

Курс «Молекулярная биология клетки»

Основные концепции современной молекулярной биологии.

- Структура и стабильность генома. Структура ДНК, процессы репликации ДНК, репарации и пространственной организации генома.
- Реализация наследственной информации. Процессы, лежащие в основе "работы" (экспрессии) генов — транскрипция, трансляция. Жизненный цикл мРНК и посттрансляционная судьба белковых молекул.
- Клетка и окружающая среда. Взаимодействие клетки с окружающими её клетками через прямые межклеточные контакты и химические сигналы. Обмен веществ (метаболизм) и клеточный цикл.

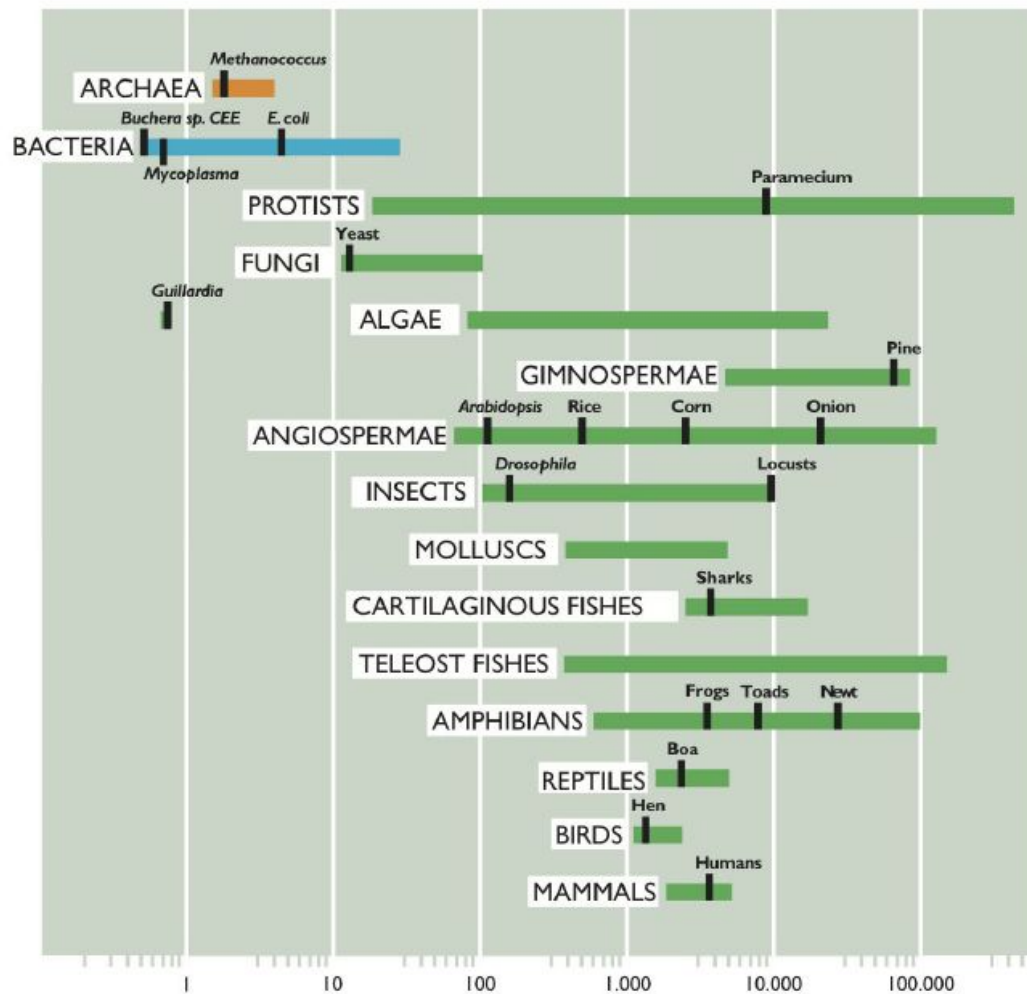
Лекция 5.

Пространственная организация генома

- какие линейные размеры имеют молекулы ДНК разных организмов;
- какие основные уровни компактизации ДНК реализуются у про- и эукариот;
- что такое нуклеосомы, гистоны и топологически ассоциированные домены.

Размеры геномов

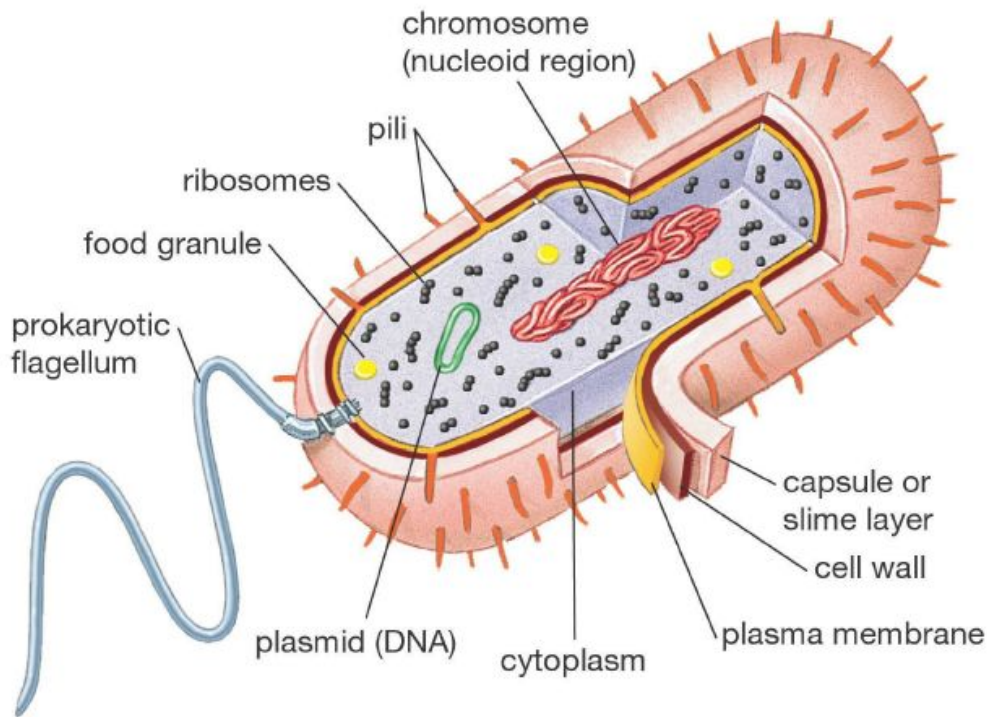
Длина геномов живых организмов варьирует от 10^5 до 10^{11} п.н.



