденілової кислоти
- Видалення зайвих последовностей (**сплайсинг**)

Сплайсинг

Сплайсинг - вирізання інтронів і зшивання екзонів

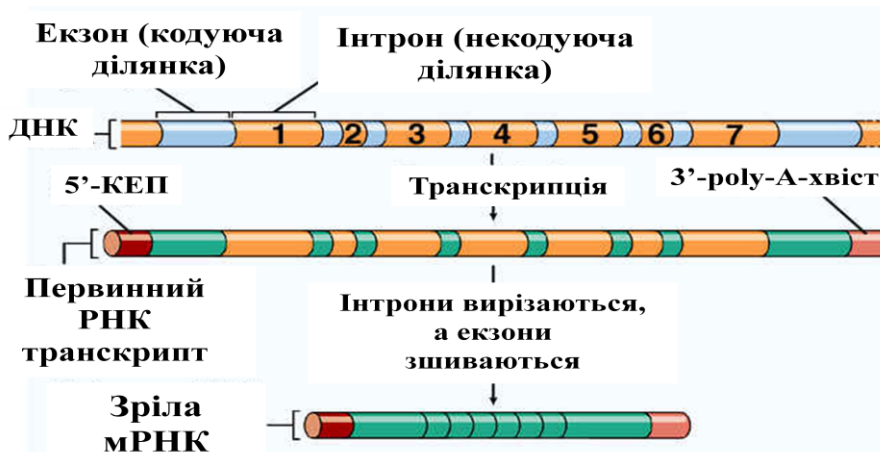
Інтрони - нефункціонуючі ділянки в ДНК, які вирізаються в гяРНК

Екзони - кодуючі ділянки ДНК, які після вирізання інтронів зшиваються



РЕЗУЛЬТАТ ТРАНСКРИПЦІЇ У ЕВКАРІОТІВ:

