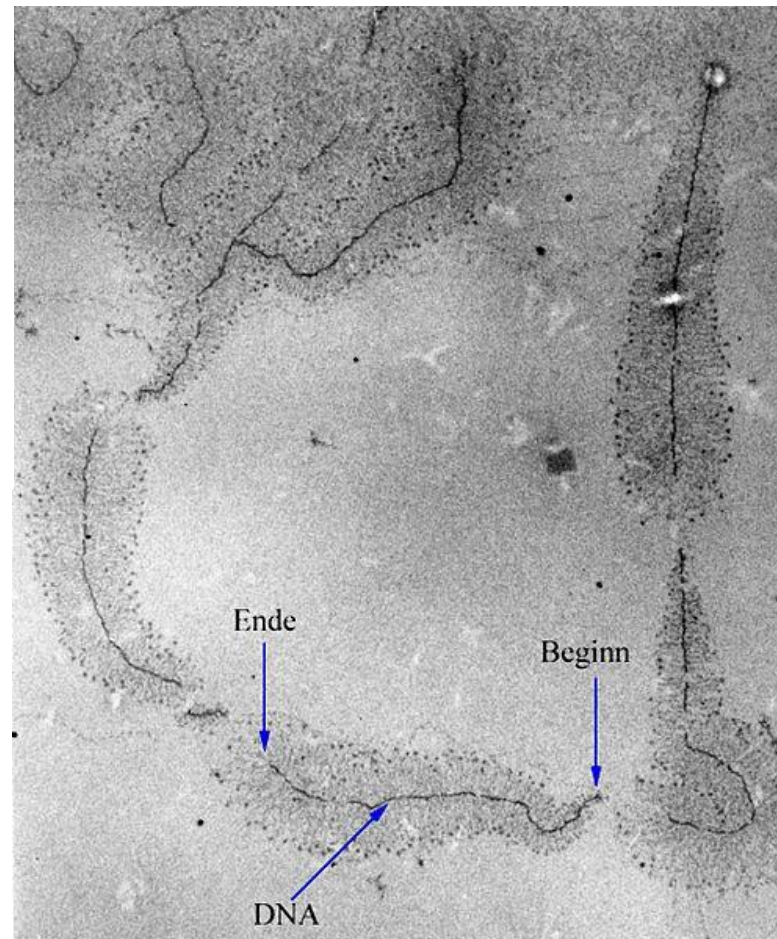
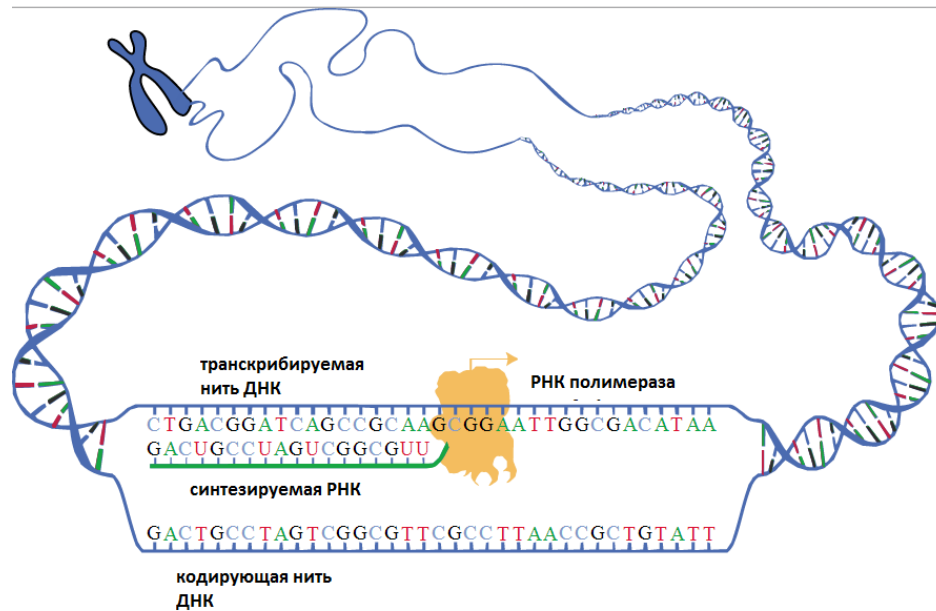


ТРАНСКРИПЦИЯ



Танскрипция рРНК. Dr. Hans-Heinrich Trepte



ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ
БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ ФАКУЛЬТЕТІ
МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА КАФЕДРАСЫ

ДӘРІС 7.

ТРАНСКРИПЦИЯ

Лектор: PhD, қауымдастырылған
профессор Тайпақова С.М.

Дәріс жоспары:

- **Генетикалық ақпаратты тасымалдау жолдары**
- **Генетикалық ақпараттың жүзеге асырылуы**
- **Гендер және олардың құрылымы**
- **Прокариот оперонының құрылымы**
- **Транскрипция принциптері**
- **Транскрипция компоненттері**
- **Транскрипция кезеңдері**
- **Кері транскрипция**

Транскрипцияның жалпы сипаттамасы

ДНК молекуласында төрт азотты негіздердің тізбегі түрінде белгілі бір **генетикалық ақпарат** кодталған.

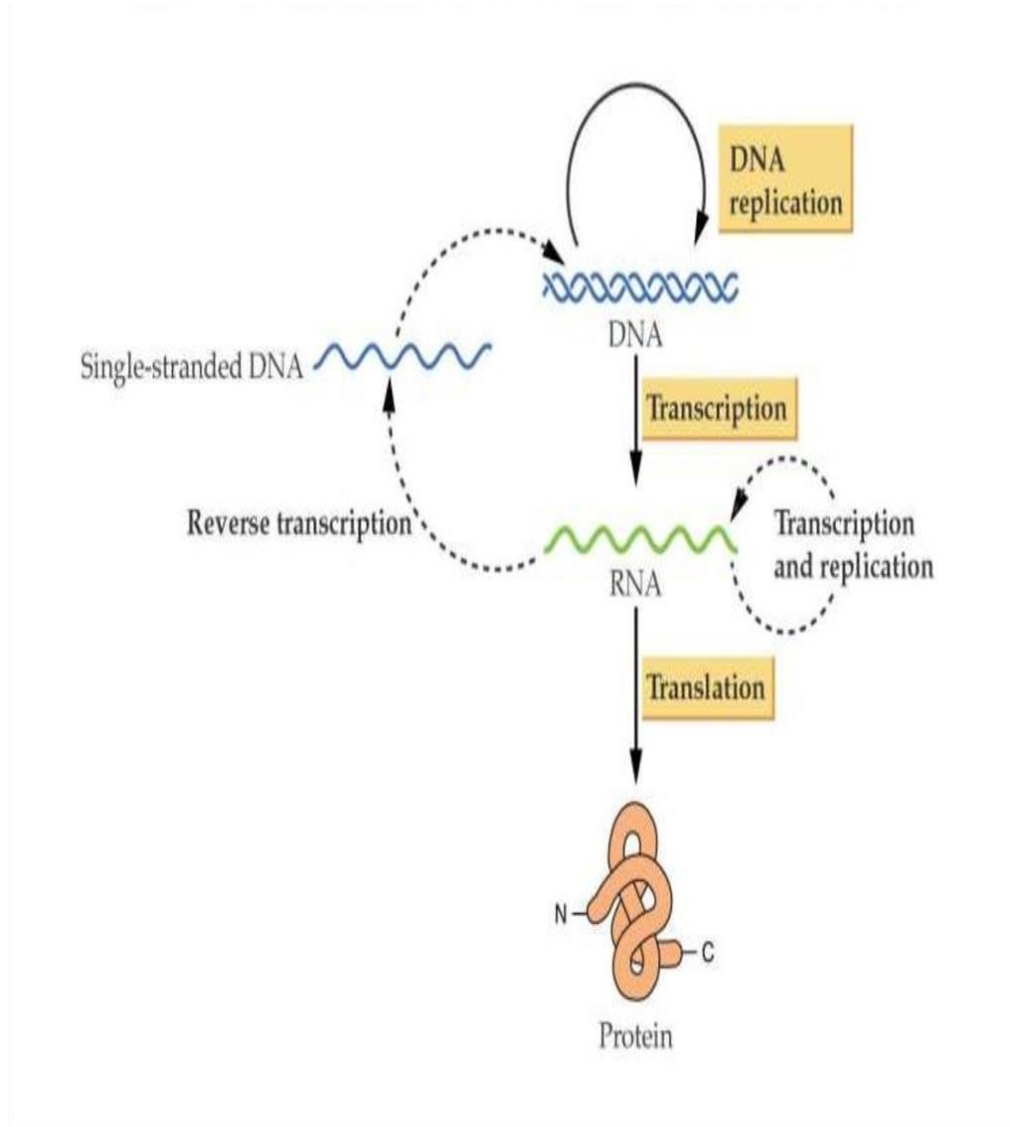
— ағзаның барлық белоктары мен РНҚ құрылымы туралы;

— әр түрлі жасушаларда онтогенез процесінде және әртүрлі функционалдық күйлерде бұл ақпаратты жүзеге асыру тәртібі туралы.

ДНК репликациясы процесінде генетикалық ақпарат еншілес жасушаларға берілуі үшін толығымен екі еселенеді. Сонымен қатар, бұл ақпарат жасушада экспрессияланады (іске асырылады), оның тіршілік әрекетінің барлық көріністерін анықтайды.

Ген экспрессиясы – геннің тұқым қуалайтын ақпаратының (ДНК нуклеотидтерінің тізбегі) жүзеге асырылуы яғни функционалды өнім – РНҚ немесе ақуызға тасымалдануы.

