

ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России
Кафедра химии

Матричные биосинтезы. Трансляция

Д.б.н. Сгибнев А.В.

Центральная догма описывает три процесса

1. Репликация

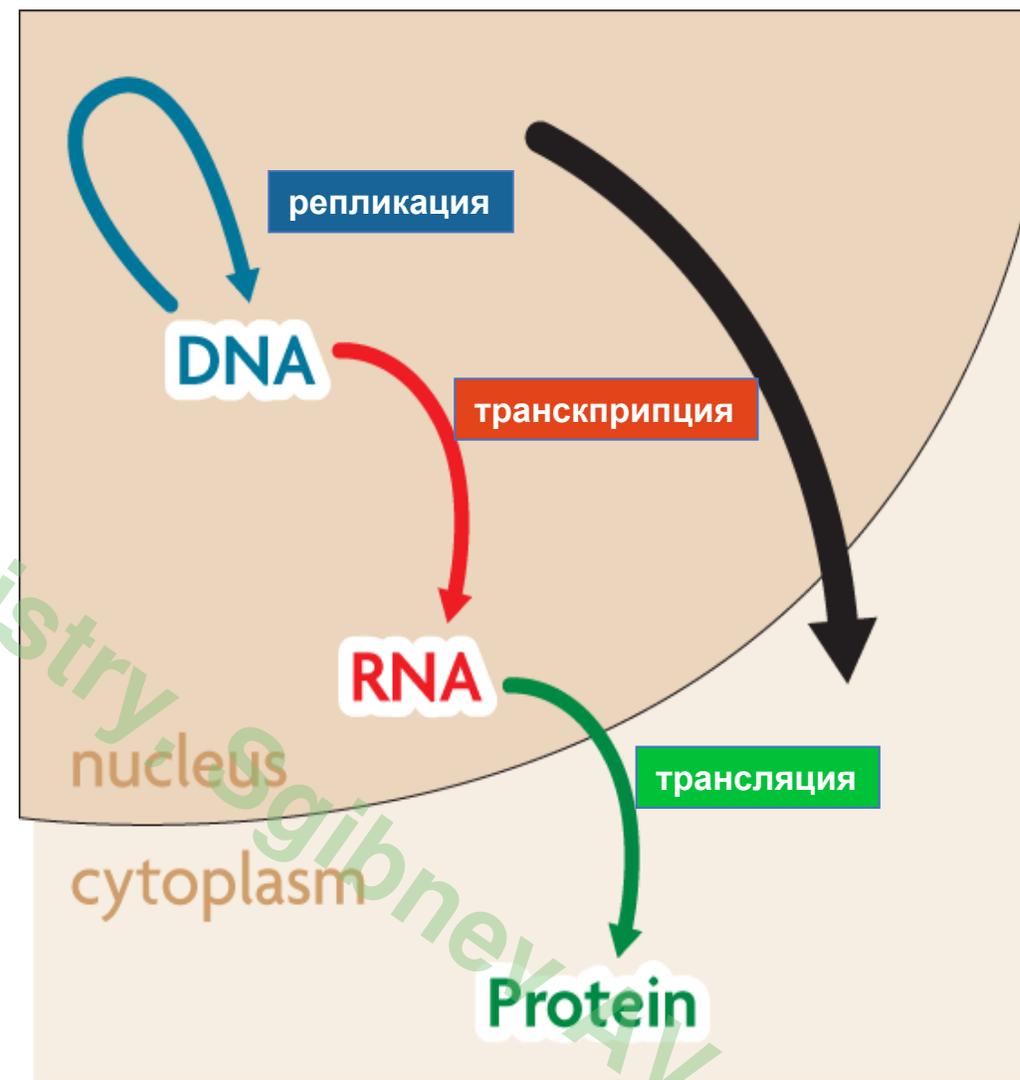
- копирование **ДНК**

2. Транскрипция

- Синтез на основе матрицы ДНК молекул **РНК**
- **РНК** - это связь между ДНК и белками

3. Трансляция

- Интерпретирует информацию РНК в последовательность аминокислот, которые будут составлять **белок**

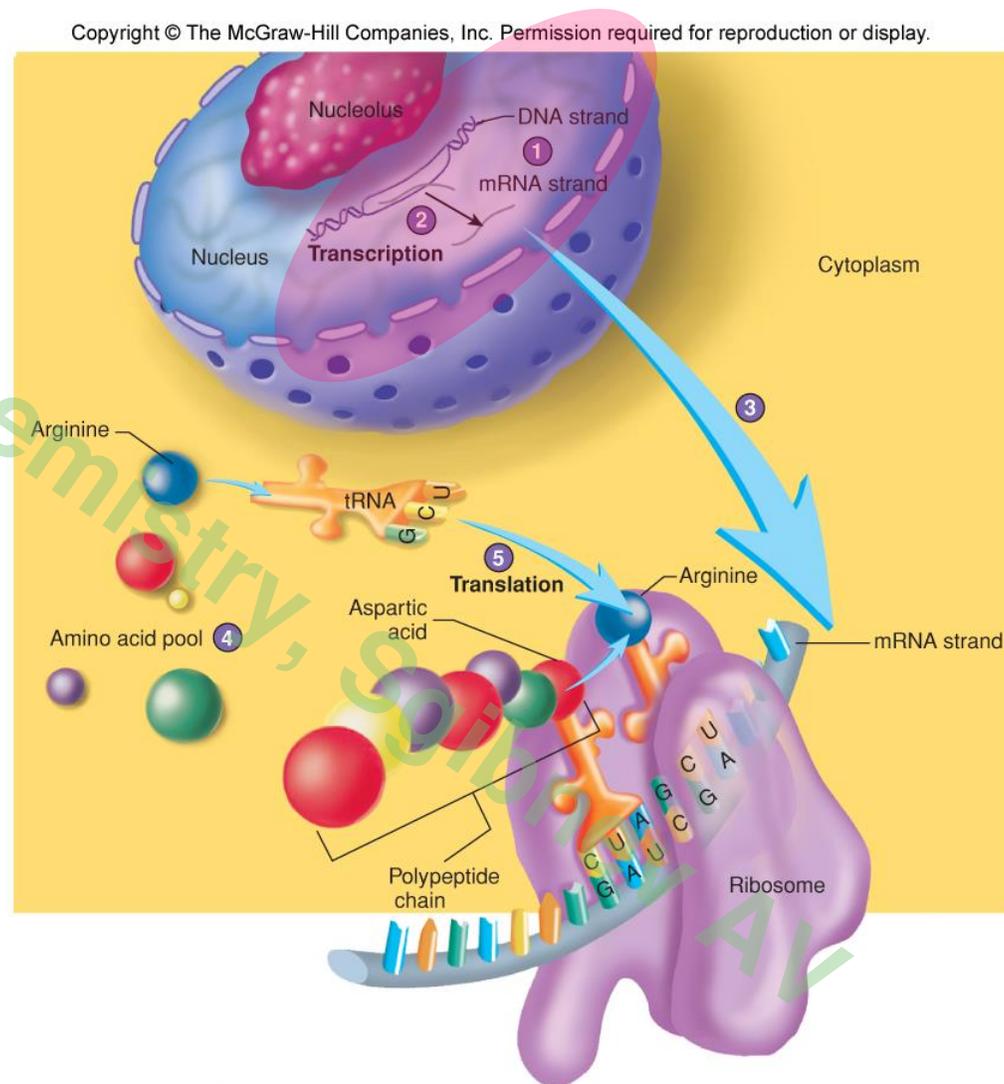


Синтез белка

- Двухэтапный процесс
 - **Транскрипция**
 - клетка создает копию гена, необходимого для создания определенного белка: **мРНК (messenger RNA (mRNA))**
 - **мРНК** затем перемещается от ядра к рибосомам, где информация транслируется в белок
 - **Трансляция**
 - требуется как мРНК, так и транспортная РНК (**tRNA**)
 - **tRNA** доставляет на рибосому аминокислоты, необходимые для синтеза белка