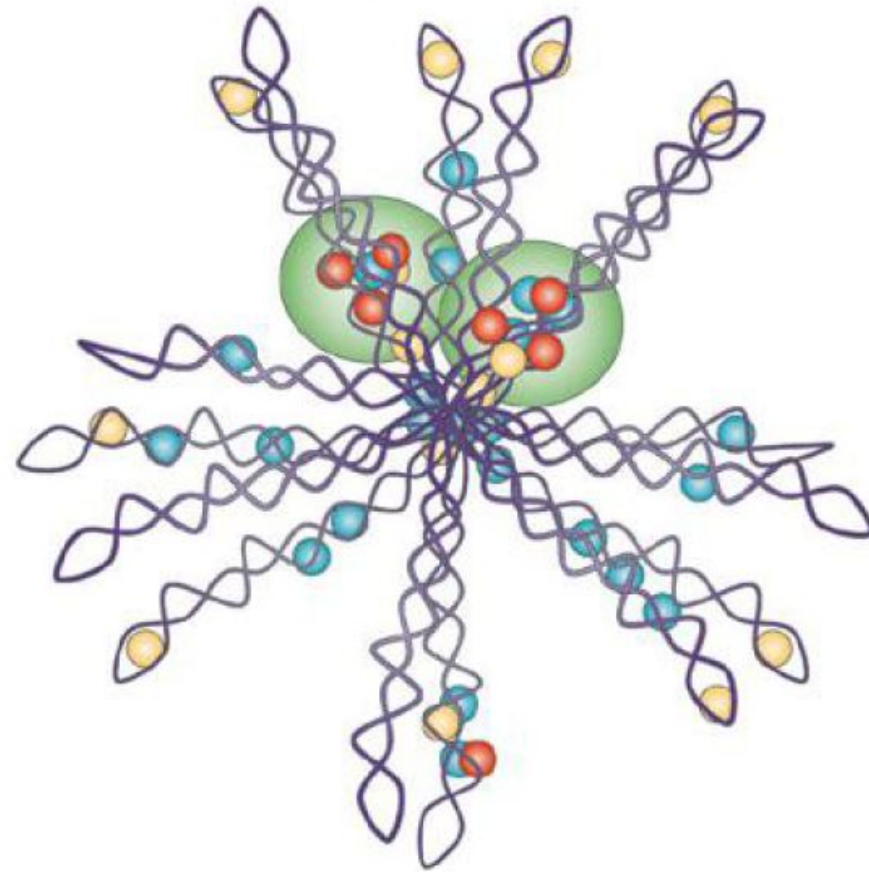
Размеры геномов

Compartment	Shape	Dimensions	Type of Nucleic Acid	Length
TMV	filament	0.008 x 0.3 μm	One single-stranded RNA	2 μm = 6.4 kb
Phage ϕ d	filament	0.006 x 0.85 μm	One single-stranded DNA	2 μm = 6.0 kb
Adenovirus	icosahedron	0.07 μm diameter	One double-stranded DNA	11 μm = 35.0 kb
Phage T4	icosahedron	0.065 x 0.10 μm	One double-stranded DNA	55 μm = 170.0 kb
<i>E. coli</i>	cylinder	1.7 x 0.65 μm	One double-stranded DNA	1.3 mm = 4.2×10^3 kb
Mitochondrion (human)	oblate spheroid	3.0 x 0.5 μm	~10 identical double-stranded DNAs	50 μm = 16.0 kb
Nucleus (human)	spheroid	6 μm diameter	46 chromosomes of double-stranded DNA	1.8 m = 6×10^6 kb

Структура бактериальных геномов

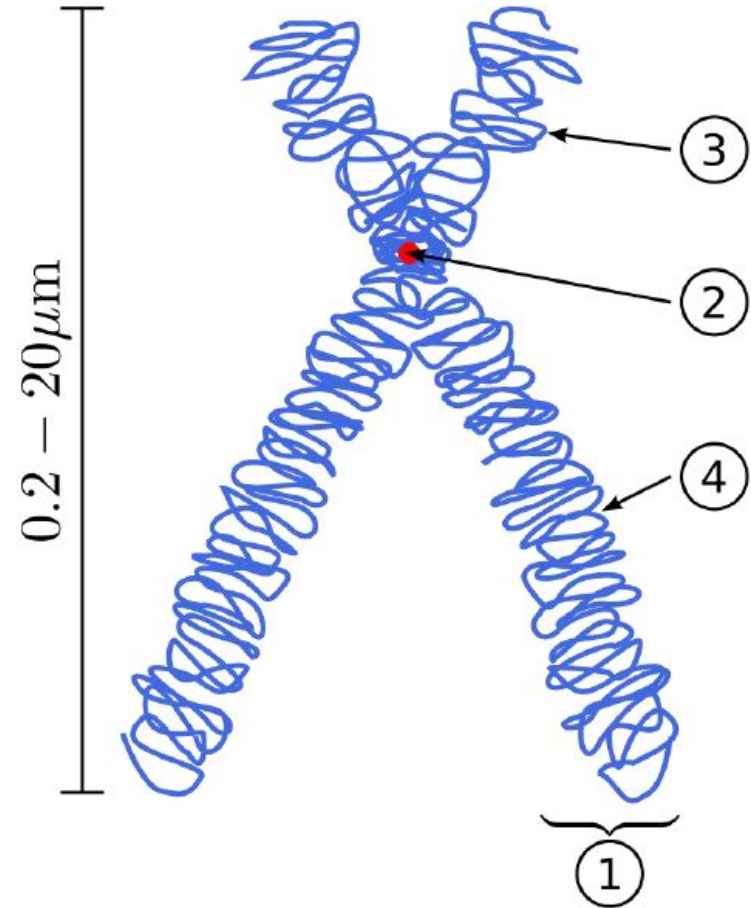


Copyright © 2005 Pearson Prentice Hall, Inc.



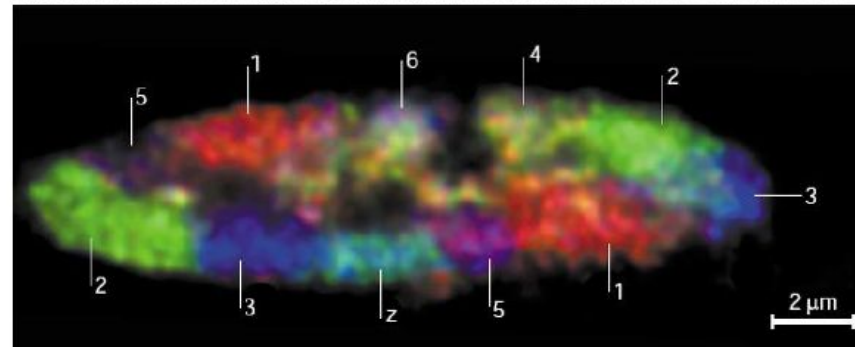
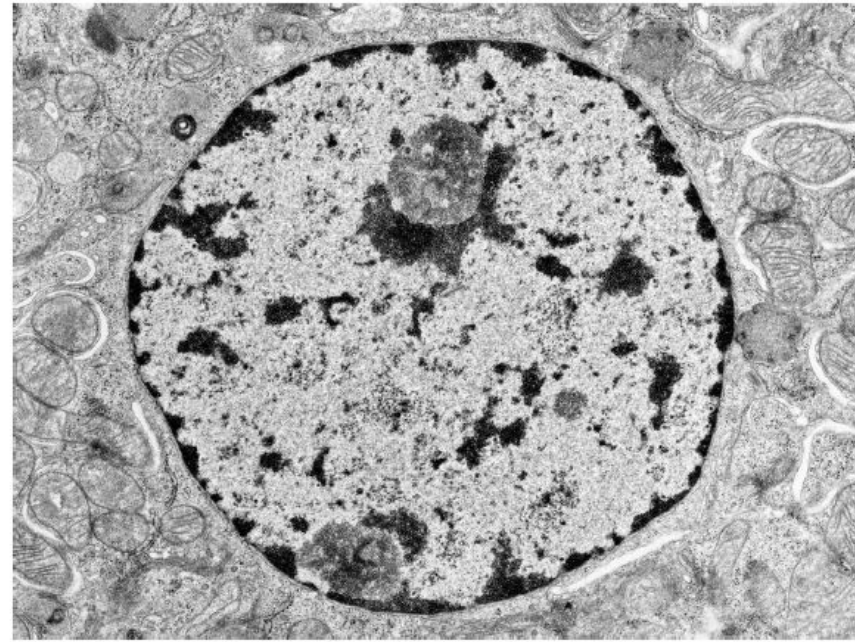
Упаковка генома эукариот

- Геном подавляющего большинства эукариот разделен на линейные хромосомы
- Оформленные хромосомы заметны исключительно при делении клеток
- ДНК в хромосоме имеет максимальную степень компактизации



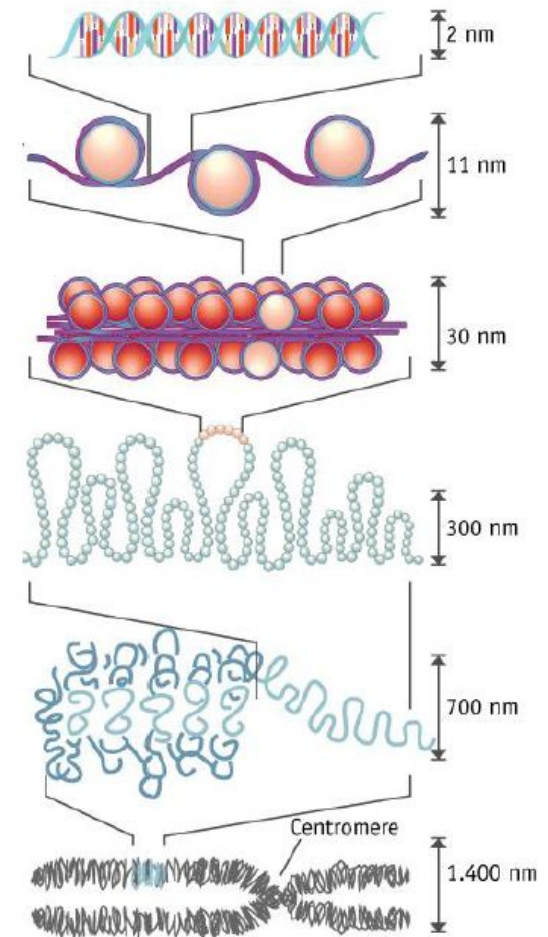
Хроматин

- В ядре не делящейся клетки эукариот хромосомный материал распределен по объему ядра
- Каждая хромосома занимает отдельный участок ядра, называемый хромосомной территорией
- Совокупность ДНК и связанных с ней белков в ядре называют хроматином