Генетикалық ақпаратты тасымалдау жолдары



Генетикалық ақпаратты жүзеге асыру ережесі: *ақпарат нуклеин қышқылдарынан ақуызға* беріледі, бірақ керісінше емес. Ережені 1958 жылы Фрэнсис Крик тұжырымдаған. Генетикалық ақпараттың дәйекті түрде ДНҚ-дан РНҚ-ға, содан кейін РНҚ-дан белокқа ауысуы барлық жасушалық ағзалар үшін әмбебап болып табылады және макромолекулалардың биосинтезінің негізінде жатыр.

Генетикалық ақпараттың тасымалдануының жалпы әдістері:

Геномның репликациясына ақпараттың ДНҚ → ДНҚ тасымалдануы сәйкес келеді.

Транскрипцияға ДНҚ → РНҚ және трансляцияға РНҚ → белок

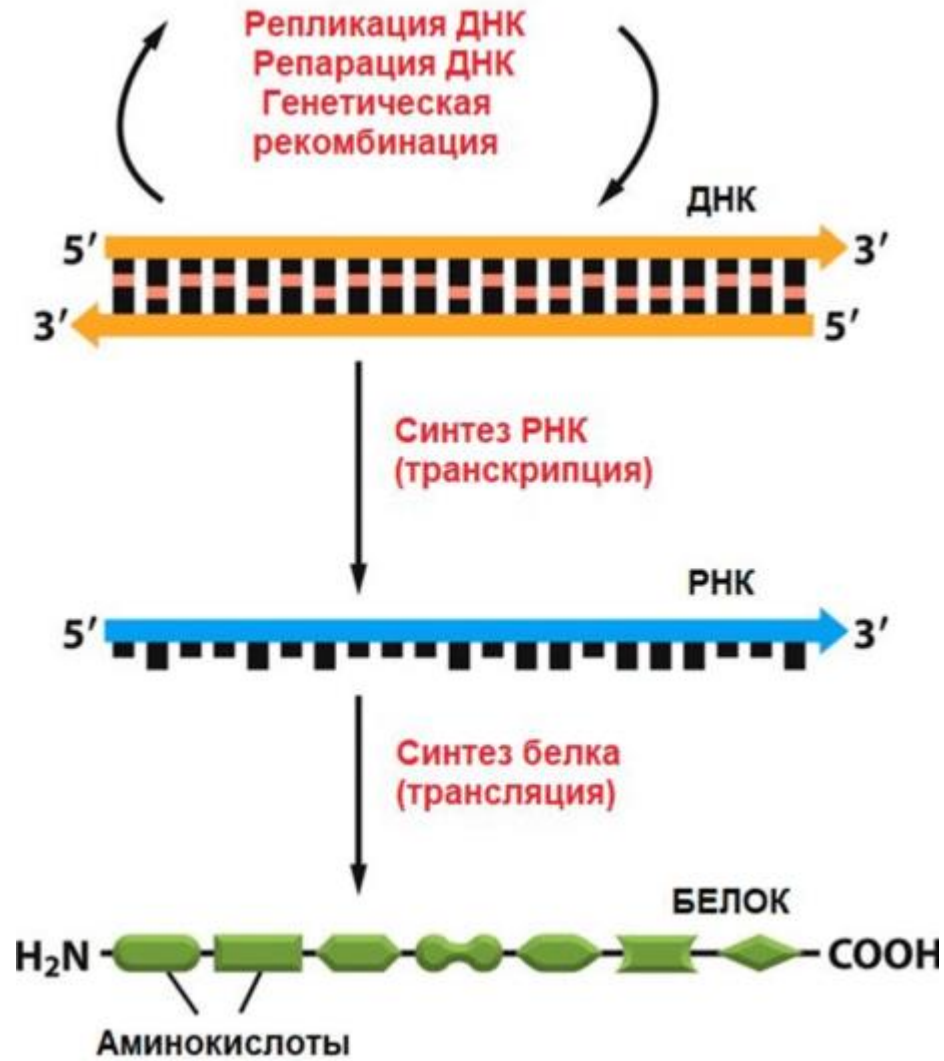
Табиғатта ақпаратты тасымалдаудың ерекше жолдары да кездеседі:

Кері транскрипция: РНҚ → ДНҚ. Кері транскрипция – бұл ақпаратты РНҚ-дан ДНҚ-ға тасымалдау, бұл кері транскриптаза ферменті жүзеге асыратын қалыпты транскрипцияға кері процесс. АИТВ сияқты ретровирустарда және ретротранспозондарда кездеседі.

РНҚ репликациясы: РНҚ → РНҚ. РНҚ репликациясы - РНҚ-ға тәуелді РНҚ полимераза ферментінің көмегімен РНҚ тізбегін оның комплементарлы РНҚ тізбегіне көшіру. Құрамында бір тізбекті вирустар (мысалы, аусыл вирусы кіретін пикорнавирустар) немесе екі тізбекті РНҚ осындай жолмен репликацияланады.

ДНҚ матрицасында ақуыздың тікелей трансляциясы: ДНҚ → ақуыз. Тікелей трансляция рибосомалары бар, бірақ мРНҚ жоқ *E. coli* жасуша экстракттарында көрсетілді. Мұндай экстракттар жүйеге енгізілген ДНҚ-дан ақуыздарды синтездейді, ал антибиотик неомицин бұл әсерді күшейтті.

Белгілі бір ақуыздың құрылымы туралы ақпараттың жүзеге асырылуы екі негізгі кезенді қамтиды:



Бірінші кезең- *транскрипция* — генетикалық ақпараттың ДНК дан РНКға тасымалдануы. Бұл процестің мағынасы ақуыз құрылымы туралы ақпаратты үлкен қозғалмайтын тасымал-даушыдан кішігірім жылжымалы тасымалдаушыға - мРНК-ға қайта жазу болып табылады.

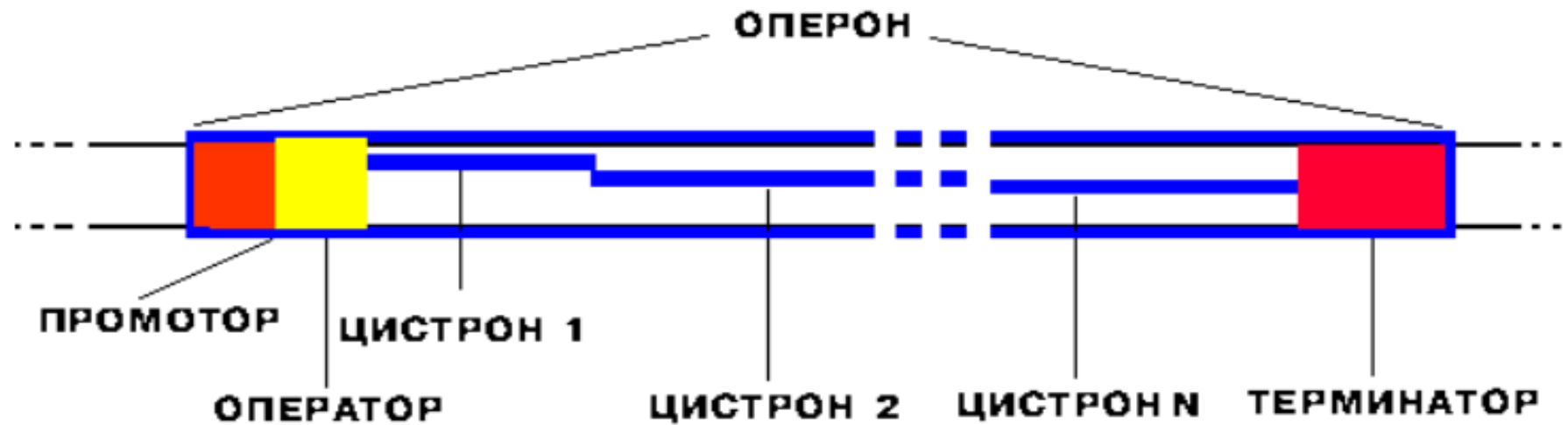
Екінші кезең- мРНКда белгілеген бағдарлама бойынша рибосома-лардағы **ақуыздың биосинтезі**. Бұл бағдарламаның мәні амин-қышқылдарының полипептидтік тізбегіне қосылу ретін анықтау болып табылады.

Гендер және олардың құрылымы

Ақуыздар мен РНҚ құрылымы туралы ақпарат ДНҚ-ның гендер және цистрондар деп аталатын бөлімдерінде жазылады.

Ген – белгілі бір ақуызды кодтайтын хромосоманың аймағы (локусы). 1860 жылдардағы Грегор Мендельдің белгілердің тұқым қуалауы туралы зерттеулеріне негізделген **тұқым қуалаушылықтың молекулалық бірлігі** болып саналады. Ағзаның тұқым қуалайтын ақпаратын анықтайтын гендердің жалпы жиынтығы **геном** деп аталады. Гендердің жекелеген бөлімдері жеке қызмет атқарады: кейбіреулері **құрылымдық** (ақпараттық), яғни полипептидтің немесе матрицалық емес РНҚ (рРНҚ, тРНҚ) құрылымы туралы ақпаратты алып жүреді, басқалары **реттеуші** (ақпараттық емес) болып табылады. генетикалық ақпаратты қамтымайды. Прокариоттарда реттеуші элементтер шамамен геномның 10%, ал құрылымдық элементтер 90% құрайды.

