

Определение: оперон - единица транскрипции у прокариот.

В начале каждого оперона находится промотор.

В конце каждого оперона находится терминатор. Перед терминатором располагаются структурные гены, или цистроны.

ОПЕРОН



Определение: терминатор - особая последовательность нуклеотидов ДНК, узнаваемая РНК-полимеразой как финиш транскрипции.

Определение: цистрон - последовательность нуклеотидов ДНК, кодирующая один полипептид (в большинстве случаев - белок) или одну тРНК, или одну рРНК.

В большинстве случаев цистроны объединяются в оперон по следующему принципу: закодированные в них белки принимают участие в одной биохимической цепи реакций.

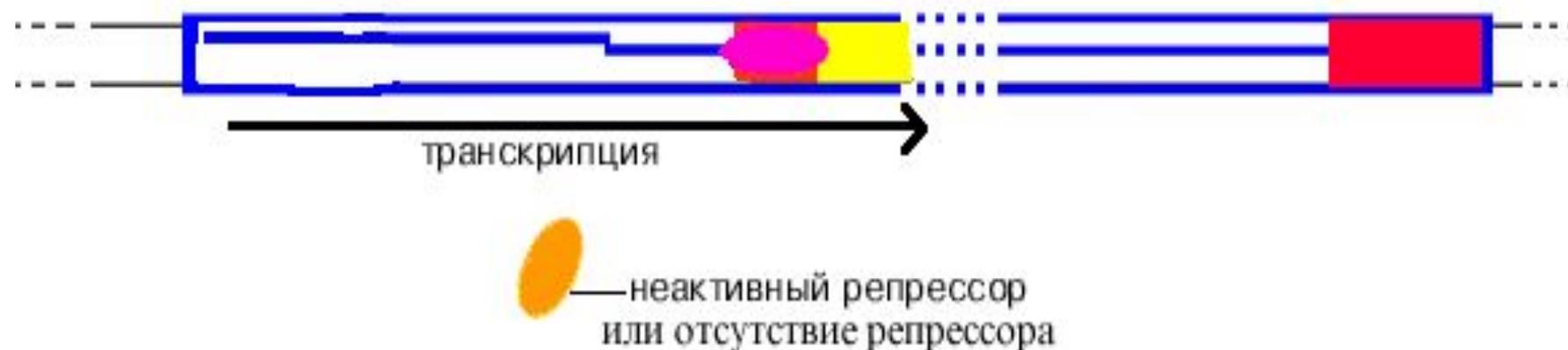
Определение: оператор - особая последовательность нуклеотидов ДНК, узнаваемая белком-репрессором.

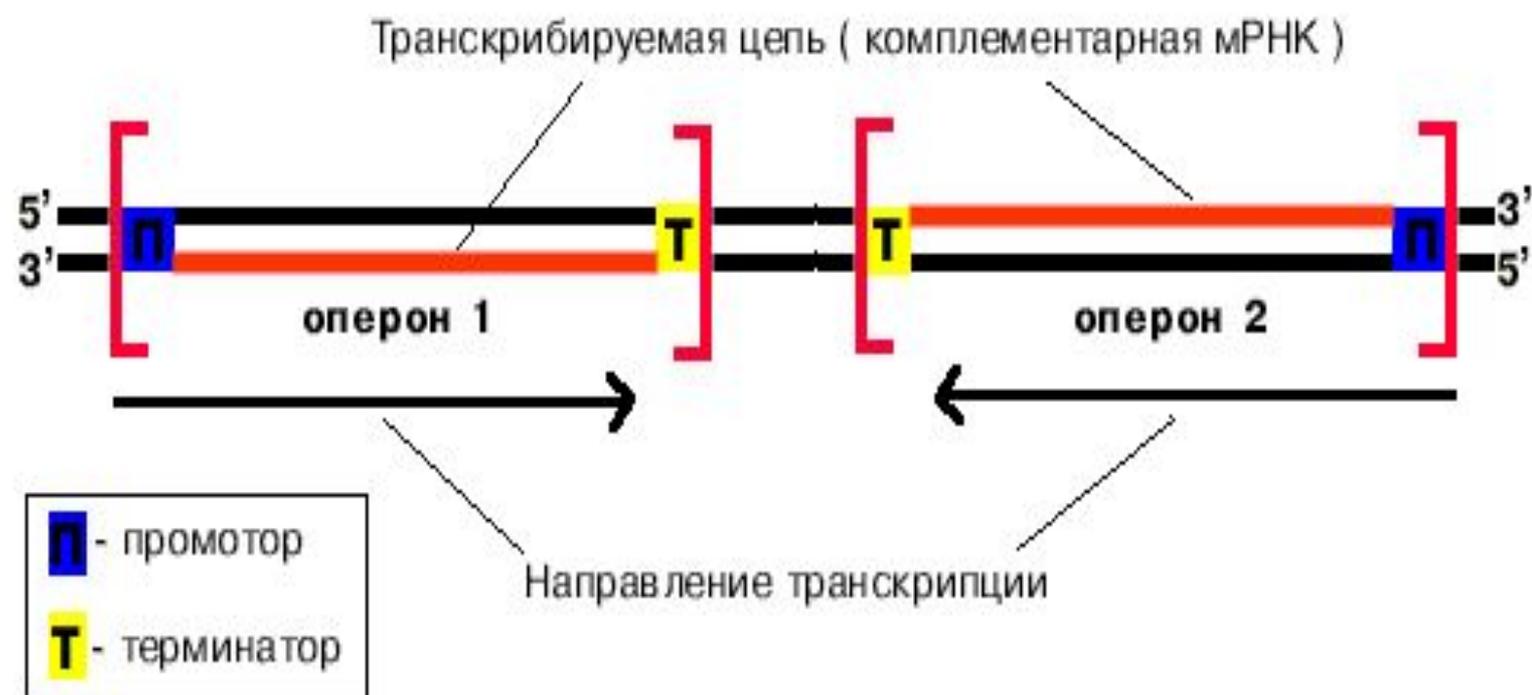
У оператора диспетчерская функция - он разрешает или запрещает синтез РНК.

На операторе - белок репрессор. Оперон не транскрибируется.



Оператор свободен. Оперон транскрибируется.