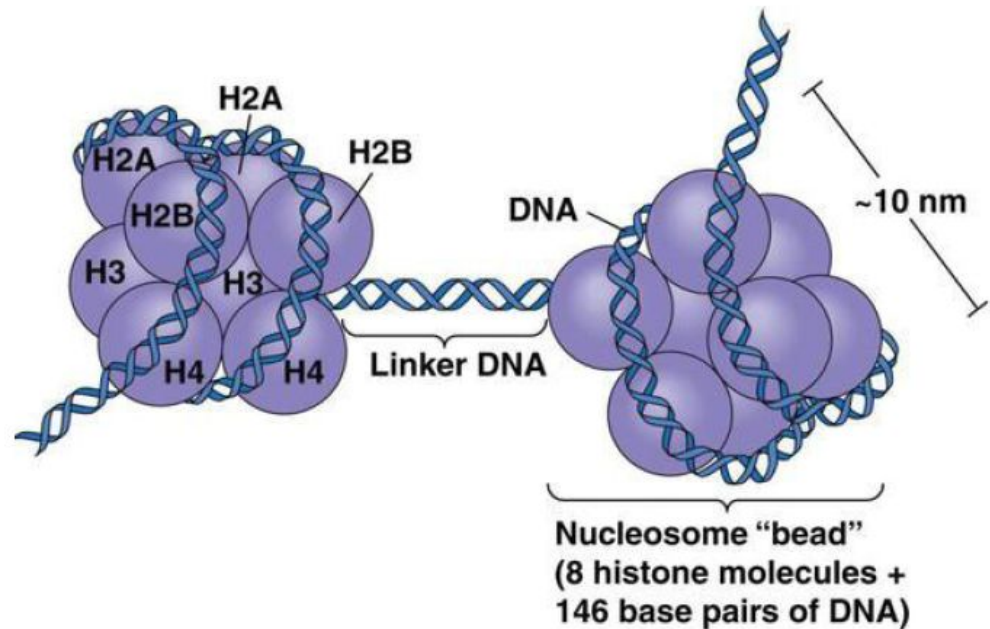
Уровни компактизации

- Пространственная укладка эукариотических геномов включает несколько иерархических уровней компактизации
- В ядре не делящейся клетки разные участки молекул ДНК имеют различную степень компактизации (эухроматин и гетерохроматин)

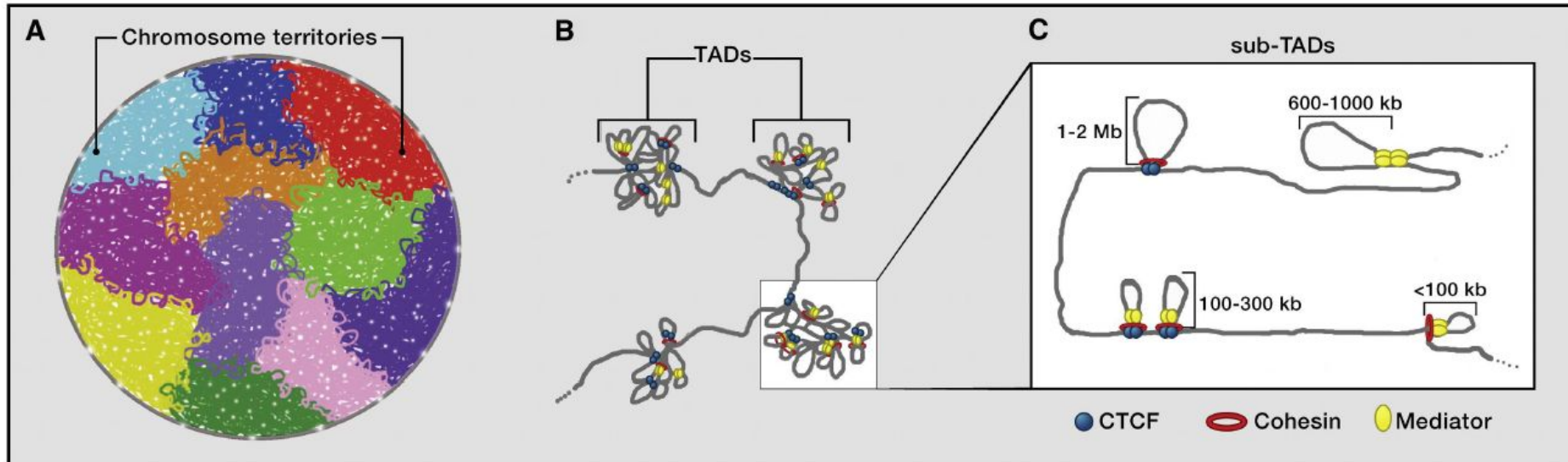


Нуклеосомы

- Нуклеосомы - минимальная единица упаковки ДНК у эукариот
- В состав нуклеосомы входит ДНК и гистоновые белки
- На одну нуклеосому приходится 146 п.н., еще 54 п.н. входят в линкер между двумя соседними нуклеосомами

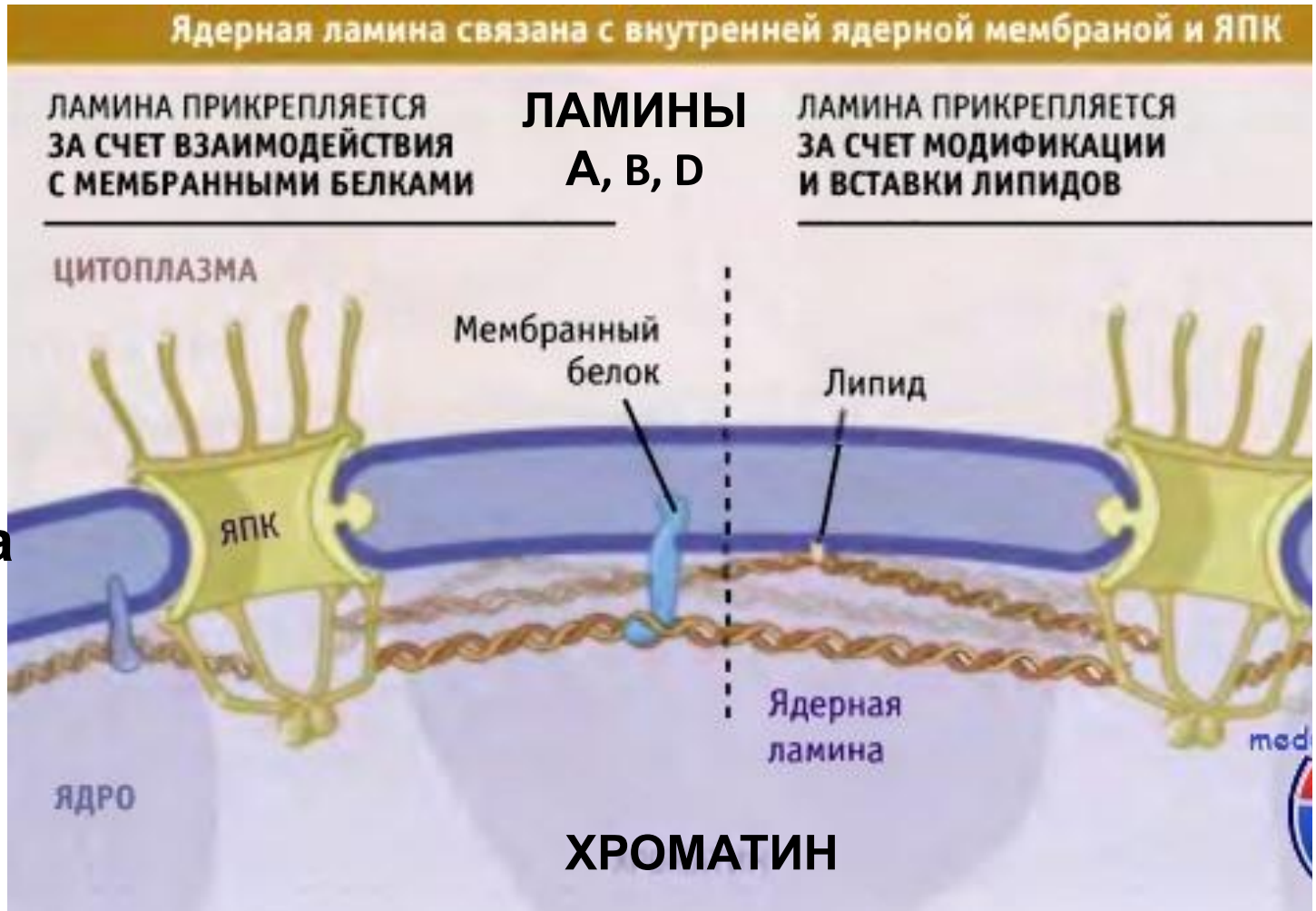


Архитектура ядра



- Определенные участки хромосомы собраны в "узелки", называемые топологически ассоциированными доменами хроматина
- Стабильность таких доменов и их субдоменов поддерживается архитектурными белками (CTCF, белки SMC)