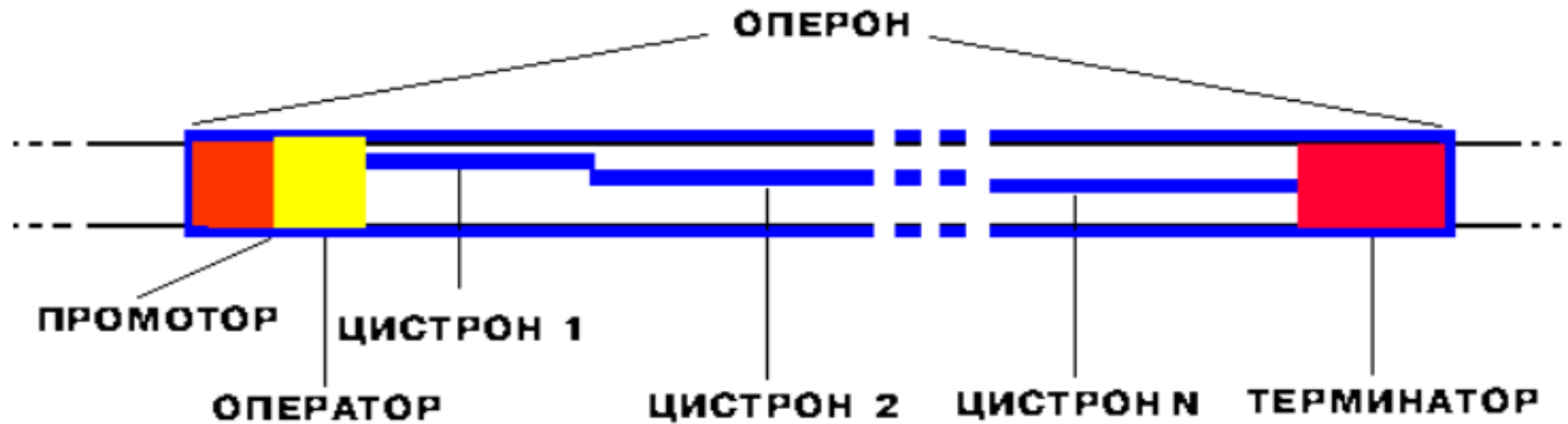
Прокариот оперонының құрылымы



Прокариоттық *геннің құрылымдық аймағы* (транскрипция бірлігі) *цистрон* деп аталатын бір кодтау аймағынан немесе бірнеше кодтау аймақтарынан (*полицистрондық транскрипция бірлігі*) тұруы мүмкін. «*Цистрон*» терминін 1957 жылы американдық генетик С.Бензер ұсынған. Бұндай жіктелу негізінен цистрондары оперондарға біріктіріліп, ДНҚ-да бір-бірінің артынан жүретін бактерияларға қатысты.

Оперон - прокариоттардағы геномның функционалдық бірлігі, оның құрамына бірге немесе кезекті түрде жұмыс істейтін және бір (немесе бірнеше) промоторлардың бақылауында біріккен белоктарды кодтайтын цистрондар (гендер, транскрипция бірліктері) кіреді. Бұндай функционалдық ұйымдасу осы гендердің транскрипциясын тиімдірек реттеуге мүмкіндік береді.

Прокариоттық гендердің *реттеуші элементтеріне* геннің жұмысын бақылайтын аймақтар жатады:



Промотор- ол ДНҚ молекуласының РНҚ полимеразасымен ген ақпаратының көшіріліп жазылуының (транскрипциясының) басталатын нүктесі ретінде танылып байланысатын орны..

Терминатор — геннің немесе оперонның транскрипциясы аяқталатын ДНҚ-ның нуклеотидтер тізбегі.

Оператор — ақуыз-репрессормен әрекеттесетін ДНҚ нуклеотидтерінің белгілі бір тізбегі болып табылады. Оператордың диспетчерлік функциясы бар - ол РНҚ синтезіне рұқсат береді немесе тыйым салады.

Эукариоттық транскриптонның құрылымы



Эукариоттардағы транскрипцияның промотор мен терминатормен шектелген қарапайым бірлігі **транскриптон** деп аталады. Транскриптон да екі бөліктен тұрады: **реттеуші** (ақпараттық емес) және **құрылымдық** (ақпараттық) Реттеуші бөлігінің үлесіне 90%, құрылымдық -10% тиесілі.

Құрылымдық аймақ бір транскрипция бірлігінен тұрады және «**мозайкалы**» құрылымға ие: кодтаушы аймақтары (экзондар) кодталмайтын аймақтармен (интрондар) кезектесіп отырады. Эукариоттардың құрылымдық аймағында бір уақытта тек бір мРНК молекуласы синтезделеді.

Гендердің **реттеуші аймақтары** промоторлар, энхансерлер, сайленсерлер және инсуляторлар деп аталатын ДНК бірізділіктерінен тұрады. **Энхансерлер** деп транскрипция белсенділігін күшейтетін ДНК бірізділігін, **сайленсерлер** деп транскрипция белсенділігін төмендететін ДНК бірізділігін атаймыз. **Инсуляторлар** – арнайы реттеуші қызмет атқаратын бірізділік. Ол екі реттеуші элемент арасында орналасып бірін бірі тежеуіне не активтендіруіне жол бермейді.

ДНҚ тізбектерінің функционалды рөлі

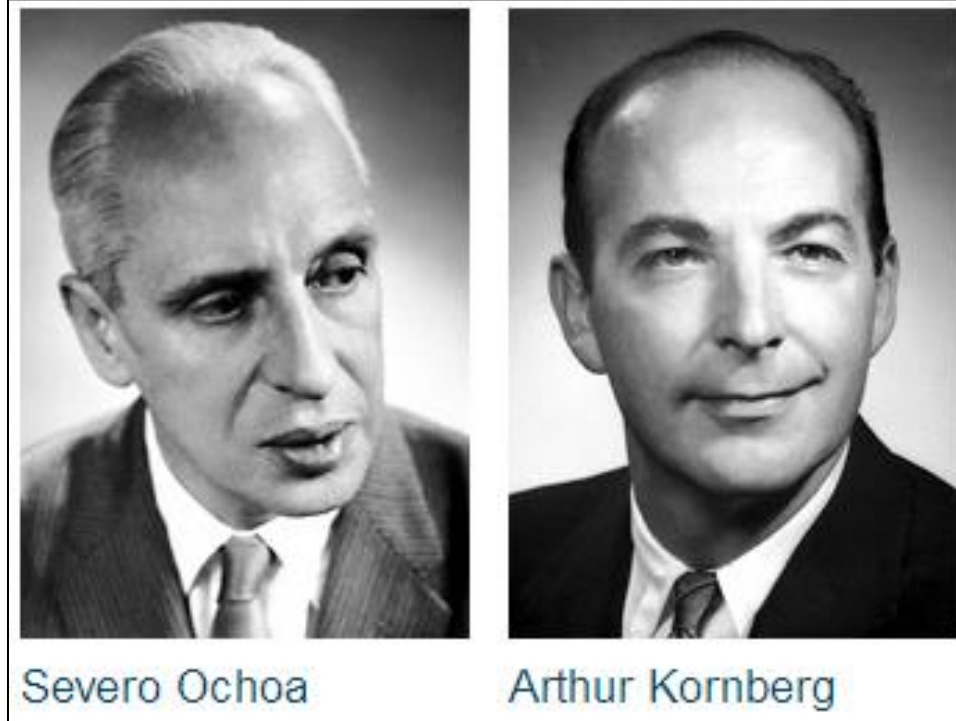


Ген аумағындағы ДНҚ молекуласының екі тізбегі функционалды рөлі бойынша ерекшеленеді:

1. кодтаушы немесе мағыналы;
2. матрицалық.

Транскрипция кезінде (генді оқу немесе пре-мРНК синтезінде) матрица ретінде матрицалық тізбек әрекет етеді. Ал транскрипция өнімі, пре-мРНК кодтаушы ДНҚ тізбегімен нуклеотидтер тізбек бойынша сәйкес келеді (тиминді урацилмен ауыстыруды қоспағанда).

Транскрипция – (латын тілінен transcriptio – қайта жазу) – ДНҚ-ға тәуелді РНҚ полимераза ферменті арқылы жүзеге асырылатын ДНҚ матрицасында РНҚ-ның барлық түрлерінің синтезі.



1959 жылы ДНҚ мен РНҚ биологиялық синтезінің механизмін ашқаны үшін Северо Очоа мен Артур Корнберг Нобель сыйлығымен марапатталды.

Транскрипция принциптері

- 1. Комплементарлылық.** РНК-полимераза ДНҚ матрицасына комплементарлы принциппен рибонуклеотидтрифосфаттарды жалғайды (А -U, G-C, C-G, T-A).
- 2. Антипараллельділік.** Синтезделген РНК тізбегі транскрипцияға ұшыраған ДНҚ фрагментіне антипараллельді бағытталады.
- 3. Ассиметриялылық.** Транскрипция процесінде ДНҚ-ның екі тізбегі де транскрипциялана алады, бірақ әрбір жеке оперонда немесе транскриптонда ДНҚ тізбегінің біреуі ғана - матрицалық тізбек транскрипцияланады, кодтаушы тізбек транскрипцияланбайды. Қайсысы матрицалық тізбек қызметін атқаратыны промоутер мен терминатордың орнымен анықталады.
- 4. Униполярлылық.** Нуклеотидтік тізбектің синтезі әрқашан 5' -> 3' бағытталған
- 5. Праймер қажет емес.** Транскрипция нуклеотидтрифосфаттан басталады және бастаушы олигонуклеотидтерді қажет етпейді..
- 6. Консервативтілік.** РНК синтезі аяқталғаннан кейін ДНҚ молекуласы бастапқы күйіне оралады.