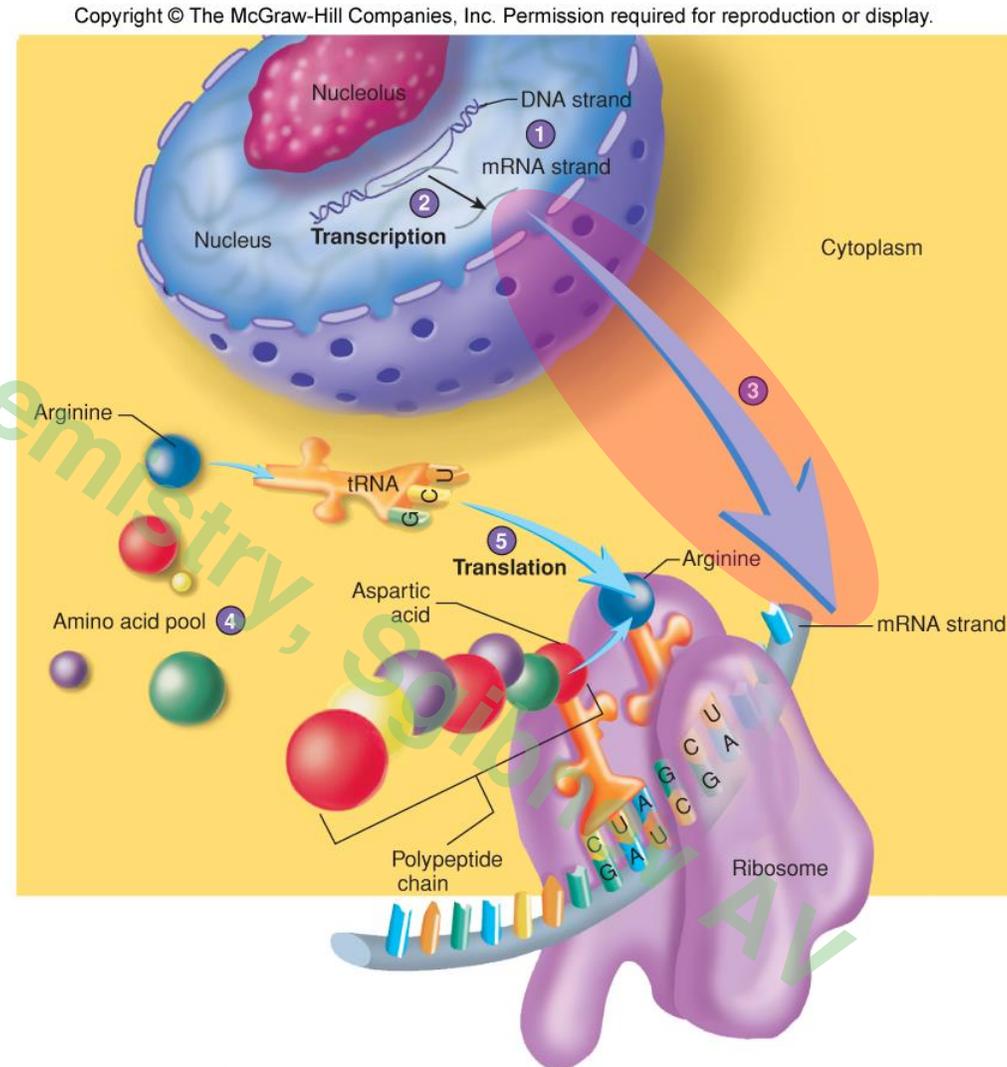
Общая схема синтеза белка

1. ДНК содержит информацию, необходимую для производства белков.
2. Транскрипция одной цепи ДНК приводит к образованию мРНК, которая является дополнительной копией информации в цепи ДНК, необходимой для создания белка.
3. мРНК покидает ядро и переходит на рибосому.
4. Аминокислоты, строительные блоки белков, переносятся на рибосому с помощью тРНК.
5. В процессе трансляции информация, содержащаяся в мРНК, используется для определения количества, видов и расположения аминокислот в полипептидной цепи.



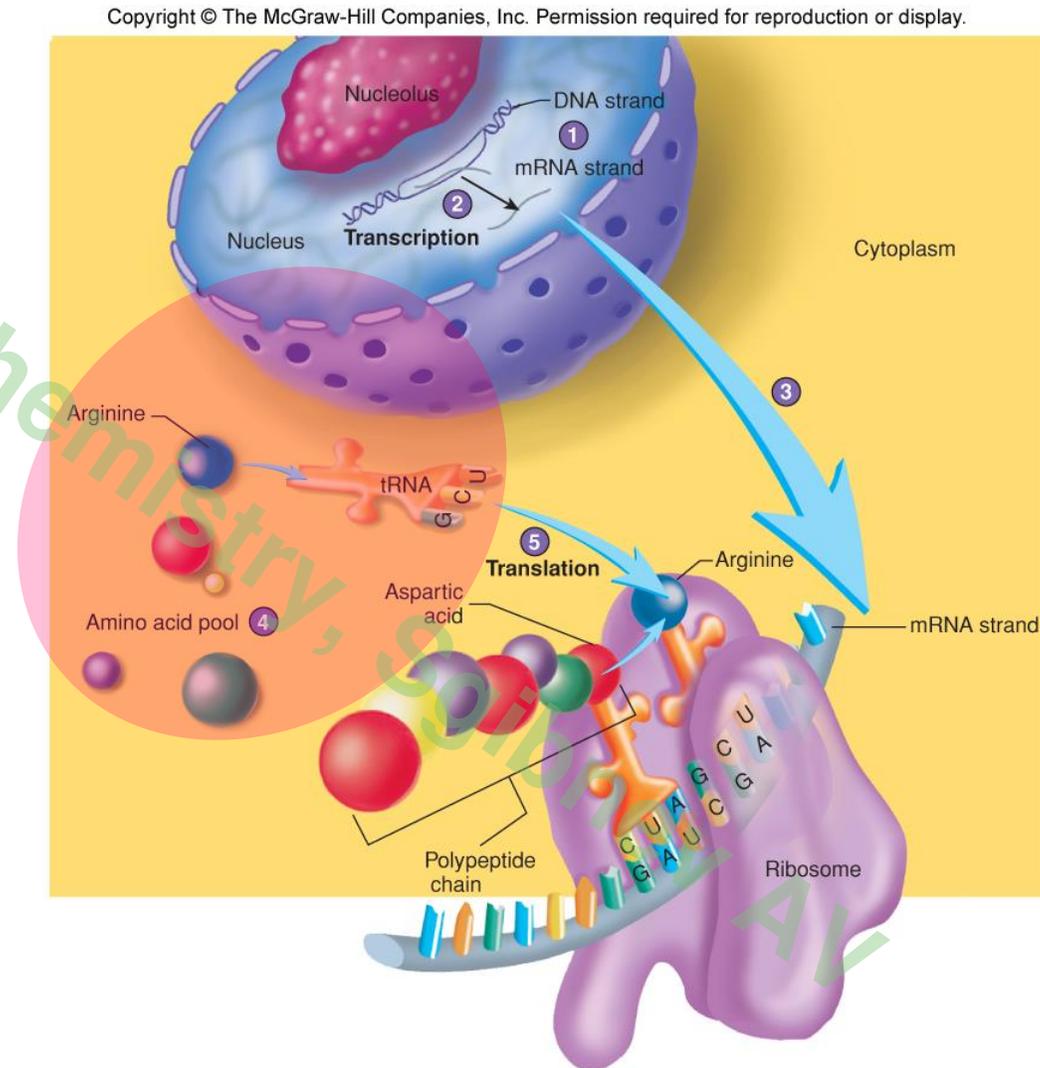
Общая схема синтеза белка

1. ДНК содержит информацию, необходимую для производства белков.
2. Транскрипция одной цепи ДНК приводит к образованию мРНК, которая является дополнительной копией информации в цепи ДНК, необходимой для создания белка.
3. **мРНК покидает ядро и переходит на рибосому.**
4. Аминокислоты, строительные блоки белков, переносятся на рибосому с помощью тРНК.
5. В процессе трансляции информация, содержащаяся в мРНК, используется для определения количества, видов и расположения аминокислот в полипептидной цепи.