Организация хроматина с помощью ламины



Мембрана
ядра

Ядерная ламина (lamina associated domains, LADs) - структура толщиной 80-300 нм, образованная белками-ламинами, к которой прикреплены нити хроматина.

Резюме

- Размеры геномов организмов варьируют в широких пределах: от 10^5 до 10^{11} пар оснований. Гаплоидный геном человека имеет размер $3.3 \cdot 10^9$ п.н., что соответствует приблизительно 3.4 м длины молекул ДНК для диплоидной клетки. Таким образом, в клетке необходимо поддерживать чрезвычайно плотную упаковку генетического материала.
- У многих бактерий геном представлен большой кольцевой хромосомой, расположенной в плотном участке цитоплазмы – нуклеоиде. Геном подавляющего числа эукариот разделен на линейные участки – хромосомы, которые максимально оформлены и компактизированы при формировании метафазной пластинки во время деления клеток.

Резюме

- В неделящихся клетках эукариот хромосомы распределены по ядру менее компактно, формируя так называемый *хроматин* (комплекс ДНК с белками). При этом важно понимать, что каждая деконденсированная хромосома занимает в ядре определенную часть ядра, называемую *хромосомной территорией*.
- Пространственная укладка генетического материала эукариот включает в себя несколько уровней компактизации: свободная ДНК, нуклеосомный уровень, 30 нм фибриллы, 300 нм фибриллы, хромонемы и хромосомы (выделяются при делении). В живой клетке разные участки генома имеют отличную компактизацию, так, в ядре выделяется зона активно транскрибируемого хроматина (*эухроматин*) и неактивные регионы (*гетерохроматин*).

Резюме

- Наиболее низким уровнем компактизации эукариотической ДНК является нуклеосомный уровень. На одиночную нуклеосому, которая является белковым октомером, состоящую из гистонов H3, H4 H2A и H2B, где каждый встречается дважды, наматывается участок ДНК длиной 146 п.н. и свободный линкер в 54 п.н. Распределение нуклеосом соответствует модели "бусин на нитке".

Модуль 2

- Реализация наследственной информации.
- Процессы, лежащие в основе экспрессии генов — транскрипция, трансляция.
- Жизненный цикл мРНК и посттрансляционная судьба белковых молекул.

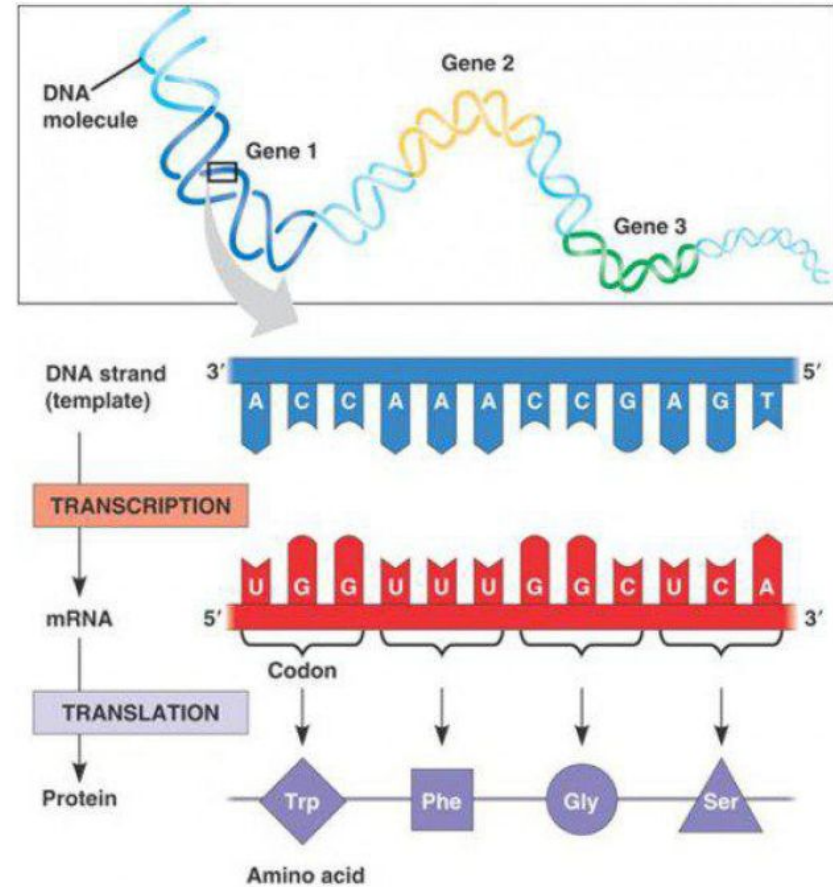
Лекция 6.

Механизм транскрипции (синтез РНК по матрице ДНК)

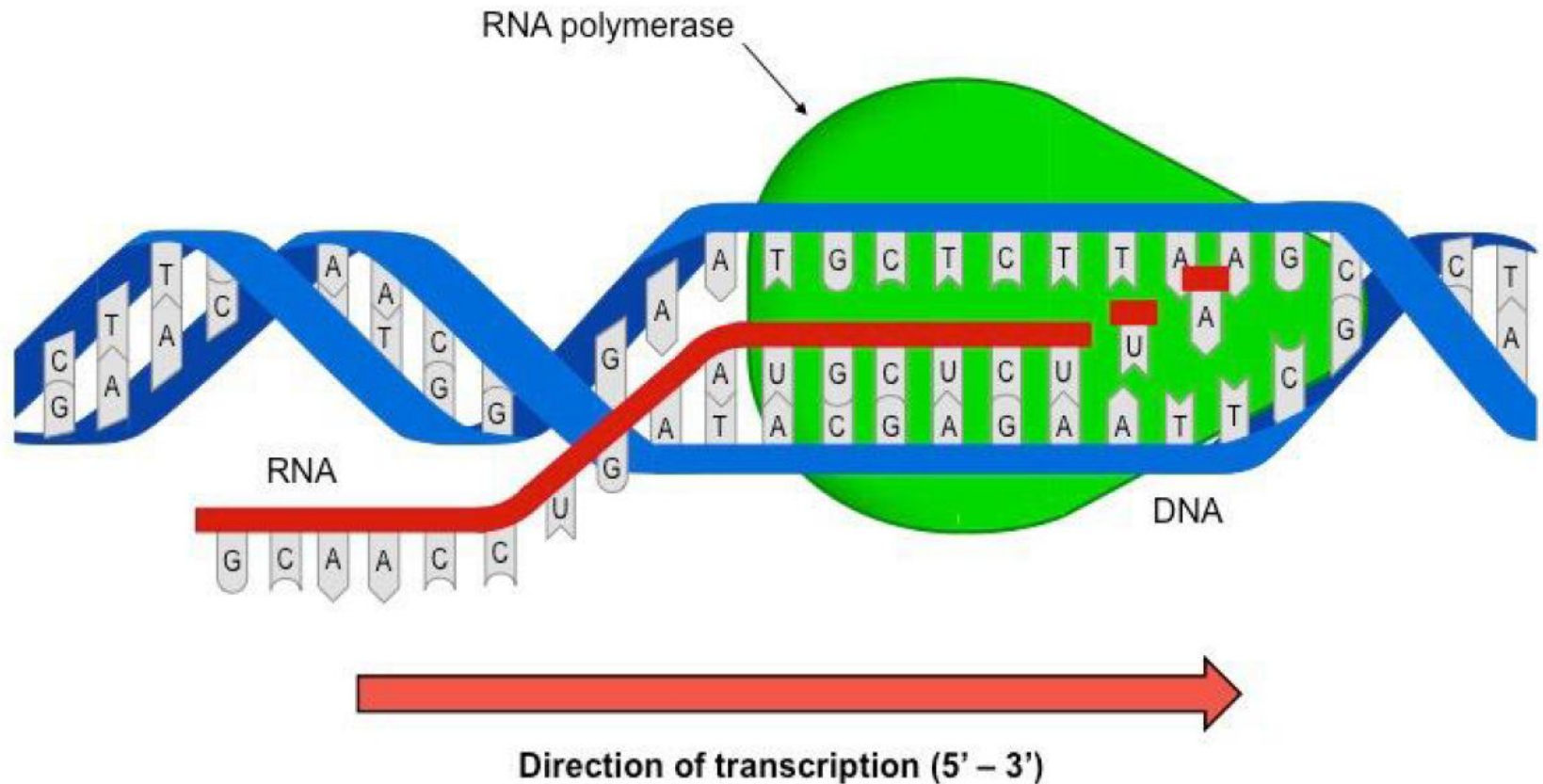
- что такое транскрипция и в какой точке гена она начинается;
- какие РНК-полимеразы существуют у про- и эукариот и какие элементы входят в их состав;
- что необходимо для инициации и терминации транскрипции.