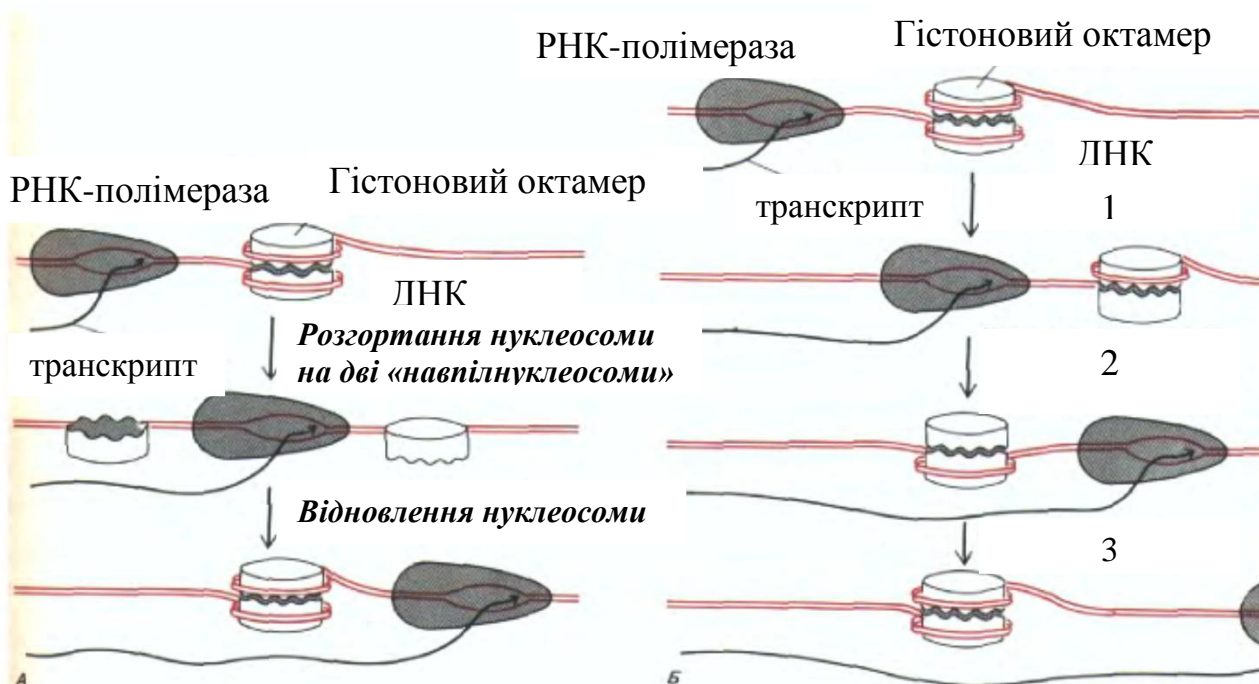
Інтрони (1-7) та екзони



Зріла мРНК виходить з ядра через пори і йде до рибосом.

4. ТРАНСКРИПЦІЯ РНК НА НУКЛЕОСОМАХ

Дві можливі моделі, які пояснюють як РНК-полімераза може транскрибувати хроматин, не виштовхуючи з нього нуклеосоми:



1 - нуклеосома «скидає» один виток ДНК; 2- нуклеосома «скидає» виток ДНК, що залишився, одночасно пов'язуючись із транскрибованою ДНК; 3 – відновлення нуклеосоми

А – транскрипція через тимчасово розгорнуті нуклеосоми;

Б – транскрипція через цілий гістоновий октамер.

5. СИНТЕЗ БІЛКА (ТРАНСЛЯЦІЯ)

Роль ДНК та РНК:

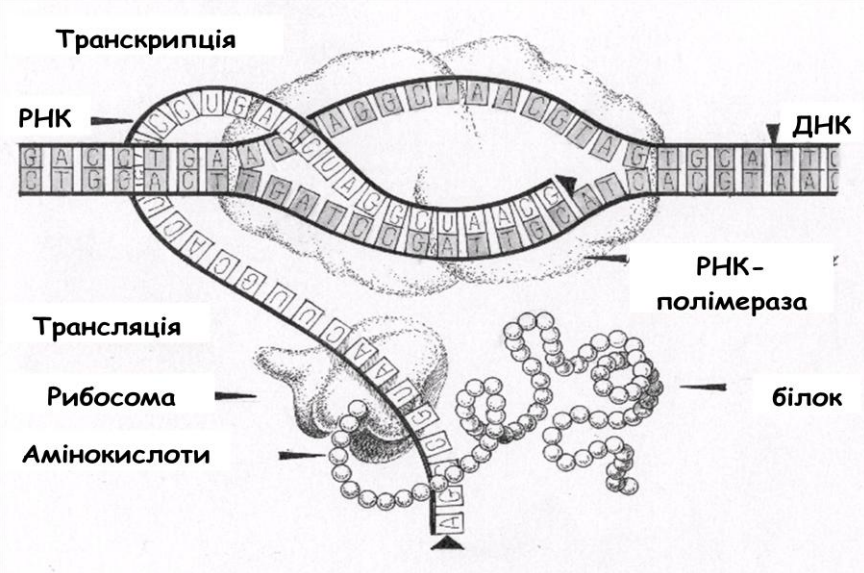
- ДНК – носій генетичної інформації
- РНК реалізує генетичну інформацію

Центральна догма молекулярної біології: ДНК → РНК → Білок

У синтезі білка беруть участь такі види РНК:

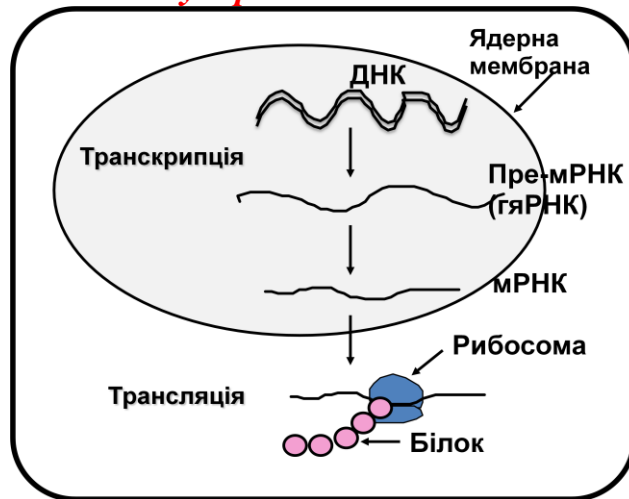
1. **Матрична РНК – мРНК:** є копією гена ДНК. Це програма (матриця), за якою будується певний білок.
2. **Рибосомальна РНК – рРНК:**
 - рРНК має від 100 до 3000 нуклеотидів
 - глобулярної форми
 - синтезується в ядрі клітини
 - асоціюється з білками та утворює рибосому
 - місце синтезу білка
3. **Транспортна РНК – тРНК:**
 - має форму листка конюшини
 - одностанцюгова молекула, яка з одного кінця має сайт для приєднання амінокислоти
 - її протилежний кінець має три нуклеотиди. Він називається антикодон.

Прокаріотична клітина



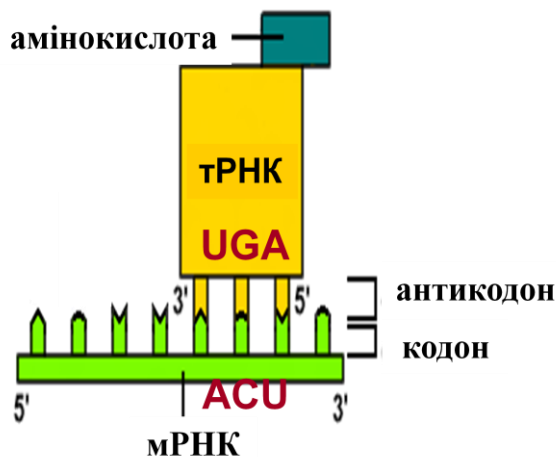
У прокаріотів, оскільки в них немає відділеного мембраною від цитоплазми ядра, процеси транскрипції та трансляції у часі не відокремлені. Рибосома може приєднуватись до 5'-кінця мРНК, яка ще синтезується, і таким чином розпочинати синтез білка.

Еукаріотична клітина



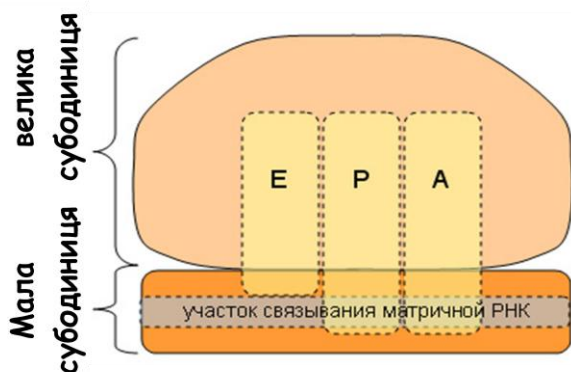
У еукаріотів процеси транскрипції і трансляції у часі відокремлені. Синтез білка не розпочнеться доки до цитоплазми з ядра не надійде мРНК.

Трансляція – це процес декодування мРНК у поліпептидний ланцюг (синтез білка). Рибосоми зчитують мРНК по три нуклеотиди (1 кодон), одночасно з цим будуючи білок. тРНК приносять амінокислоти до рибосом – місця синтезу білка. 3 нуклеотиди антикодону тРНК комплементарні 3 нуклеотидам кодону мРНК. Наприклад: кодон **ACU** на мРНК, антикодон **UGA** на тРНК, амінокислота – **треонін**.