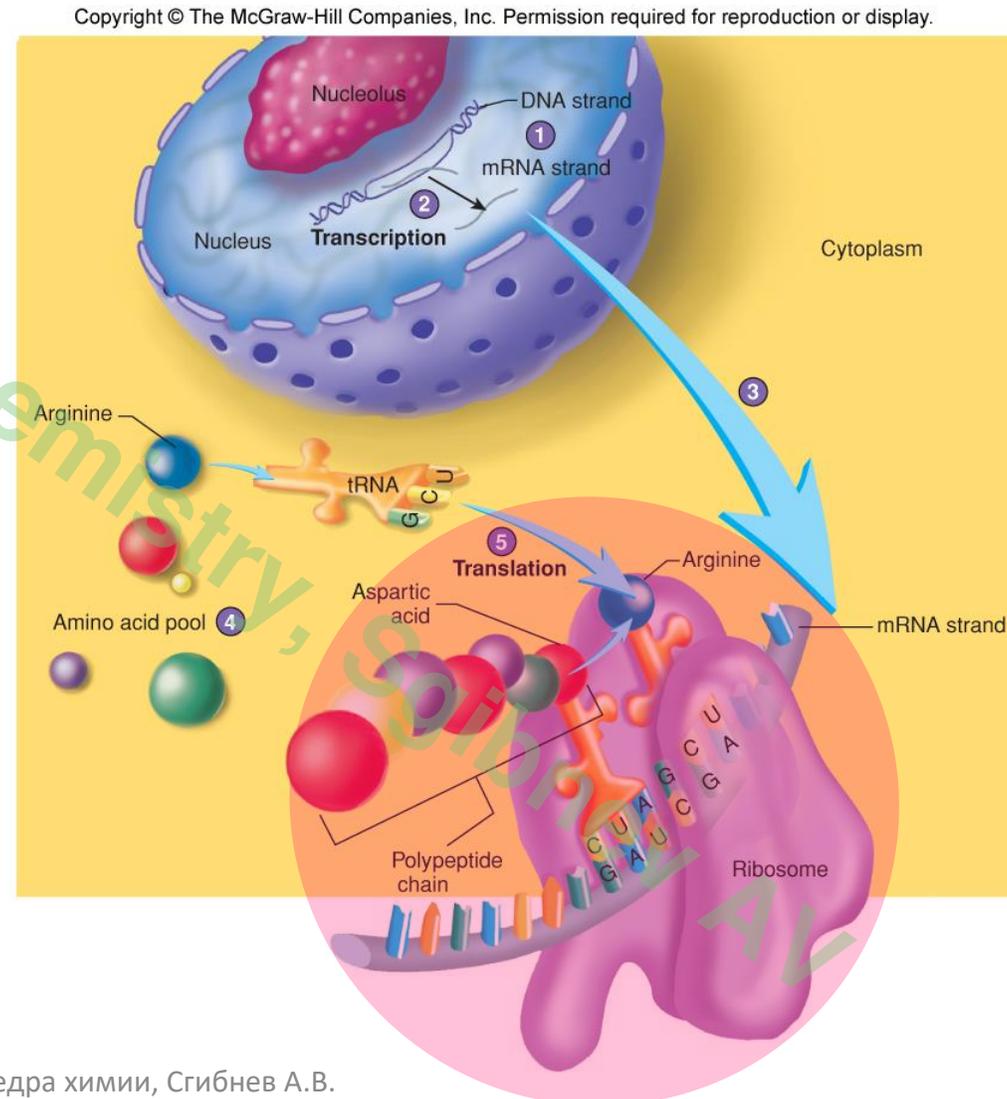
Общая схема синтеза белка

1. ДНК содержит информацию, необходимую для производства белков.
2. Транскрипция одной цепи ДНК приводит к образованию мРНК, которая является дополнительной копией информации в цепи ДНК, необходимой для создания белка.
3. мРНК покидает ядро и переходит на рибосому.
4. **Аминокислоты, строительные блоки белков, переносятся на рибосому с помощью тРНК.**
5. В процессе трансляции информация, содержащаяся в мРНК, используется для определения количества, видов и расположения аминокислот в полипептидной цепи.



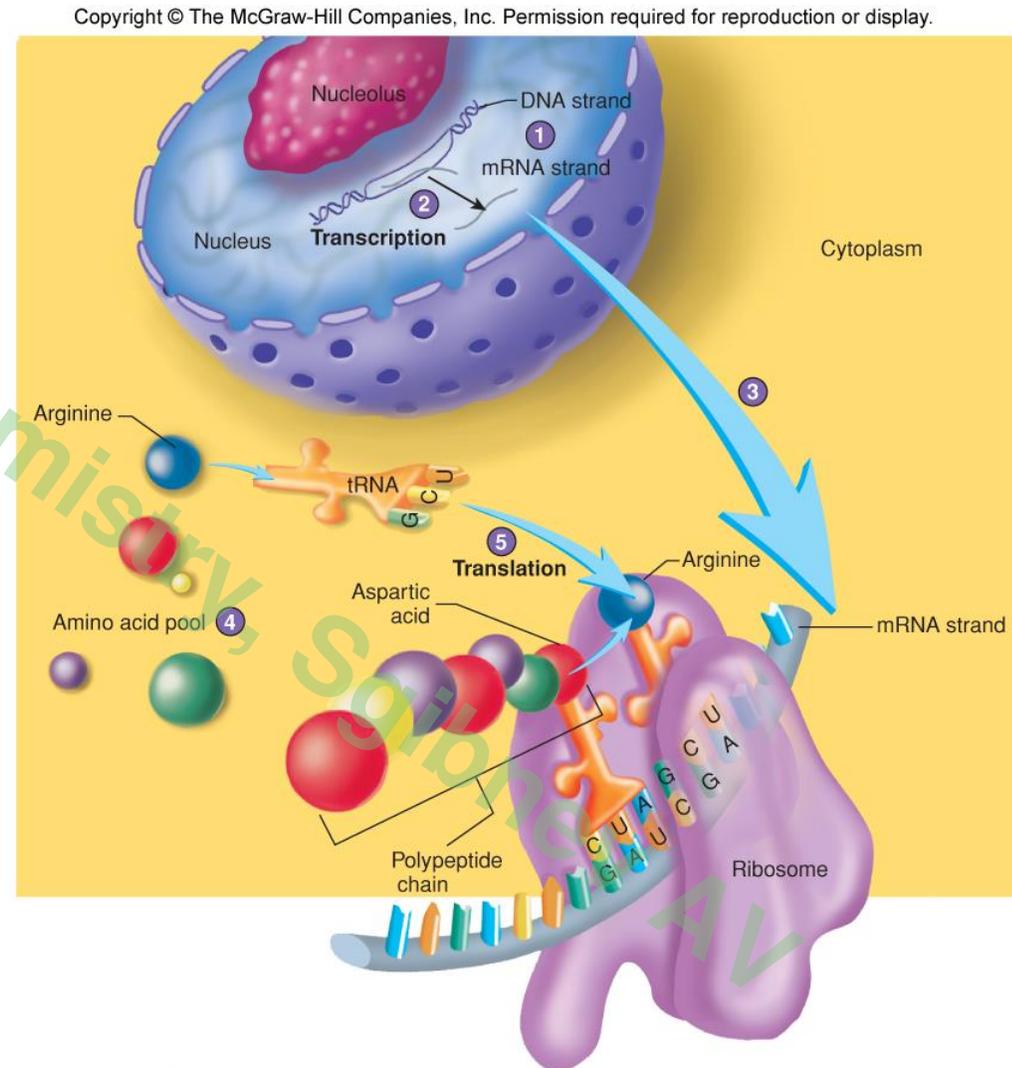
Общая схема синтеза белка

1. ДНК содержит информацию, необходимую для производства белков.
2. Транскрипция одной цепи ДНК приводит к образованию мРНК, которая является дополнительной копией информации в цепи ДНК, необходимой для создания белка.
3. мРНК покидает ядро и переходит на рибосому.
4. Аминокислоты, строительные блоки белков, переносятся на рибосому с помощью тРНК.
5. **В процессе трансляции информация, содержащаяся в мРНК, используется для определения количества, видов и расположения аминокислот в полипептидной цепи.**



Общая схема синтеза белка

1. ДНК содержит информацию, необходимую для производства белков.
2. Транскрипция одной цепи ДНК приводит к образованию мРНК, которая является дополнительной копией информации в цепи ДНК, необходимой для создания белка.
3. мРНК покидает ядро и переходит на рибосому.
4. Аминокислоты, строительные блоки белков, переносятся на рибосому с помощью тРНК.
5. В процессе трансляции информация, содержащаяся в мРНК, используется для определения количества, видов и расположения аминокислот в полипептидной цепи.



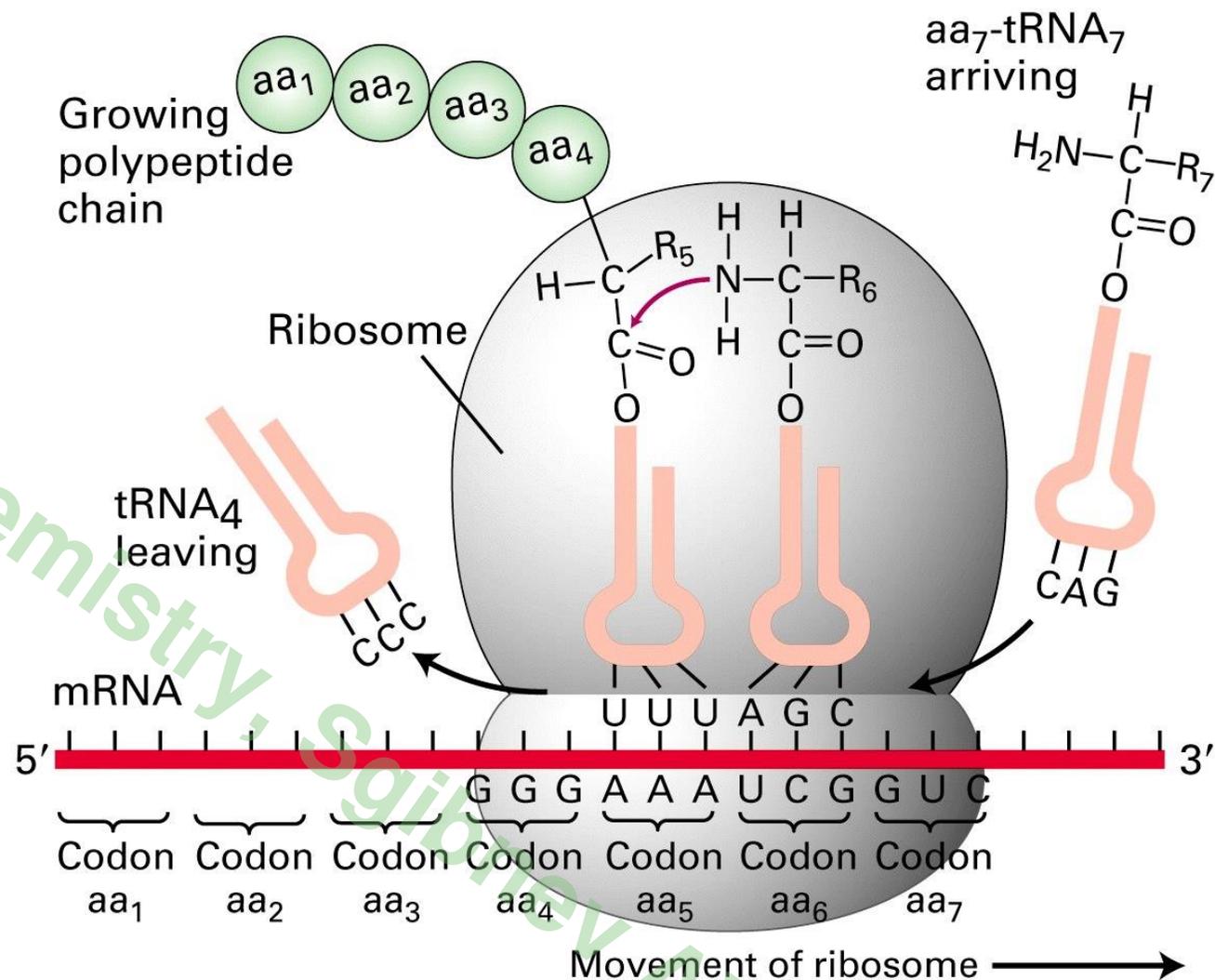
Что необходимо для трансляции?

