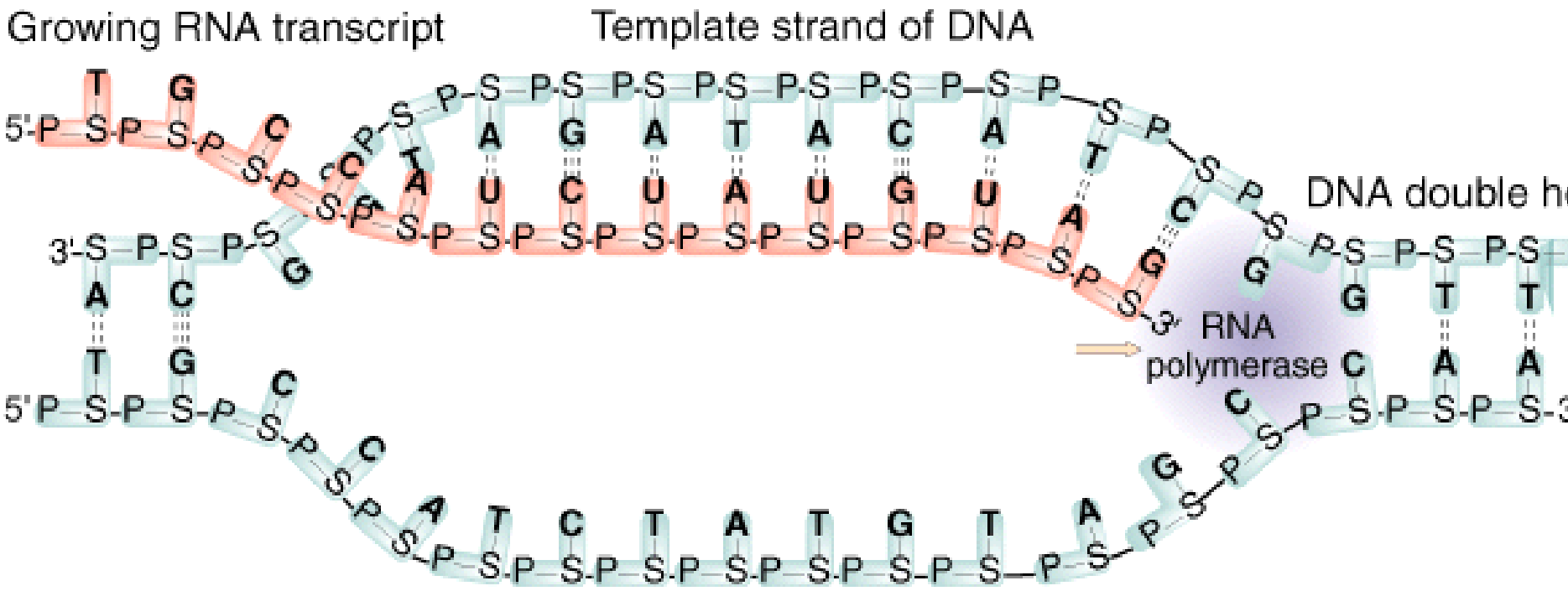
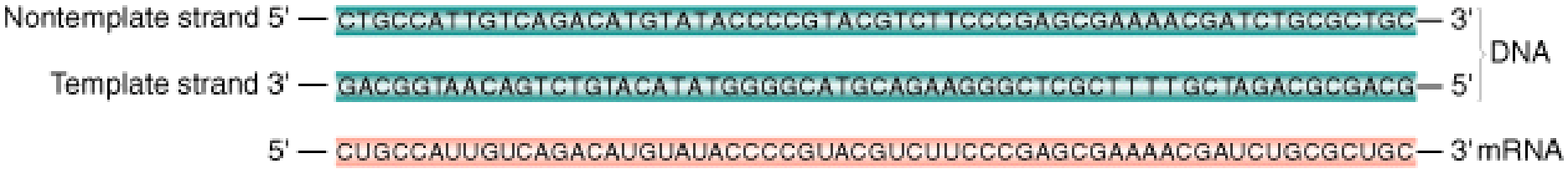
Лекция 5
Наталья Володина

Транскрипция

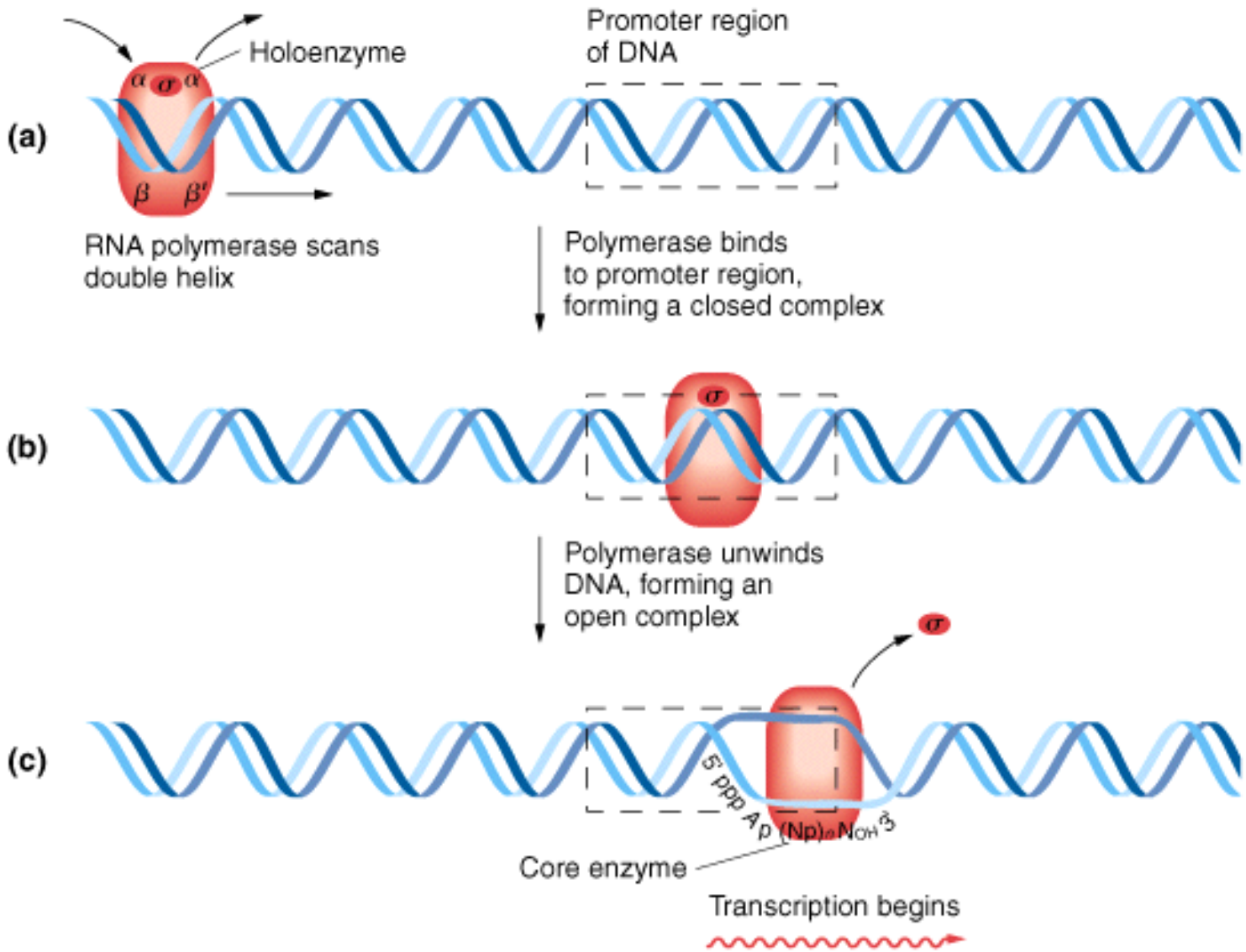


Транскрипция, трансляция
Альбертс глава 5

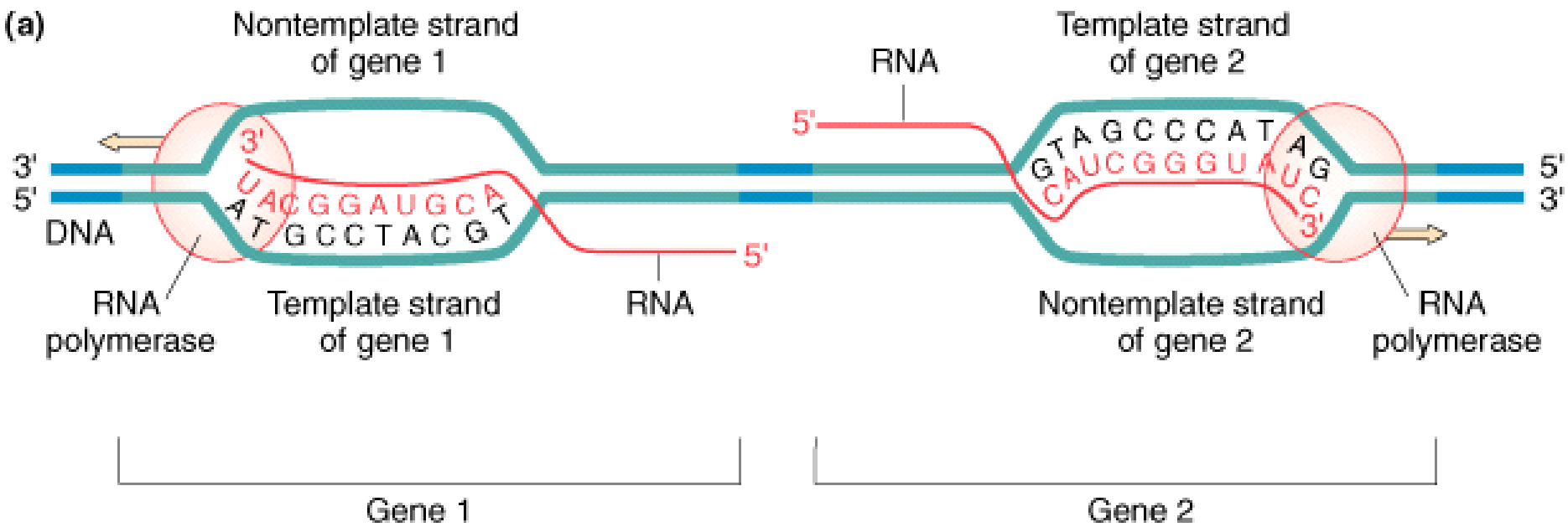
Матрица


Nontemplate strand 5' — CTGCCATTGTCAGACATGTATACCCCGTACGTCTTCCCGAGCGAAAACGATCTGCGCTGC — 3'
Template strand 3' — GACGGTAACAGTCTGTACATATGGGGCATGCAGAAGGGCTCGCTTTTGCTAGACGCGACG — 5'
DNA
5' — CUGCCAUUGUCAGACAUGUAUACCCCGUACGUCUUCCCGAGCGAAAACGAUCUGCGCUGC — 3' mRNA