Экспрессия генов

- Экспрессия гена - совокупность процессов, приводящих к синтезу функционального продукта гена (упрощенно - процесс "работы" гена)
- Понятие экспрессии генов объединяет транскрипцию, трансляцию и другие процессы

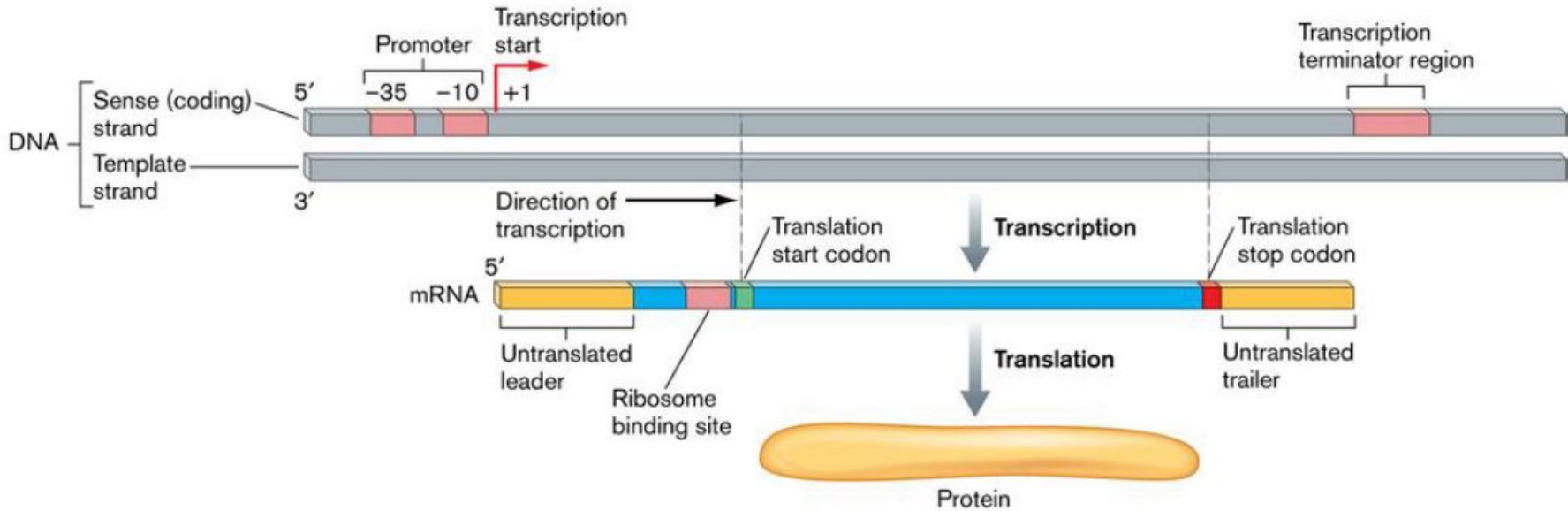


Транскрипция



- Транскрипция - процесс синтеза РНК на матрице ДНК

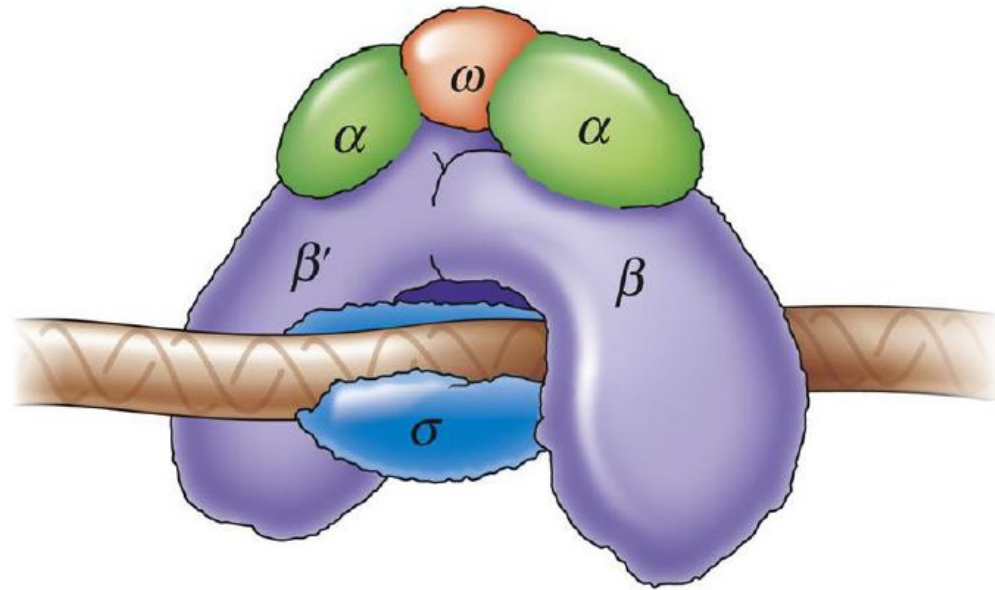
Структура гена



- Для эффективной транскрипции необходимы точка начала транскрипции (TSS) и точка окончания транскрипции

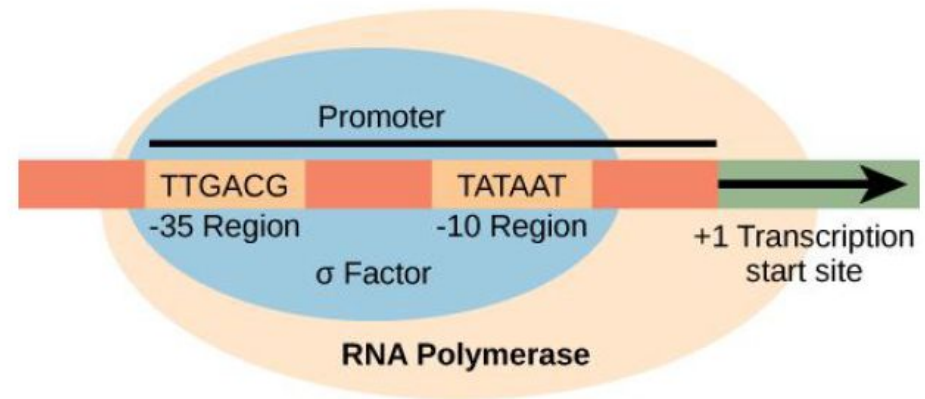
РНК-полимераза бактерий

- РНК-полимераза - сложный мультибелковый комплекс
- Помимо каталитических субъединиц, в составе РНК-полимераз есть σ -субъединица, которая отвечает за инициацию транскрипции



Промотор бактерий

- Промотор - последовательность перед точкой начала транскрипции, отвечающая за посадку РНК-полимеразы
- В промоторах бактерий выделяют две ключевые области - т.н. (-10) и (-35) регионы