- Аминокислоты
- тРНК
- Аминоацил-тРНК- синтетаза
- мРНК
- Рибосомы
- Энергия
- Белковые факторы:
 - кэп-связывающие белки; факторы инициации (ФИ-1, ФИ-2, ФИ-3); факторы элонгации (ФЭ); факторы высвобождения (R-фактор);
- Пептидилтрансфераза
- Mg^{2+}

Три роли РНК в трансляции

Для трансляции белков рибосомами необходимы три типа РНК.

- Информационная РНК (мРНК) определяет аминокислотную последовательность белка. Каждая аминокислота выбирается на основе порядка триплетных кодонов в мРНК.
- Транспортная РНК (тРНК) преобразует информацию в кодонах мРНК в аминокислотную последовательность белка. тРНК несут аминокислоты, указанные кодонами.
- Рибосомная РНК (рРНК) составляет основную массу рибосомы. Один вид рРНК (28S рРНК) представляет собой рибозим, который катализирует реакцию, в которой образуется пептидная связь.



Генетический код

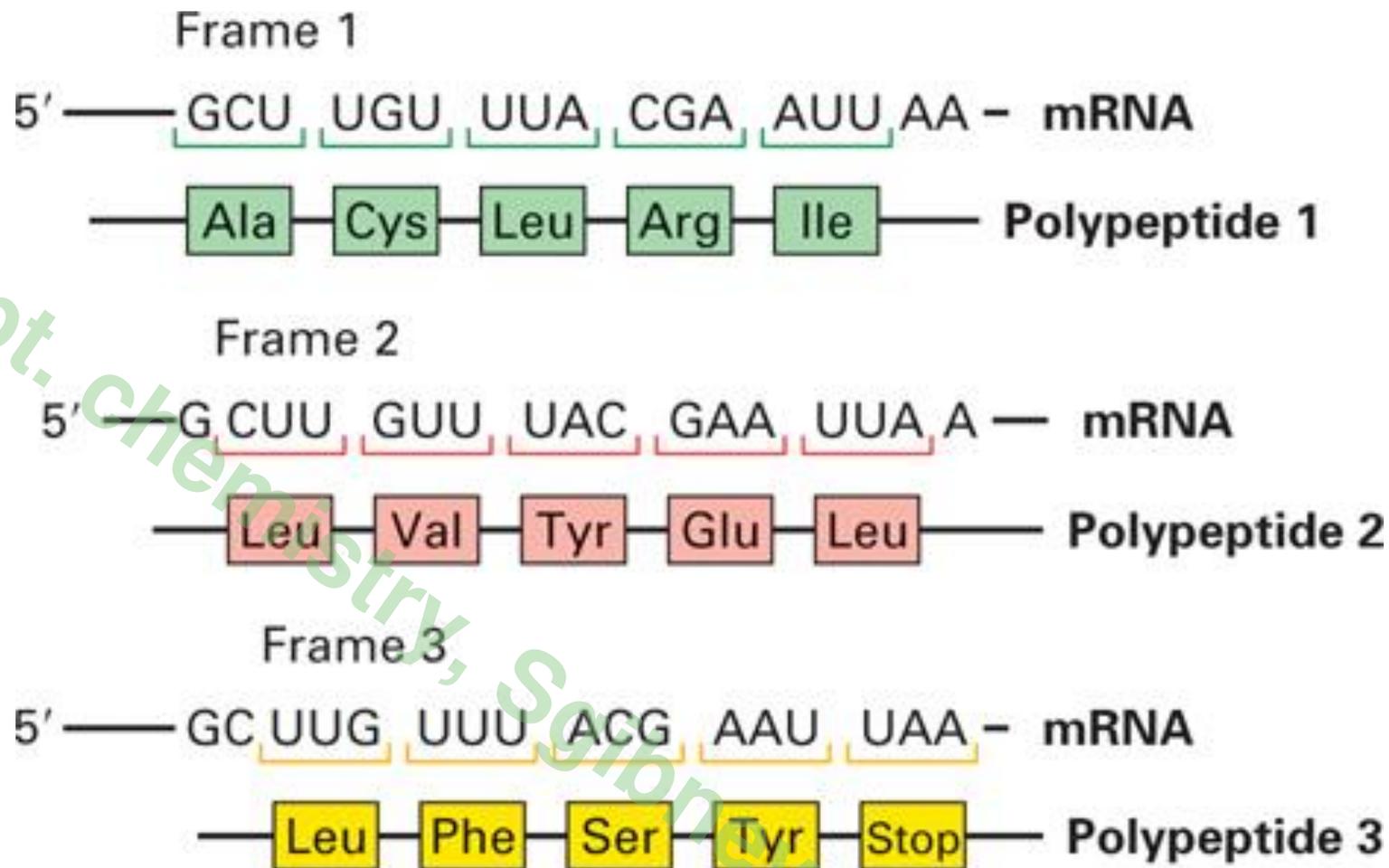
- Кодоны для 20 стандартных аминокислот определены триплетами оснований, известными как генетический код. Поскольку существует $4^3 = 64$ возможных комбинации триплетных кодонов, большинство аминокислот определяется более чем одним кодоном (вырожденность).
- 61 кодон определяет аминокислоты, 3 - стоп-кодона или завершающие кодона. Кодоны терминации сообщают рибосомам, где закончить трансляцию мРНК.
- Чаще всего кодон AUG (указывающий на метионин) служит стартовым кодоном и сообщает рибосоме, с чего начать трансляцию. Было обнаружено несколько отклонений от стандартного генетического кода, что дает убедительные доказательства того, что жизнь на Земле возникла только один раз.

TABLE 4-1 The Genetic Code (Codons to Amino Acids)*

		SECOND POSITION				
		U	C	A	G	
FIRST POSITION (5' END)	U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
		Phe	Ser	Tyr	Cys	C
		Leu	Ser	Stop	Stop	A
		Leu	Ser	Stop	Trp	G
	C	Leu	Pro	His	Arg	U
		Leu	Pro	His	Arg	C
		Leu	Pro	Gln	Arg	A
		Leu (Met)*	Pro	Gln	Arg	G
	A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
		Ile	Thr	Asn	Ser	C
		Ile	Thr	Lys	Arg	A
		Met (Start)	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U	
	Val	Ala	Asp	Gly	C	
	Val	Ala	Glu	Gly	A	
	Val (Met)*	Ala	Glu	Gly	G	

