

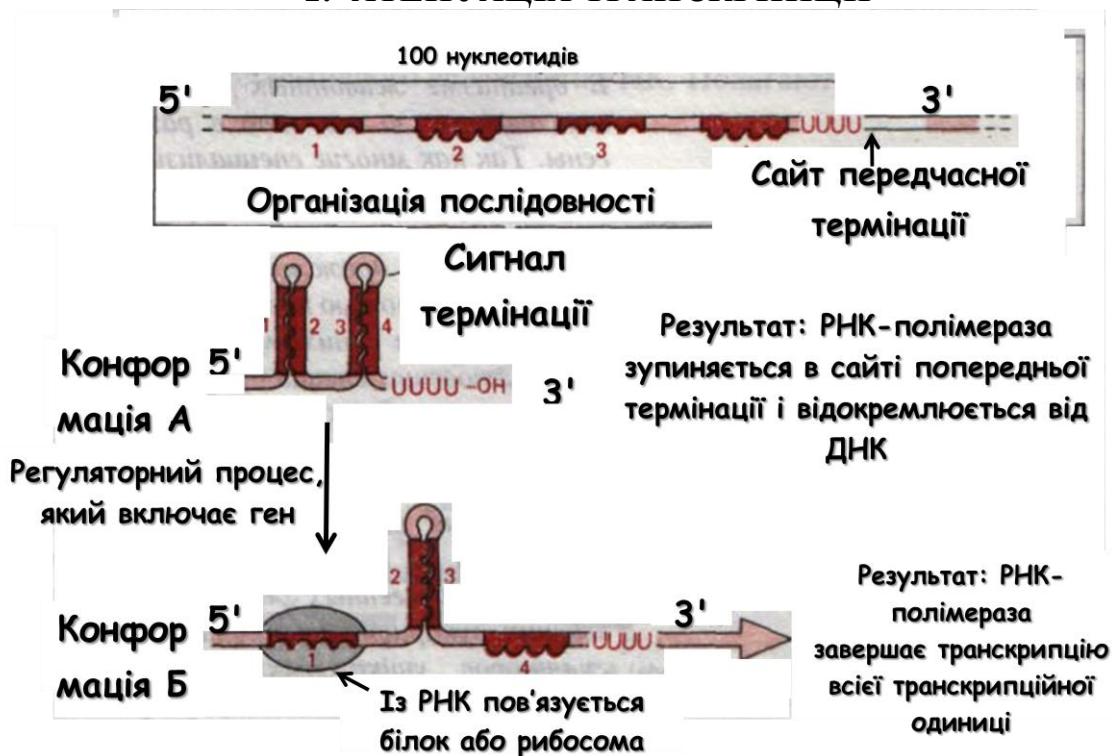
ТЕМА № 6: ПІСЛЯТРАНСКРИПЦІЙНА РЕГУЛЯЦІЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ

ПЛАН:

1. Атенуація транскрипції.
2. Сплайсинг РНК.
 - 2.1 Альтернативний сплайсинг РНК
 - 2.2 Транс-сплайсинг
 - 2.3 Автосплайсинг
3. Вибіркова деградація мРНК.
 - 3.1 Роль 3'-кінцевих нетранслюючих послідовностей
 - 3.2 Роль КЕПу
 - 3.3 Руйнування мРНК

Хоча контроль активності більшості генів здійснюється головним чином на рівні ініціації транскрипції, проте й пізніше, в ході передачі інформації від РНК до білка, такий контроль відбувається на самих різних етапах.

