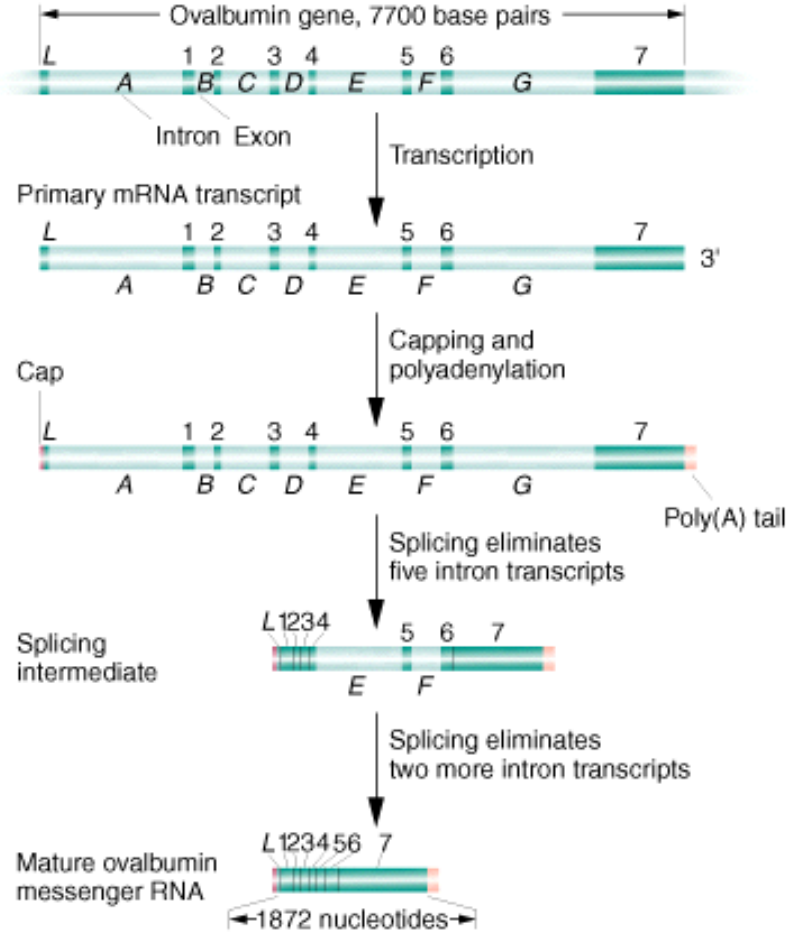
Лекция 7

Володина Наталья

Процессинг РНК

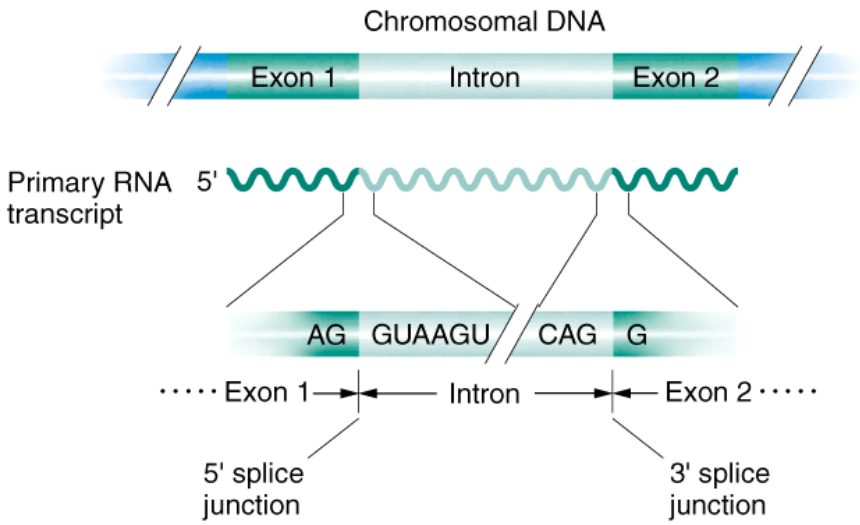


- Сплайсинг
- Добавление CAP, poly A
- Альтернативный сплайсинг
- Процессинг тРНК и рРНК
- Рибозимы
- Деградация РНК