Чтение триплетного кода

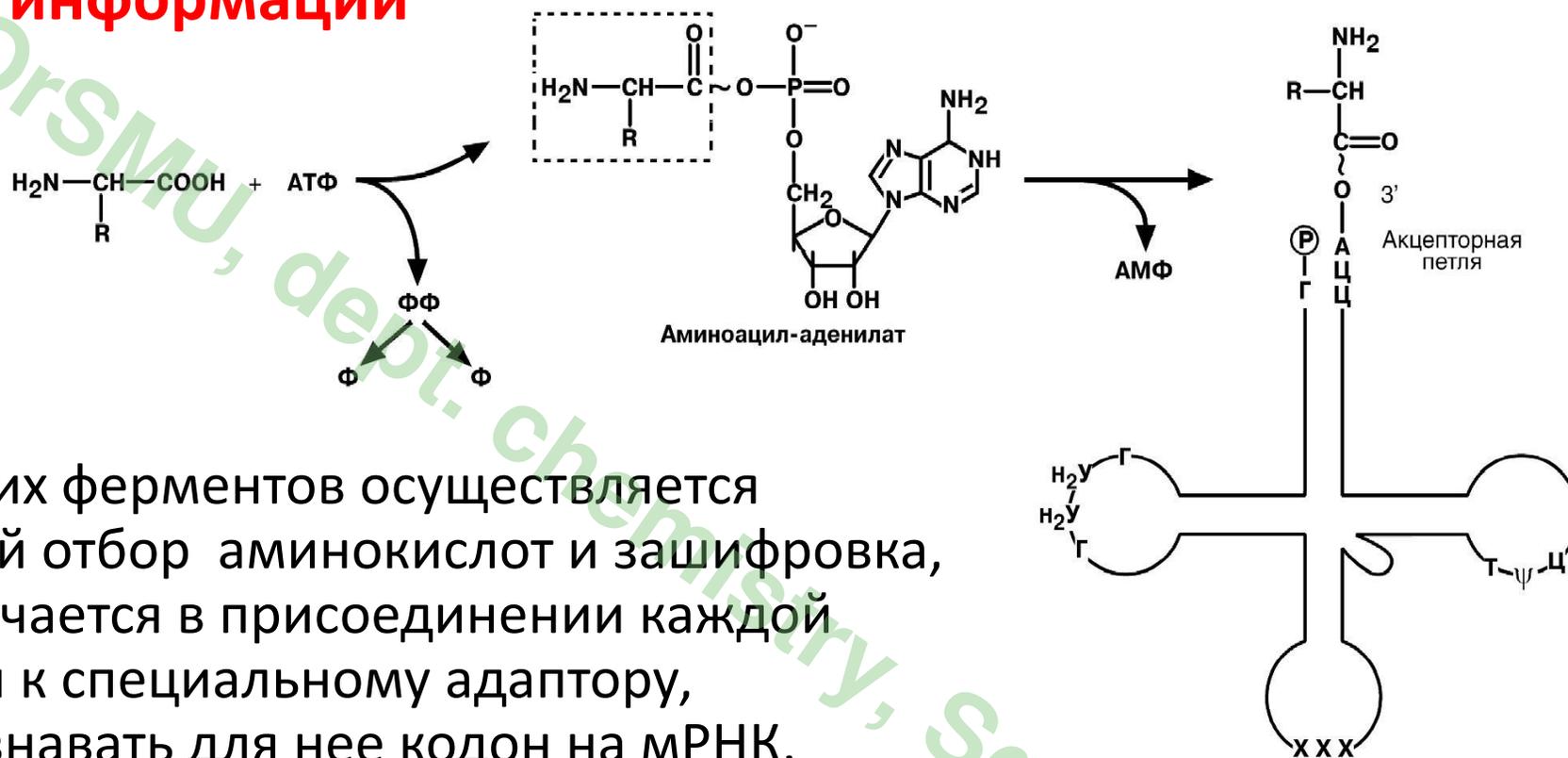
Во всех мРНК есть три потенциальных рамки считывания. Однако для трансляции используется только одна рамка считывания и выбирается на основе «кадра», в котором появляется стартовый кодон AUG. Триплетные кодоны читаются без перекрытия и без запятой. Редко мРНК читаются более чем в одной рамке. Точно так же очень редко встречается смещение рамки.



рамка считывания представляет собой способ деления последовательности нуклеотидов в ДНК или РНК на набор последовательных, неперекрывающихся триплетов. Если эти триплеты соответствуют аминокислотам или стоп-сигналам во время трансляции, они называются кодонами.

Института химии, Сгибнев А.В.

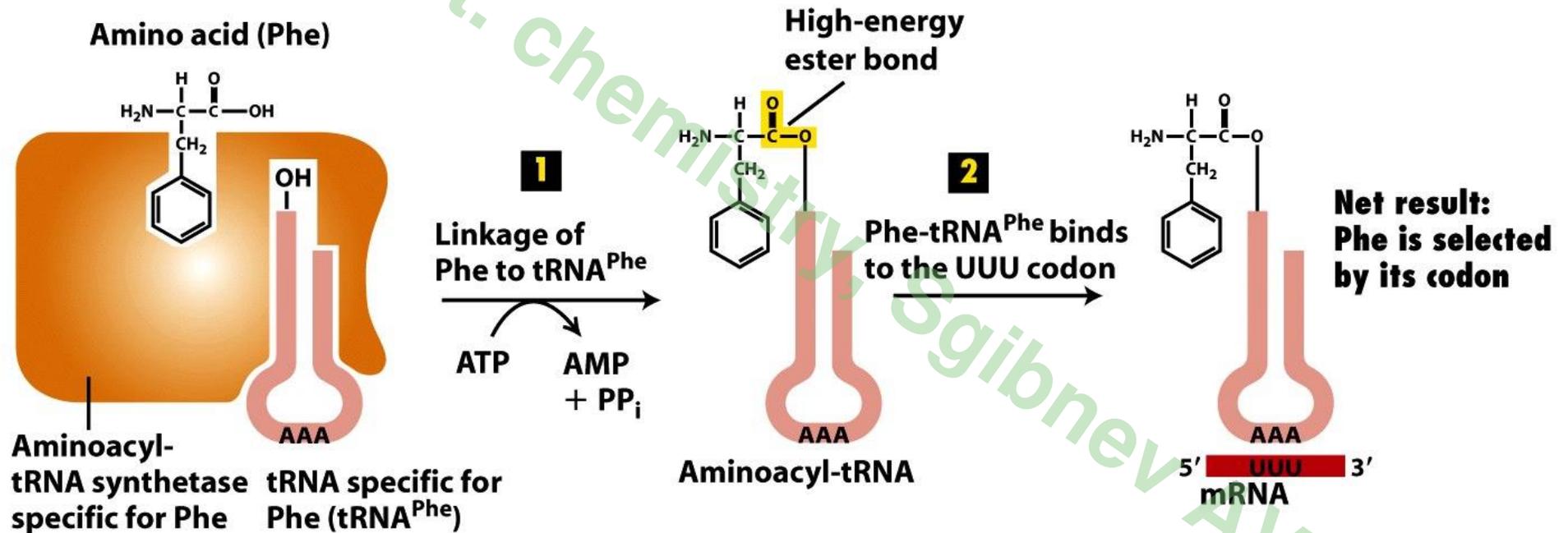
Аминоацил-тРНК-синтетазы выполняют важную роль в реализации генетической информации



С помощью этих ферментов осуществляется специфический отбор аминокислот и зашифровка, которая заключается в присоединении каждой аминокислоты к специальному адаптору, способному узнавать для нее кодон на мРНК. Именно на уровне aa-тРНК-синтетаз происходит специфическая подготовка к переводу 4-х буквенного генетического кода в 20-ти буквенный код белков. Ферментативное аминоацилирование тРНК, несомненно, выполняет кодирующую функцию.

Двухэтапный процесс декодирования мРНК

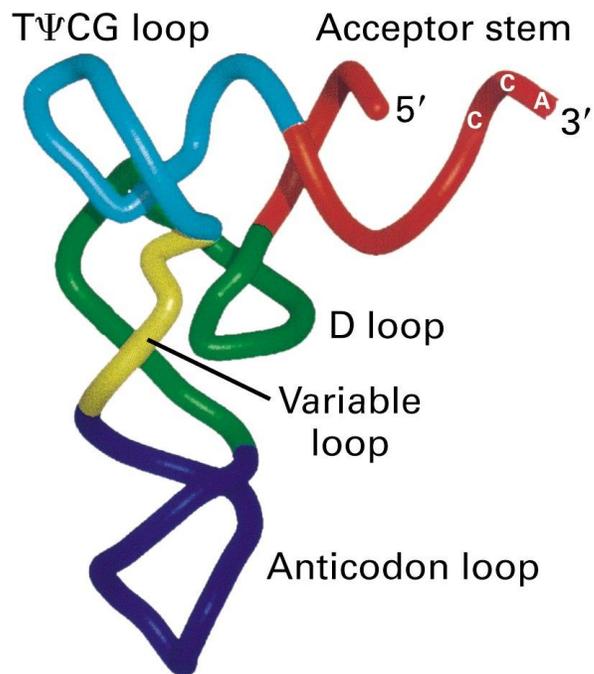
Аминокислоты присоединяются сложноэфирной связью к 3'-концу тРНК, образуя аминоацил-тРНК (1). Ферменты, которые осуществляют эту реакцию, управляемую АТФ, известны как аминоацил-тРНК-синтетазы. Аминоацил-тРНК-синтетазы обладают высокой специфичностью, это помогает минимизировать ошибки трансляции. На этапе 2 аминокислота добавляется к растущей белковой цепи на основе взаимодействий кодон: антикодон между мРНК и тРНК.



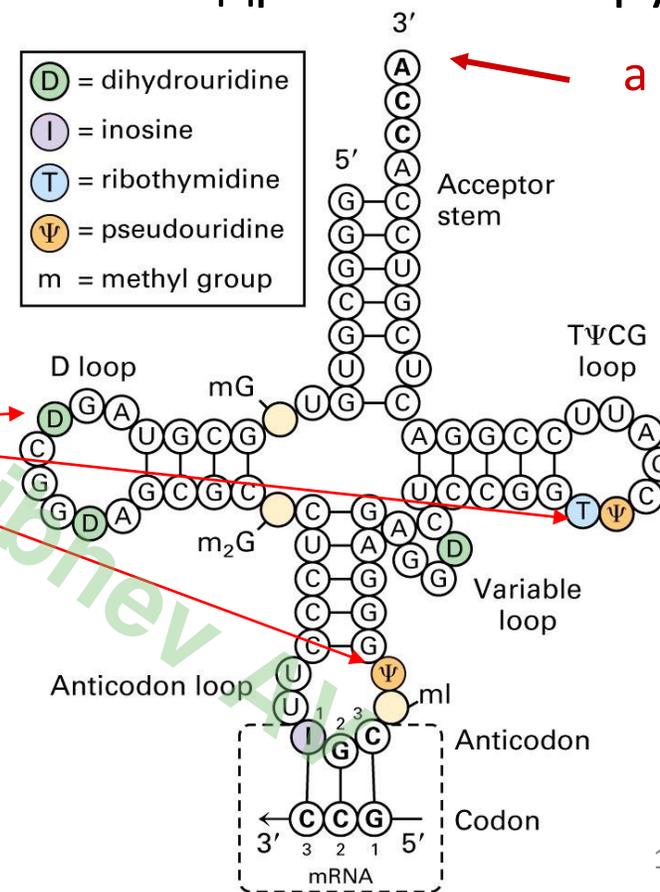
У бактерий - 30-40 видов тРНК, у эукариот - 50-100. Таким образом, конкретная аминокислота часто может переноситься более чем одним видом тРНК. Каждая аминоацил-тРНК синтетаза распознает 1 аминокислоту и все родственные ей тРНК.