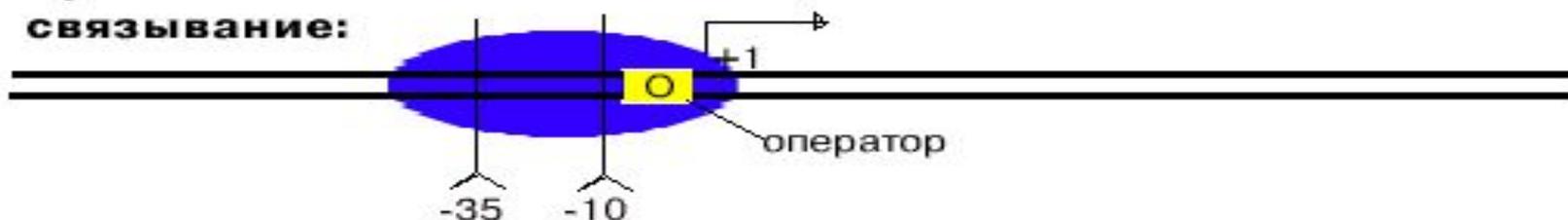


РНК-полимераза узнает промотор, покрывая **40-60** пар нуклеотидов. В промоторе узнается взаимное расположение двух расплавленных **АТ-богатых** участков. В каждом из них расплавлено **4-6** пар. Центры этих участков находятся в положениях **"-10"** и **"-35"**. Принципиально важным является расстояние между расплавленными участками. Оно колеблется от **16** до **19** п.н. Искусственное увеличение этого расстояния до **20** п.н. или уменьшение его до **15** п.н. приводит к тому, что РНК-полимераза не узнает испорченный промотор.

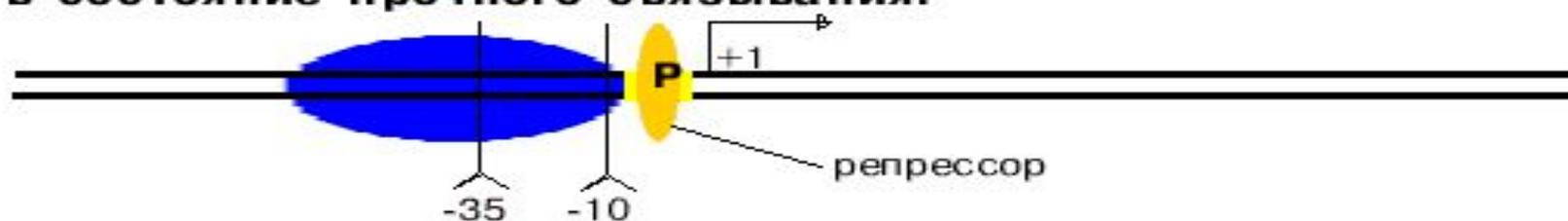
Узнавание:

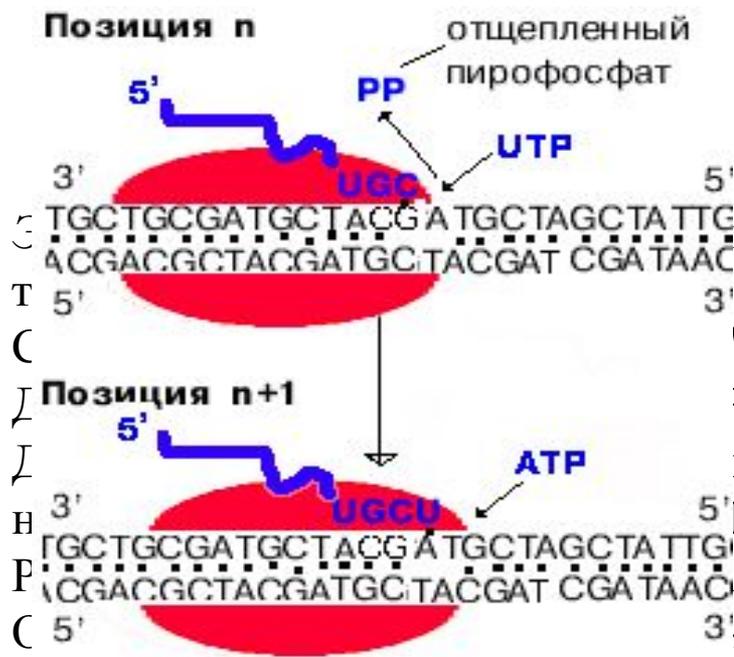


Прочное связывание:



Белок-репрессор мешает переходу из состояния узнавания в состояние прочного связывания:





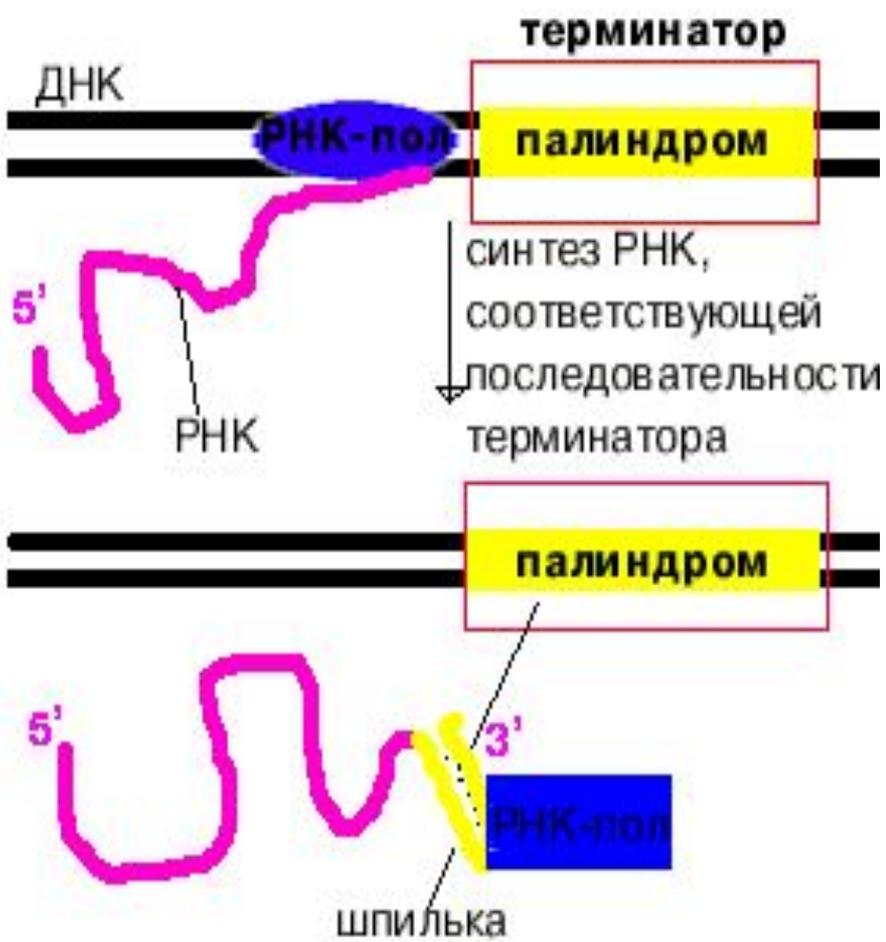
Показано, что РНК-полимераза переводит ДНК из В-формы в А-форму.