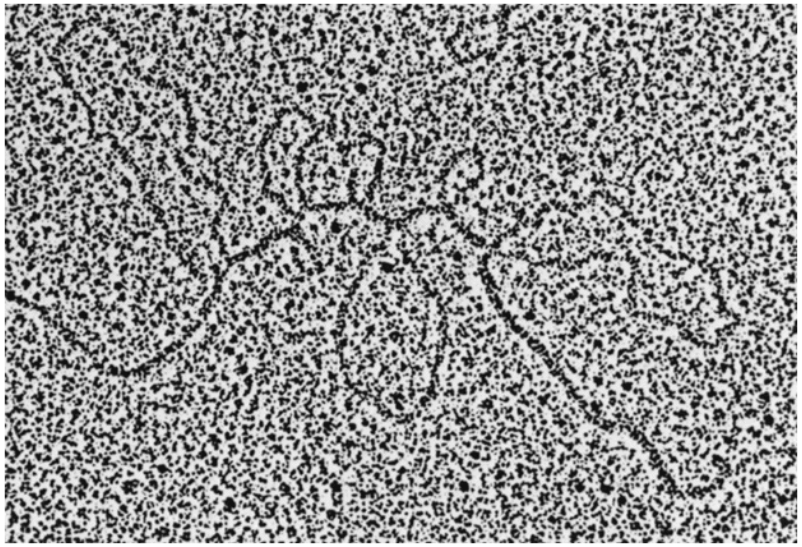
Первичный транскрипт

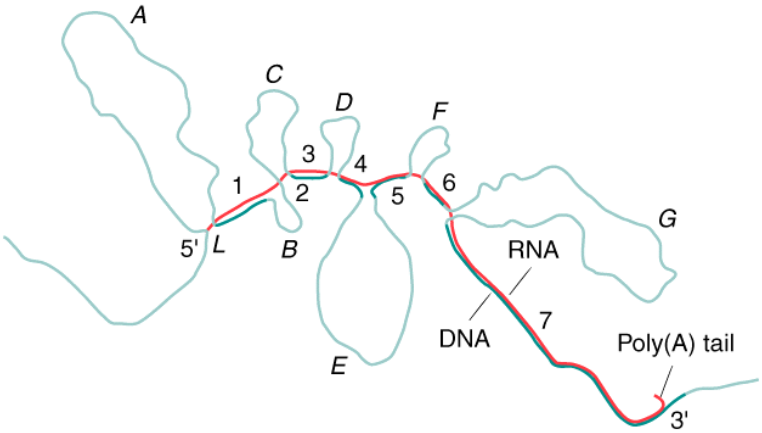
- Комплементарный кодирующей цепи ДНК
  - Модификации мРНК создают рамку считывания
    - Процессинг РНК
    - Сплайсинг
  - тРНК – сплайсинг, отрезание последовательностей на 5’ and 3’ концах и модификация оснований
  - рРНК вырезаются из единой пре-рибосомной РНК, содержащей по одной копии 18, 5.8 and 28S рРНК

Интроны

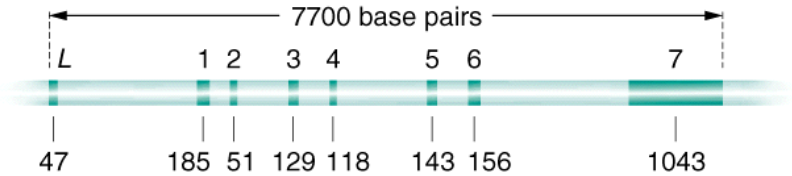


- Последовательности РНК вырезаемые в процессе превращения первичного транскрипта в мРНК
- В основном характерны для более развитых организмов
  - Очень мало у бактерий
  - У эукариот особенно часто встречаются у высокоразвитых организмов, особенно в составе одного и того же гена
- Гены без интронов
  - Например кодирующие гистоны
  - Также не процессируются





(b)

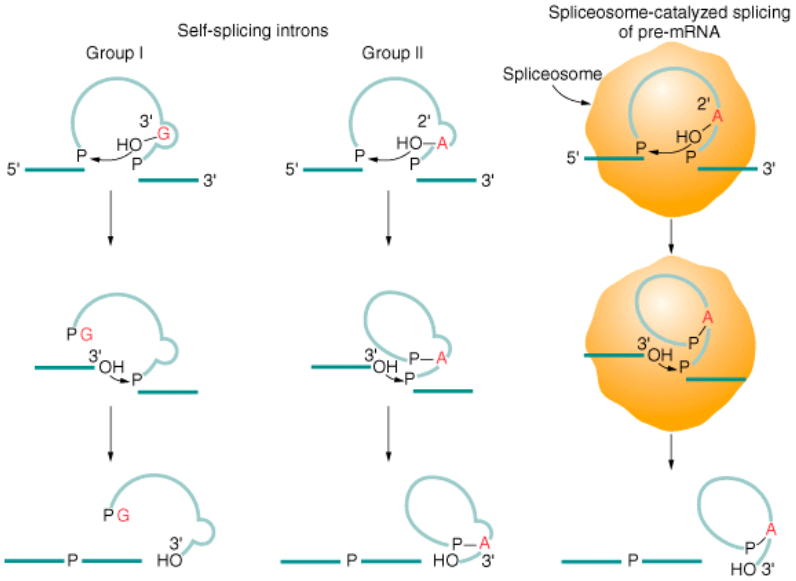


(c)