Структура тРНК

тРНК обычно имеют длину 70-80 нуклеотидов. Все они имеют вторичную структуру клеверного листа и складываются в L-образную третичную структуру. Четыре двухспиральных стержня, три из которых имеют петли из 7-8 остатков на концах. Одна петля (петля антикодона) содержит антикодон. Верхний стержень известен как акцепторный стержень и заканчивается последовательностью ССА во всех тРНК. Аминокислота присоединена сложноэфирной связью к 2'- или 3'-гидроксильной группе остатка А.



Некоторые нуклеотиды в тРНК модифицированы – это псевдоуридин, дигидроуридин, риботимидин, инозин и др.



Спаривание оснований кодон-антикодон

Взаимодействие кодон-антикодон основано на принципах комплементарности и антипараллельности:

- 3'----Ц - Г-А*-----5' Антикодон тРНК
- 5'-----Г- Ц-У*-----3' Кодон мРНК
- Гипотеза качания (wobble)

была предложена Ф. Криком:

- 3'- основание кодона мРНК имеет нестрогое спаривание с 5'- основанием антикодона тРНК: например, У (в мРНК) может взаимодействовать с А и Г (тРНК)
- Некоторые тРНК могут спариваться с более, чем одним кодоном.

Колебание пар оснований снижает количество генов тРНК, которые организм должен создать для осуществления трансляции. Это также помогает защитить от мутаций, которые могут инактивировать гены тРНК.



If these bases are in **first**, or wobble, position of anticodon

C	A	G	U	I	then the tRNA may recognize codons in mRNA having these bases in third position
G	U	C	A	C	
		U	G	A	
				U	



If these bases are in **third**, or wobble, position of codon of an mRNA

C	A	G	U	then the codon may be recognized by a tRNA having these bases in first position of anticodon
G	U	C	A	
I	I	U	G	
			I	

Рибосомы

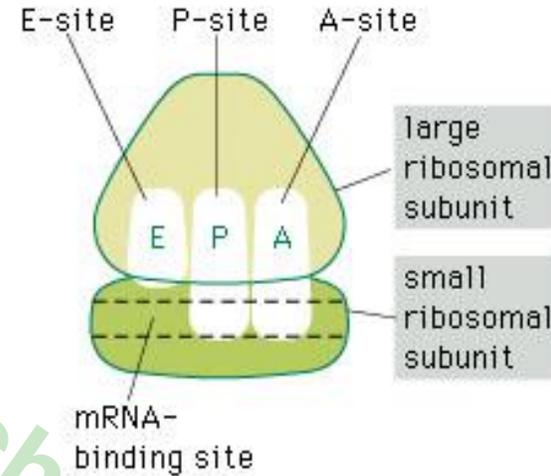
Рибосомы - рибонуклеопротеиновые частицы, в составе которых отношение РНК/белок составляет 50/50 у высших животных и (60-65)/(35-40) у бактерий.

Каждая рибосома имеет сайт связывания для мРНК и 3 сайта связывания для тРНК

химически – рибонуклеопротеид,

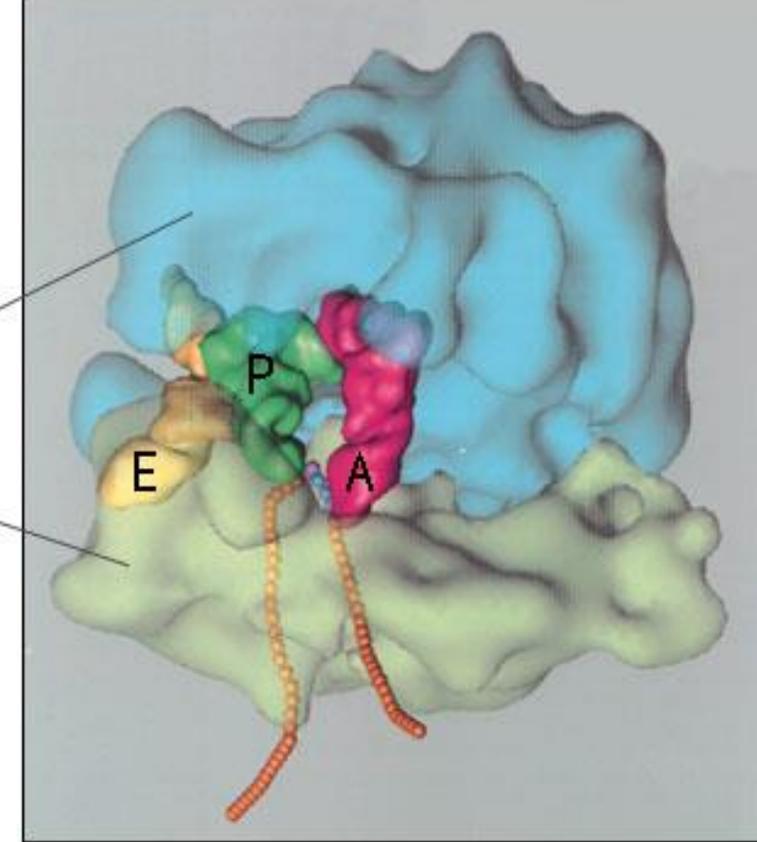
физически – компактная частица, диаметром около 30 нм,

функционально – молекулярная машина, протягивающая вдоль себя мРНК, считывающая закодированную в мРНК генетическую информацию и синтезирующая полинуклеотидную цепь.



(A)

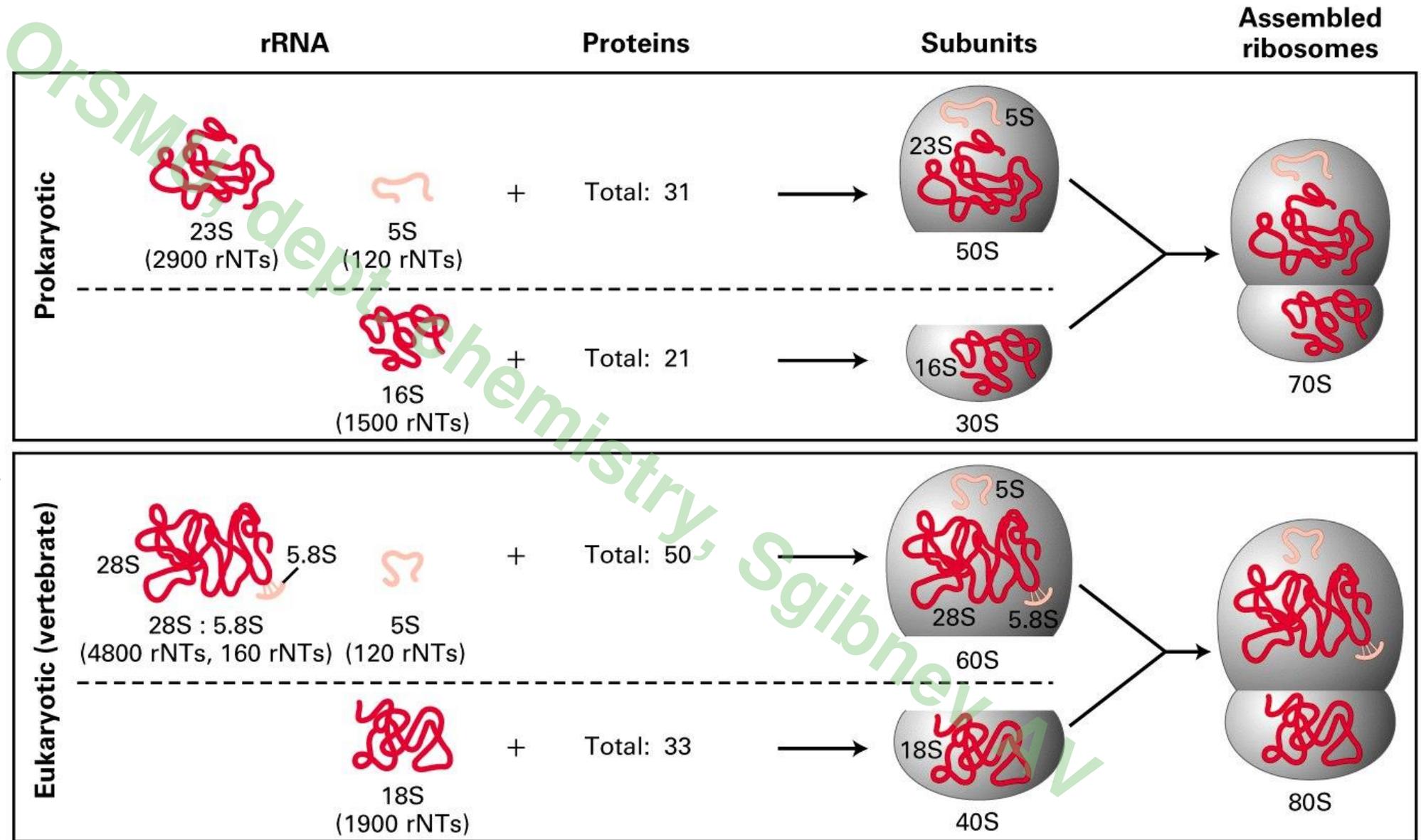
А – аминоацил-тРНК-связывающий участок;
Р - пептидил-тРНК-связывающий участок;
Е - участок выхода тРНК