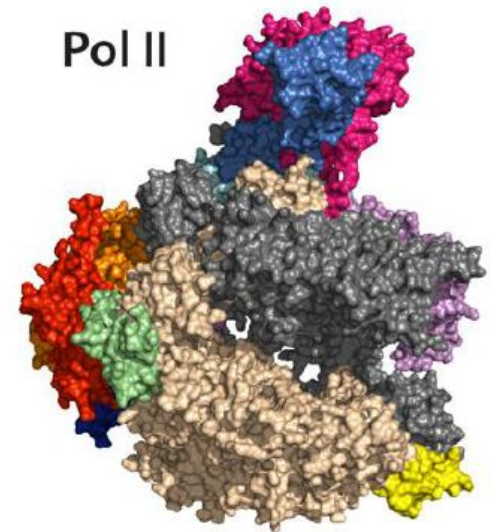
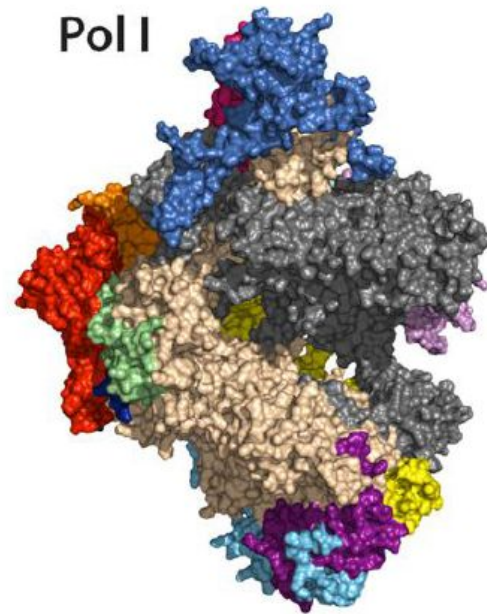


ТАТААТ - Прибнов-Шаллер-бокс (*Pribnow-Schaller box*) - специфическая нуклеотидная последовательность:

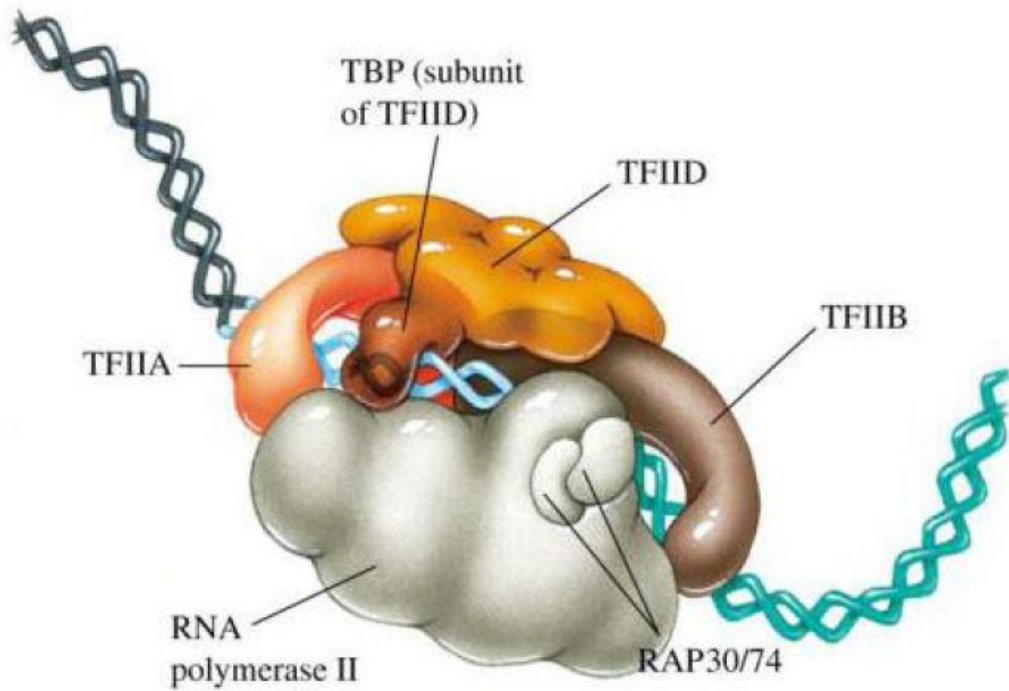
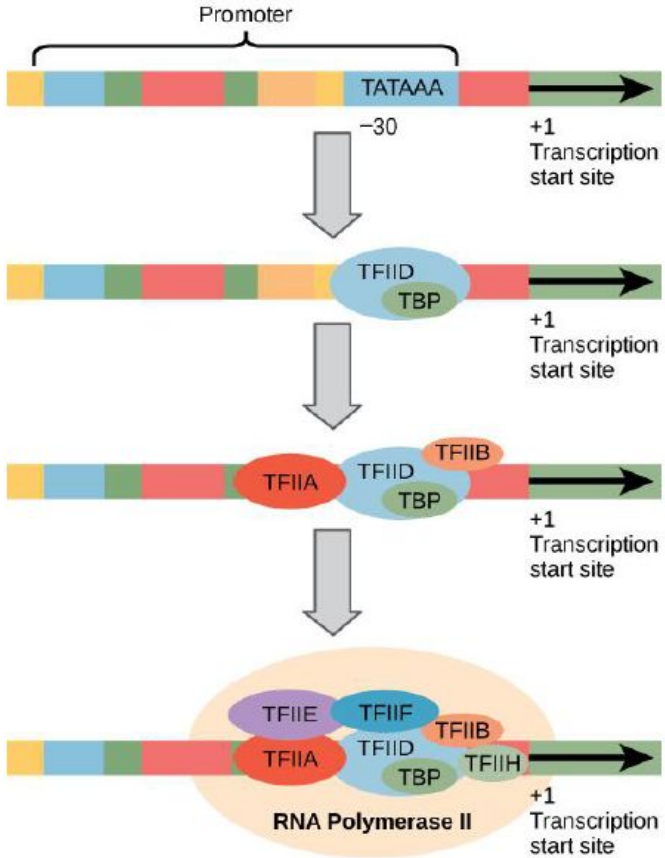
- обязательная для промоторного участка бактерий, с которой связывается РНК-полимераза;
- консенсусная последовательность, поскольку она встречается у многих организмов с небольшими различиями.

РНК-полимеразы эукариот

- У эукариот, в отличие от прокариот, существует несколько основных РНК-полимераз
- У РНК-полимераз есть общие и специфические субъединицы
- RNA Pol I - большие рРНК,
- RNA Pol II - мРНК,
- RNA Pol III - тРНК и другие малые РНК

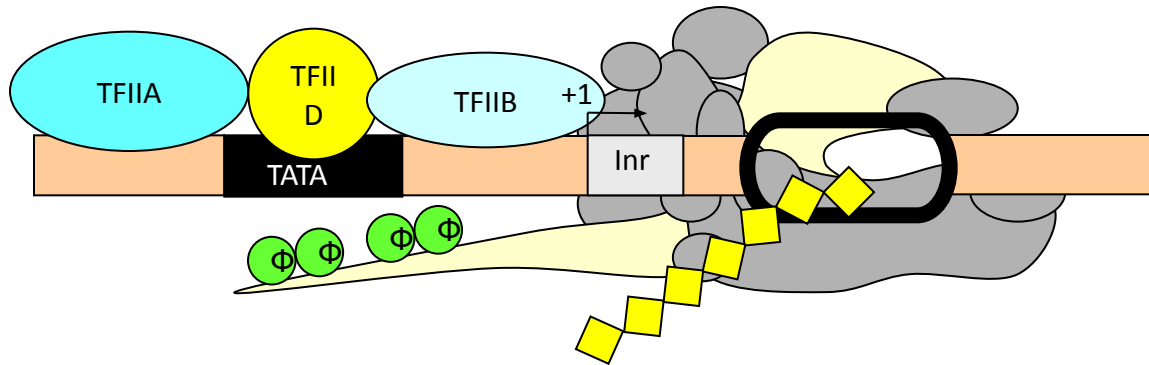


Промоторы эукариот (RNA Pol II)