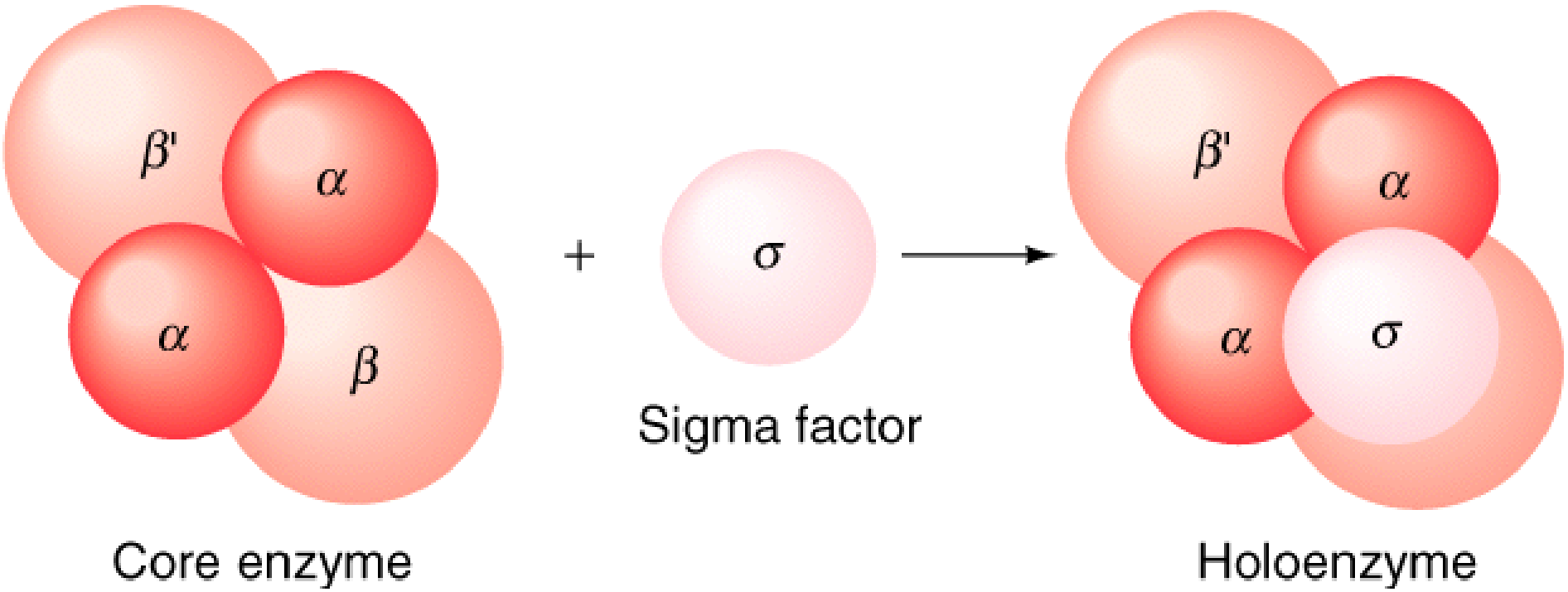
Основы полимеризации



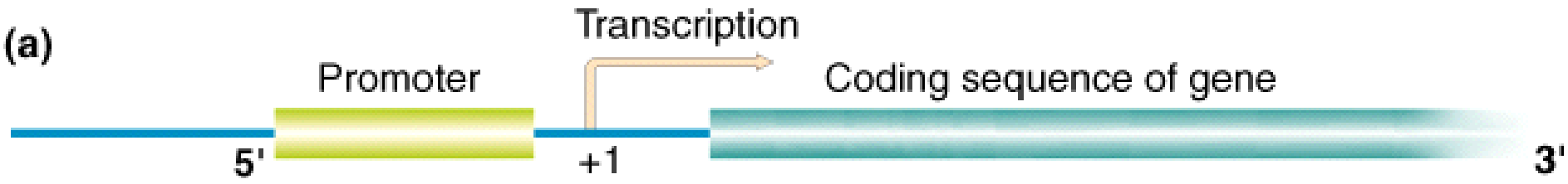
Цепи ДНК


(a)
Nontemplate strand of gene 1
RNA
Template strand of gene 2
3'
5'
DNA
3'
5'
5'
3'
5'
3'
RNA polymerase
Template strand of gene 1
RNA
Nontemplate strand of gene 2
RNA polymerase
Gene 1
Gene 2

РНК полимераза (прокариоты)



Промотер



Консервативные последовательности

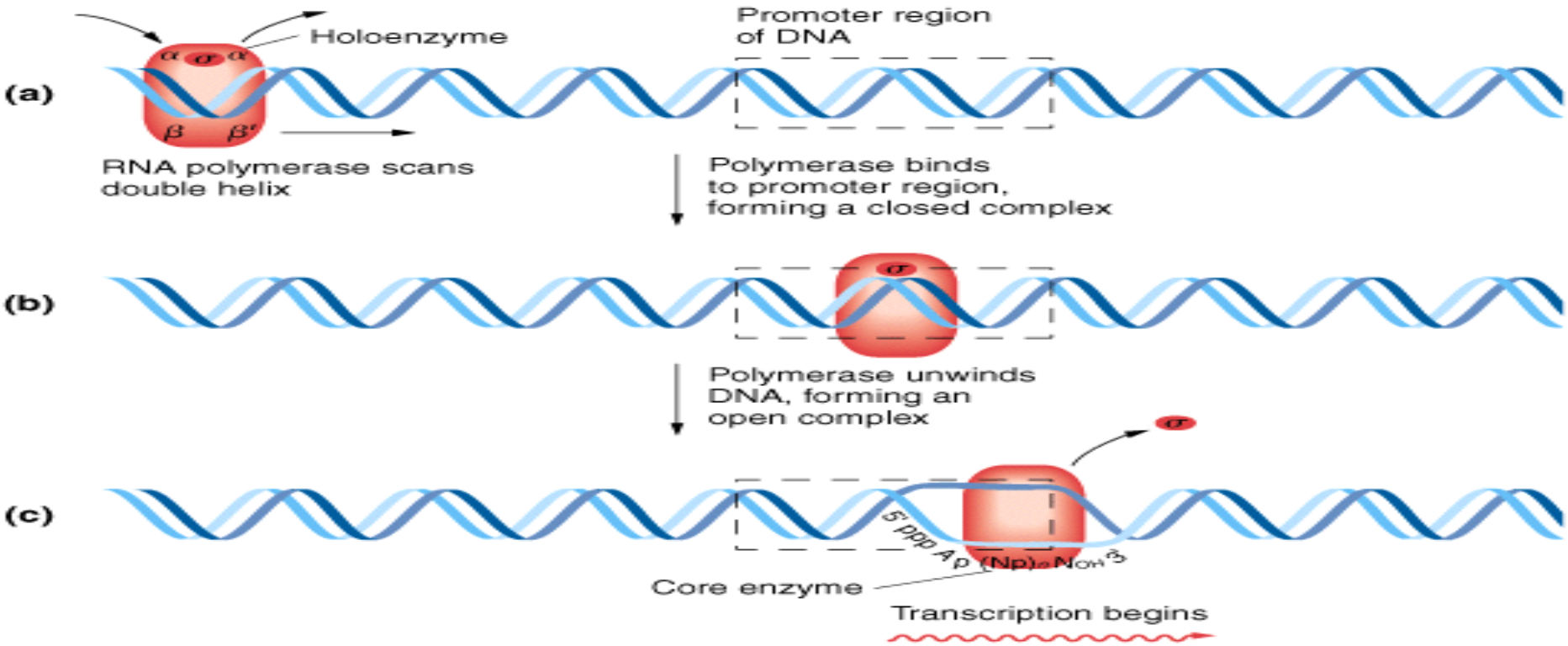
(b) Strong *E. coli* promoters

tyr tRNA	TCTCAACGTAACACTTTACAGCGGCG••CGTCATTTGATATGATGC•GCCCCGCTTCCCGATAAGGG
rrn D1	GATCAAAAAAATACTTGTGCAAAAAA••TTGGGATCCCTATAATGCGCCTCCGTTGAGACGACAACG
rrn X1	ATGCATTTTTCCGCTTGTCTTCCTGA••GCCGACTCCCTATAATGCGCCTCCATCGACACGGCGGAT
rrn $(DXE)_2$	CCTGAAATTCAGGGTTGACTCTGAAA••GAGGAAAGCGTAATATAC•GCCACCTCGCGACAGTGAGC
rrn E1	CTGCAATTTTTCTATTGCGGCCTGCG••GAGAACTCCCTATAATGCGCCTCCATCGACACGGCGGAT
rrn A1	TTTTAAATTTCCTCTTGTCAGGCCGG••AATAACTCCCTATAATGCGCCACCACTGACACGGAACAA
rrn A2	GCAAAAATAAATGCTTGACTCTGTAG••CGGGAAGGCGTATTATGC•ACACCCCGCGCCGCTGAGAA
λ P_R	TAACACCGTGCGTGTTGACTATTTTA•CCTCTGGCGGTGATAATGG••TTGCATGTACTAAGGAGGT
λ P_L	TATCTCTGGCGGTGTTGACATAAATA•CCACTGGCGGTGATACTGA••GCACATCAGCAGGACGCAC
T7 A3	GTGAAACAAAACGGTTGACAACATGA•AGTAAACACGGTACGATGT•ACCACATGAAACGACAGTGA
T7 A1	TATCAAAAAGAGTATTGACTTAAAGT•CTAACCTATAGGATACTTA•CAGCCATCGAGAGGGACACG
T7 A2	ACGAAAAACAGGTATTGACAACATGAAGTAACATGCAGTAAGATAC•AAATCGCTAGGTAACACTAG
fd VIII	GATACAAATCTCCGTTGTACTTTGTT••TCGCGCTTGGTATAATCG•CTGGGGGTCAAAGATGAGTG
	−35 −10 +1

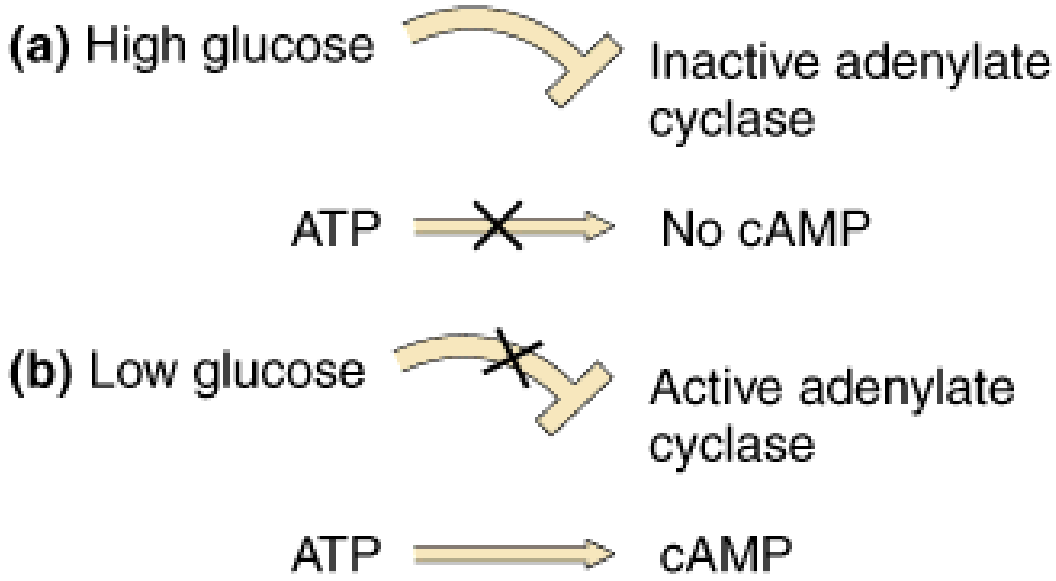
(c) Consensus sequences for all *E. coli* promoters