В ней плоскости азотистых оснований не перпендикулярны оси спирали, а наклонены на **200** к перпендикуляру.

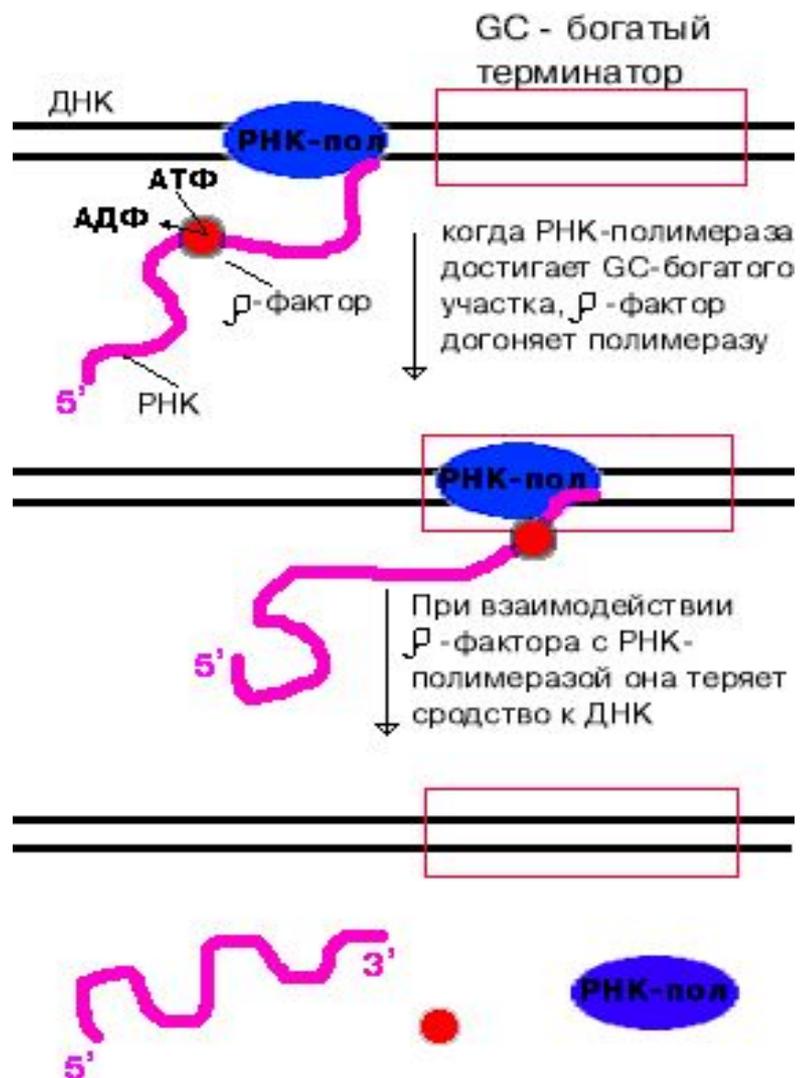
наращивание цепи РНК (или продолжение сек. РНК необходим разрыв водородных связей в олимераза покрывает примерно **40** пар витках спирали - очень энергоемкий процесс. и транскрипции.

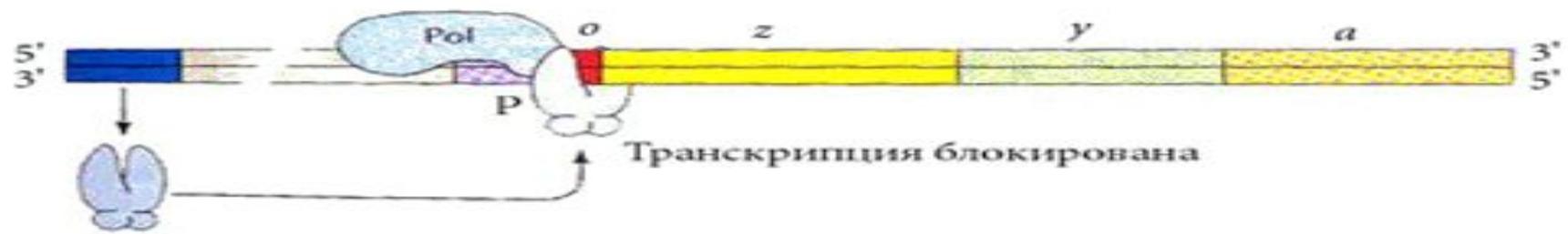
Это облегчает "выворачивание" двух соседних азотистых оснований в цепи ДНК для того, чтобы напротив них встали комплементарные нуклеотиды РНК.

В пользу этого говорит полная идентичность параметров А-формы ДНК и гибрида, состоящего из одной цепи ДНК и одной - РНК. "Мотором" транскрипции является энергия, высвобождающаяся при отщеплении пирофосфата от каждого рибо-НТФ.