Интроны

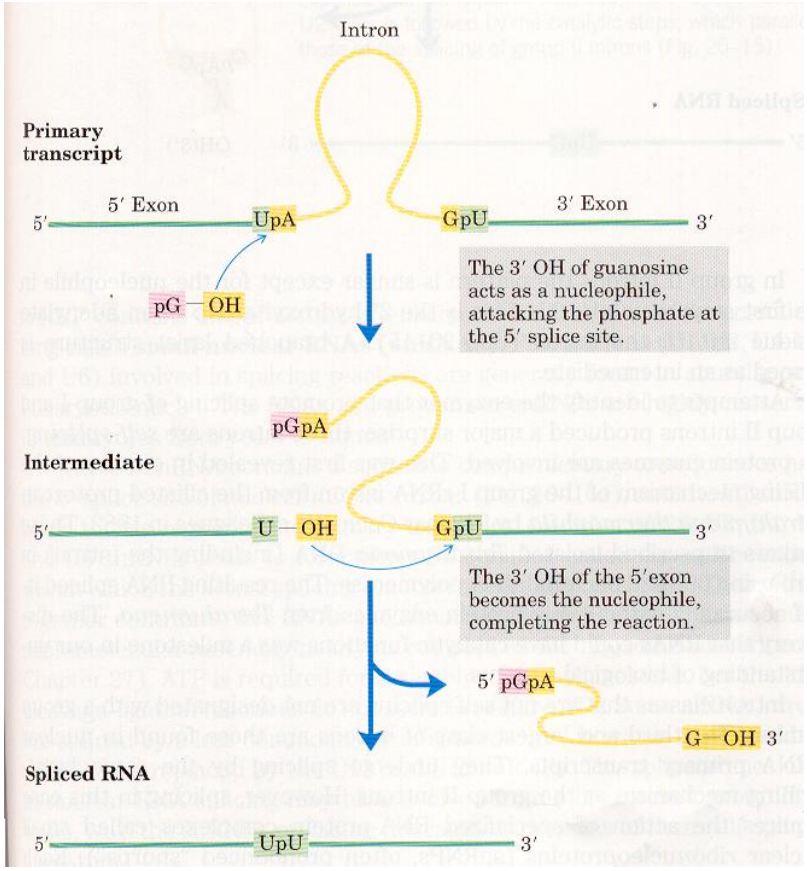
- Изначально описаны у Аденовируса и у гена куриного овальбумина
  - Ген и мРНК были денатурированы и гибридизованы между собой
  - Электронная микроскопия обнаружила образование петель где присутствовали интроны

Интроны



- 4 класса
  - ядерная и не-ядерная рРНК, тРНК и мРНК
  - не-ядерная мРНК не у животных
  - Ядерная мРНК
  - тРНК сплайсинг, требующий эндонуклеазу и АТФ