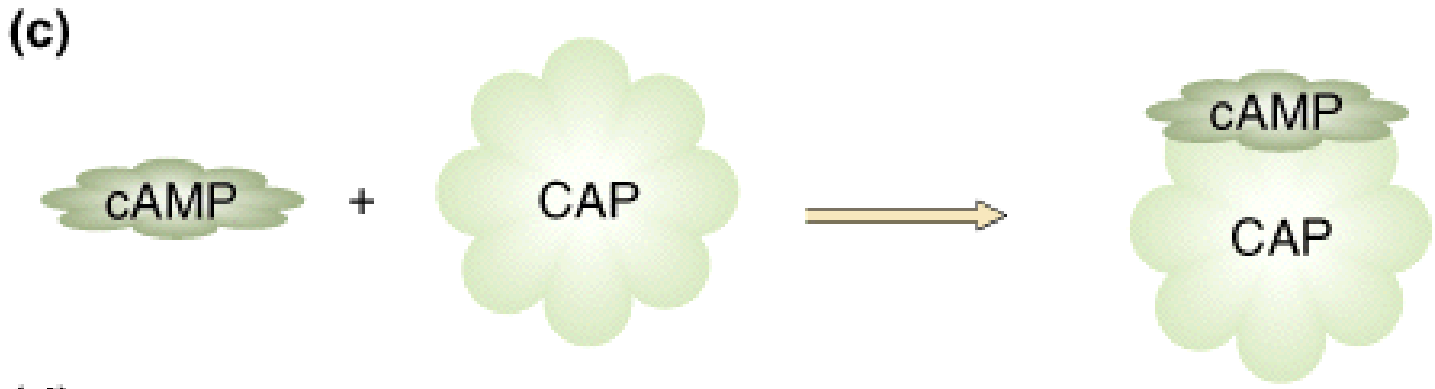
−35 region	15–17 bp	−10 region
TTGACAT		**TA**TAAT