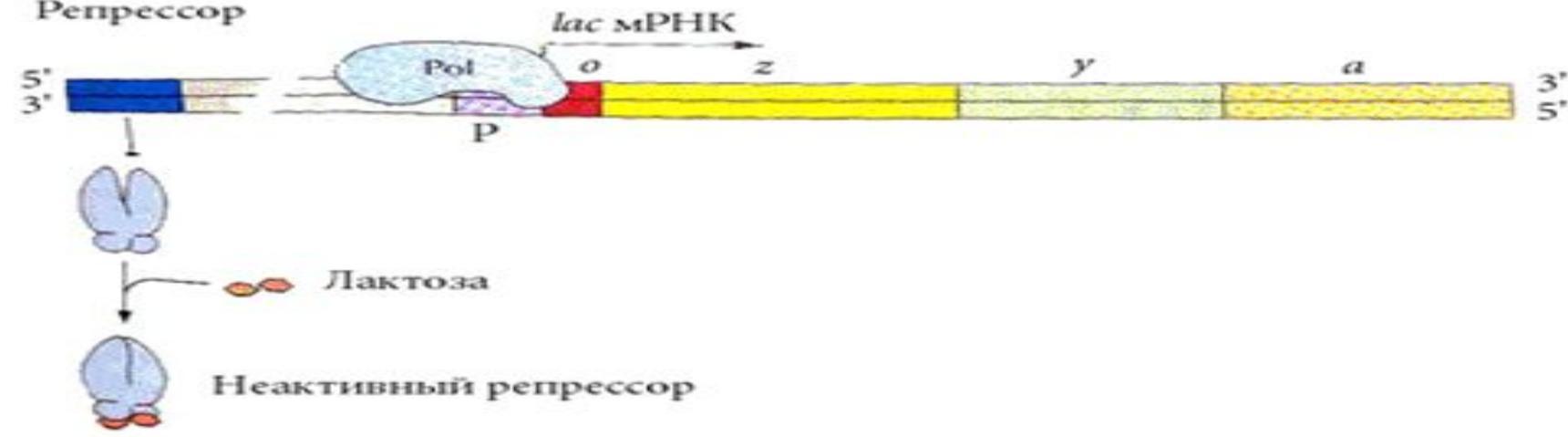


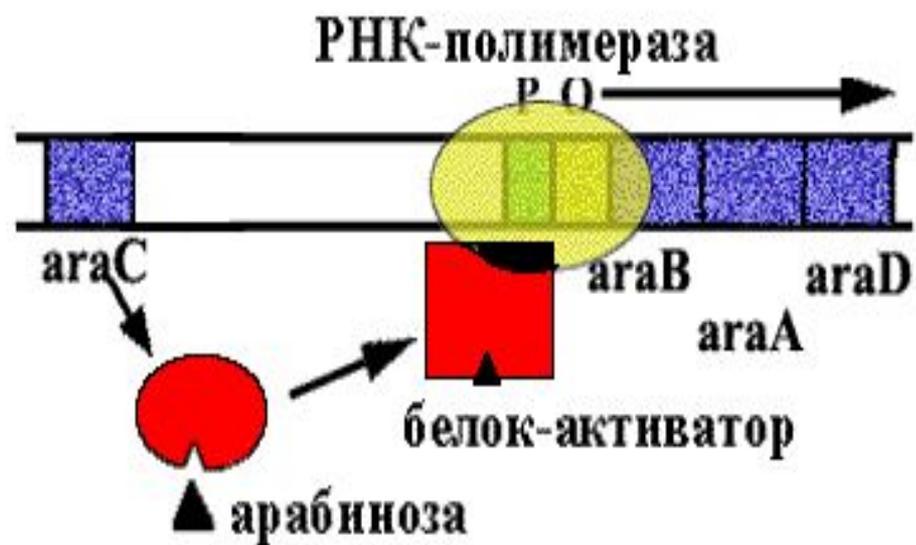
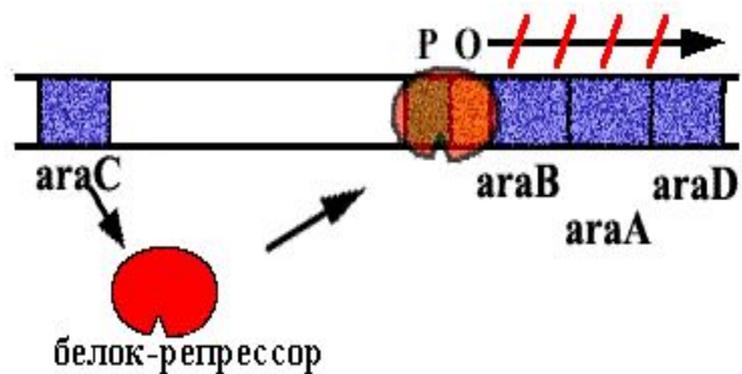
ρ