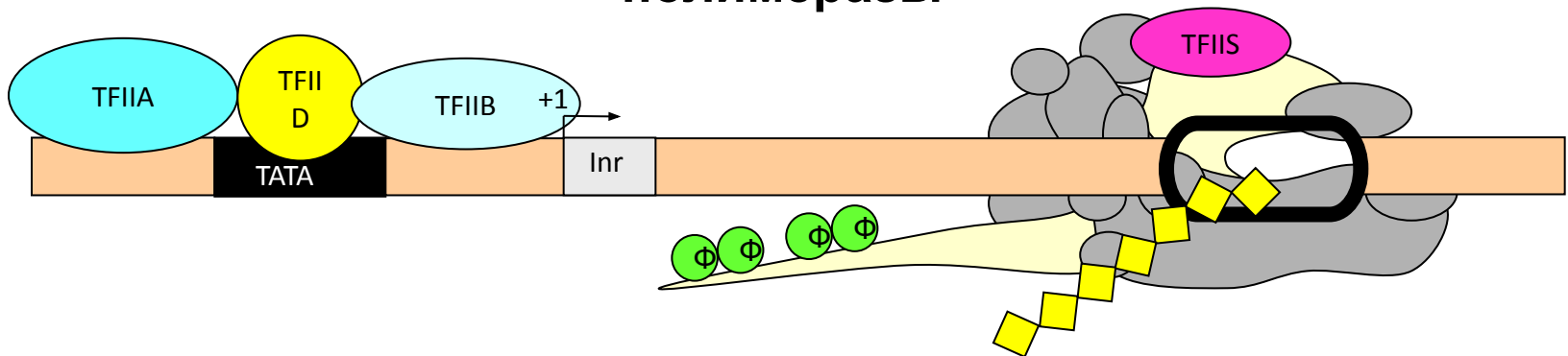


Элонгация транскрипции у

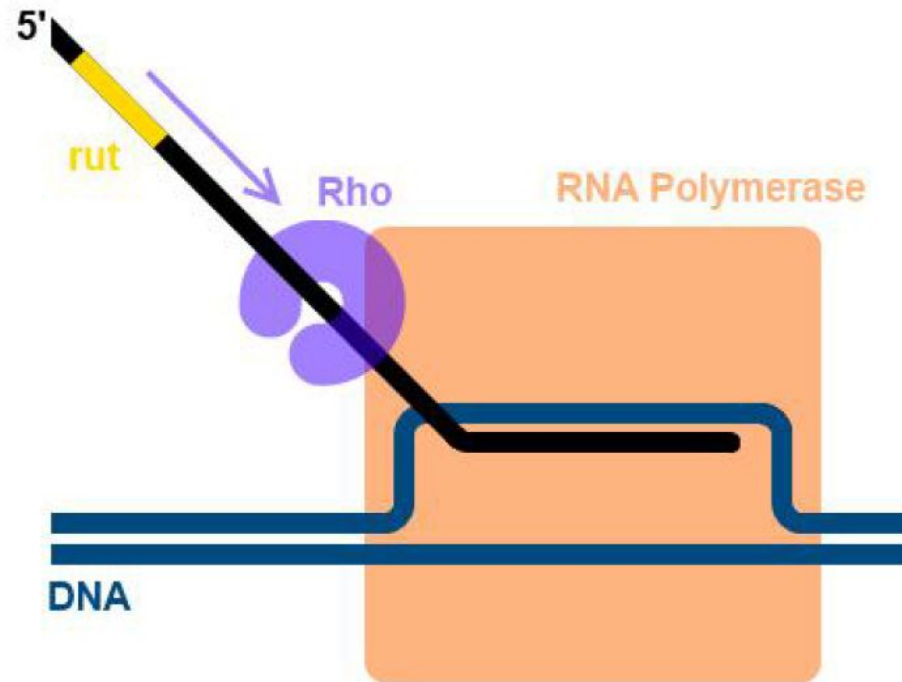
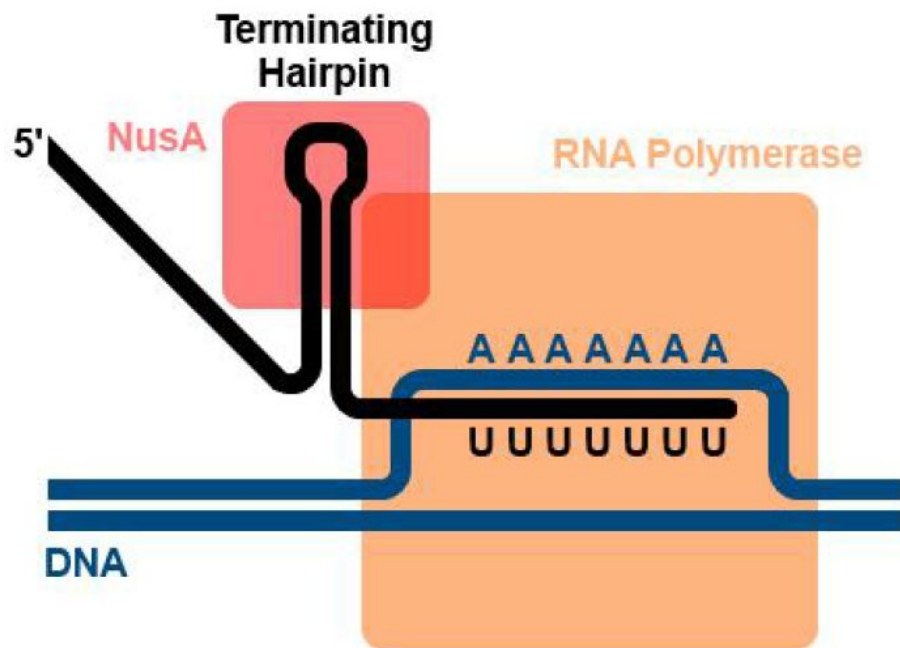
Эукариот
РНК-полимераза включает три нуклеотида в цепь РНК
и может остановиться



С РНК-полимеразой связываются факторы элонгации (TFIIS и другие), которые снижают вероятность остановок РНК-полимеразы



Терминация транскрипции



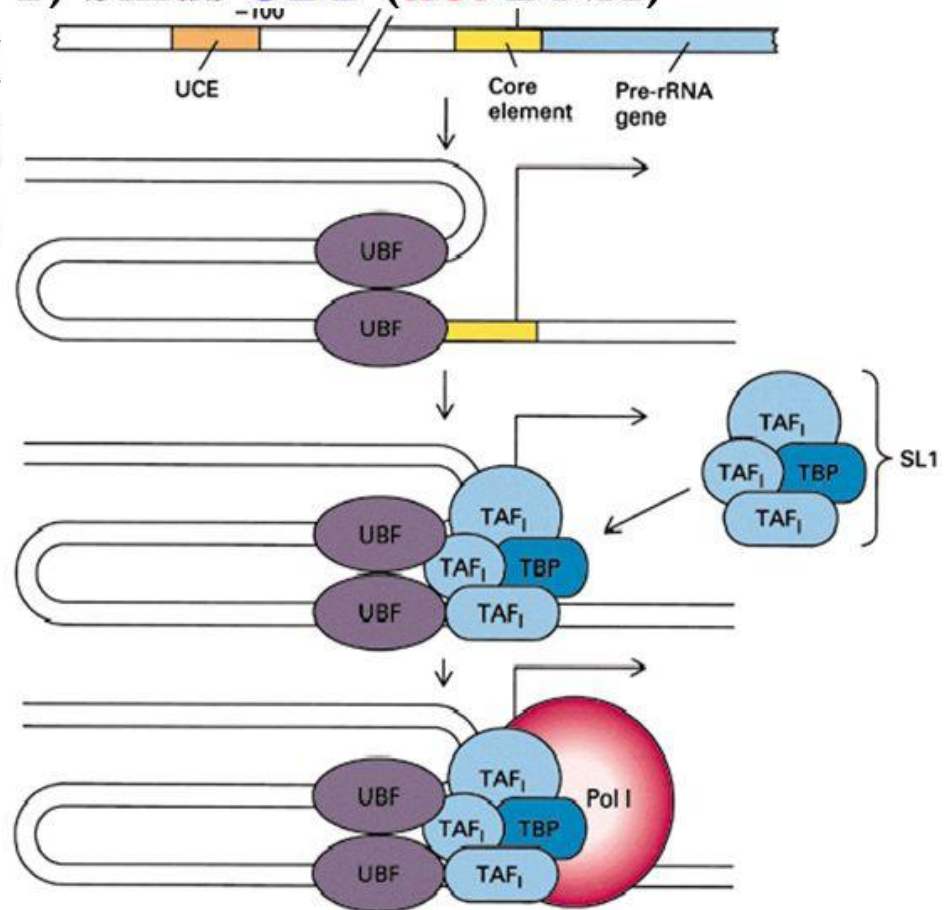
Инициация трансляции (RNA Pol I)