Прокариоттарда РНҚ-ның барлық түрлерінің синтезі бір фермент ***ДНҚ-тәуелді РНҚ полимераза*** арқылы жүзеге асады.

Эукариоттарда РНҚ-полимеразалардың 4 түрі бар (3 түрі ядролық және 1 түрі митохондриялық немесе хлоропласттық)

- РНҚ Pol I - рРНҚ-ның үш түрін (28S, 18S, 5,8S) синтездейді;
- РНҚ Pol II – мРНҚ мен кіші ядролық РНҚ синтездейді;
- РНҚ Pol III – тРНҚ және 5S-РНҚ синтездейді

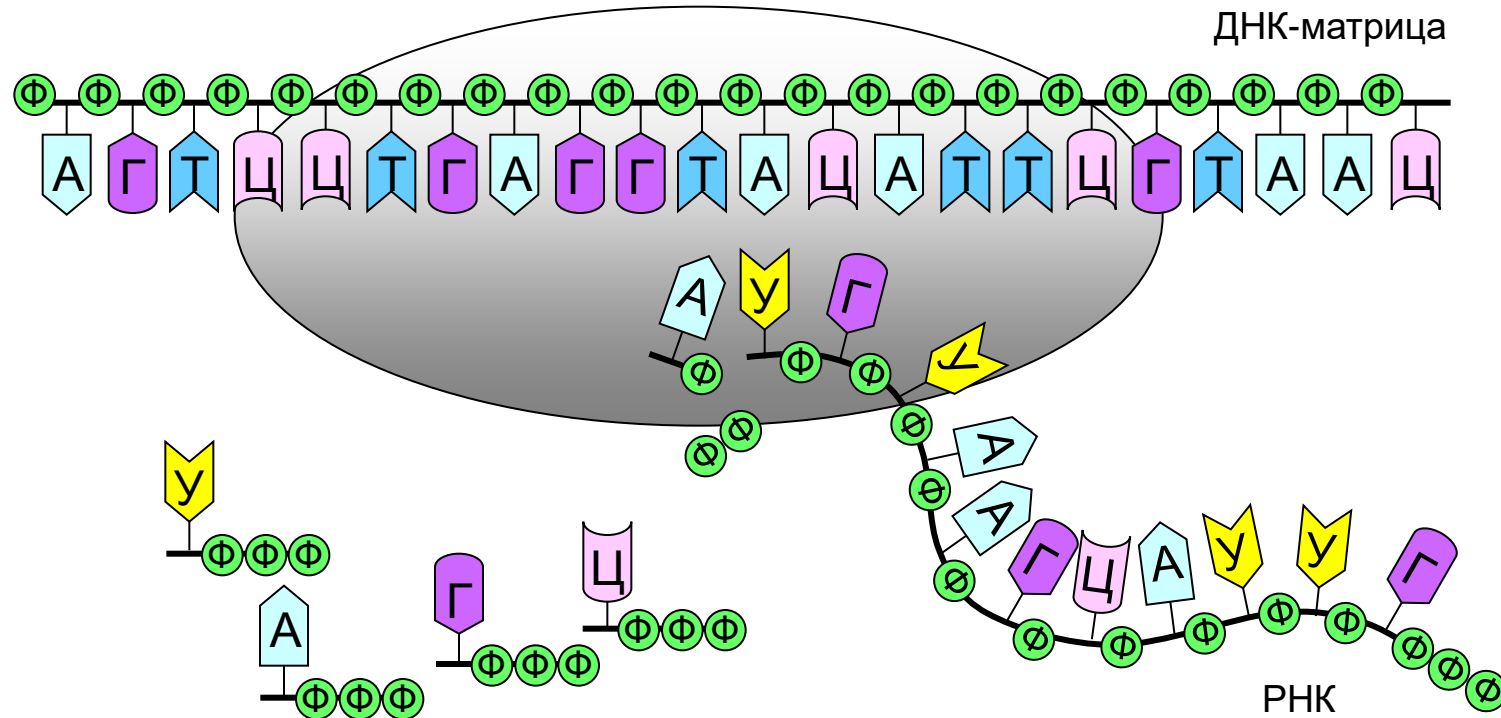
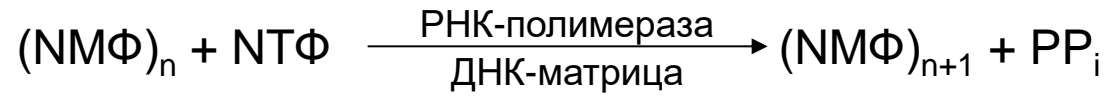
Эукариоттық РНҚ-полимеразалар үлкен молекулалық массаға ие және полимераза түріне байланысты 14-тен 17-ге дейінгі суббірліктерден тұратын мультимерлі белоктардың (500–700 кД) кешені болып табылады.

РНҚ полимераза ферментінің субстраты ***рибонуклеозид-5'-трифосфаттар*** - CTP, GTP, ATP, UTP - энергия көздері.

Сондықтан транскрипцияның бүкіл процесі белсендірілген нуклеотидтердің макроэргиялық байланыстарының энергиясы есебінен жүзеге асады

иондары Mg^{+2} , Zn^{+2}

РНК-полимераза



Жылдамдығы – шамамен 30-40 нуклеотид/сек

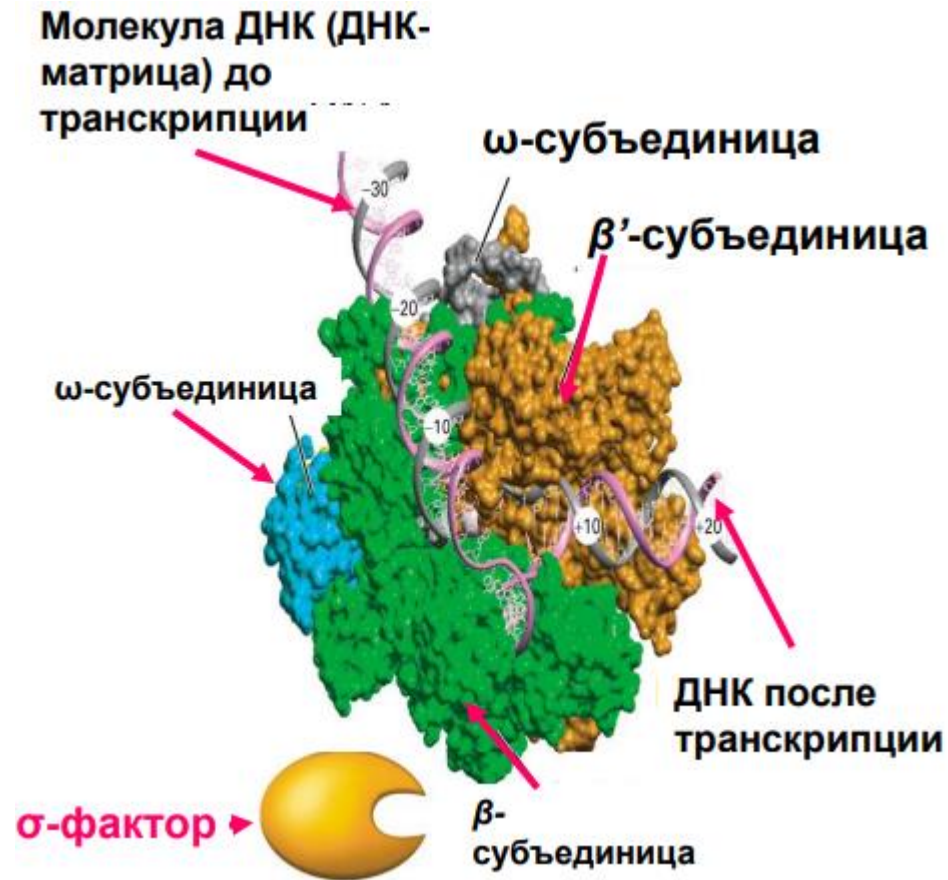
Қателік жиілігі– РНҚ полимеразаларында қателерді түзету үшін тәуелсіз 3' → 5' экзонуклеазалық белсенділігі жоқ, сондықтан қателік жиілігі жоғары, әрбір енгізілген $10^4 - 10^5$ нуклеотидтерге 1 қате.

Прокариоттық РНҚ полимераза

E. coli РНҚ полимеразасы M_w - 480 кДа болатын күрделі ақуыз кешені 5 ақуыз суббірліктерінен тұрады: екі α , β , β' , ω және σ -факторлар.

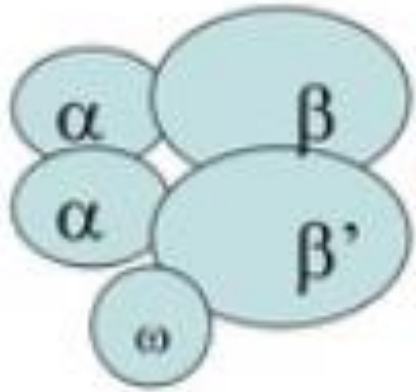
α -суббірлік (36,5 кДа) – реттеуші факторларды таниды және ферменттің қалған бөлігін байланыстырады. Суббірлік екі доменнен тұрады: α CTD (С-терминалды домен) промотордың бірінші элементін байланыстырады, ал α NTD (N-терминал домені) полимеразаның қалған компонент-терімен байланысады.

β -суббірлік (150 кДа) – ферменттің каталитикалық бөлігі (полимеразалық белсенділікке ие).