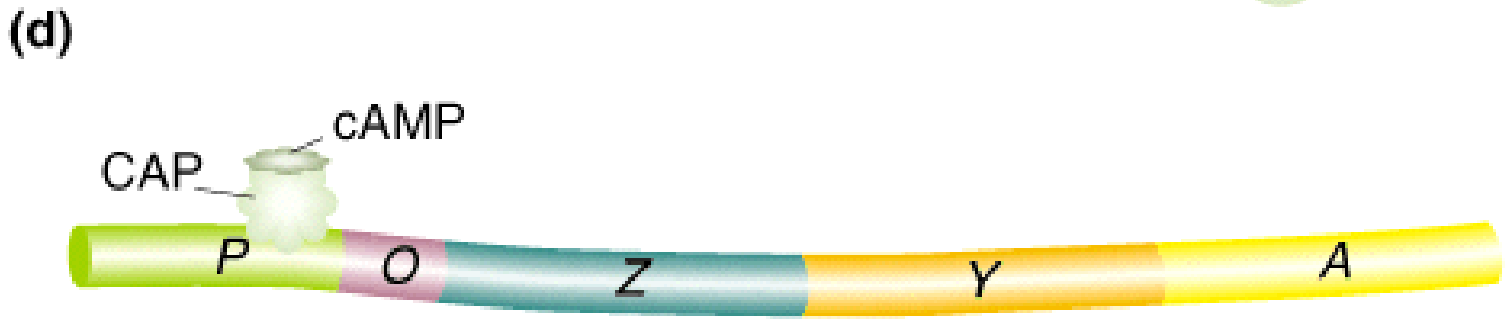
Инициация транскрипции



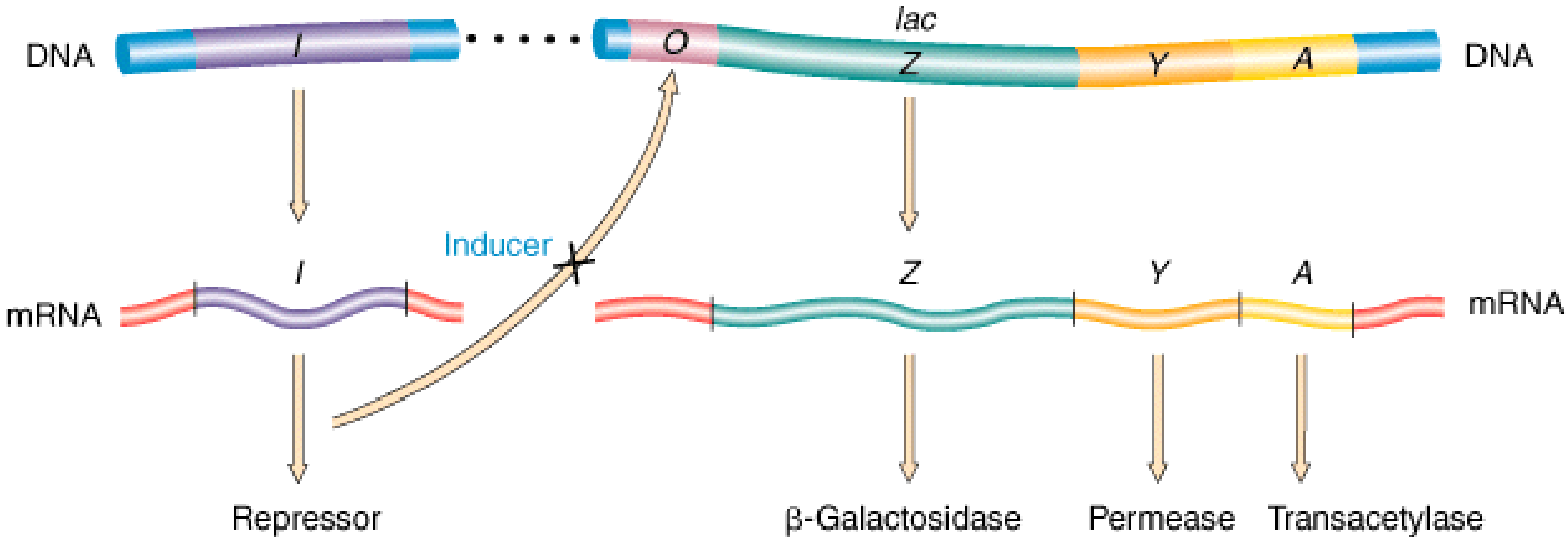
Регуляция транскрипции у бактерий



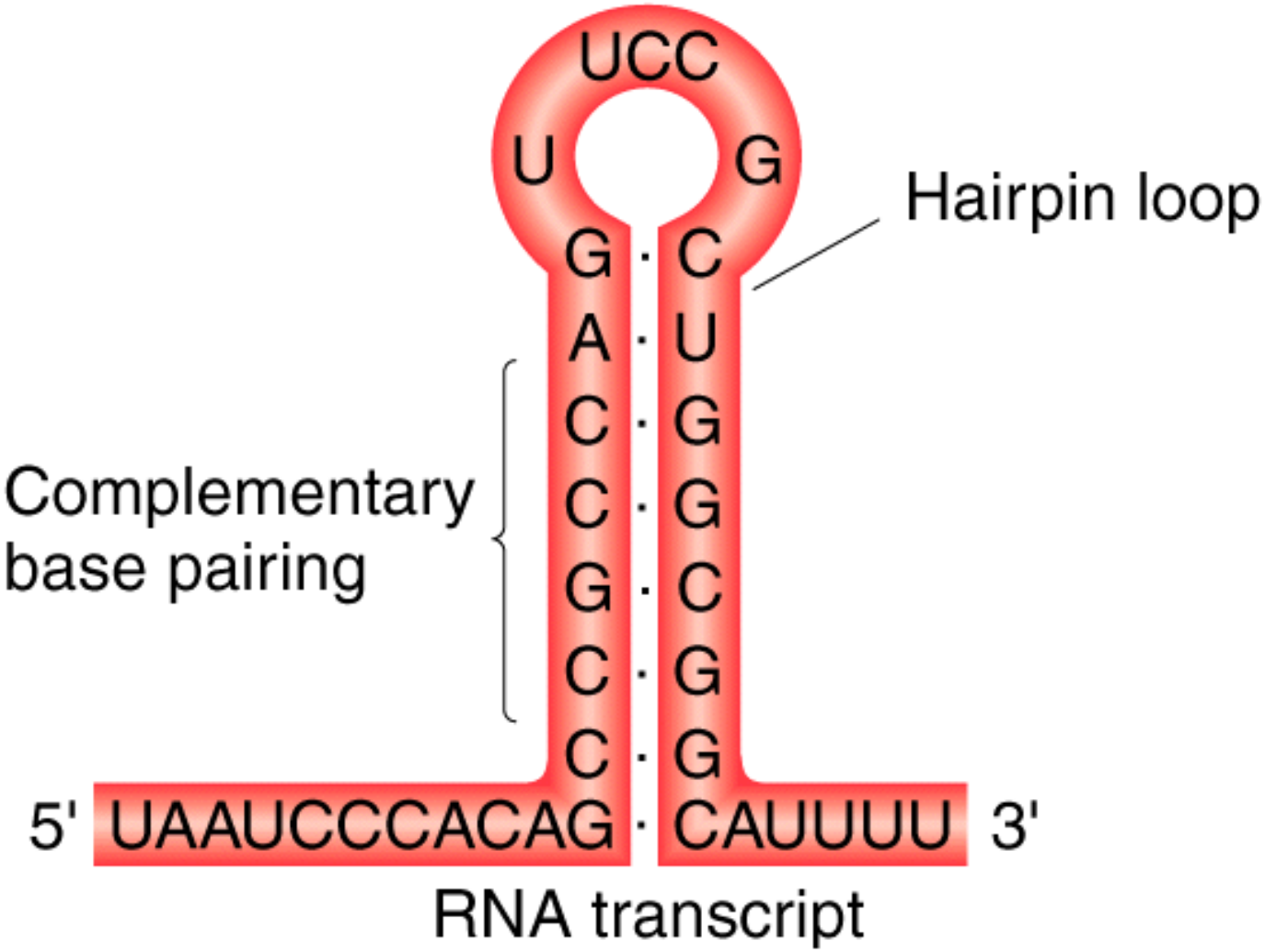


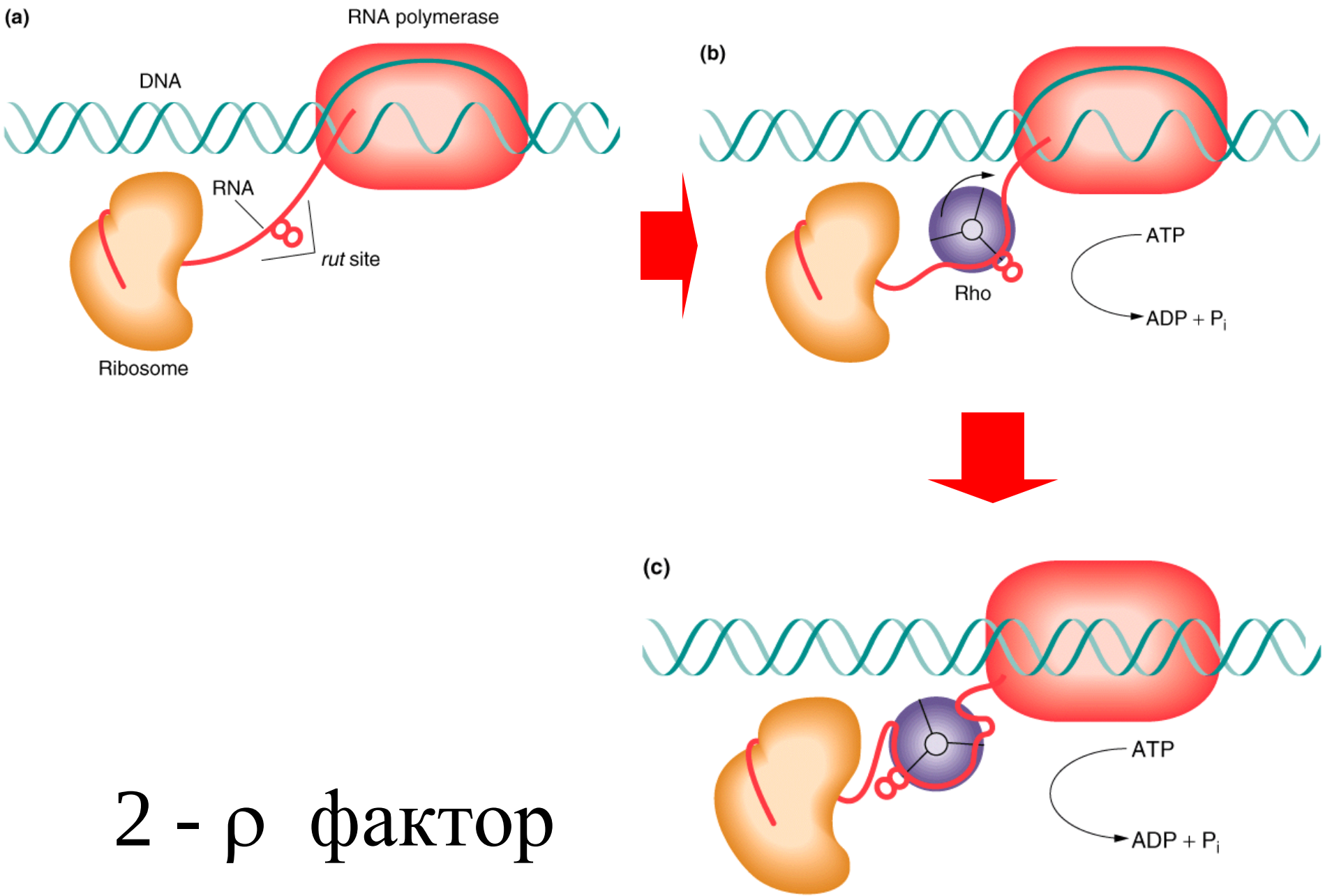


Негативная регуляция



Терминация транскрипции 1

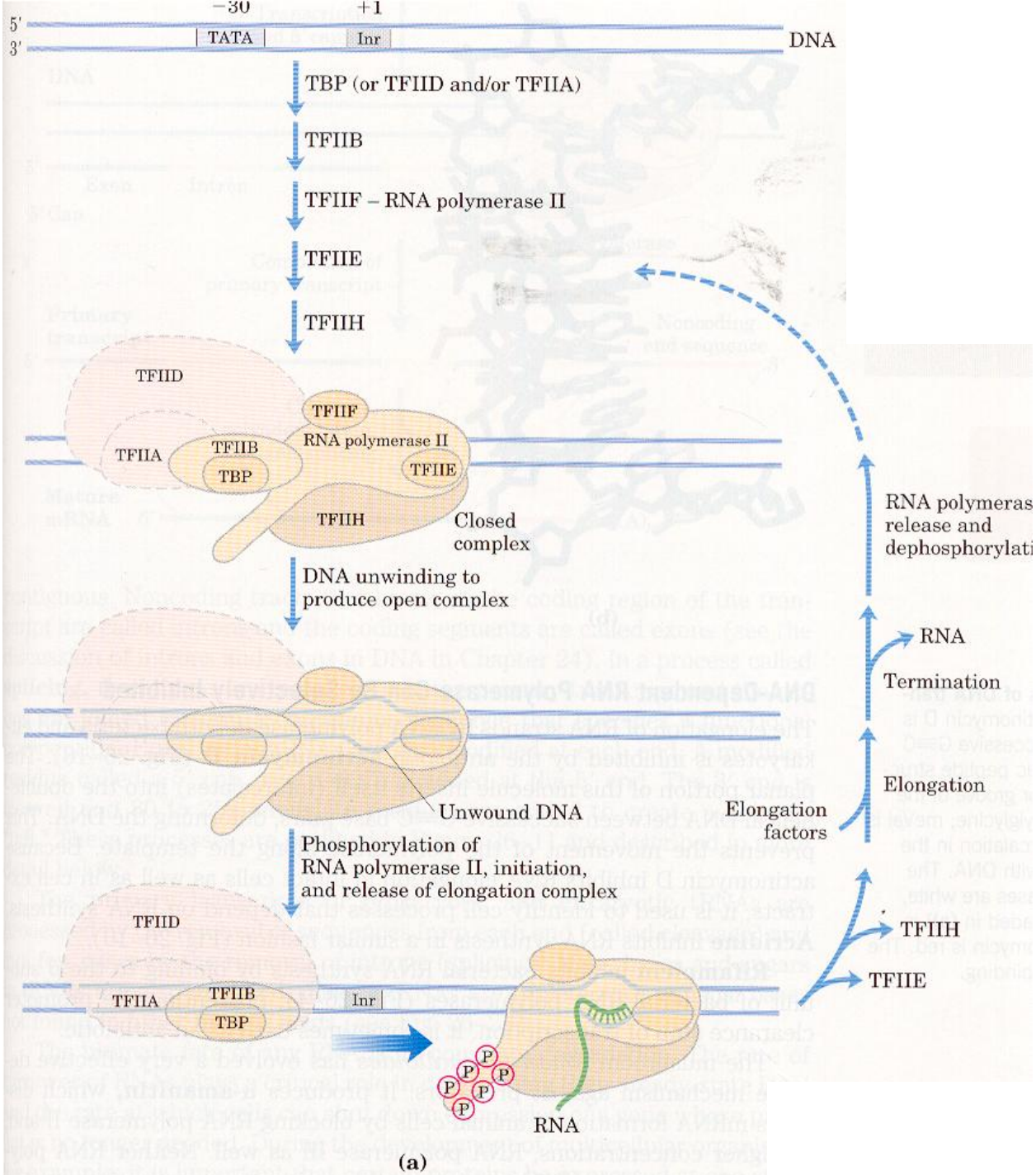



(a)
RNA polymerase
DNA
RNA
rut site
Ribosome
(b)
ATP
Rho
ADP + Pi
(c)
ATP
ADP + Pi