1) UBF binds UCE and core element

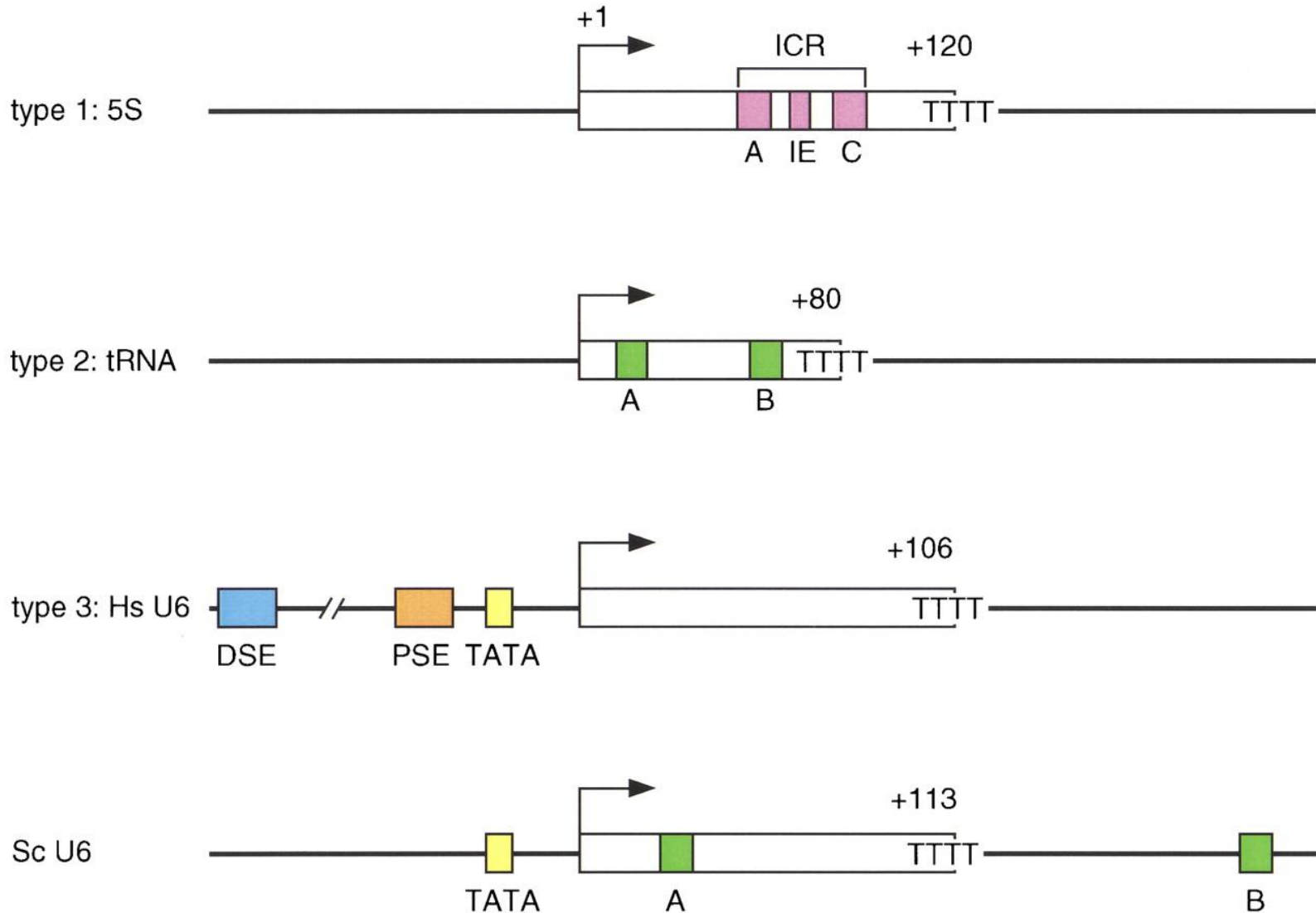
2) **SL1** (selectivity factor 1) binds **UBF** (**not** DNA)

3) complex **recruits** Pol I

4) Pol I transcribes until it hits a **termination site**

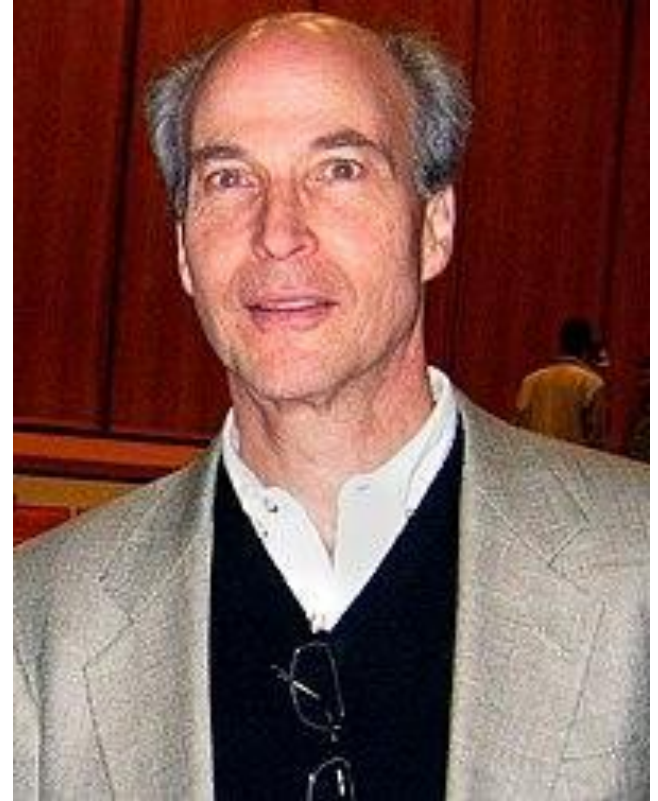


Инициация трансляции (RNA Pol III)



Роджер Дэвид Корнберг (США)

Нобелевская премия по химии в 2006 году была присуждена [Роджеру Корнбергу](#) за получение точных изображений молекул РНК-полимеразы в различные моменты процесса транскрипции.



Резюме

Экспрессия генов - процессы, приводящие к синтезу функционально активного продукта. В широком смысле под экспрессией понимают транскрипцию и трансляцию, в узком только транскрипцию.

Транскрипция - процесс синтеза молекулы РНК на матрице молекулы ДНК. Осуществляется ДНК-зависимой РНК-полимеразой с матричной цепи ДНК по направлению от 5' к 3' концу синтезируемой РНК. Противоположная матричной цепь ДНК носит название кодирующей.

Для транскрипции необходимо наличие точки начала транскрипции (TSS) и конца транскрипции (TES). Старт и стоп-кодоны для будущего синтеза белка располагаются не в начале и конце транскрипта, что создаёт лидерную и трейлерную нетранслируемые области соответственно.

Резюме

РНК-полимераза бактерий - сложный мультибелковый комплекс. Сигма-субъединица в составе комплекса отвечает за инициацию транскрипции, связываясь с промотором.

У эукариот в отличие от бактерий существует три комплекса РНК-полимераз, каждая из которых отвечает за синтез специфических продуктов:

- I - синтез большинства рРНК;**
- II- синтез мРНК;**
- III - синтез тРНК и других малых РНК.**

Типичный бактериальный промотор имеет две основные консенсусные последовательности (-10 и -35).

Резюме

Эукариотические промоторы устроены сложнее и не имеют чётких консенсусных последовательностей.

В составе корового промотора РНК-полимеразы II имеется область, называемая ТАТА-боксом, с которой связывается базальный фактор транскрипции TFIID (+ТВР белок). После связывания TFIID рекрутируются другие факторы в частности, TFIIB (направление транскрипции), TFIIN (привлечение РНК-полимеразы).

Терминация транскрипции у прокариот идет по двум основным механизмам

- 1) Rho-независимый механизм - образование терминирующей шпильки и участке белка NusA.**
- 2) Rho-зависимый механизм - Rho-белок «сталкивает» РНК-полимеразу и вызывает терминацию. Похожим образом проходит терминация у эукариот.**

Спасибо за внимание!