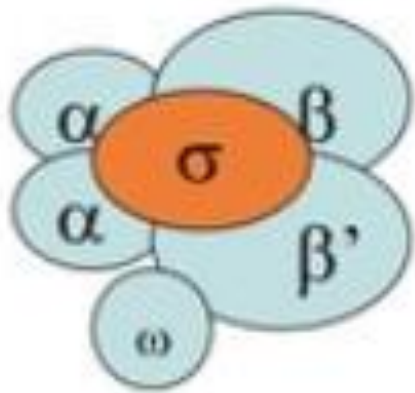


β' -суббірлік (155 кДа) – ДНК матрицамен спецификалық емес байланысады;

ω -суббірлік (11 кДа) – денатуратталған РНҚ-полимеразаны *in vitro* жағдайында өміршең формасына қайтарады. Сондай-ақ оның *Mycobacterium smegmatis*-те құрамындағы β' -суббірлігіне қорғаныс/шаперон әсері бар екені анықталды.



Core enzyme



Holoenzyme

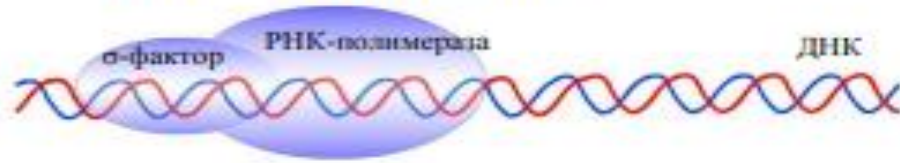
ДНҚ-ның промоторлық аймақтарымен байланысу үшін негізгі ферментке тағы бір суббірлік – сигма (σ) қажет.

σ -Фактор (85кДа) РНҚ-полимеразаның ДНҚ-ның спецификалық емес аймақтарына жақындығын айтарлықтай төмендетеді және сонымен бірге оның құрылымына байланысты белгілі бір промоторларға сезімталдығын арттырады. Оның көмегімен транскрипция ДНҚ-ның қажетті бөлімінен басталады.

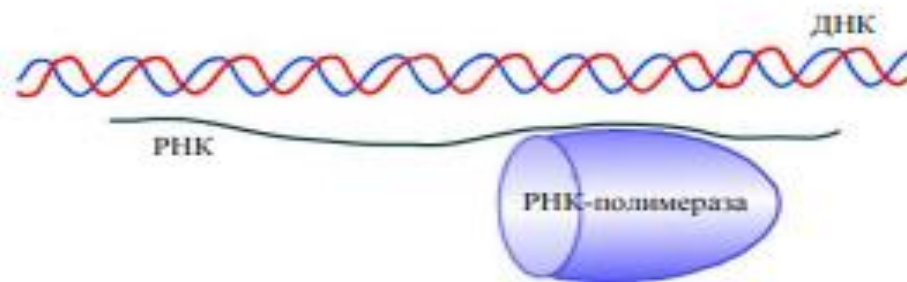
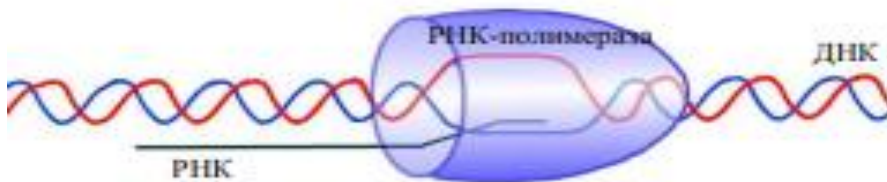
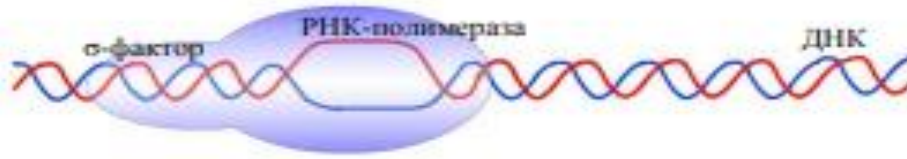
толық **холофермент** σ -суббірліктен тұрады: $\alpha_2\beta\beta'\sigma\omega$ (~480 кДа)

σ -Фактордан айрылған $\alpha_2, \beta, \beta', \omega$ суббірліктерінің кешені **core-фермент** (ағылшын. Core-жүрек) немесе минимальді фермент деп аталады

1-ая стадия: закрытый комплекс



2-ая стадия: открытый комплекс



Транскрипция кезеңдері

РНК полимеразаның промотормен байланысуы.

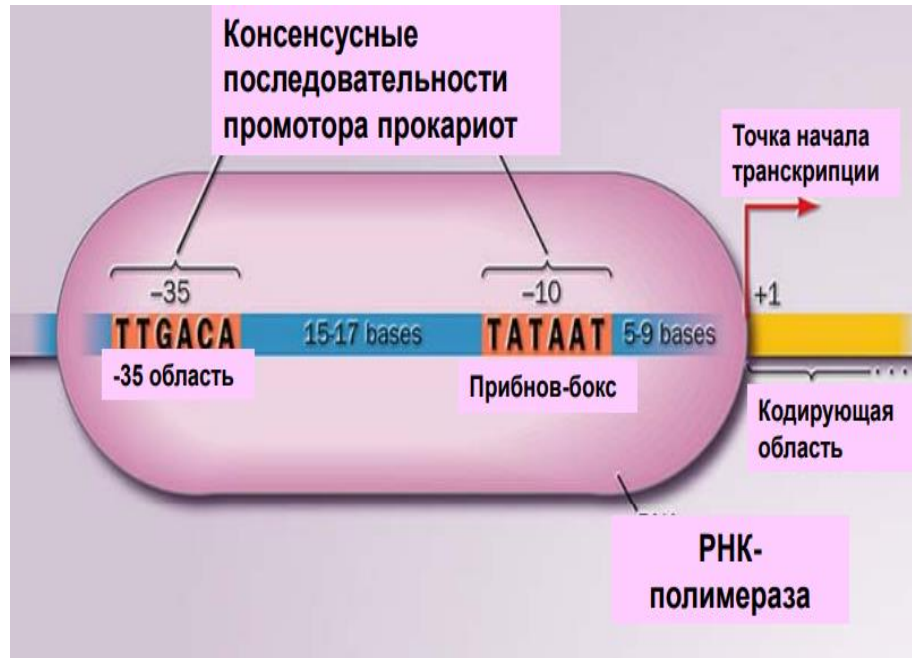
Көмекші белоктардың қатысуымен РНК полимераза (Е. Coli σ -факторлар) промотормен байланысып, ДНК өзінің қос тізбекті құрылымын сақтайтын тұйық кешен түзеді. Жабық кешен ашыққа айналады, РНК-полимераза транскрипцияның басталу нүктесінде ДНК қос спиралын тарқатады.

Инициация. Матрицалық ДНК тізбегіне комплементарлы РНК қысқа тізбегінің синтезі (2-9 негіз); Бұл кезең РНК-полимераза кешенінің промотормен спецификалық әрекеттесуін қамтамасыз еткен белоктармен: σ -фактор (прокариоттарда) немесе базальды транскрипция факторлары (эукариоттарда) диссоциациясымен аяқталады.

Элонгация. РНК-полимеразаның ДНК бойымен қозғалуы барысында РНК синтезі, сонымен қатар ДНК-ны тарқатылуы мен ширатылуы.

Терминация. Транскрипцияның соңы, ДНК-РНК полимераза кешені ыдырап, транскрипция аяқталады.

РНҚ полимераза белгілі бір геннің транскрипциясын бастау үшін дұрыс орынды қалай табады???????



Е. coli-дегі 100-ден астам промоторлардың бірізділігінің талдауы ұқсас құрылымды анықтады:

- транскрипцияның басталу аймағында – пурин орналасады, көбінесе «САТ»
- "-10" позициясында гексамер ТАТААТ ("-10" аймағы)
- «-35» позициясында TTGACA гексамер («-35» аймағы)
- "-35" және "-10" аймағы арасындағы қашықтық ~16-18 нуклеотидтер

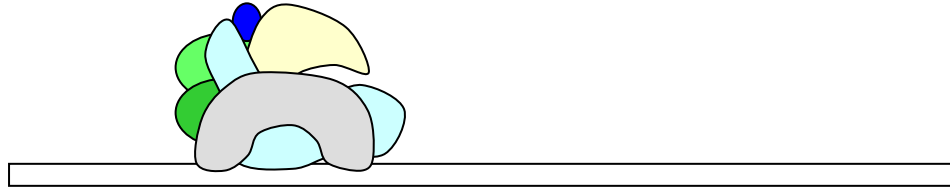
«-10» аймағында ТАТААТ тізбегі және «Прибнов боксы немесе домені» ретінде белгіленеді (Прибнов 1975). Прибнов боксы РНҚ-полимеразаның байланысуын және ферменттің ДНҚ-ға бағдарлануын анықтайды.

«-35» позициясында TTGACA тізбегі (Travers 1981) σ -факторды бекіту орны ретінде табылды. Екі ДНҚ тізбегінің бірінде осы аймақтардың локализациясы көшірілетін матрицалық тізбекті көрсетеді.

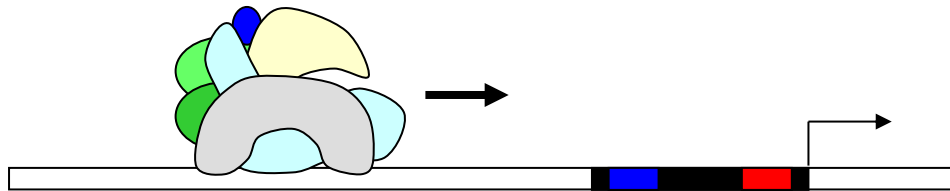
Осы консенусты тізбектерді бөлетін қашықтық 16 және 18 жн. промоторлардың 90%-да. Бұл қашықтық РНҚ полимераза молекуласының пішініне сәйкес келеді.