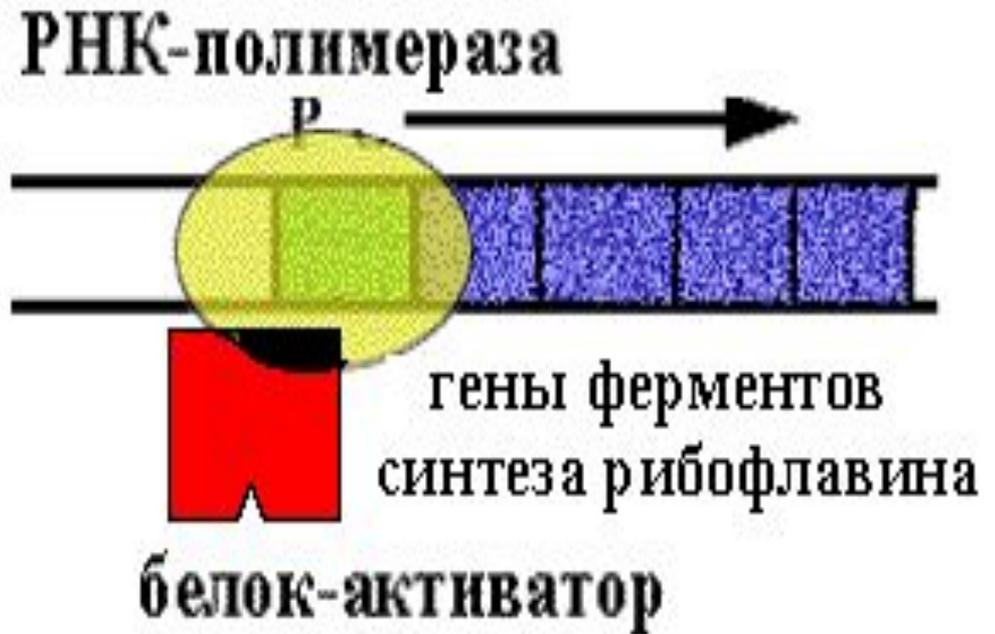


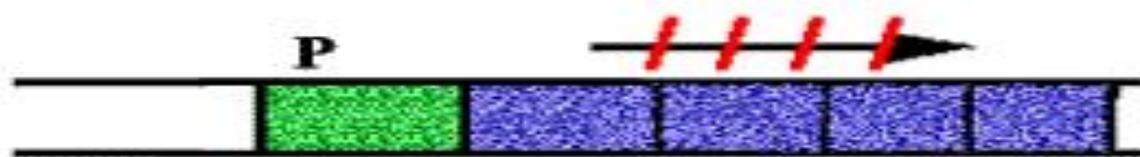
Репрессор





В опероне располагаются цистроны
Эта схема регуляции называется позит.
ферментов синтеза рибофлавина. Есть
контролирующий элемент - белок - акт
белок-активатор, обеспечивающий
досадку РНК-полимеразы на промотор.
Схема позитивной репрессии
норме оперон открыт. Образуется **N**
Оперон синтеза рибофлавина у **Vacilu**
молекул рибофлавина.



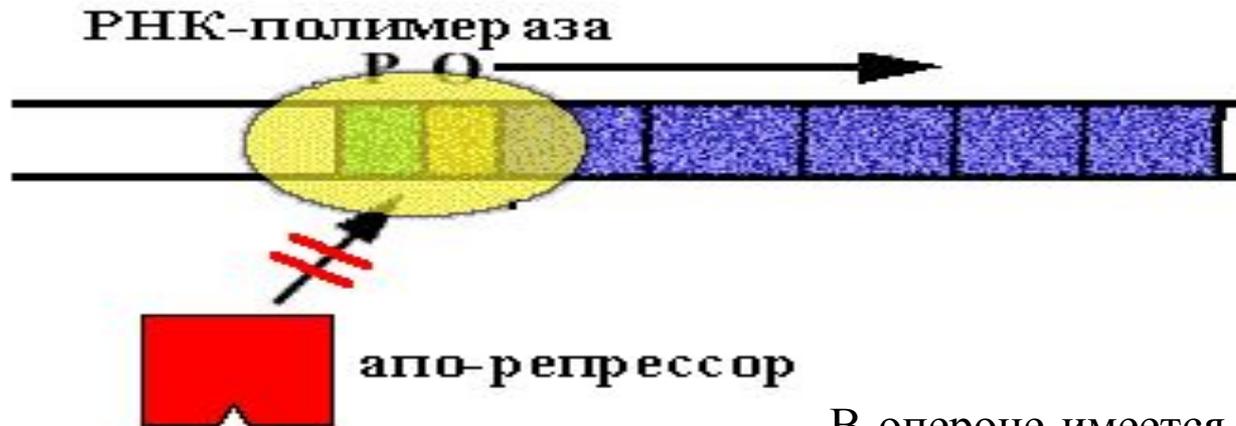


гены ферментов
синтеза рибофлавина



Схема негативной репрессии

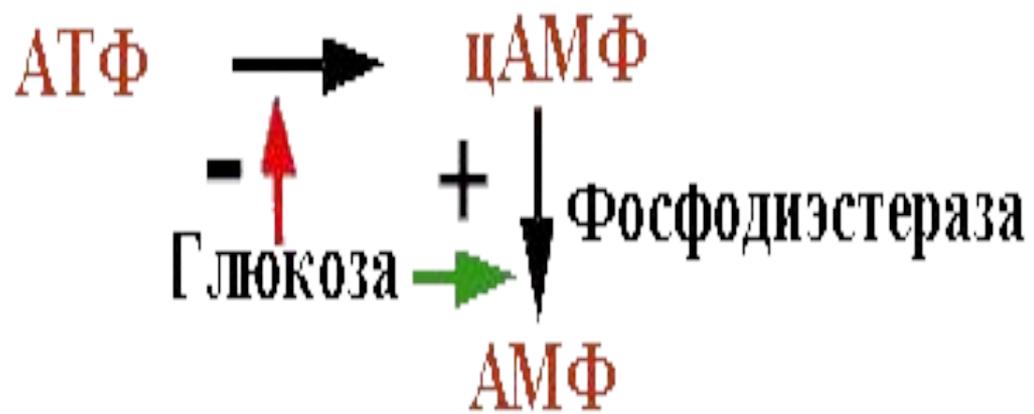
Оперон синтеза *триптофана* у **E. coli**.