1. АТЕНУАЦІЯ ТРАНСКРИПЦІЇ



Феномен атенуації транскрипції вивчали переважно на бактеріях, де, за допомогою цього механізму, регулюється експресія багатьох генів. Для здійснення регуляції такого типу на початку РНК-ланцюга має бути присутня певна послідовність нуклеотидів, яка дозволяла б молекулі РНК перебувати в одній з двох можливих конформацій. Стабільнішу конформацію має петля РНК, яка служить сигналом термінації для бактеріальної РНК-полімерази; в результаті синтез РНК передчасно зупиняється. Однак, якщо з певною послідовністю зростаючої молекули РНК зв'язується регуляторна молекула,

ланцюг РНК здобуває таку конформацію, при якій сигналу термінації не утворюється, а виходить довга функціональна молекула РНК. У бактерій таким регуляторним компонентом зазвичай служить рибосома, яка в процесі трансляції «сідає» на зростаючий ланцюг РНК.

В еукаріот атенуація транскрипції бере участь в регуляції невеликого числа генів. Тому як в клітинному ядрі функціонально активні рибосоми відсутні, можливо, що з певними послідовність РНК зв'язуються регуляторні молекули, однак механізм атенуації в клітинах еукаріот не вивчений.

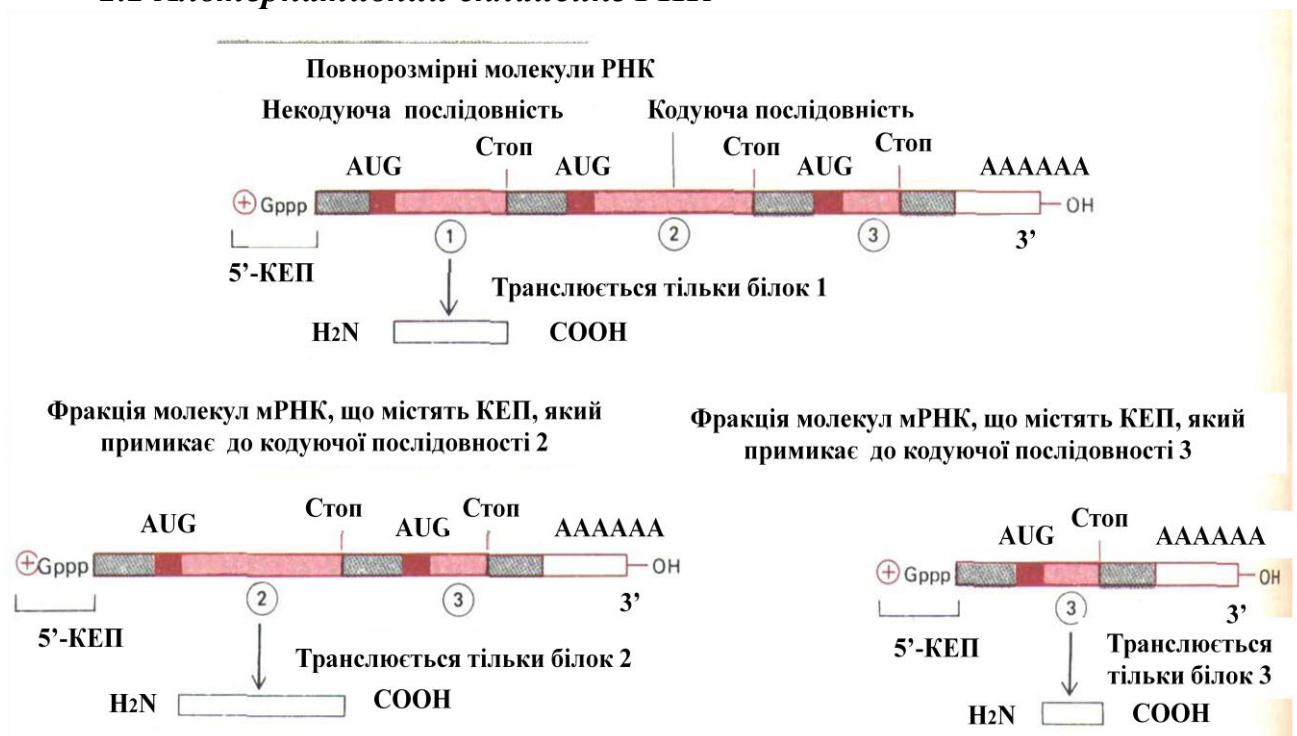
2. СПЛАЙСИНГ РНК.