Бактерияларда транскрипцияның инициациясы

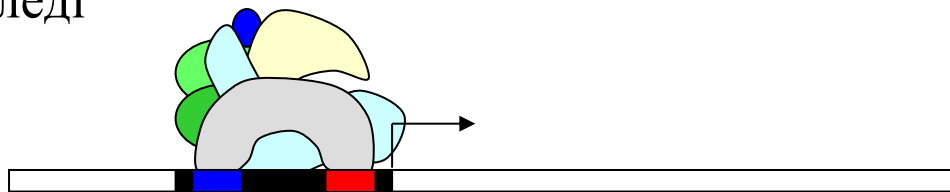
1. σ -суббірлік кор-ферментпен уақытша байланысып холоферменттің бөлігі ретінде ДНҚ молекуласымен байланысады



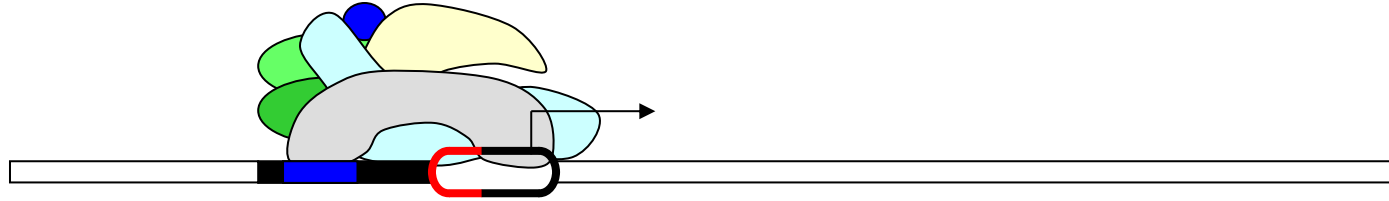
2. σ -суббірлік холоферменттің бөлігі ретінде ферментті ДНҚ молекуласындағы промоторға бағыттайды



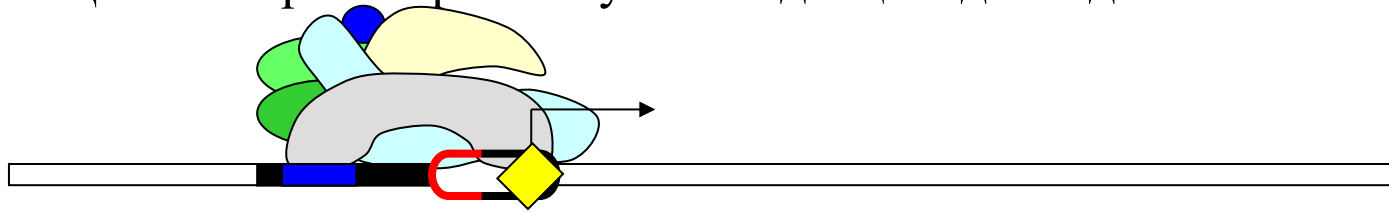
3. РНК-полимераза промоторды танып табады, тұйық транскрипция кешені түзіледі



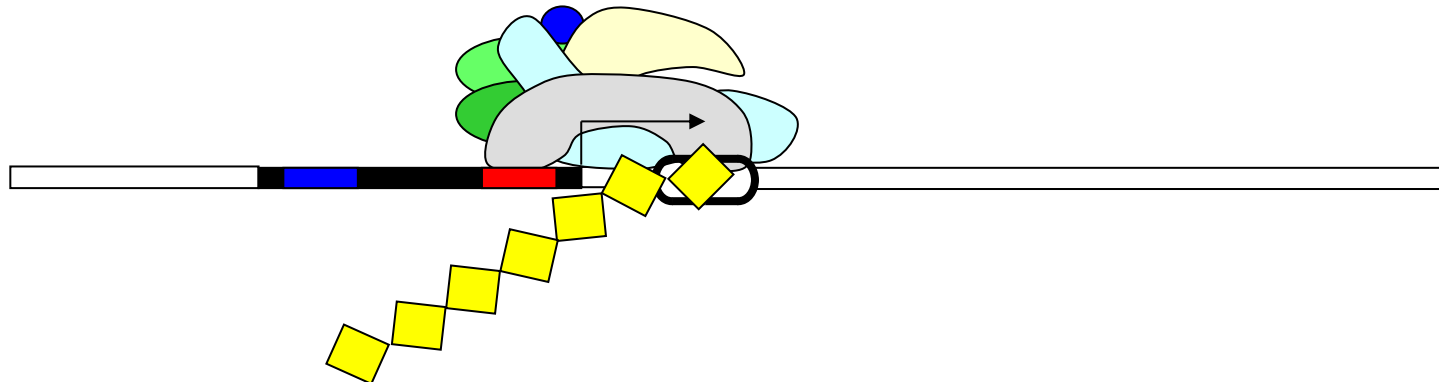
4. РНҚ-полимераза -10 элементі мен транскрипцияның басталу нүктесі арасындағы ДНҚ-ны тарқатып (12-17 ж.н.) , ашық транскрипция кешенін құрайды.



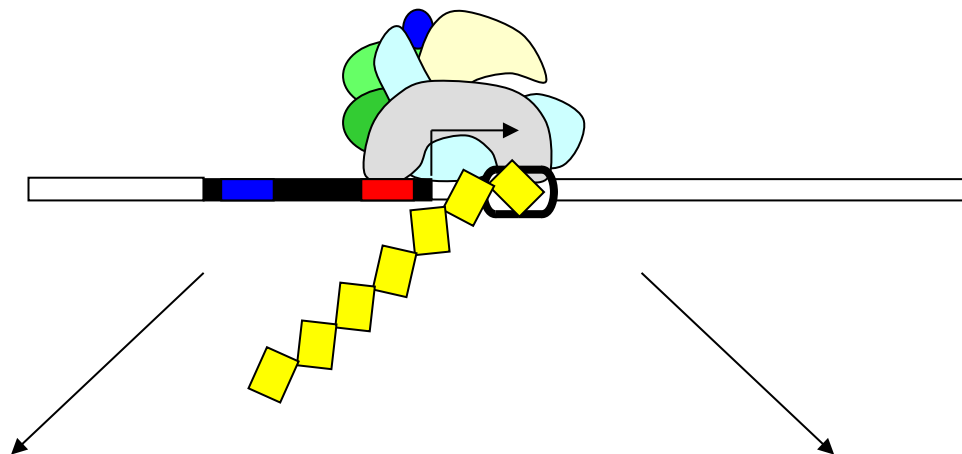
5. РНҚ-полимераза бірінші нуклеотидті қосады. Әдетте А немесе Г



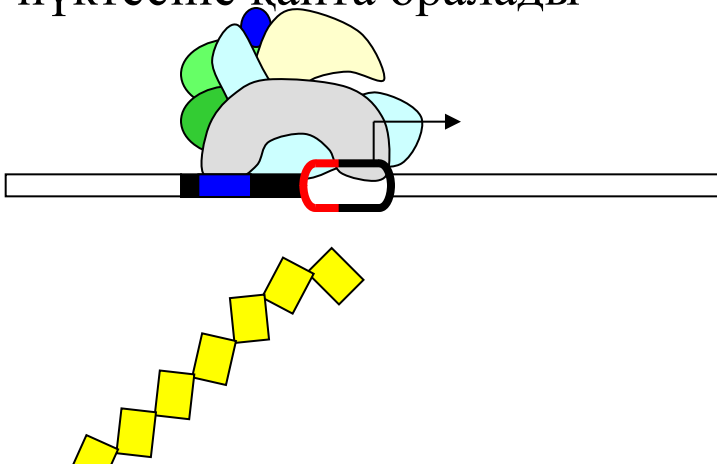
6. РНҚ-полимераза бірнеше нуклеотидтерді жалғайды



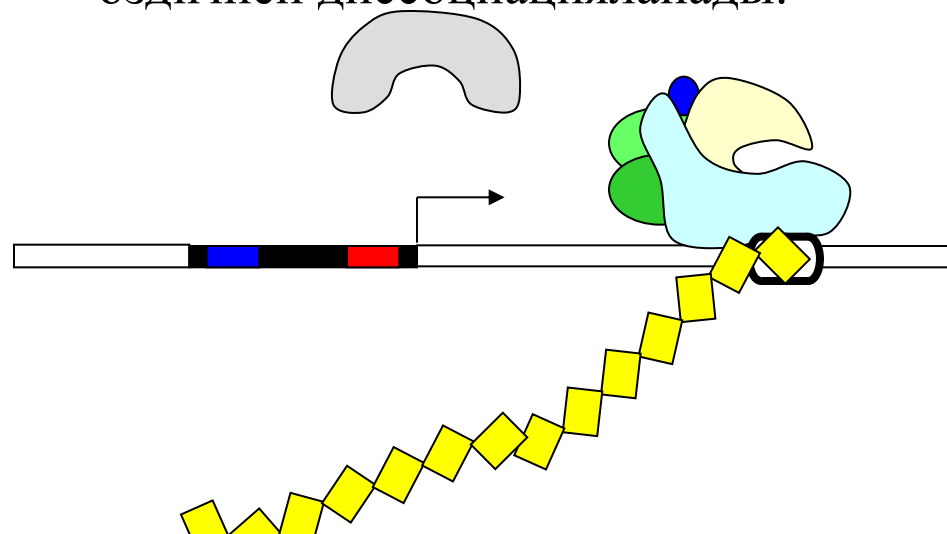
6. РНҚ-полимераза бірнеше нуклеотидтерді жалғайды