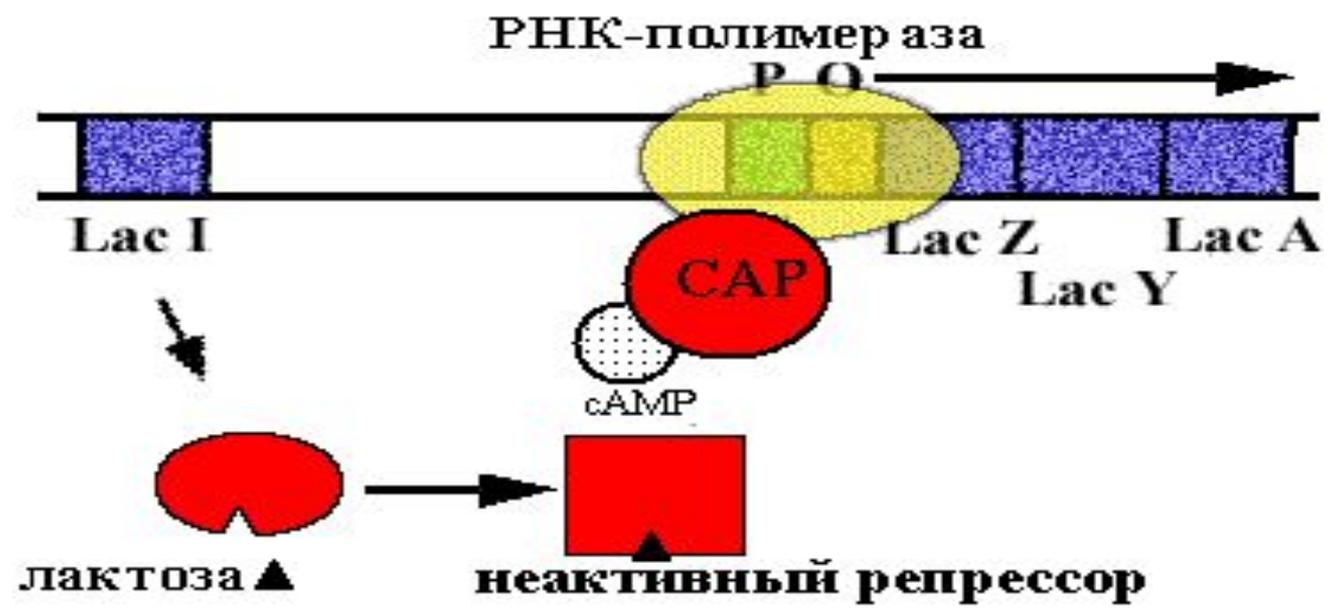


В опероне имеется **5** цистронов, которые кодируют ферменты последовательной цепи реакций синтеза триптофана. В норме оперон включен. Белок - репрессор неактивен (в форме апо-репрессора), он не способен садиться на оператор.



аденилатциклаза







Ψ



Рекогниция

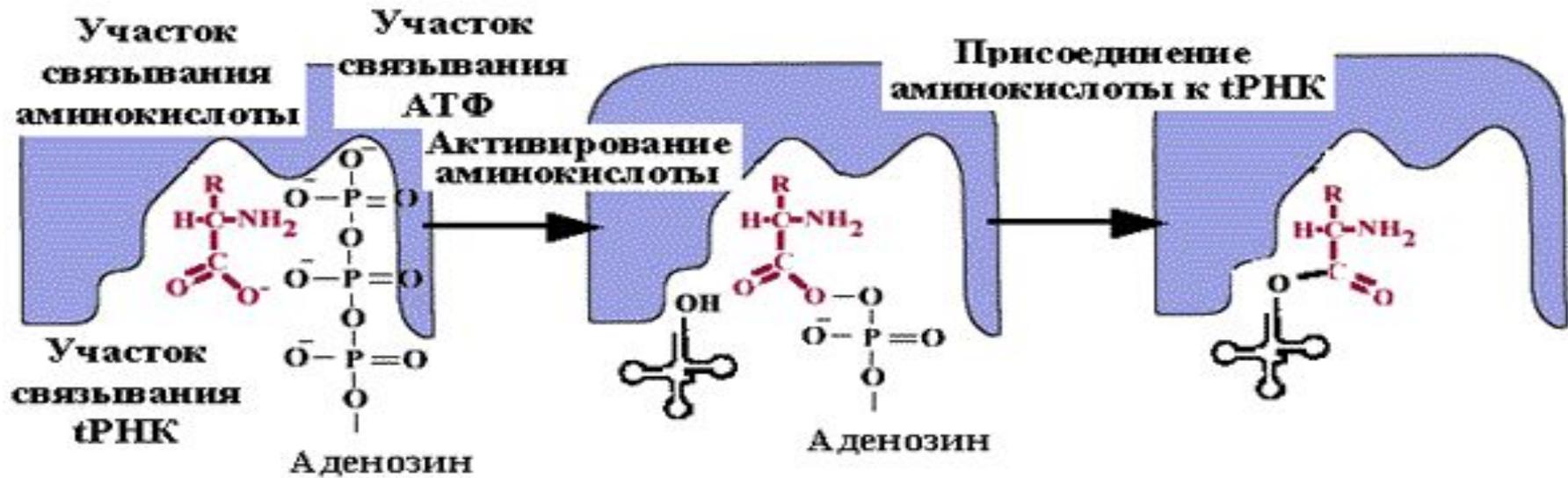
Определение: рекогниция - это подготовительный этап трансляции, суть которого в образовании ковалентной связи между **tРНК** и соответствующей аминокислотой.

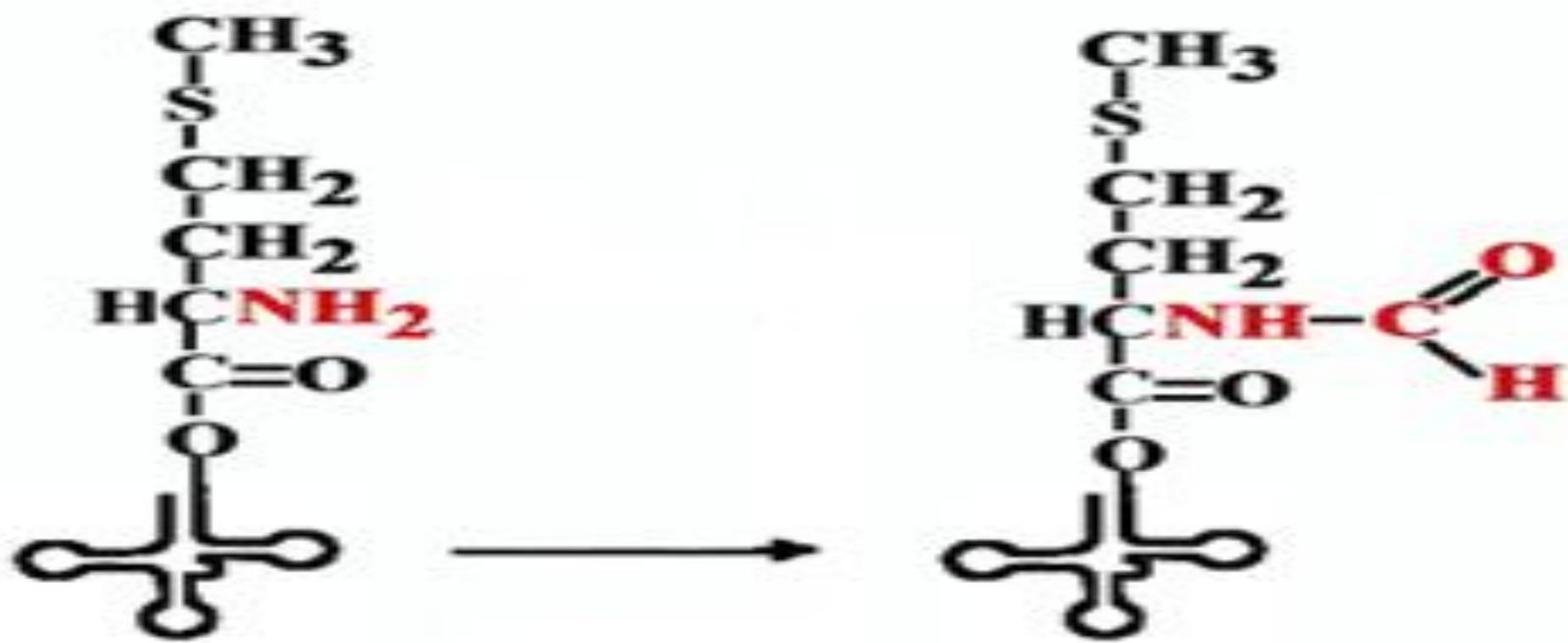
Состоит из двух стадий:

- 1. Активирование аминокислоты.*
- 2. Присоединение аминокислоты к **tРНК** - аминоацилирование.*

Обе стадии рекогниции осуществляются ферментом аминоацил-**tРНК**-синтетазой
(**АРС**-азой, кодазой).

Существует **20** вариантов кодаз (по числу аминокислот). У каждой кодазы **3** центра опознавания. Каждая АРС-аза узнает третичную структуру **tРНК**.





Сложность объясняется тем, что все элементы рибосом представлены в одном экземпляре, за исключением одного белка, присутствующего в **4** копиях в **50S** субъединице, и не могут быть заменены.

rРНК выполняют не только функцию каркасов субъединиц рибосом, но и принимают непосредственное участие в синтезе полипептидов.

23S rРНК входит в каталитический пептидилтрансферазный центр, **16S rРНК** необходима для установки на **30S** субъединице иницирующего кодона **mРНК**, **5S rРНК** - для правильной ориентации аминоксил-**tРНК** на рибосоме.

Все **rРНК** обладают развитой вторичной структурой: около **70%** нуклеотидов собрано в шпильки.

rРНК в значительной степени метилированы (**СН₃**-группа во втором положении рибозы, а также в азотистых основаниях).

Порядок сборки субъединиц из **rРНК** и белков строго определен. Субъединицы, не соединенные друг с другом, представляют собой диссоциированные рибосомы. Соединенные - ассоциированные рибосомы. Для ассоциации нужны не только конформационные изменения, но и ионы магния **Mg²⁺** (до **2x10³** ионов на рибосому). Магний нужен для компенсации отрицательного заряда **rРНК**. Все реакции матричного синтеза (репликация, транскрипция и трансляция) связаны с ионами магния **Mg²⁺** (в меньшей степени - марганца **Mn²⁺**).

Асп - центр специфического узнавания.

Здесь происходит взаимодействие кодон-антикодон.

P-центр - пептидильный, донорный.

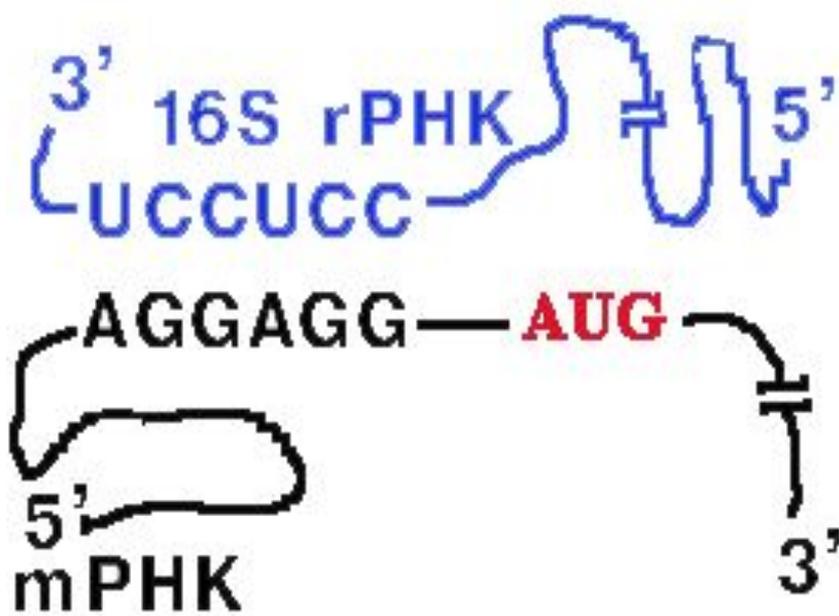
Он является донором формилметионина при инициации, или пептидила при элонгации трансляции.

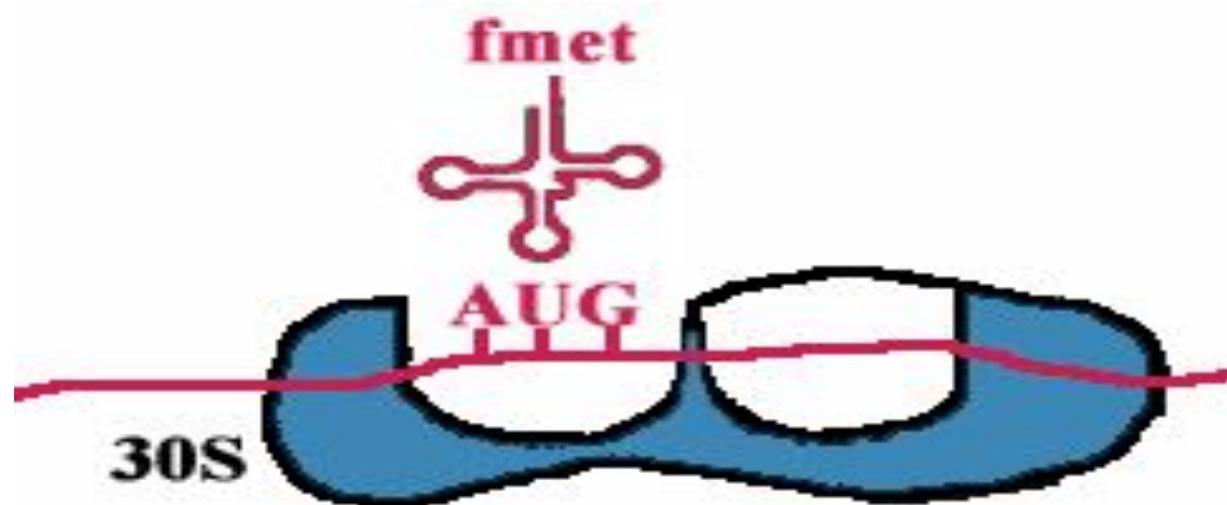
A-центр - аминоацильный, акцепторный.