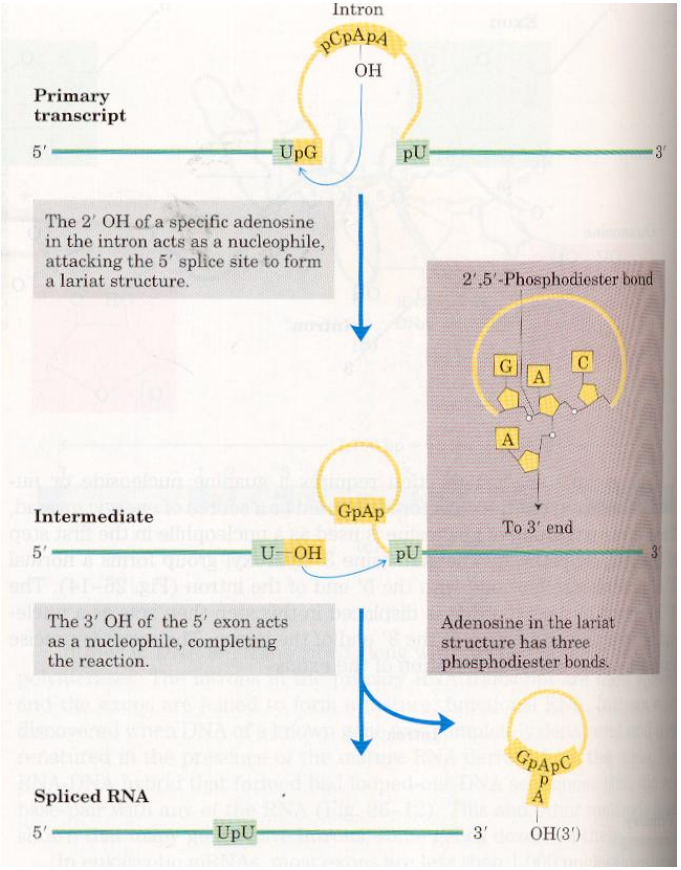
Первая группа



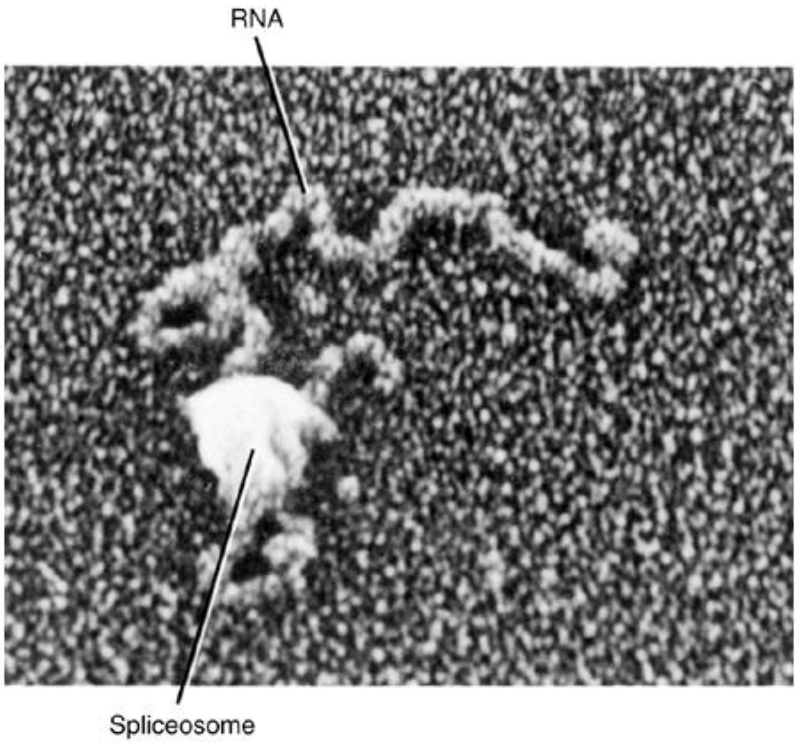
- Катализируется самой мРНК
- Трансэстерификация не требует затраты энергии и протекает спонтанно
- Интрон впоследствии разрушается
- Требует участие Гуанозина, который остается на интроне
- Гуанозин разрушает и вклинивается в 5’ конец интрона

Вторая группа

- Подобно Группе 1 но с участием внутреннего Аденина
- Образуется характерная структура Лассо
- Также само-катализ



Сплайсинг ядерной мРНК

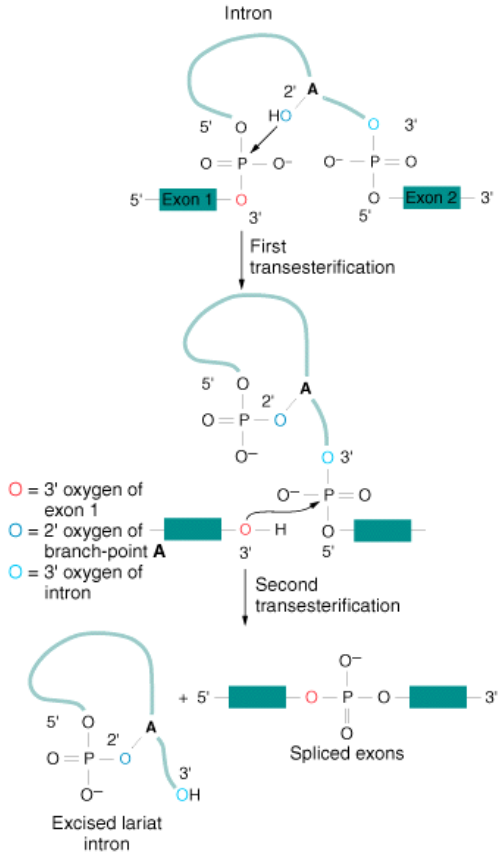


- С участием маленьких рибонуклеопротеиновых частиц - small nuclear ribonucleoprotein complexes (snRNP’s)
  - Содержащих snРНК
  - Необходимы для образования сплайсеосомы