7. Алғашқы 10 нуклеотид жалғанғаннан кейін РНҚ ажырап, РНҚ-полимераза транскрипцияның басталу нүктесіне қайта оралады



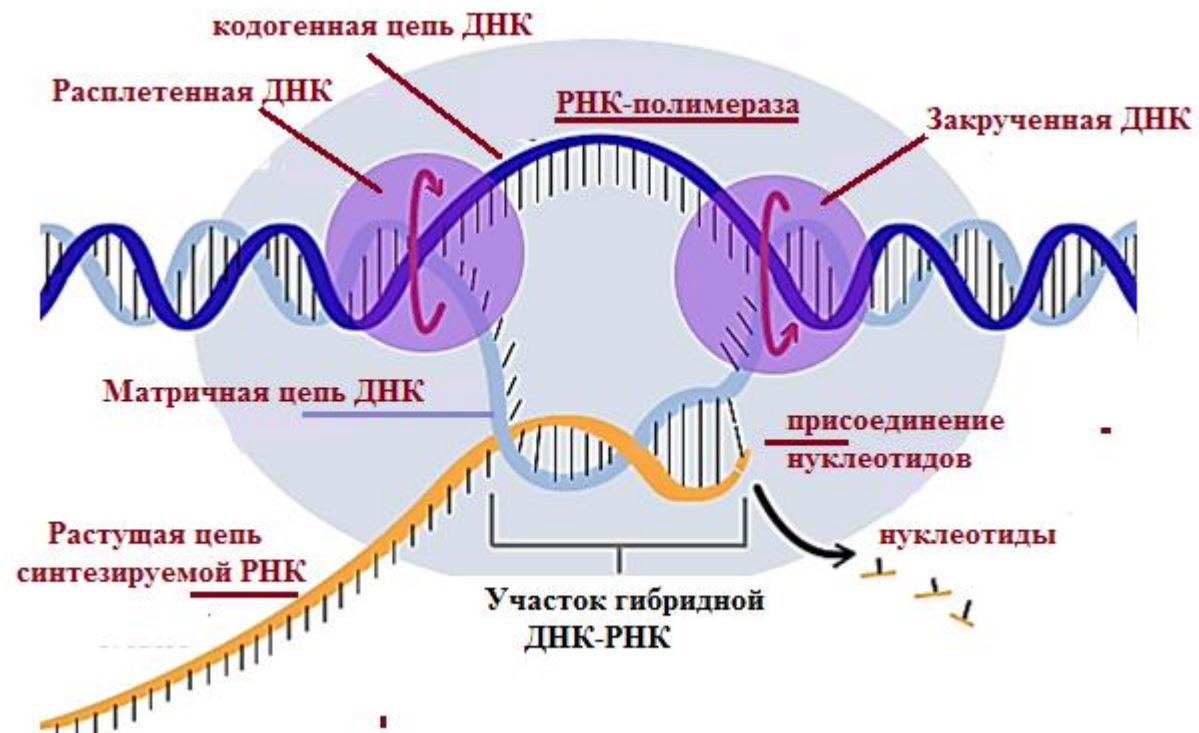
7. 9-12 нуклеотид жалғанғаннан соң σ -суббірлік ажырап, оның орнын NusA протеині алады, ал σ -суббірлік өздігінен диссоциацияланады.



Транскрипция элонгациясы

Кор-фермент оперонның құрылымдық гендері бойымен қозғалады, сәйкесінше ашық кешен «транскрипциялық көзге» ауысады, РНҚ молекуласы матрицалық ДНҚ тізбегіне комплементарлы синтезделеді. Элонгация процесінде шамамен 13 РНҚ нуклеотидтері тарқатылған ДНҚ-ның матрицалық тізбегімен гибриді спираль түзеді деп есептеледі

(барлығы осы кезеңде ДНҚ-да шамамен 18 нуклеотид тарқатылған). РНҚ-полимеразаның ДНҚ-мен және синтезделген РНҚ-мен комплексі **элонгациялық комплекс** деп аталады. Элонгациялық кешеннің алдындағы ДНҚ жіпшелері (ДНҚ – РНҚ полимераза – РНҚ) тарқатылып, ал артында ДНҚ қос спиралының қалпына келуі жүреді. Сонымен бірге өсіп келе жатқан РНҚ тізбегінің 5' ұшы кешеннен ығыстырылады. РНҚ тізбегі 5' : 3' бағытта өседі, өйткені РНҚ полимераза ДНҚ тізбегінің 3' ұшынан 5' ұшына дейін қозғалады. Е. coli бактериясында РНҚ тізбегінің орташа өсу жылдамдығы секундына 40-45 рибонуклеотидті құрайды. РНҚ тізбегінің ұзару процесінде фермент ДНҚ бойымен өзгермелі жылдамдықпен қозғалады. Матрицаның кейбір бөліктерінде оның прогресінде пауза деп аталатын ұзақ кешігулер бар.

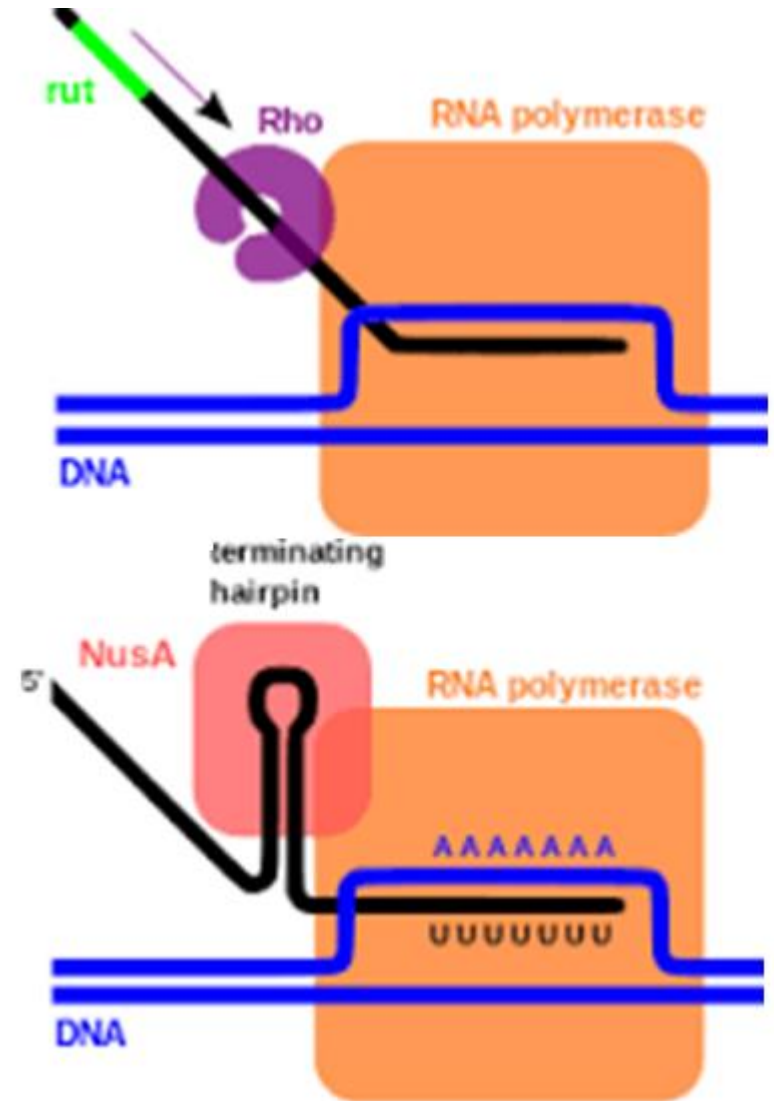


Транскрипцияның терминациясы

РНҚ-полимераза РНҚ-ны терминаторға жеткенше синтездейді, мұнда РНҚ тізбегіне нуклеотидтердің қосылуы тоқтайды, нәтижесінде алынған транскрипт бөлінеді және РНҚ-полимераза ДНҚ матрицасынан бөлініп, ДНҚ нативтілігі қалпына келеді. Транскрипцияны тоқтату екі жолмен жүзеге асырылуы мүмкін::