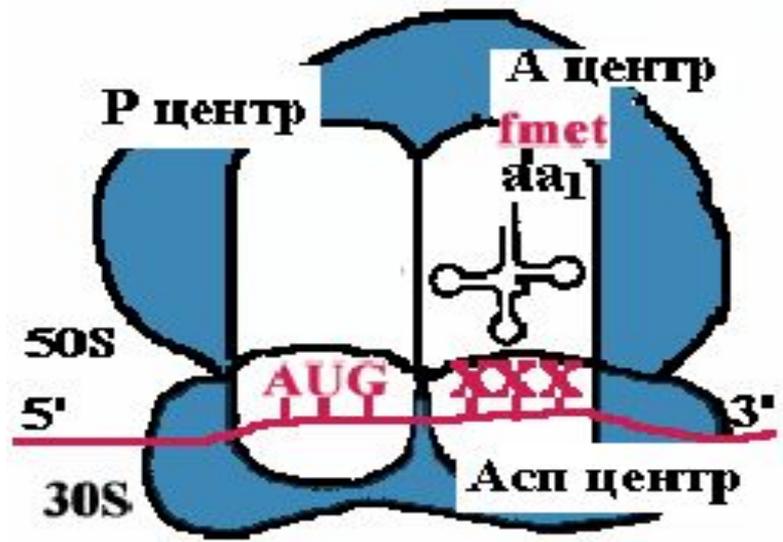
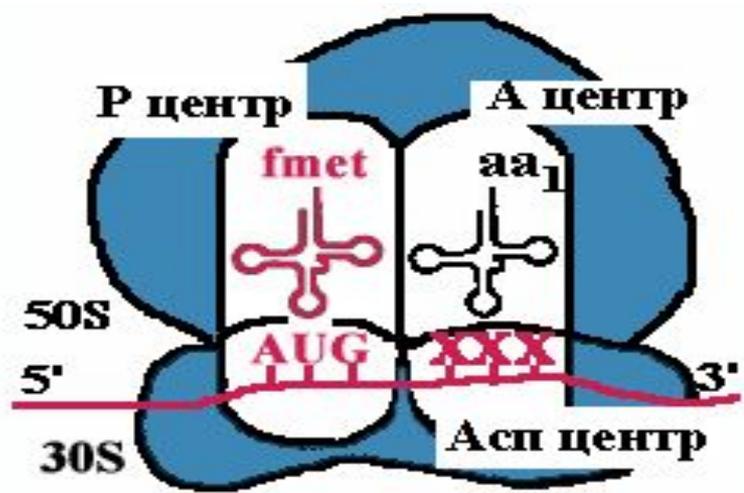
Акцептирует формилметионин в самом начале или пептидил при элонгации трансляции.

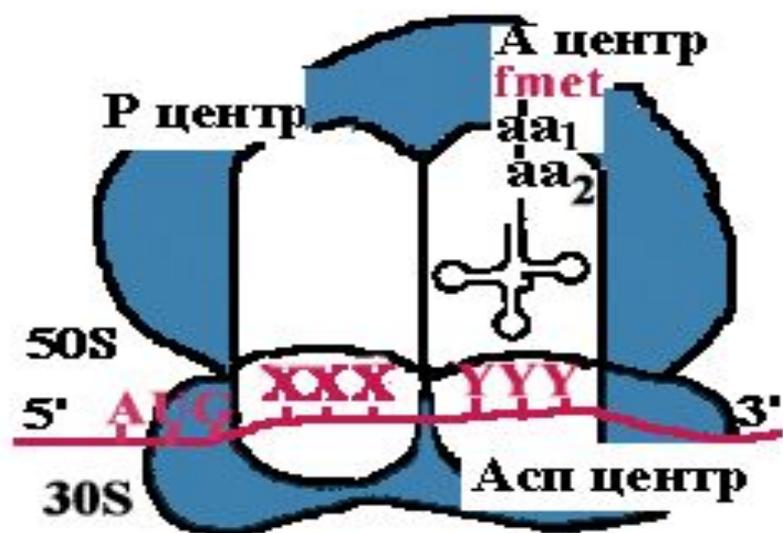
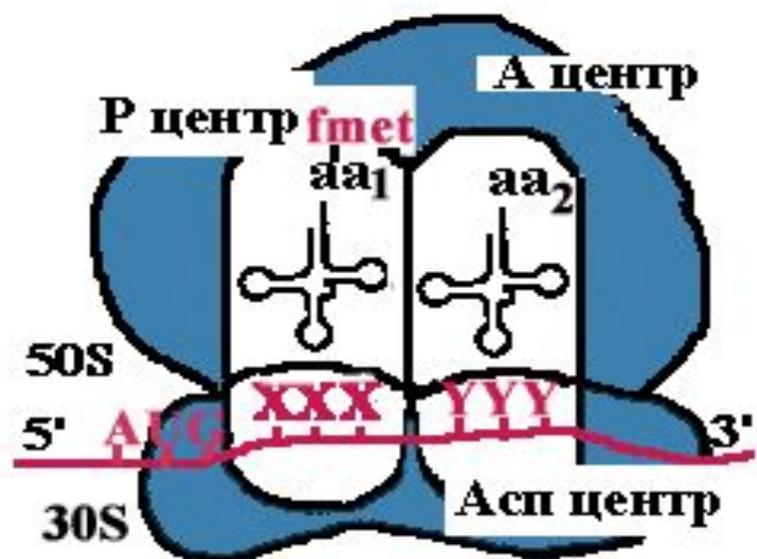
K-центр - каталитический (фермент пептидилтрансфераза).

В K-центре задействована **23S** rРНК и несколько белков большой субъединицы.









In vivo на каждой стадии (образования инициаторного комплекса, инициации, элонгации и терминации) участвуют различные белковые факторы, которые препятствуют посадке на рибосому деацилированных **t**РНК или запрещают посадку формилметиониновой-**t**РНК в А-центр.

На всех этапах принимают участие молекулы ГТФ, которые дефосфорилируются.

Смысл гидролиза ГТФ не в отдаче энергии, а в свидетельстве того, что данный этап трансляции пройден.