Механизм сплайсинга

- http://vcell.ndsu.edu/animations/mrnasplicing/movie.htm

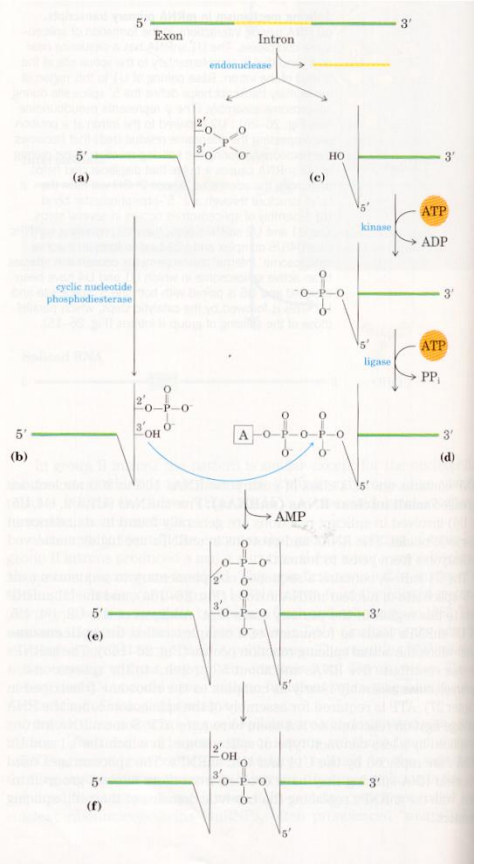
Сплайсинг ядерной мРНК



- Границы интрон-экзон распознаются малыми ядерными РНК
- Консенсусные последовательности в интронах гибридизуются с snRNA’s
    - Белки идругие мя РНК собираются в сплайсеосому на транскрипте
    - Неспаренный А на 3’ конце интрона атакует 5’ границу интрон-экзон
        - Образуется лариатная структура
    - Нуклеотидное замещение
    - Образрование сплайсеосомы требует АТФ

Сплайсинг, требующий ферментов

- Некоторые тРНК дрожжей
- Специалтные ферменты требуются для узнавания, разрезания и склеивания
- Напимер, киназа, РНК лигаза

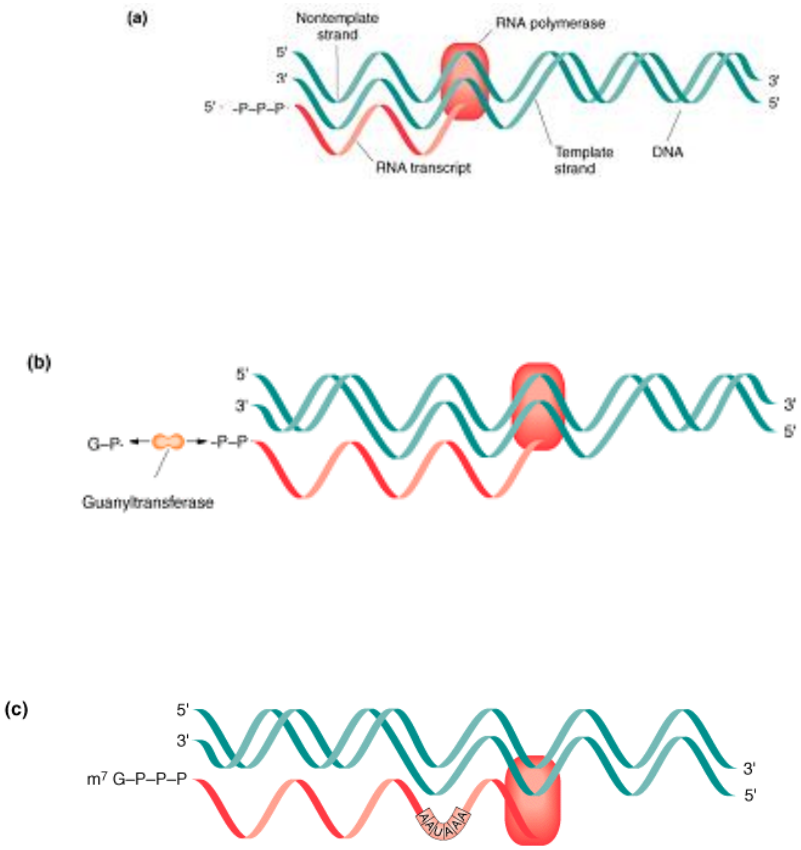


Процессинг мРНК

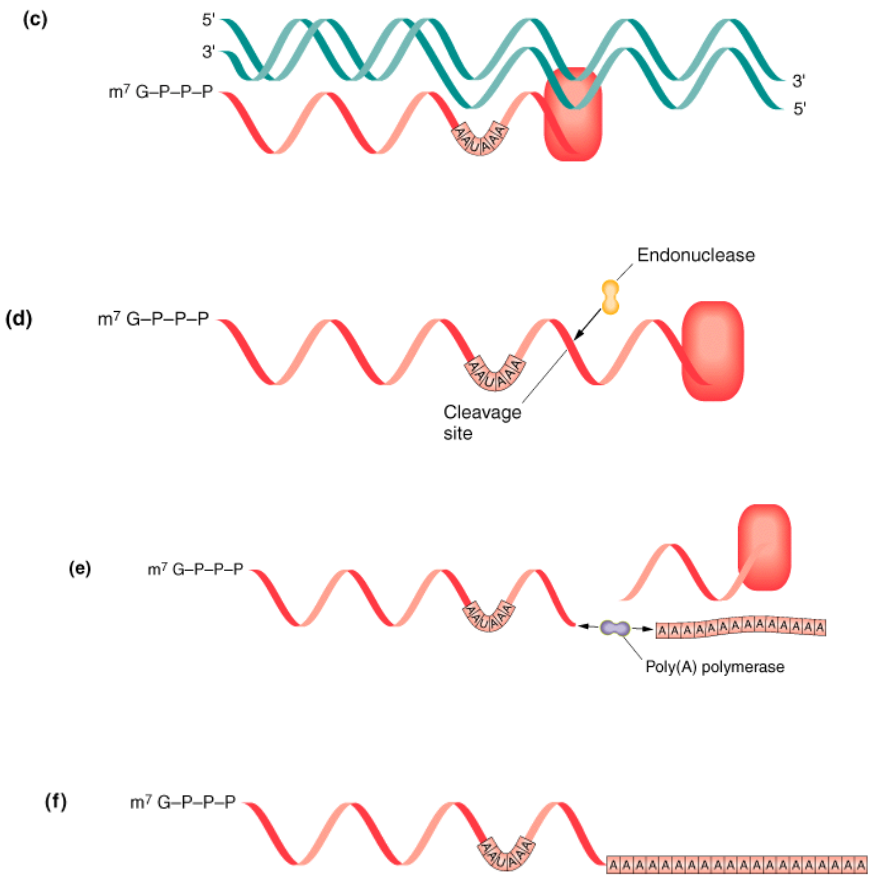
- http://vcell.ndsu.edu/animations/mrnaprocessing/movie-flash.htm