Сплайсинг – видалення інтронів і з'єднання екзонів.

Типи інтронів:

- Інтрони I типу – в генах рРНК найпростіших (аутосплайсинг)
- Інтрони II типу в мітохондріальних генах багатьох еукаріот (аутосплайсинг)
- Інтрони III типу – в генах ядерних мРНК (сплайсосома).

1.1 Альтернативний сплайсинг РНК



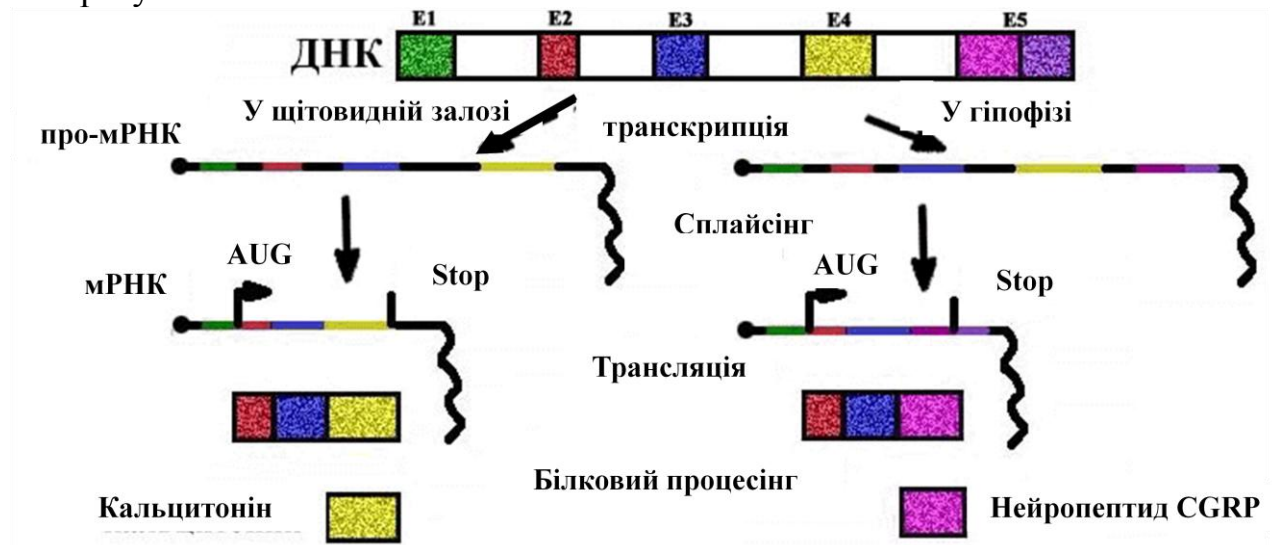
Спочатку сплайсинг РНК був відкритий у вірусів. Виявилося, що з одного первинного транскрипту у них утворюється декілька молекул мРНК, і, отже, синтезується кілька різних білків. Багато генів вищих еукаріот утворюють різні білки саме за допомогою альтернативного сплайсингу РНК. Якщо в декількох ділянках транскрипта існують різні точки сплайсингу, то один і той же ген може служити матрицею для десятків різних білків. Зазвичай, однак, можливості сплайсинга обмежені і з кожного транскрипта транслюється лише кілька білків

Альтернативний сплайсинг - механізм сплайсингу РНК, який може використовувати кодуючі послідовності в якості інтронів і видаляти їх. При

цьому один і той же 5'-КЕП здатний з'єднуватися з будь-якою кодуючою послідовністю, що лежить за ним, утворюючи різні мРНК.