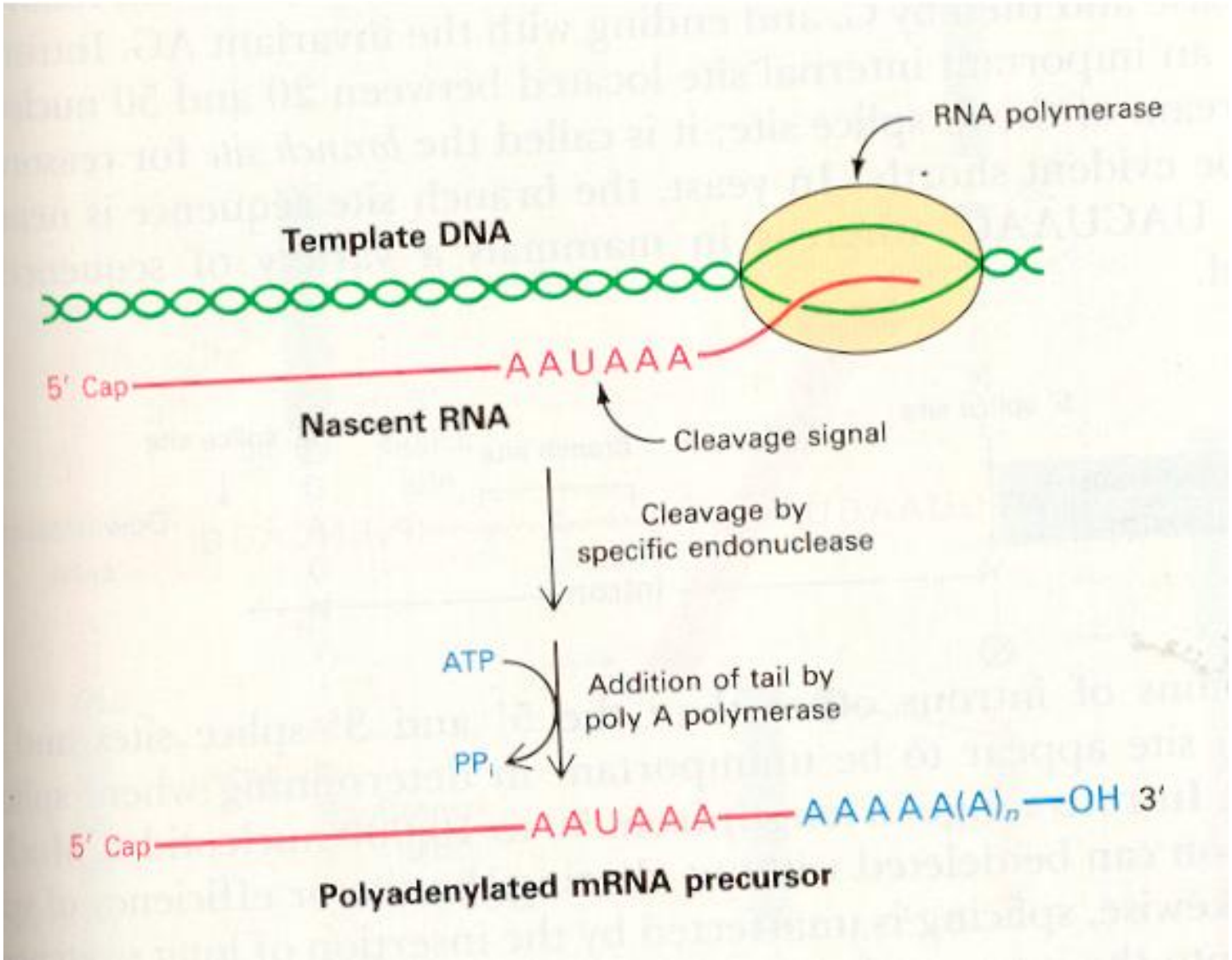
2 - ρ фактор

Эукариотическая РНК полимераза

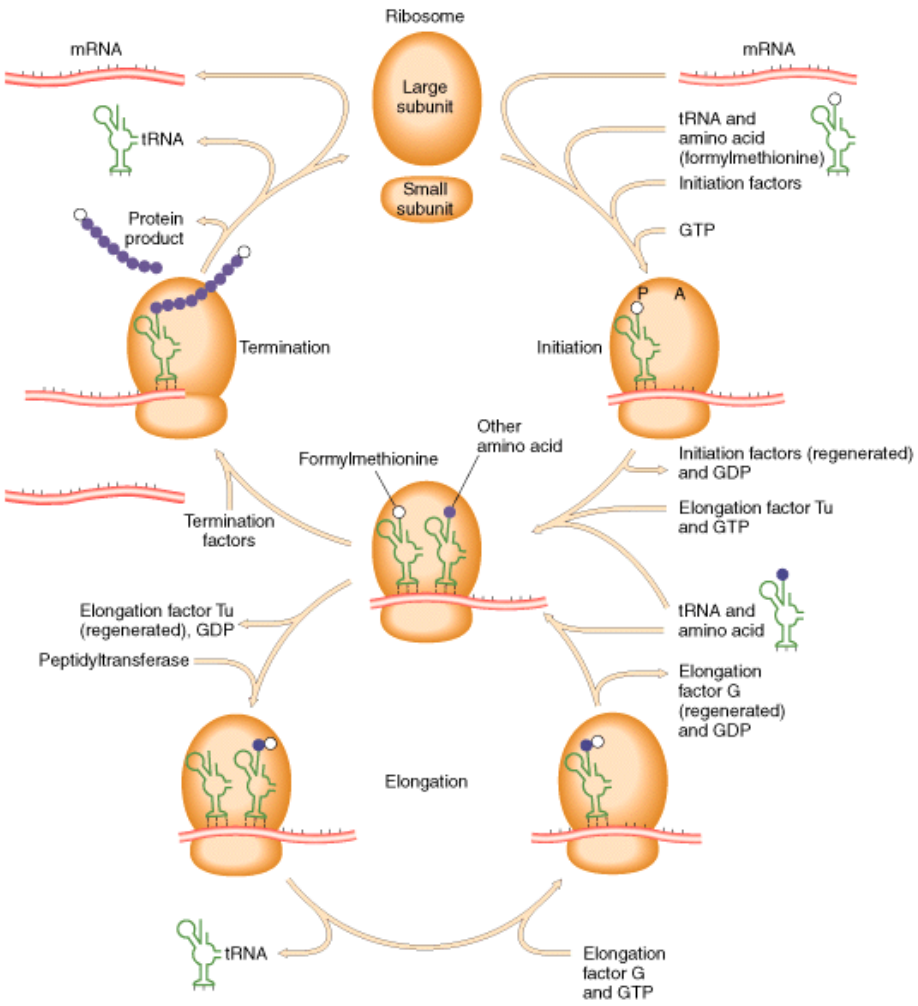
- Полимераза I – синтезирует пре-рибосомные РНК
- Полимераза II - мРНК
- Полимераза III - тРНК и 5S рибосомную РНК


−30
+1
5′
3′
TATA
Inr
DNA
TBP (or TFIID and/or TFIIA)
TFIIB
TFIIF – RNA polymerase II
TFIIE
TFIIH
TFIID
TFIIF
RNA polymerase II
TFIIA
TFIIB
TBP
TFIIE
TFIIH
Closed complex
DNA unwinding to produce open complex
Unwound DNA
Phosphorylation of RNA polymerase II, initiation, and release of elongation complex
TFIID
TFIIA
TFIIB
TBP
Inr
P
RNA
(a)
RNA polymeras release and dephosphorylati
RNA
Termination
Elongation
Elongation factors
TFIIH
TFIIE

Элонгация цепи, окончание транскрипции



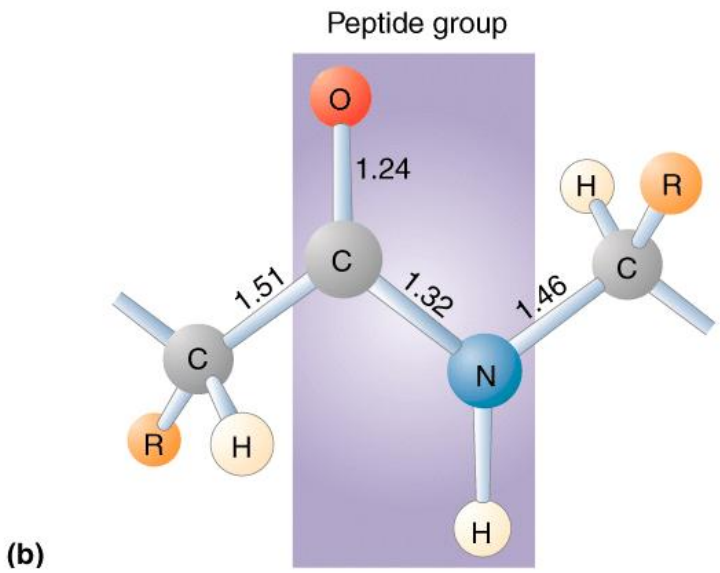
- Трансляция (синтез белка)



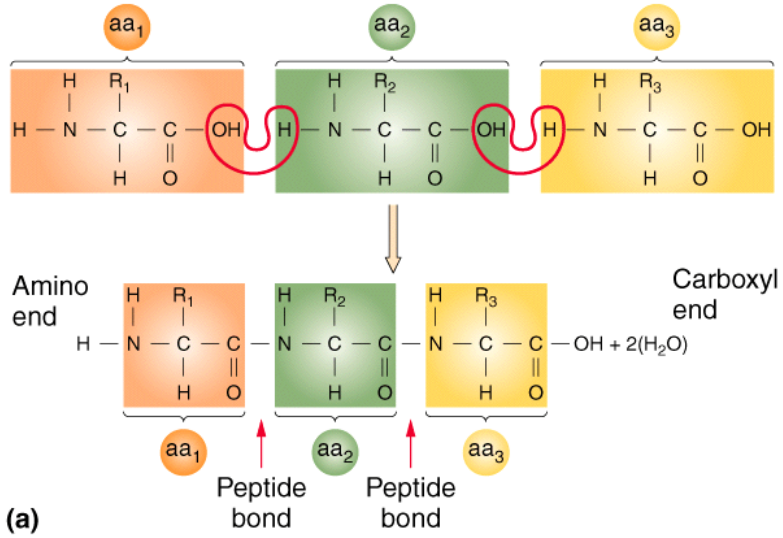
Синтез белка

- Инициация, элонгация и терминация
  - Активация тРНК присоединением соответствующей аминокислоты
  - Пост-трансляционная модификация – добавление липидов, сахаров, фосфатов, сульфатов и.т.д.

Пептидная связь

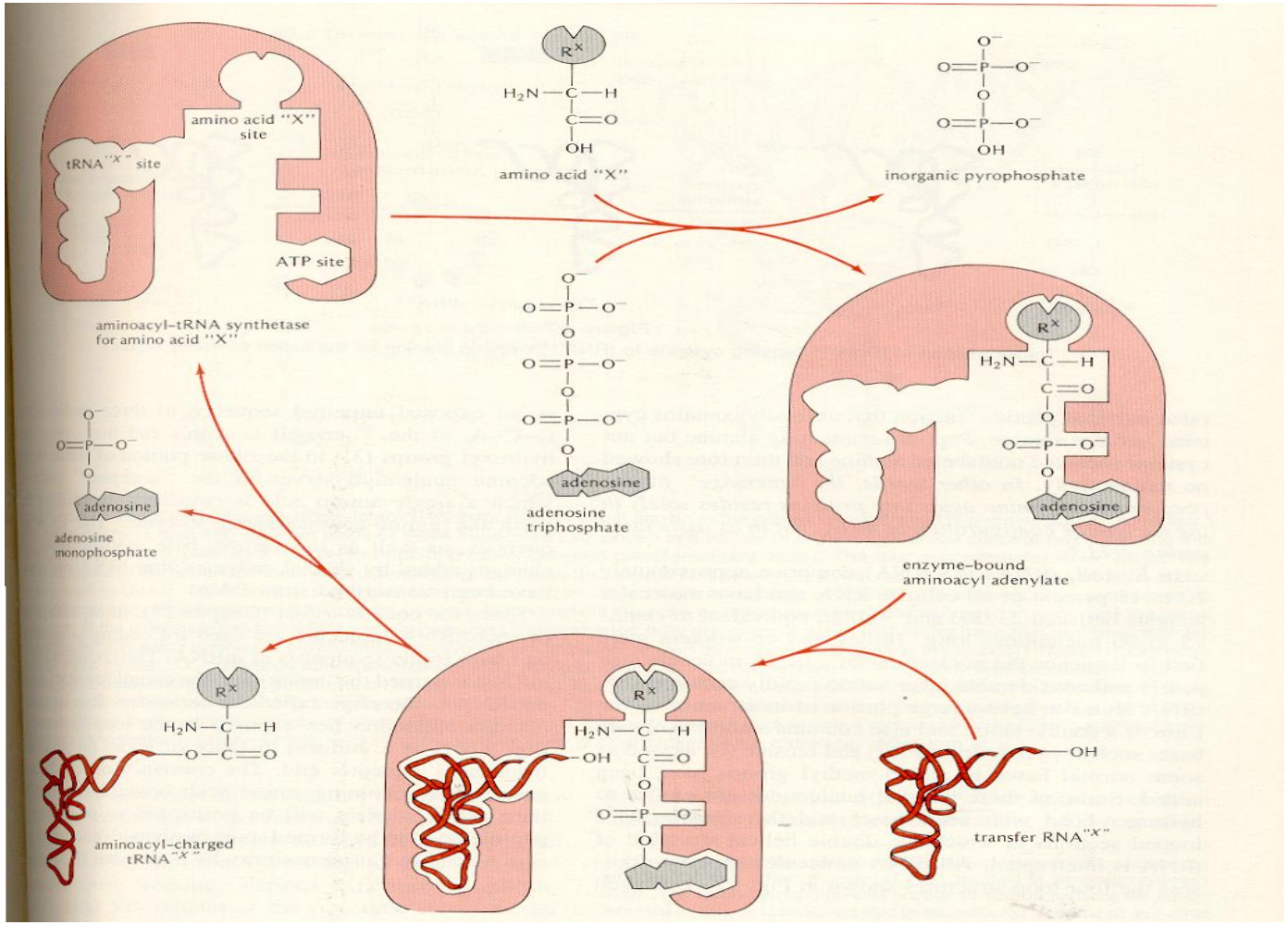


- Костяк белка
- Функция белка определяется боковыми цепями аминокислот его составляющих