Кэппинг

- 7-methyl G добавляется к 5’ концу мРНК в ядре
- Вначале добавляется GTP
- Этот G затем метилируется



Полиаденилирование



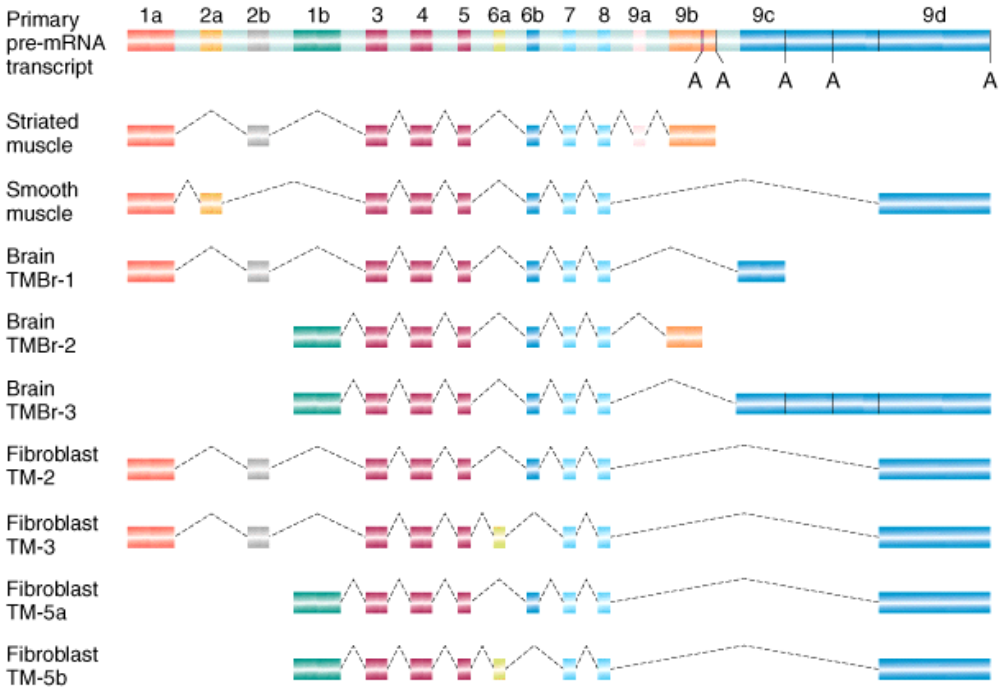
Транскрипция останавливается вскоре после последовательности AAUAAA

- Конец первичного транскриптп отрезается после этой последовательности
  - 3’ гидроксильная группа – субстат для добавления AAAAA ферментом полиаденилат полимеразой примерно 200 п.о.