Альтернативний сплайсинг мРНК кальцитонінового гену у ссавців (щери)

У всіх клітинах є кальцитоніновий ген, але в клітинах щитовидної залози він експресується у вигляді гормону кальцитоніну, а в клітинах гіпофіза - нейропептиду CGRP (пептиду, що має відношення до гену кальцитоніну). Ген один, а білки виходять різні в результаті сплайсингу мРНК і процесінгу поліпептидів. У клітинах інших тканин цей ген не експресується.

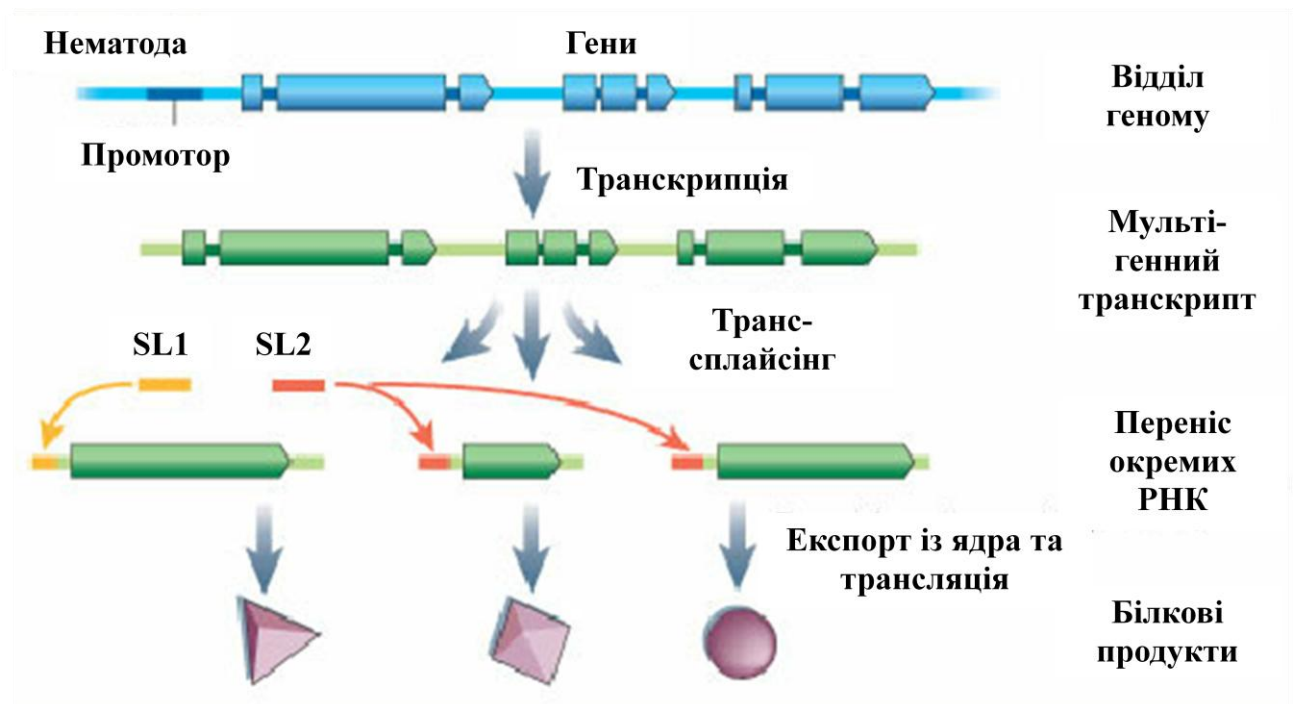


1.2 Транс-сплайсинг

Транс-сплайсинг - форма сплайсингу, при якій з'єднуються РНК різних транскриптів.