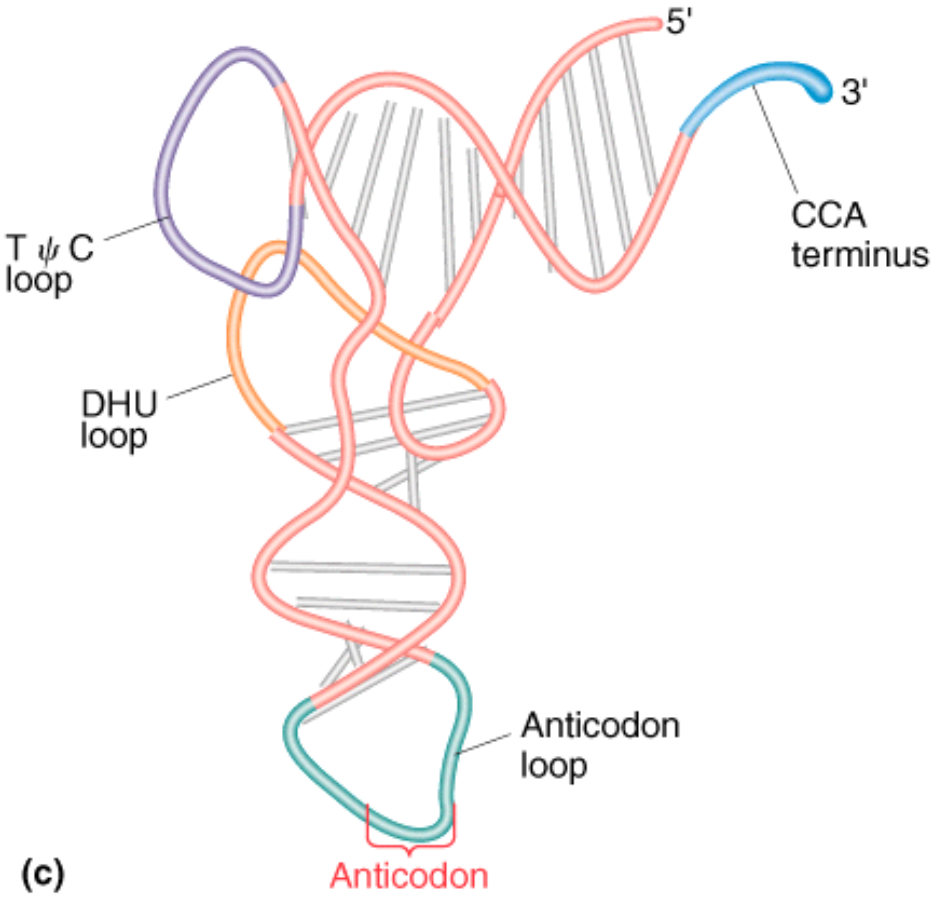
- Связь между анти-кодоном в тРНК и аминокислотой

Активация



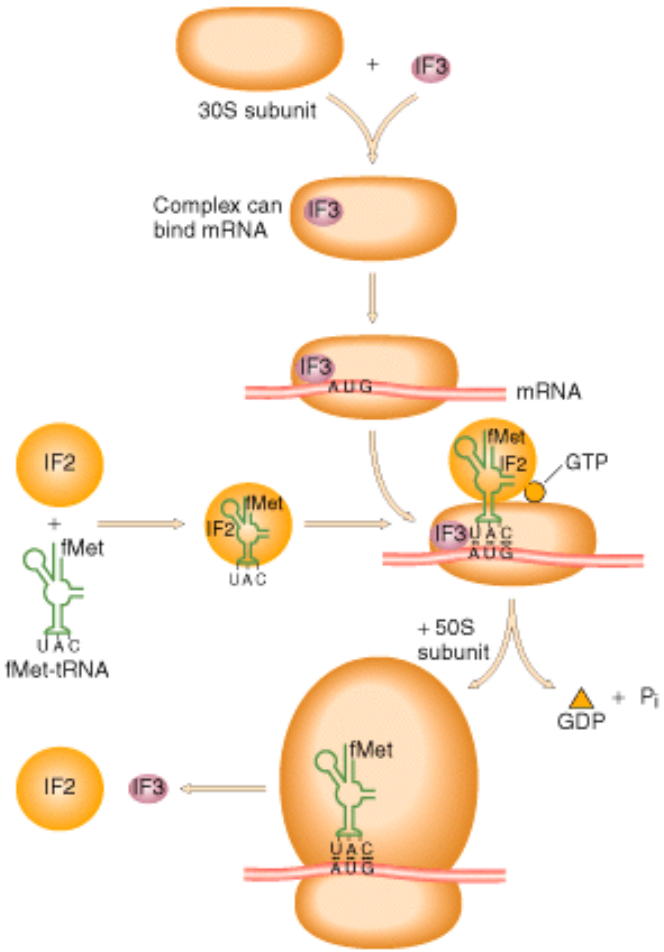
тРНК

- Меньше 100 нт.
- Минимум 32 тРНК
- L-образная структура



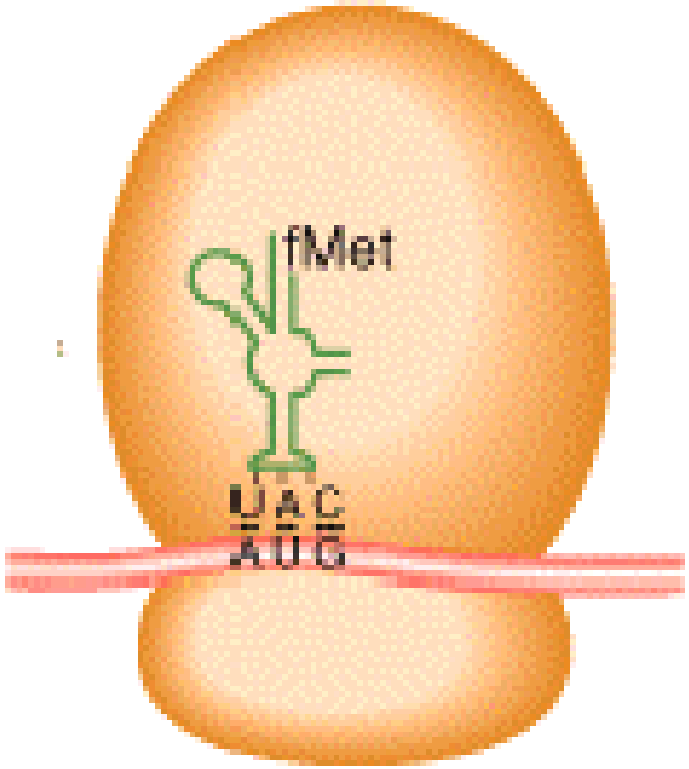
Инициация

- Сборка рибосомы
  - 70 S из 30S and 50S субъединиц у прокариот
  - 40S + 60S = 80S у эукариот
    - Требует факторов инициации
    - Требует (ф)метионил-тРНК

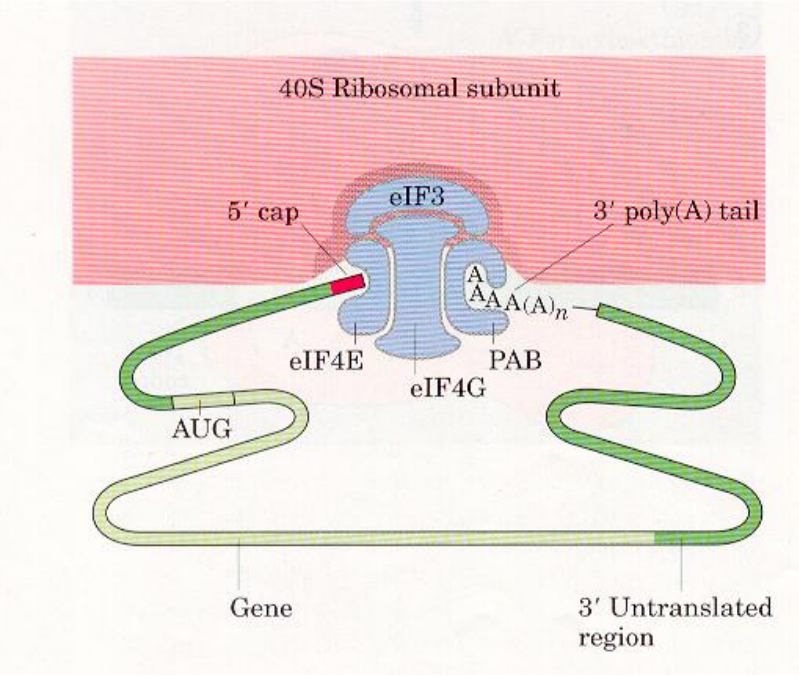


Комплекс инициации у прокариот

- Требуются факторы инициации
- Последовательность **Шайна-Дальгарно** (Shine-Dalgarno sequence,) — была описана австралийскими учеными Джоном Шайном и Линн Дальгарно и является сайтом связывания рибосом на молекуле мРНК прокариот, обычно на расстоянии около 10 нуклеотидов до стартового кодона AUG

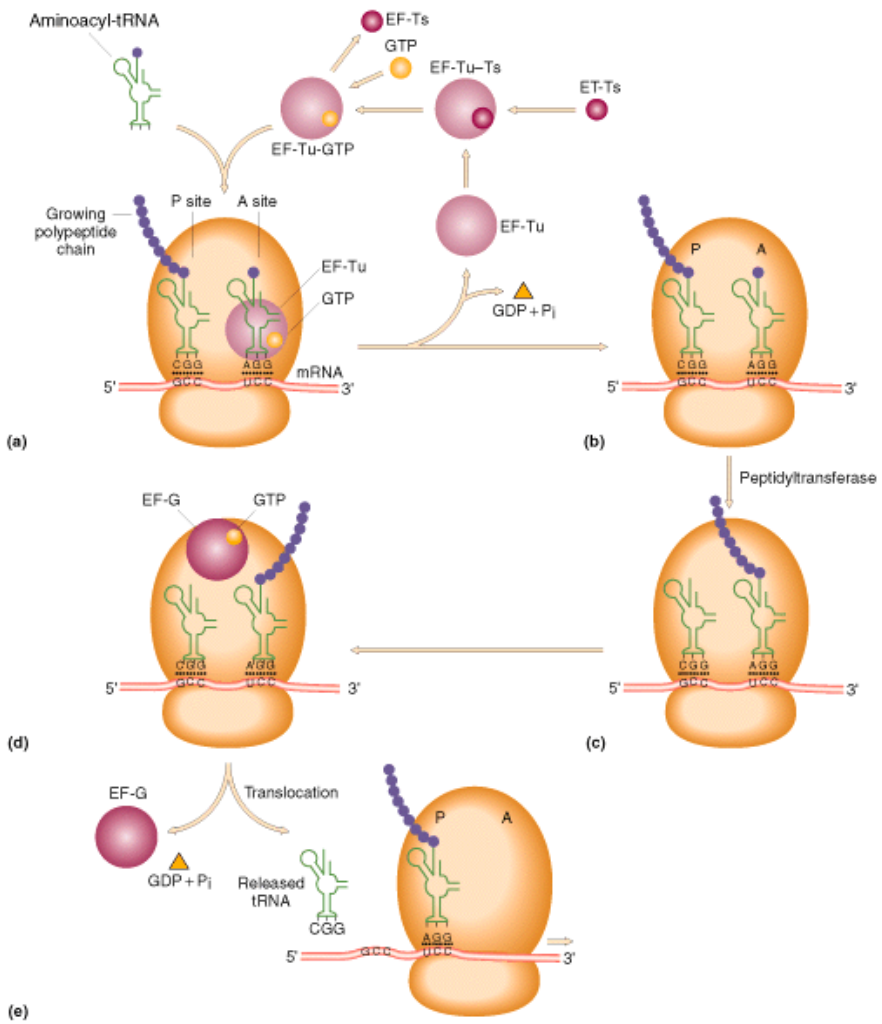


Эукариотическая инициация



- Эукариотичеккая мРНК имеет специальные белки на 5 ’ и 3 ’ конце (связываются с 5’ CAP и 3’ poly A)
- Первый AUG после CAP – начало трансляции