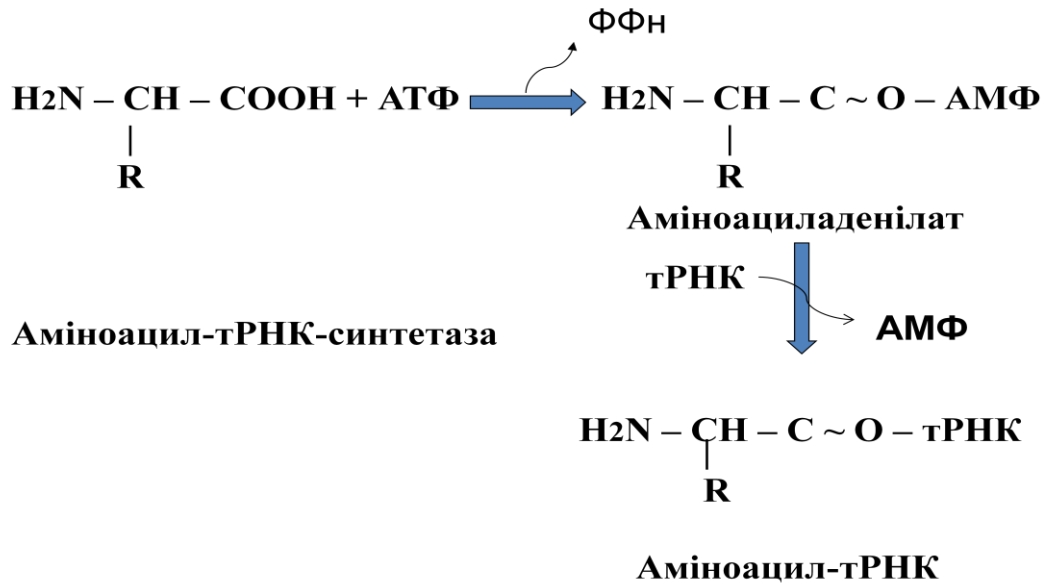
Рибосома

- Складається з великої та малої субодиниць
- Включає рРНК (40%) та білки (60%)
- Мала субодиниця має дві ділянки для приєднання тРНК - Р та А та ділянку для приєднання мРНК



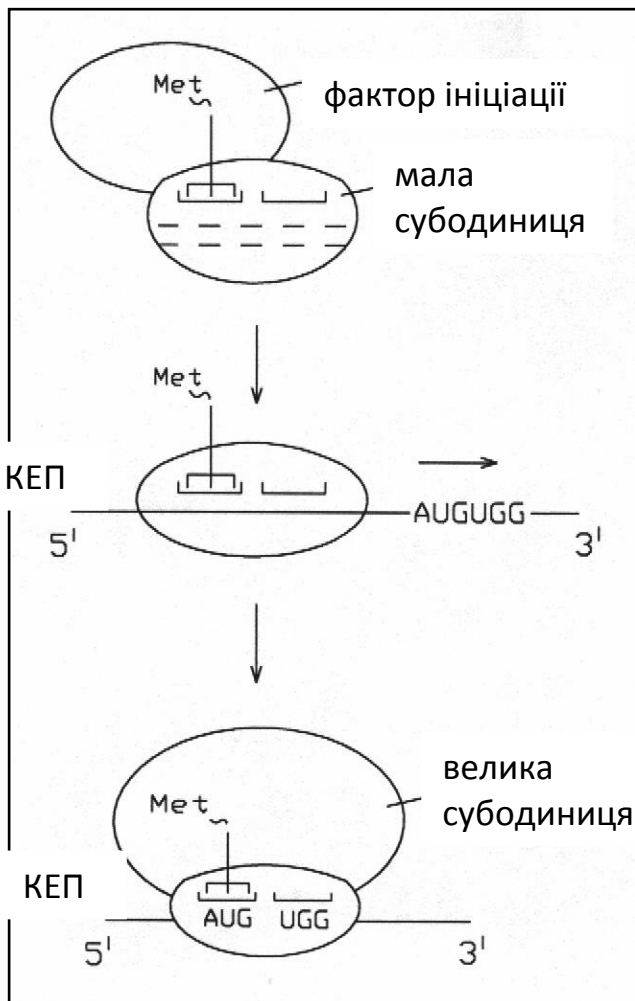
А - аміноацил-тРНК-пов'язуюча ділянка,
 Р - пептидил-тРНК-пов'язуюча ділянка,
 Е - ділянка відокремлення тРНК від рибосоми