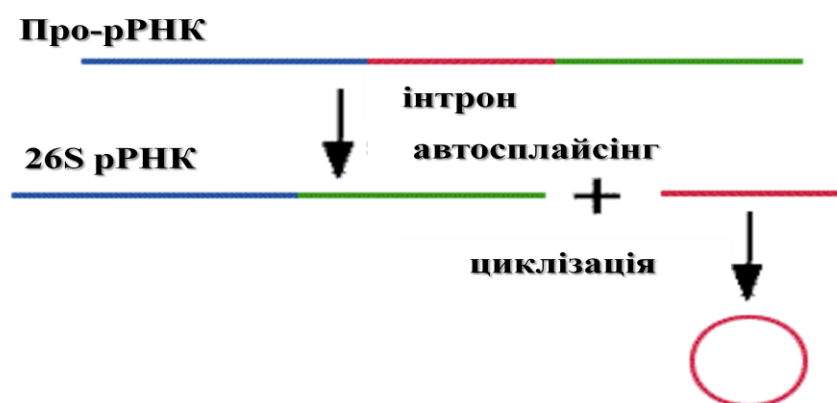
У трипаносом, нематод і деяких інших нижчих еукаріотів описані випадки транс-сплайсингу, в результаті якого до мРНК пришивається коротка лідерна послідовність, яка приходить з іншої частини геному.

Транс-сплайсинг описаний також у дрозофіли та інших вищих еукаріот.



1.3 Автосплайсинг

Автосплайсинг відкритий Томасом Чеком (США) у 1982 році. Він працював з інфузорією *Tetrachylena thermophyla*. У цієї інфузорії утворюється 35S про-рРНК довжиною 6400 нуклеотидів. Без участі додаткових сполук білкової природи з цієї про-рРНК вирізається внутрішня ділянка довжиною в 414 нуклеотидів. Два екзона зшиваються з утворенням 26S рРНК. Єдина вимога - певна концентрація іонів магнію. Про-рРНК має третинну структуру і володіє каталітичною активністю. Вперше було показано, що каталітичною активністю володіють не тільки білки.



3. ВИБІРКОВА ДЕГРАДАЦІЯ мРНК

Феномен деградації мРНК як регуляторного явища вперше виявлений у бактерій.

- Всі РНК бактеріальної клітини розділені на два класи:
1. **Стабільні** - рибосомні і транспортні РНК.
 2. **Нестабільні** - матричні РНК.

Швидка деградація мРНК після припинення її біосинтезу в результаті регуляторних впливів на гени, що транскрибуються, дозволяє клітинам бактерій легко адаптуватися до мінливих умов навколишнього середовища і дає їм відчутні селективні переваги перед клітинами, які не мають такого регуляторного механізму. Швидка адаптація особливо актуальна для бактерій – одноклітинних організмів з коротким життєвим циклом.

Клітини еукаріотичних організмів здатні виводити мРНК з трансляції, не руйнуючи її. Це часто досягається:

1. Регулюванням процесінгу попередників мРНК.
2. Утворенням рибонуклеопротейдних комплексів – інформосом (комплекси мРНК із білками, що захищає їх від руйнування ферментами).
3. Специфічною модифікацією регуляторних послідовностей мРНК.

В еукаріотів час напівжиття стабільних мРНК, таких як глобінової мРНК, складає ~ 17 год, а час функціонування мРНК факторів росту не перевищує 30 хв.

Фізіологічні наслідки таких відмінностей очевидні: якщо глобінові мРНК продовжують транслюватися протягом всього життя у попередників еритроцитів, то потреба у факторах зростання обмежується фазами клітинного циклу, безпосередньо пов'язаними з поділом клітини. Зокрема, відомо, що збільшення стабільності мРНК протоонкогена *c-fos* під дією мутацій супроводжується безперервним поділом мутантних клітин і утворенням пухлин.