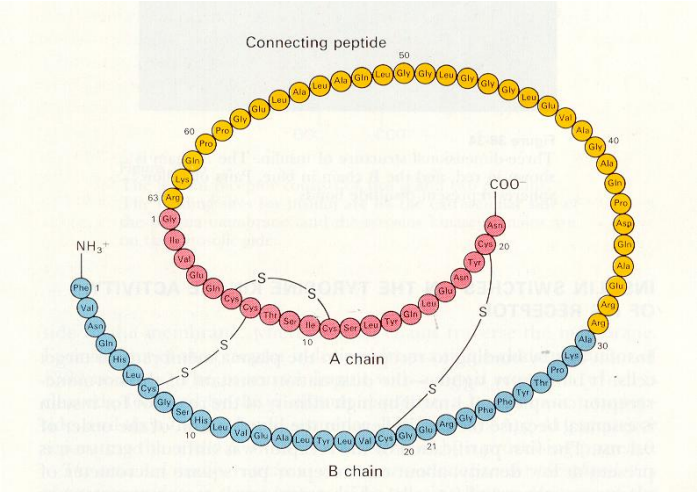
Элонгация и терминация

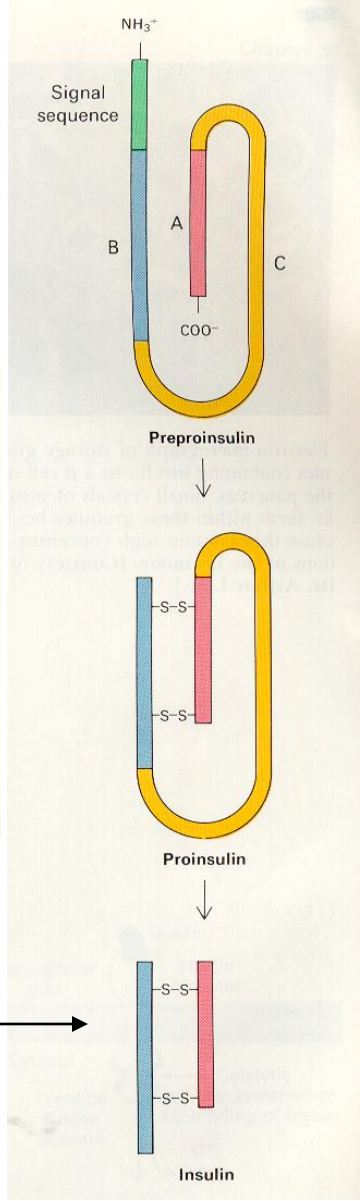


- Элонгация
  - Аминоацилированная тРНК устанавливается на рибосоме в месте кодона
  - Пептид переносится на эту тРНК
  - Цикл повторяется
- Терминация
  - Стоп кодон соединяется со специальным белком вместо тРНК

Процессинг

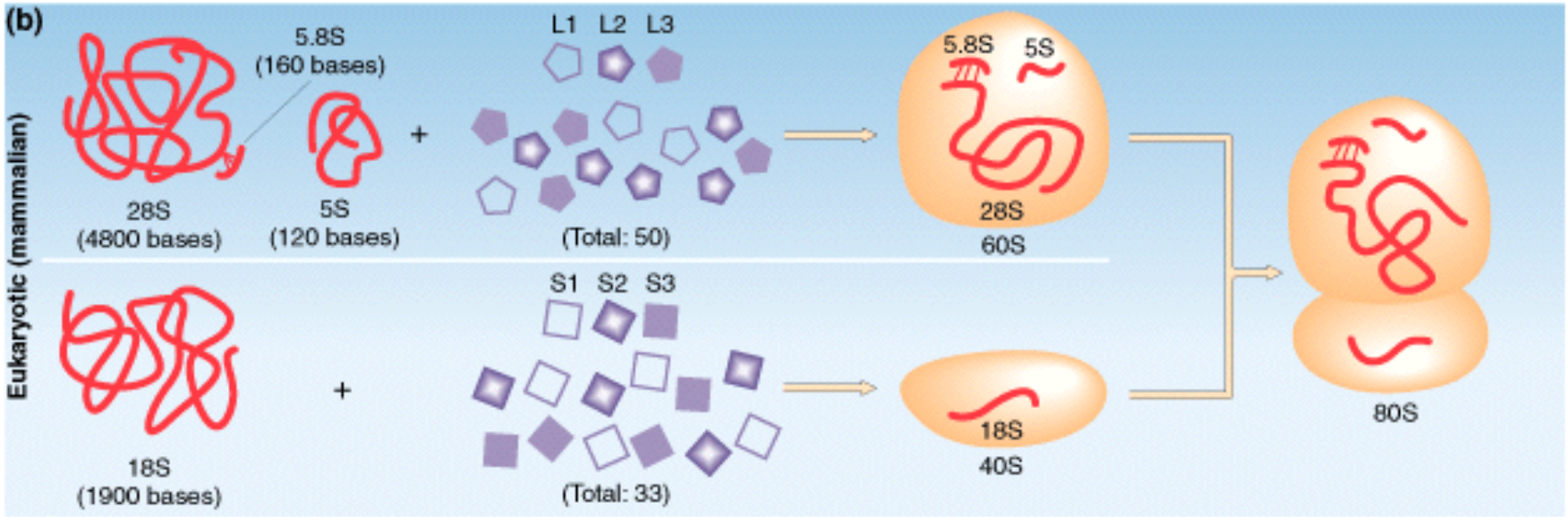
- Начинается с момента синтеза белка
- Требует специальных ферментов
- Может происходить разрезание пептидной цепи с образованием конечного продукта (например, инсулин)



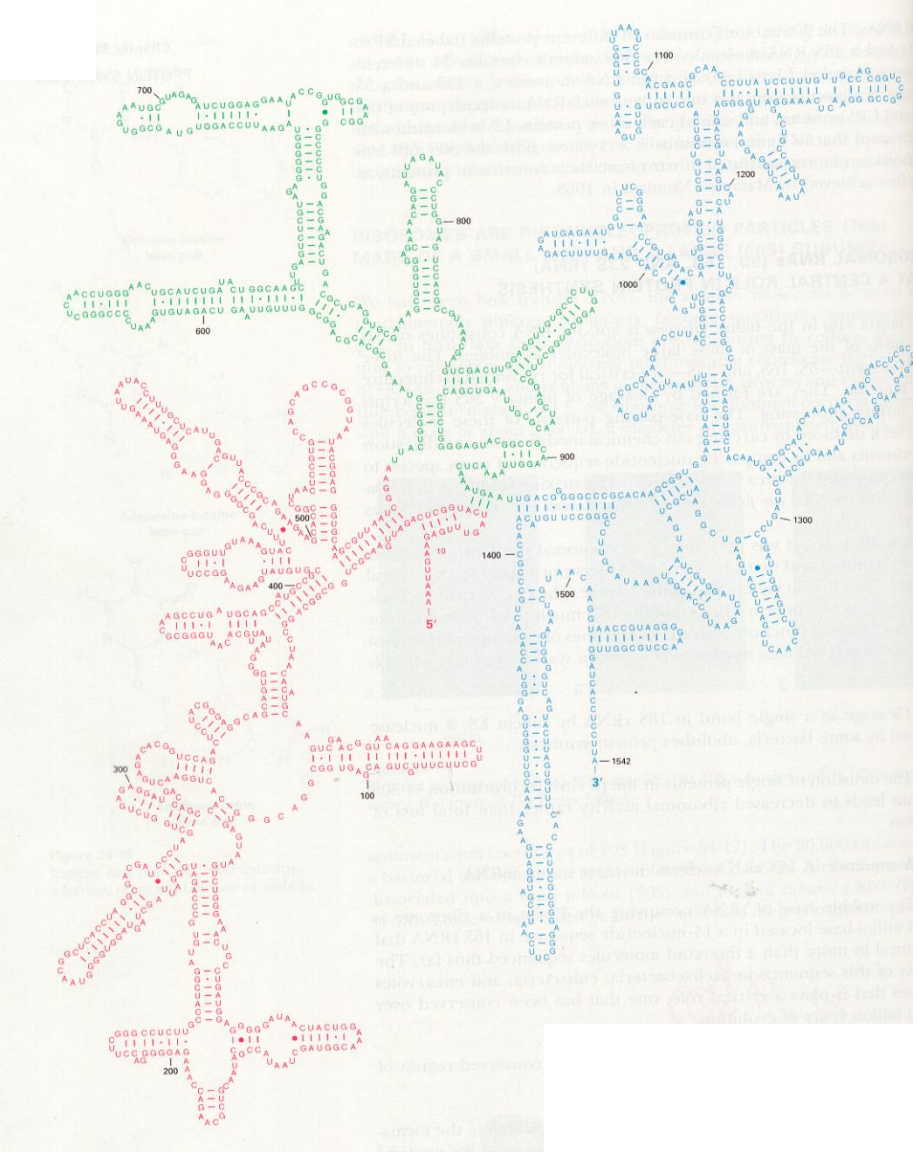


Рибосома

Субъединицы состоят из рРНК и белков, соединяются только для трансляции



Компоненты рибосомы



- Малая субъединица
- **16 S рРНК у прокариот** и 18S рРНК у эукариот
- Ее последовательность используется для установления эволюционного родства между организмами
- + белки