Усі амінокислоти до початку синтезу активуються і мають назву *аміноацил-тРНК*:



Етапи трансляції:

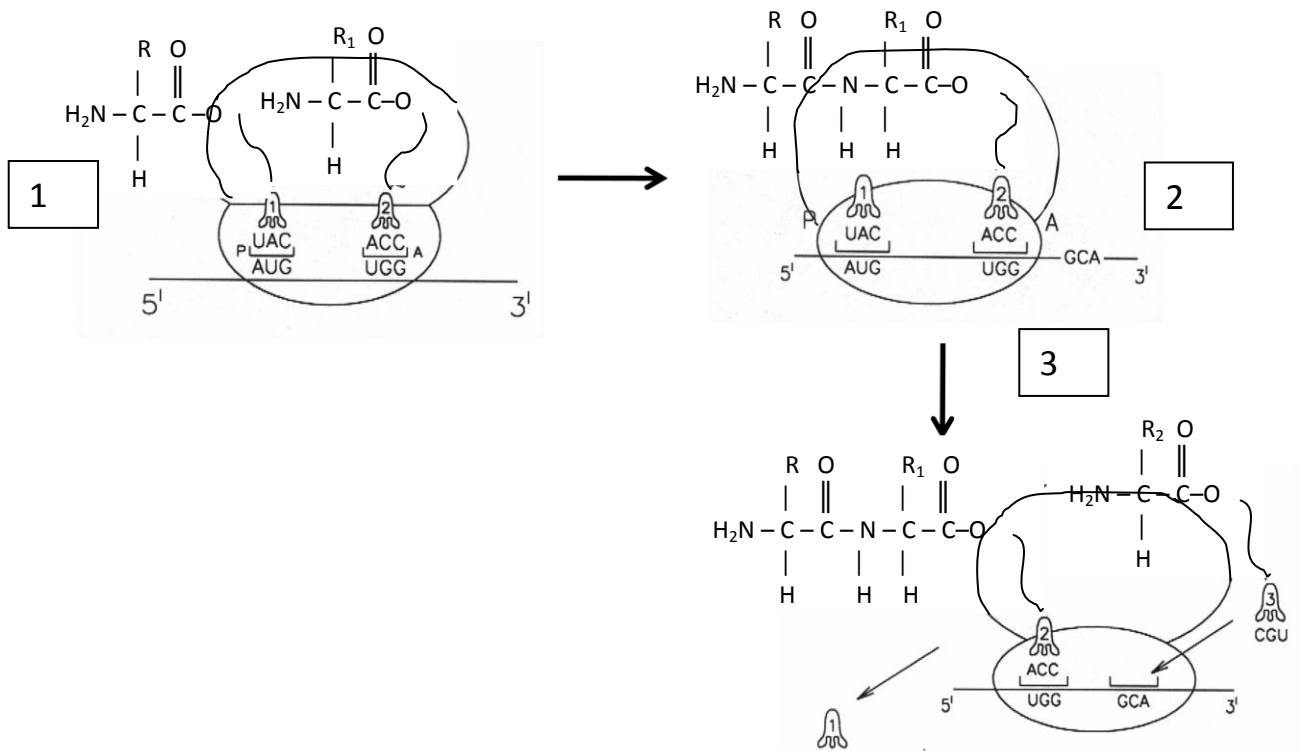
1. ІНІЦІАЦІЯ ТРАНСЛЯЦІЇ



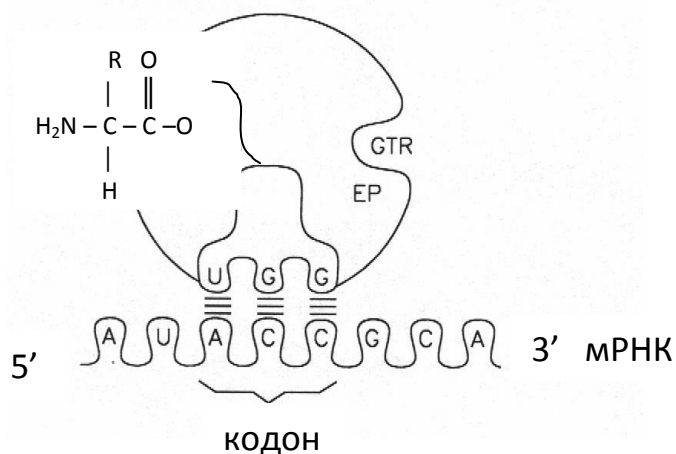
- Приєднання до Р-ділянки ініціаторної-тРНК, яка пов'язана з ІФ
- Мала субодиниця пізнає КЕП і приєднується до 5'-кінця мРНК-транскрипту
- Переміщення її вздовж ланцюга мРНК і пошук першого старт-кодону AUG, відокремлення ІФ
- Приєднання великої субодиниці

2. ЕЛОНГАЦІЯ ТРАНСЛЯЦІЇ

- Пов'язування нової аміноацил-тРНК в А-ділянці
- Карбоксильний кінець амінокислоти відокремлюється в Р-ділянці від молекули тРНК і утворює пептидний зв'язок з амінокислотою, приєднаної до молекули тРНК в А-ділянці (фермент пептидилтрансфераза)