3.1 Роль 3'-кінцевих нетранслюючих послідовностей

Час життя еукаріотичних мРНК в цитоплазмі найчастіше контролюється їх 3'-кінцевими нетранслюючими послідовностями (UTR). Лабільні мРНК містять в цій області один або кілька пентануклеотидів AUUUA і багато U, що переміжуються залишками А. Вони називаються ARE-елементами (adenylate / uridylylate-rich elements), які надають полірибонуклеотиду конформації, що роблять його високочутливим до розщеплення нуклеазами.

Розрізняють три класи ARE-елементів:

1. Елементи 1-го класу містять одну-три копії послідовності AUUUA, які асоційовані з U-багатою областю.
2. Для елементів 2-го класу характерна наявність двох копій, що перекриваються, нонануклеотидних послідовностей UUAUUUA (U/A) (U/A), включених в U-багату послідовність.
3. Елементи 3-го класу, зовсім не містять послідовності AUUUA.

ARE-залежна деградація мРНК відбувається двома різними шляхами. Процес починається з деаденілірування 3'-кінцевих полі (А) - послідовностей мРНК. Проходить з різною швидкістю в залежності від класу ARE-послідовностей, присутніх у мРНК.

1. При наявності ARE-елементів 2-го класу деаденілювання окремих молекул протікає асинхронно за процесивним (неперервним) механізмом і закінчується утворенням молекул мРНК, що не містять 3'-кінцевих полі (А)-послідовностей.
2. На відміну від цього ARE-елементи 1-го і 3-го класів направляють деаденілювання за дистрибутивним механізмом (повільно). При цьому окремі молекули деаденілюються синхронно, і на кінцях мРНК залишаються полі (А)-послідовності довжиною в 30-60 нуклеотидів.

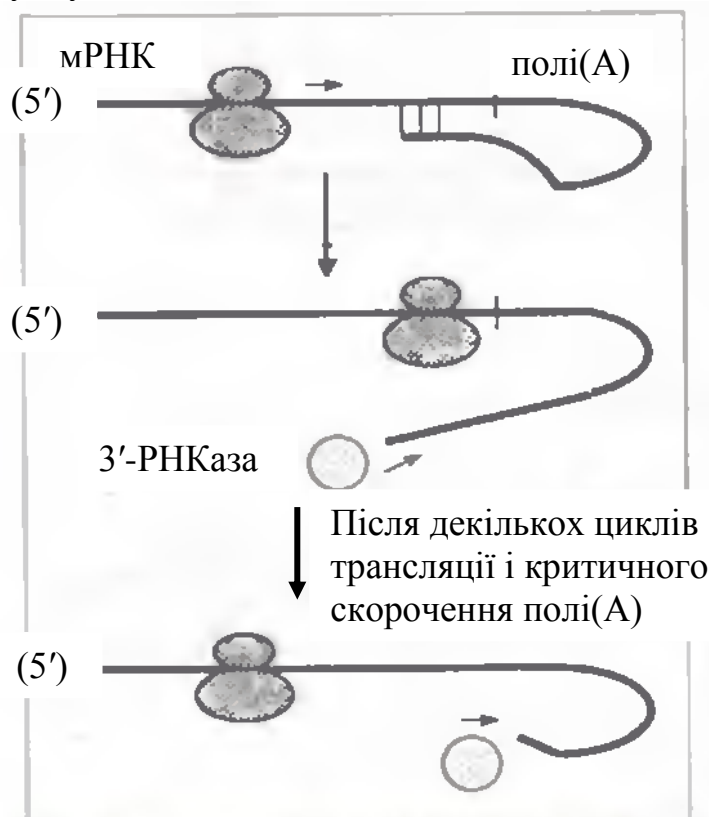
Швидкість подальшої деградації процесованих мРНК може бути різною і залежить від регулюючої на рівні деградації мРНК експресії генів.

3.2 Роль КЕПу

У тютюнового бражника *Manduca sexta* ефективність трансляції певних мРНК змінюється при ковалентній модифікації їх 5'-кінцевих КЕП-груп.