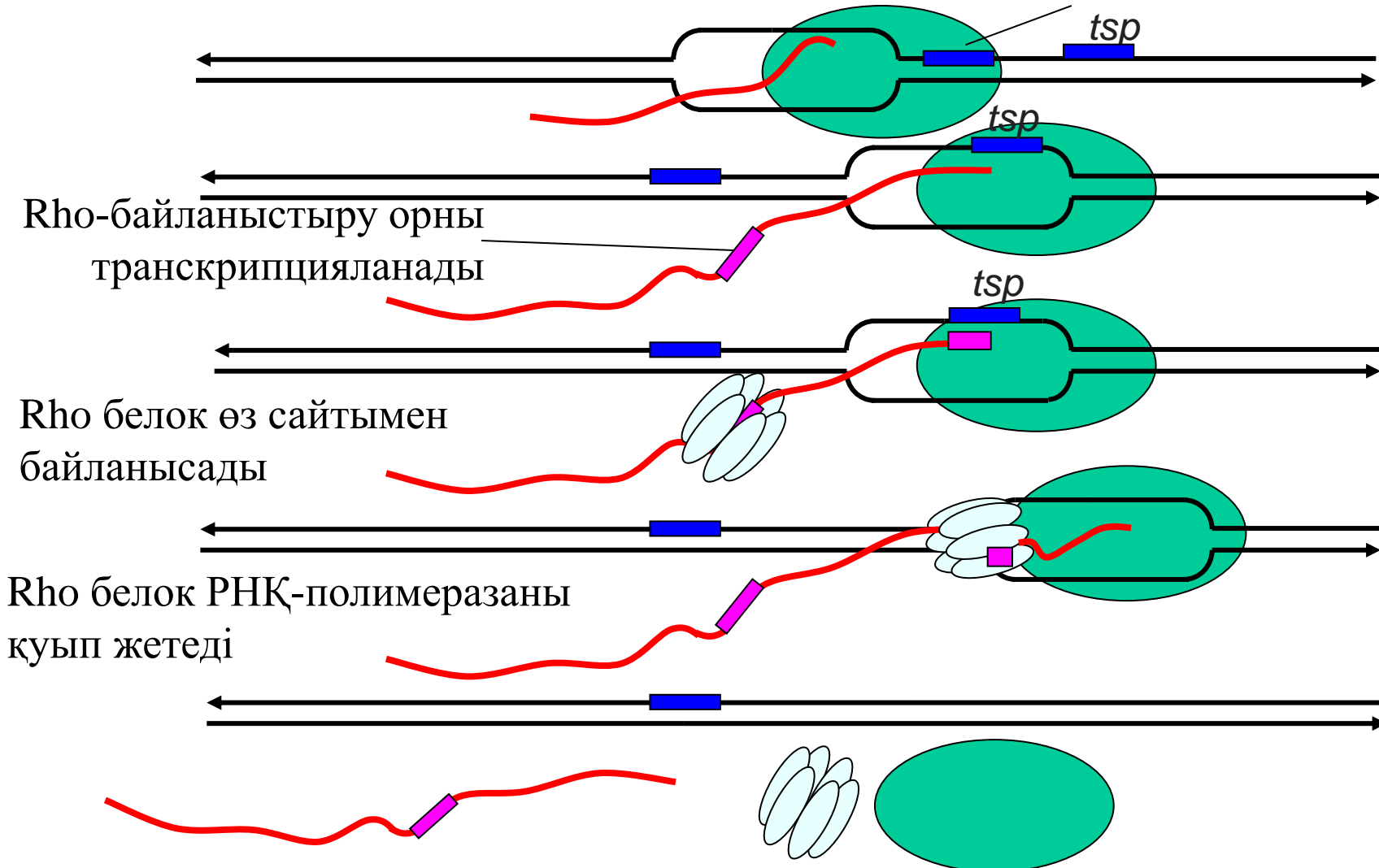
Rho-тәуелді терминация • Rho протеинімен бақыланады • Rho факторы өсіп келе жатқан РНҚ тізбегімен байланысады • Транскрипцияның р-тәуелді аяқталу орындарында, РНҚ полимераза ұзаруын тоқтатады • Rho ақуызы ДНҚ матрицасы мен мРНҚ арасындағы сутектік байланыстарды тұрақсыздандырып, мРНҚ молекуласын босатады

Rho-тәуелсіз терминация • ДНҚ үлгісіндегі реттілікпен бақыланады • РНҚ полимеразасы CG-ға бай аймаққа жетеді • Синтезделген РНҚ молекуласы бірнеше урацилден кейін шпилькалы құрылым түзеді, бұл РНҚ молекуласының ДНҚ матрицасынан ажырауына әкеледі.



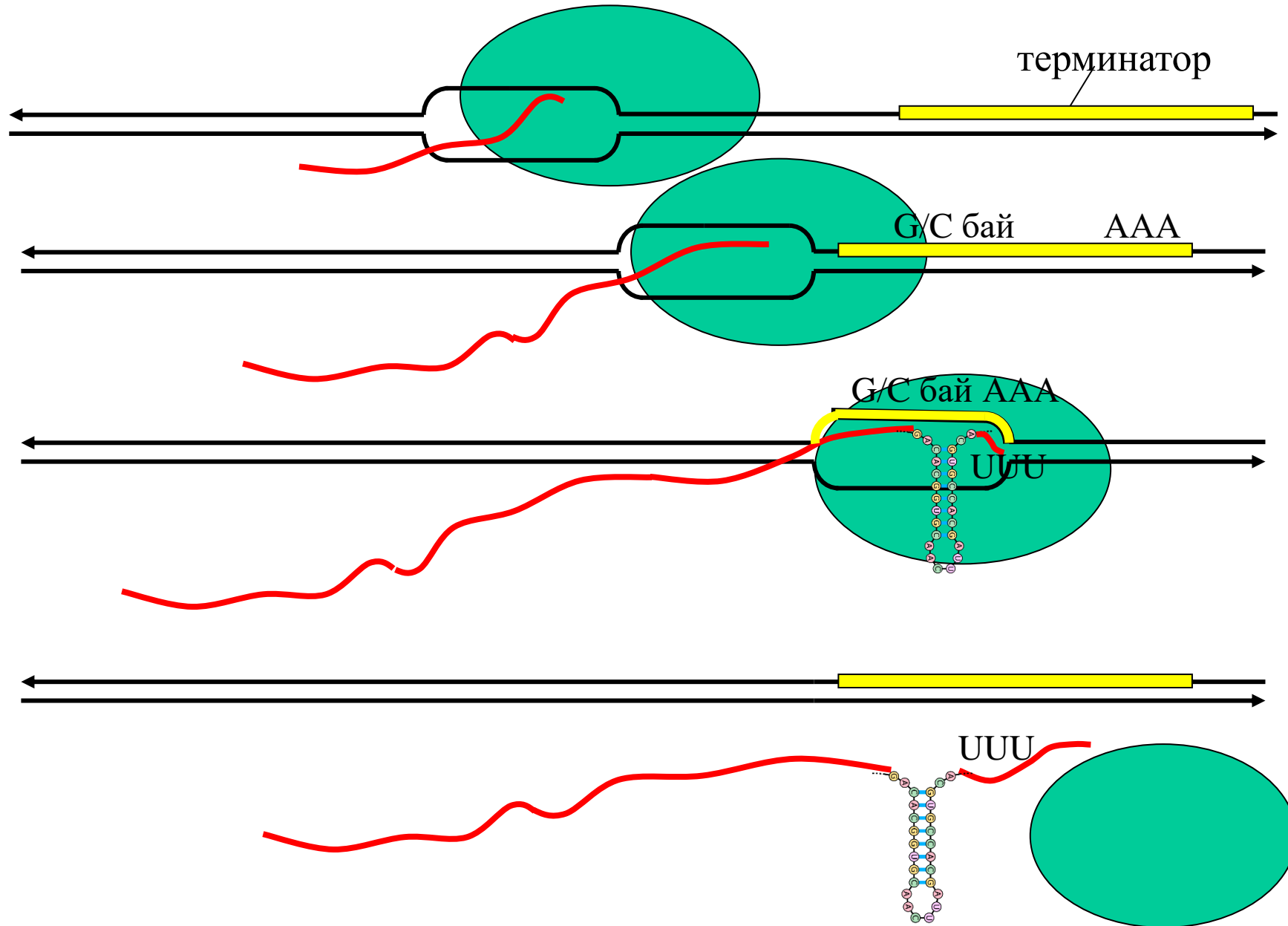
Rho-тәуелді терминация

ДНҚ-кодталған пиримидинге бай Rho-байланыстыру орны RUT сайттары



Rho белогы РНҚ молекуласын транскрипция көпіршігінен итеріп шығарады, комплекс диссоциацияланады.

Рho-тәуелсіз терминация



Посттранскрипциялық РНҚ процессингі

Ереже бойынша бүкіл РНҚ молекуласы **бастамашы-РНҚ** (пре-РНҚ) түрінде синтезделеді. Олардың молекулалық массасы үлкен болады. Ары қарай «жетілу» (процессинг) нәтижесінде жетілген РНҚ молекуласына айналады. Процессинг – бастаушы молекулалар- алғашқы транскрипттерден жетілген (функциональді активті) РНҚ молекуласының түзілуі.

Процессинг – Нәтижесінде бастаушы-РНҚ молекуласының молекулалық массасы кішірейіп, әртүрлі химиялық модификациялар орын алуы салдарынан жетілген РНҚ түзілетін билхимиялық реакциялар жиынтығы.

Прокариоттық РНҚ процессингі. Прокариоттарды РНҚ процессингі өте сирек кездеседі. Транскрипция нәтижесінде рибосомамен байланысуға қабілетті РНҚ синтезделеді.

Кері транскрипция

Геномы бір тізбекті РНҚлы ретровирустарды зерттегенде, ретровирус жасушаішілік даму кезінде өзінің геномының қос тізбекті ДНҚ түрінде қожайын клеткасының хромосомаларына интеграциялану сатысынан өтетіні анықталды. 1964 жылы Темин РНҚ шаблоньында комплементарлы ДНҚ синтездеуге қабілетті вирус-спецификалық ферменттің болуы туралы болжам жасады. Мұндай ферментті оқшаулауға бағытталған әрекеттер сәтті аяқталды және 1970 жылы Темин мен Мизутани, сондай-ақ, Балтимор өз бетінше, Роус саркома вирусының жасушадан тыс вириондарын дайындауда қажетті ферментті тапты. Бұл РНҚ-ға тәуелді ДНҚ-полимераза кері транскриптаза немесе ревертаза деп аталады.

1975 жылы физиология немесе медицина саласындағы Нобель сыйлығы



Courtesy of the University of Wisconsin-Madison Archives.
Noncommercial, educational use only.

Х. М. Темин (1934-1994)



Д. Балтимор (род. 1938)