- Нова пептидил-тРНК переноситься в Р-ділянку. Одночасно рибосома рухається вздовж мРНК на 3 нуклеотиди. Вільна тРНК повертається у цитоплазму
- Амінокислоти утворюють пептидний зв'язок



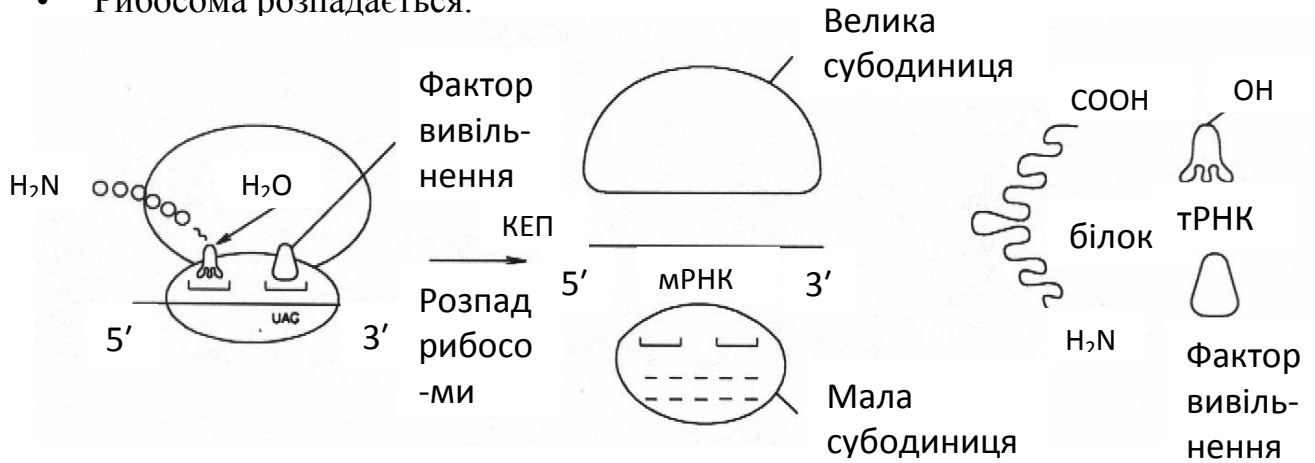
Точність спарювання кодону з антикодоном



3. ТЕРМІНАЦІЯ ТРАНСЛЯЦІЇ

- Рибосома доходить до одного із стоп-кодонів.

- Цитоплазматичні білки (фактори вивільнення) пов'язуються із стоп-кодоном, який досяг А-ділянки, що приводить до зміни активності пептидилтрансферази
- Пептидилтрансфераза приєднує воду до пептидил-тРНК.
- Білок відокремлюється від тРНК і йде у цитоплазму.
- Рибосома розпадається.



Кінцевий продукт трансляції – білок первинної структури



Первинна структура білка