В ооцитах бражника запасені мРНК містять КЕП-групу у вигляді неметильованого залишку гуанозину. Такі мРНК не транлюються рибосомами. Але після запліднення КЕП-групи мРНК швидко метилуються з утворенням залишку 7-метилгуанозину і стають активними матрицями при трансляції.

3.3 Руйнування мРНК

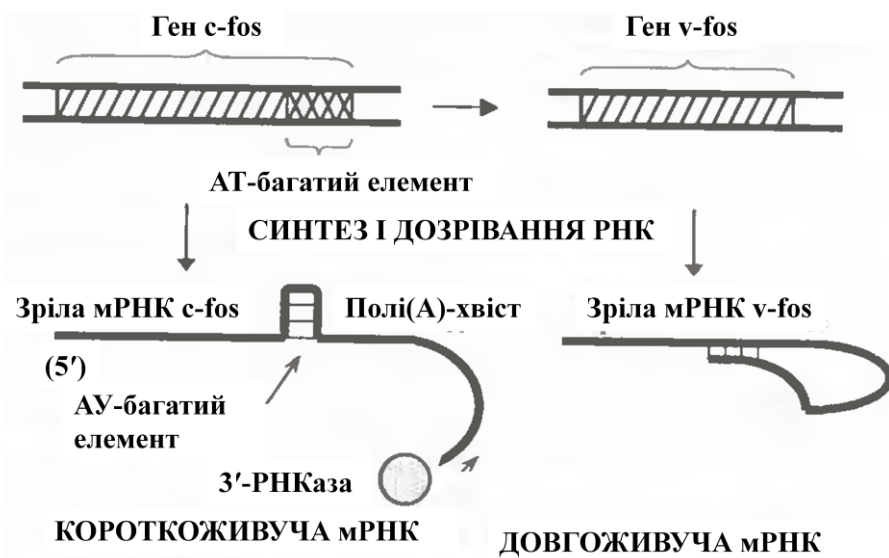


мРНК руйнується на нуклеотиди, за участю РНКаз.

У бактерій руйнування починається з 5'-кінця. У еукаріот – з 3'-кінця: полі-А-хвіст утворює петлю за рахунок взаємодії 3'-кінця з ділянкою мРНК.

В результаті 3'-кінець стає недоступним для 3'-РНКази. Коли проходить рибосома, петля на якийсь час розривається і 3'-кінець стає доступним для РНКази, яка відщеплює 10-15 нуклеотидів. Після вивільнення ділянки від рибосоми скорочена петля знову відновлюється. Коли від полі-А-фрагмента залишається близько 50 нуклеотидів, петля утворитися не може і РНКаза безперешкодно руйнує весь ланцюг мРНК.

Ген *c-fos* – протоонкоген, який кодує один із транскрипційних факторів:



При делеції невеликої області, яка відповідає АУ-елементу мРНК, час напівжиття мРНК зростає і протоонкоген перетворюється в онкоген.

Після скорочення полі-А-хвоста, відбувається відрізання КЕПу ферментом. Після декепірування 5'-кінець підпадає впливу 5'-екзонуклеази.

Т.ч. нуклеази одночасно руйнують мРНК в $5' \rightarrow 3'$ і $3' \rightarrow 5'$ напрямку.

Контроль стабільності мРНК.

Велика частина мРНК нестабільна у бактерій. У еукаріотів вона більш стабільна - до 10 годин. Нестабільні мРНК часто кодують білки-регулятори, концентрація яких швидко змінюється.

Стабільність мРНК може змінюватися у відповідь на внутрішньоклітинні сигнали: наприклад, стероїдні гормони посилюють транскрипцію генів у клітинах і заодно підвищують стабільність деяких мРНК, що прочитуються з цих генів. І навпаки: додавання заліза до клітин зменшує стабільність мРНК, яка кодує білок (рецептор), що зв'язує залізо.