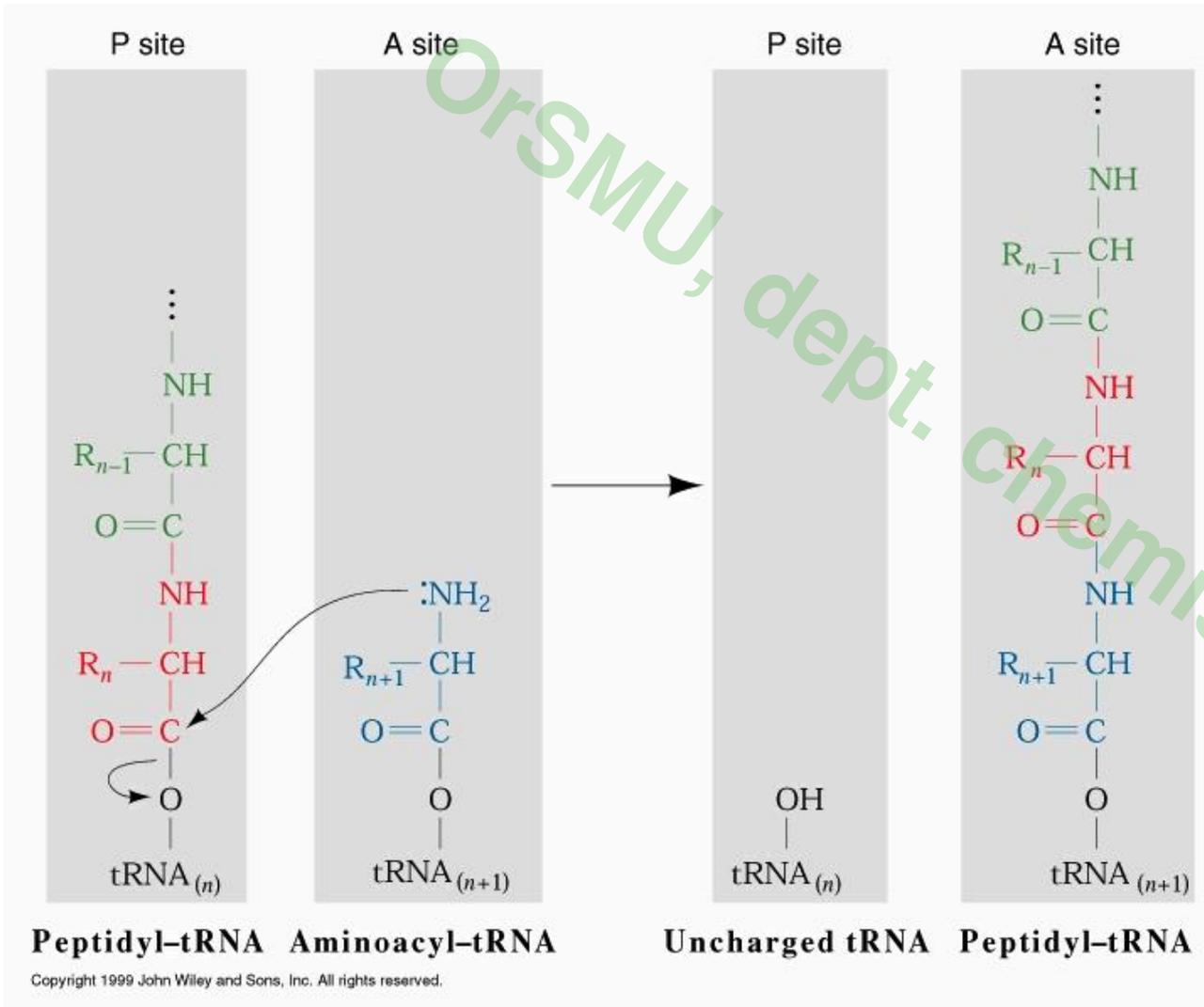
(B)

Состав рибосом

Рибосомы представляют собой надмолекулярные комплексы РНК-белок. Они представляют собой наиболее распространенный тип комплекса РНК-белок в клетках.



Пептидилтрансферазная реакция



1. Пептидилтрансферазный центр находится на большой субъединице рибосомы.
2. Реакция транспептидации осуществляется между пептидил-тРНК (P-сайт) и аминоацил-тРНК (A-сайт).
3. Происходит перенос карбоксильной группы пептидильного остатка на аминогруппу аминоацил-тРНК в A-сайте. Образуется пептидная связь. Пептидильный остаток удлиняется на одну аминокислоту.

Обзор инициации трансляции у эукариот

- Как и транскрипция, трансляция механически разделяется на стадии **инициации, элонгации и завершения/терминации.**
- Все стадии требуют **факторов трансляции** в дополнение к рибосомам, мРНК и aa-тРНК.
- До инициации трансляции 60S и 40S субъединицы 80S эукариотической рибосомы **находятся в диссоциированном состоянии.**
- Сборка комплекса инициации 80S рибосомы в стартовом кодоне мРНК происходит посредством связывания мРНК и заряженной тРНК инициатора Met-tRNA^{Met} с субъединицей 40S с последующим добавлением субъединицы 60S.

Иницирование трансляции у эукариот I ч.

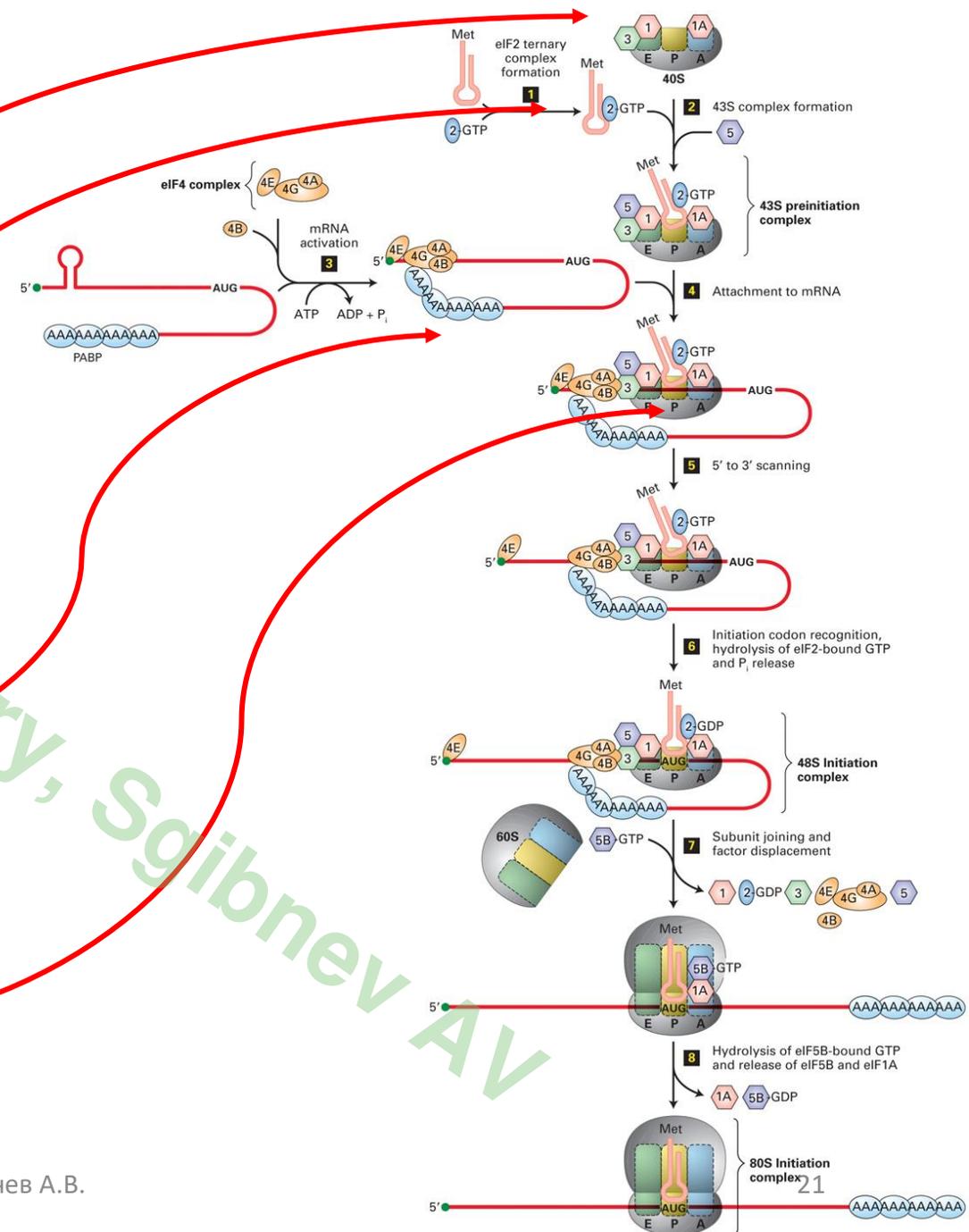
Инициация трансляции у эукариот начинается с образования трех компонентов/комплексов.