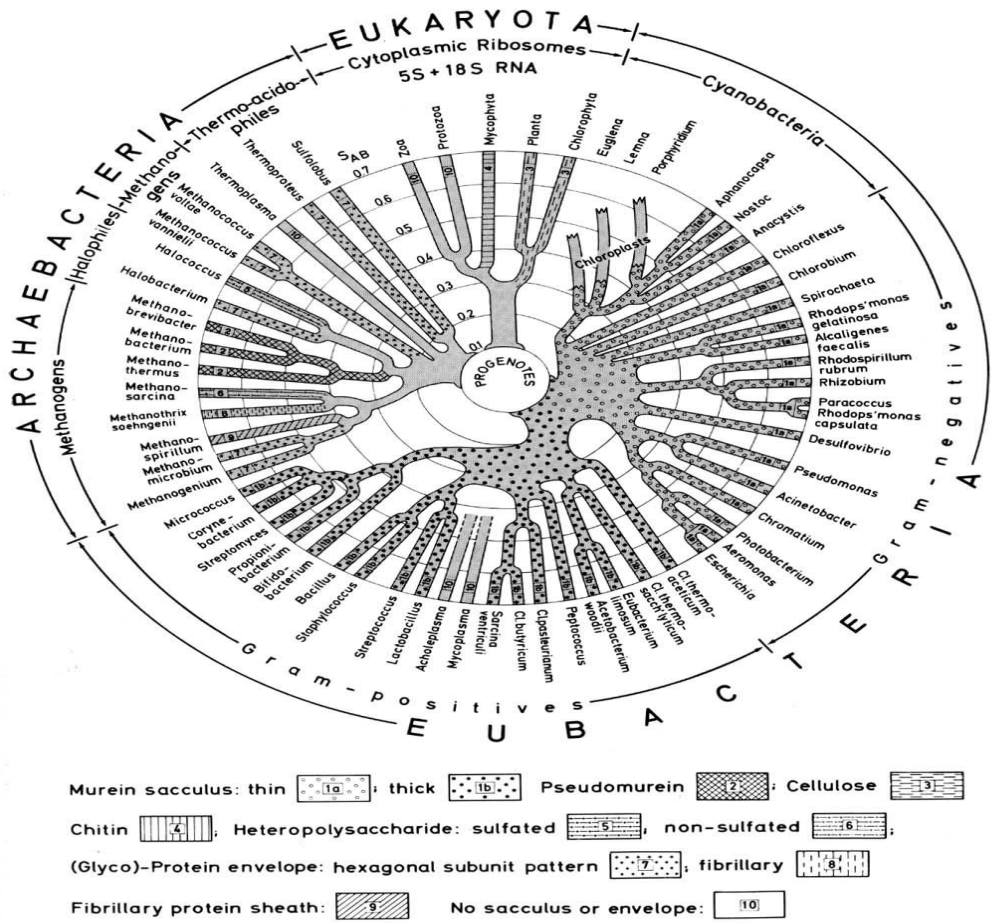
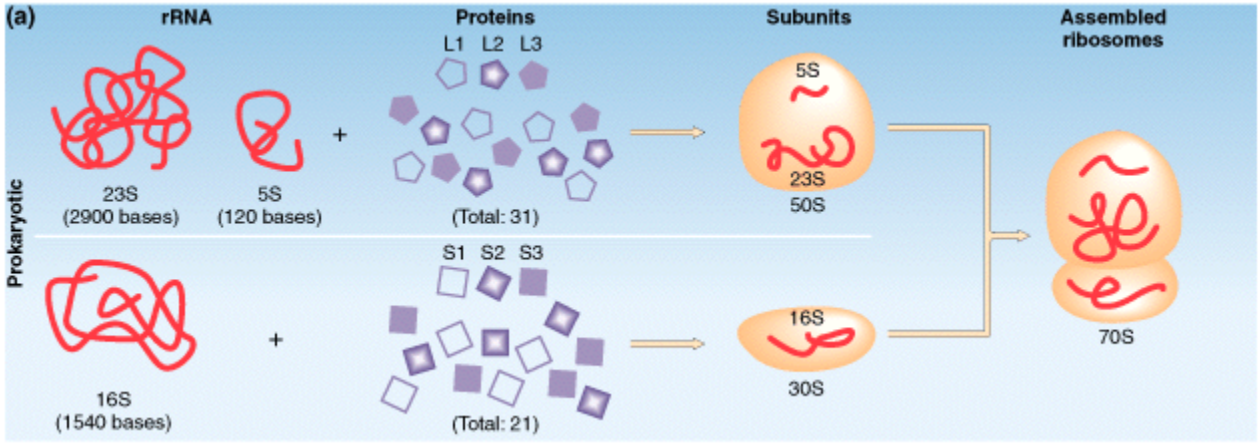
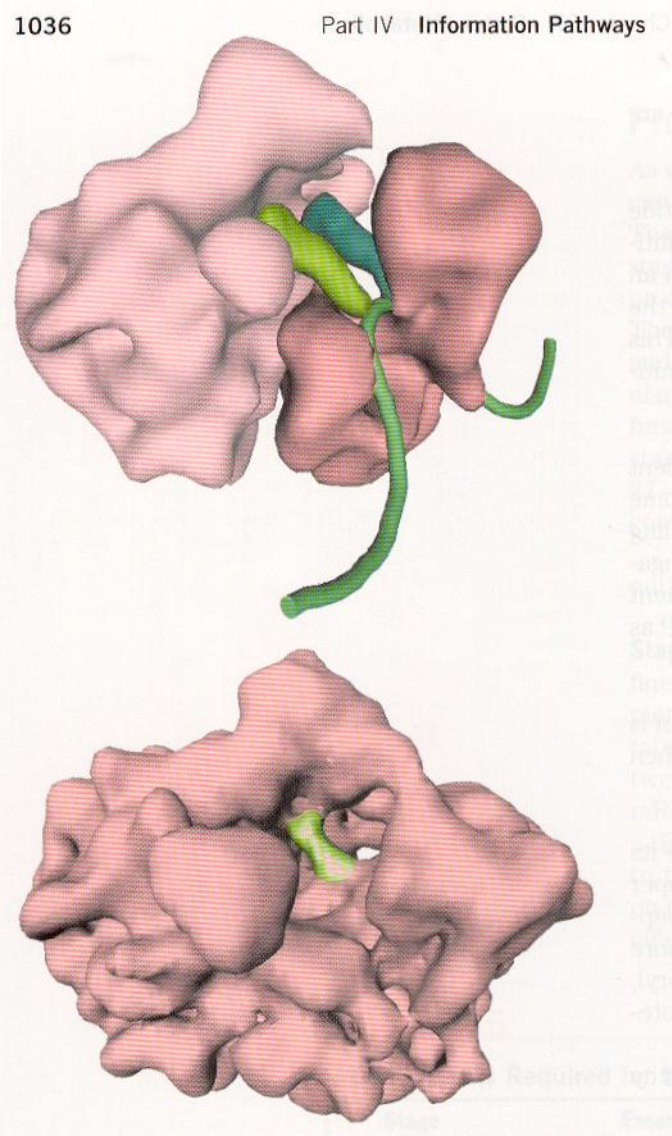


Fig. 3. Survey of the distribution of cell wall polymers among organisms. The diagramatic presentation of the relatedness is based on S_{AB}-values (*Fox* et al., 1980; the S_{AB}-values of *Methanothermus*, *Methanotrix* and *Thermoplasma* were kindly communicated to us by *E. Stackebrandt*). In the case of the *Eucaryota*, the S_{AB}-values of the 18S rRNA were supplemented with corresponding 5S rRNA data taken from *Küntzel* et al. (1981).

Компоненты рибосомы II

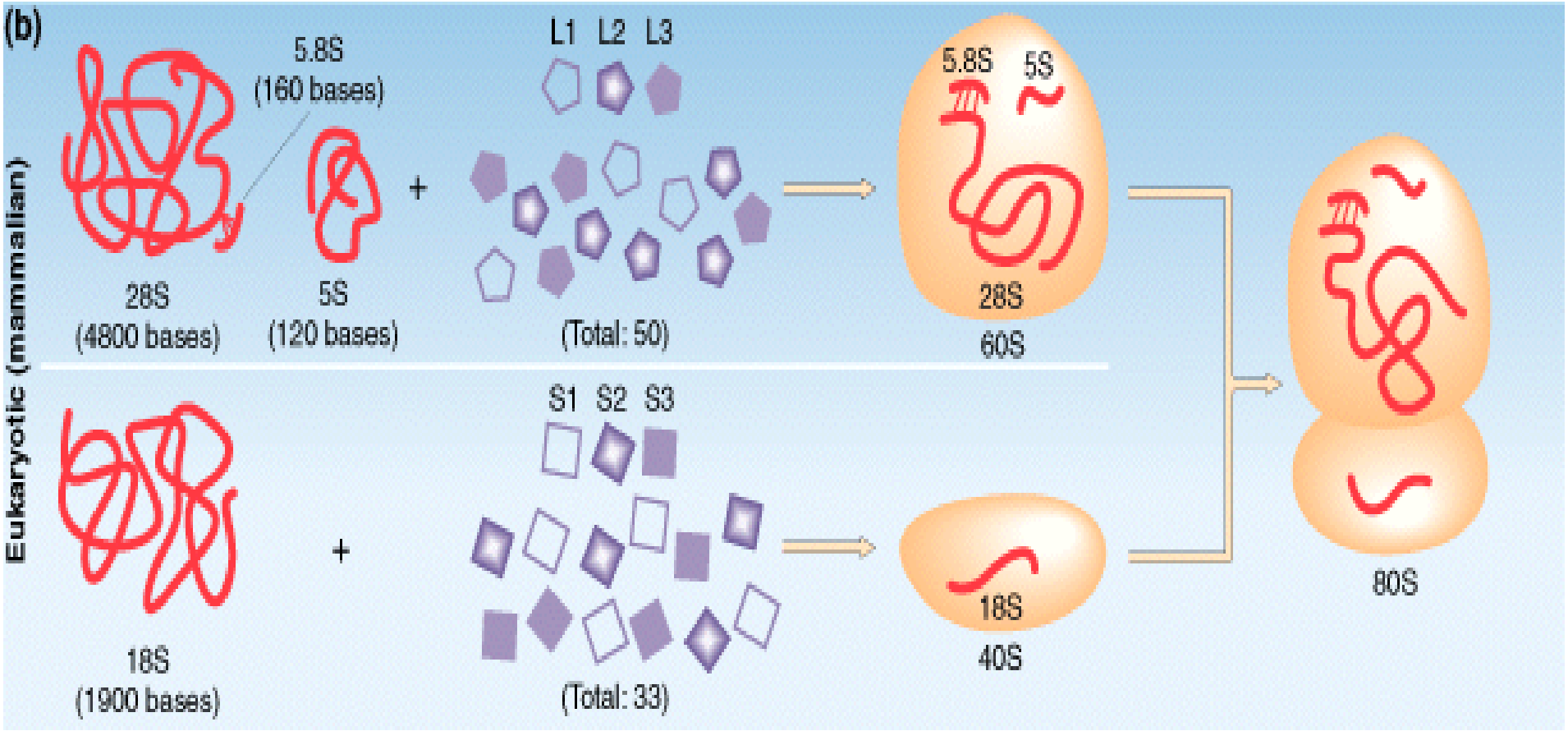
- Большая субъединица (на примере прокариот)
  - 23 S rRNA
  - 5 S rRNA
  - 26 белков





Бороздка между субъединицами

- Место связи анти-кодон-кодон
- Пептидная цепь выходит оттуда тоже

Эукариотические рибосомы

- 40S + 60S
  - **18S**, 28S + 5.8S rRNA +5S