Разные мРНК из одного и того же гена

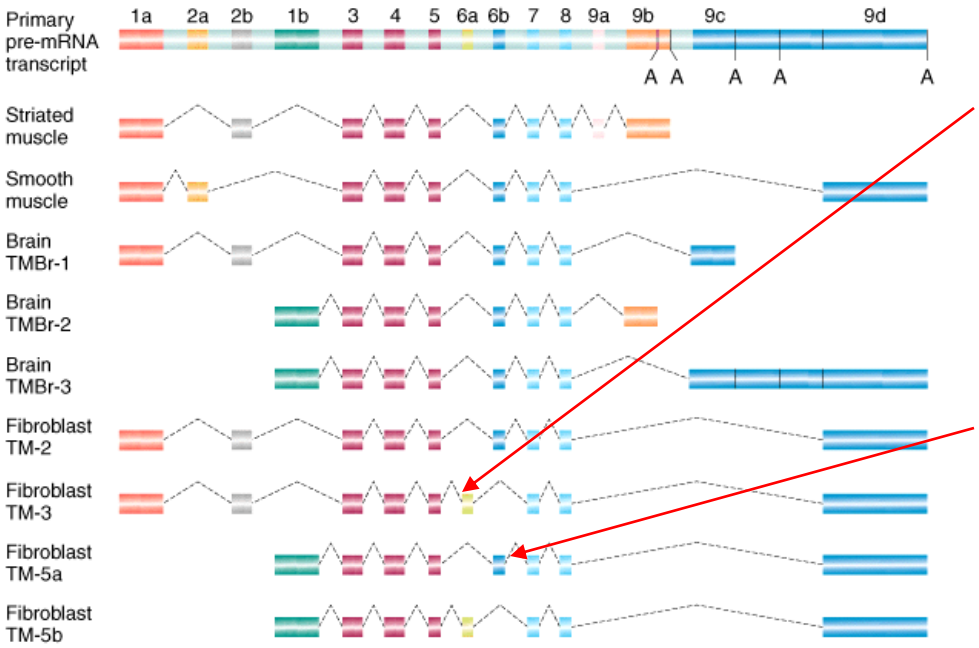
- В зависимости от типа клетки
- Потому что мяРНКи и компоненты сплайсеосомы – разные в разных клетках

Альтернативный сплайсинг



Альтернативный сплайсинг Пропускание экзонов

- Целый экзон может быть пропущен
- Тяжелая цепь миозина в развитии плодовой мушки
- Исключение одной из границ 3’



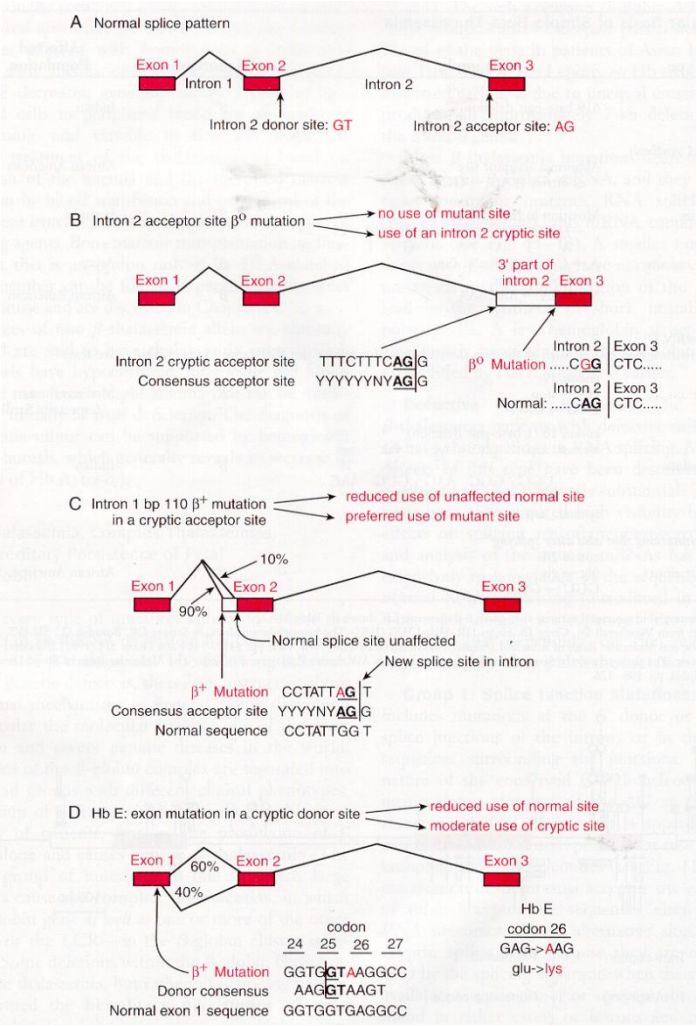
Альтернативный сплайсинг
Скрытые точки сплайсинга

Экзоны также могут добавляться

Альтернативный экзон обычно не узнается

Сайты сплайсинга могут также разрушаться мутациями

В таком случае клетка может выбрать скрытый сайт внутри гена, обычно не используемый для сплайсинга

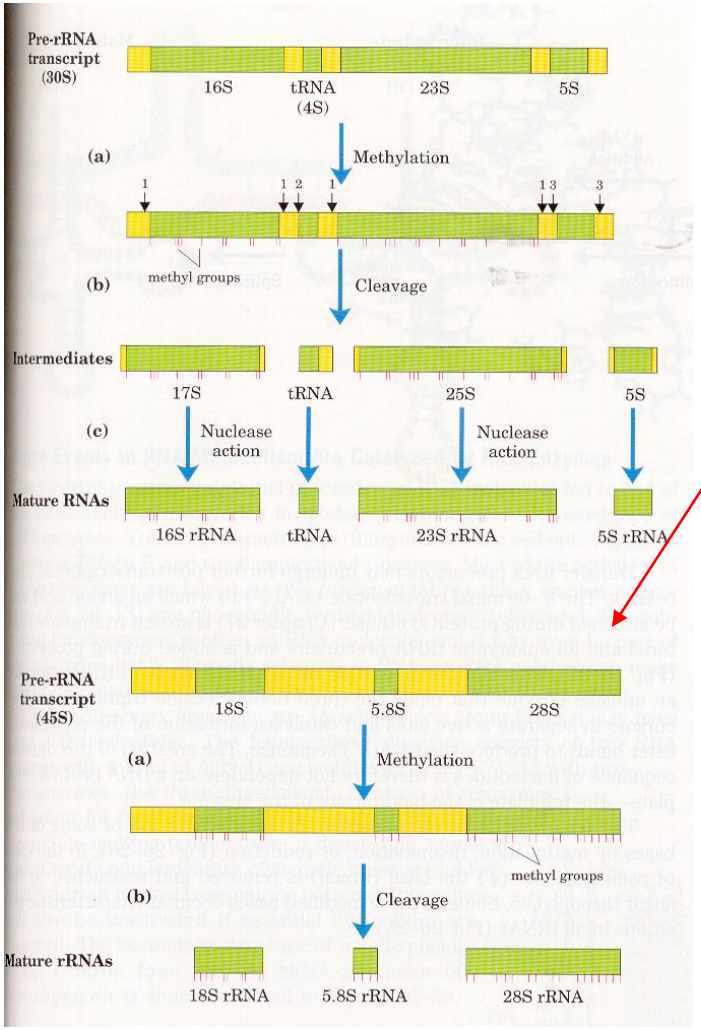


Примеры альтернативного сплайсинга

- Не соответствует догме: 1 ген – 1 белок

- http://evolution-development.blogspot.com/
- http://science.jrank.org/pages/2950/Gene-Splicing-Alternative-splicing.html

Процессинг т РНК и рРНК

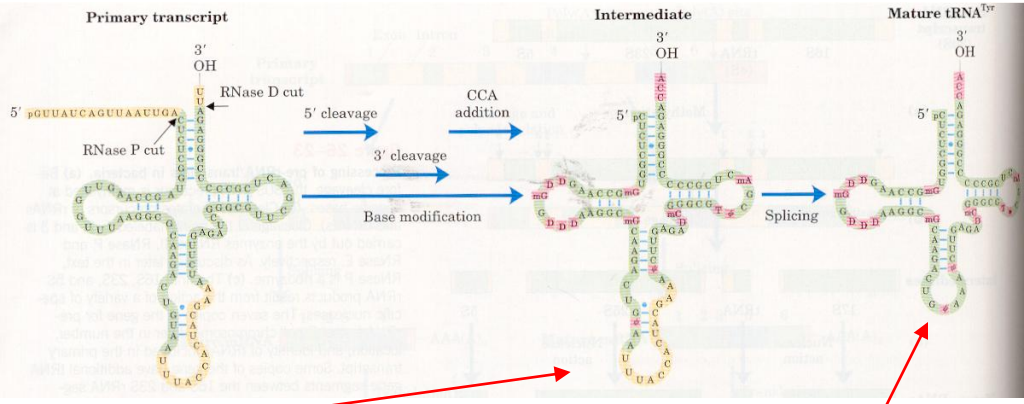


- Прокариоты
- Эукариоты
- 18S, 5.8S and 28 S рРНК сделаны как один длинный транскрипт. Он разрезается в отдельные рРНК с помощью ферментов

тРНК

Концы первичного транскрипта обрезаются РНКазой Р и РНКазой D , CCA на 3’ конце энзиматически полимеризуется

– Эта последовательность важна для связывания с амино кислотой



- Потом происходит сплайсинг специфического сегмента
- И модификация отдельный оснований

Рибозимы

Каталитические РНК

- Пример – само-сплайсинг
- Некоторые интроны группы I могут катализировать реакции трансэстерификации
- Однако рибозимы нестабильны и легко разрушаются РНКазами

Деградация РНК

- Количество РНК как и количество белков регулируется в клетке
- Деградация у эукариот
  - полиА хвост разрушается эндонуклеазами
  - Убирается кап
  - Дальше РНК разрушается с 5’ конца
- Разрушение РНК производят экзонуклеазы и они могут быть заторможены вторичными структурами в РНК, например – «шпильками»
- **Экзонуклеазы** — белки из группы нуклеаз, отщепляющие концевые мононуклеотиды от полинуклеотидной цепи путем гидролиза фосфодиэфирных связей между нуклеотидами.
- **Эндонуклеазы** — белки из группы нуклеаз, расщепляющие фосфодиэфирные связи в середине полинуклеотидной цепи

Обсуждение

- Ваши комментарии, вопросы
- Деление на группы для презентаций
- Выбор темы