1) субъединица рибосомы 40S, с которой связаны факторы инициации eIF1, eIF1A и eIF3;

2) тройной комплекс eIF2.GTP + Met-tRNA^{iMet};

3) кольцевая мРНК, образованная связыванием кэп-связывающего комплекса eIF4 на 5' конце мРНК с поли (А) связывающим белком (PABP), связанным с 3' концом мРНК.

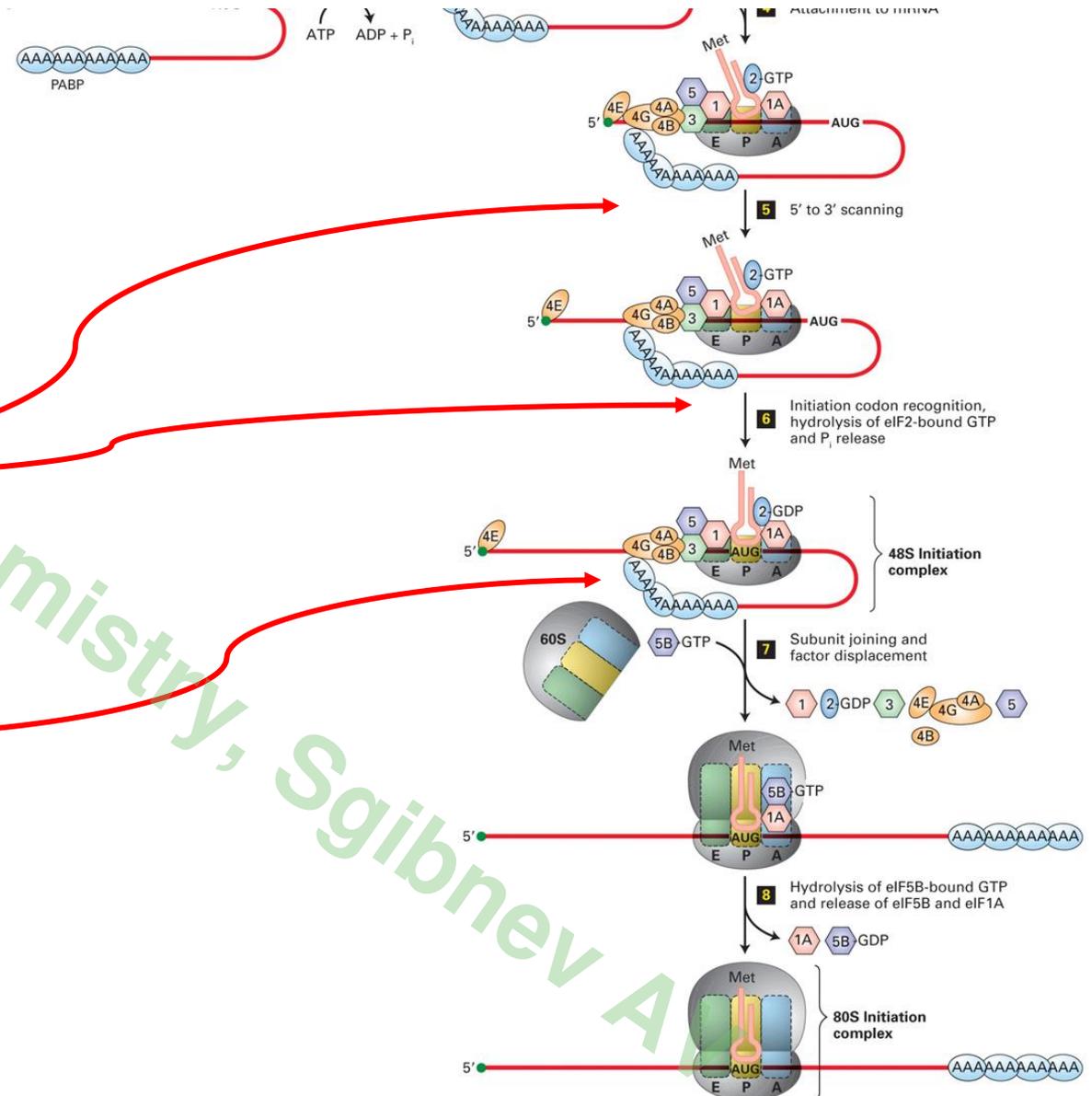
Эти компоненты связываются на этапах **2** и **4**, помещая комплекс Met-tRNA^{iMet} в сайт Р субъединицы 40S.



Иницирование трансляции у эукариот II ч.

На следующем этапе инициации мРНК сканируется в направлении от 5' к 3', пока первый стартовый кодон AUG не будет перенесен в сайт Р (этапы 5 и 6).

Затем гидролиз GTP с помощью eIF2 генерирует стабильный иницирующий комплекс 48S, в котором тРНК инициатора (Met-tRNAⁱMet) связана Н-связью с кодоном AUG.



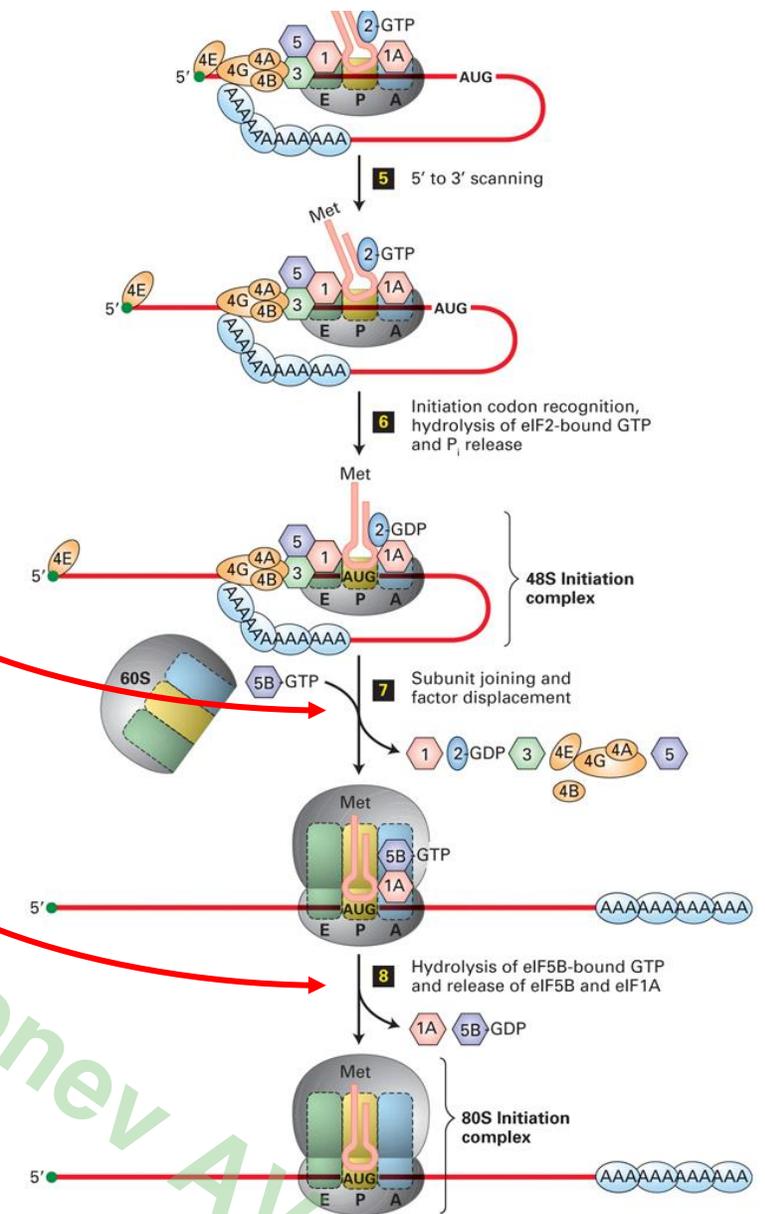
Иницирование трансляции у эукариот III ч.

На заключительных стадиях инициации все факторы инициации, кроме eIF1A, диссоциируют от иницирующего комплекса 48S и добавляются субъединица 80S и комплекс eIF5B.GTP (этап 7).

После того, как eIF5B гидролизует GTP, последние факторы инициации удаляются, и создается стабильный иницирующий комплекс 80S (этап 8).

Этот комплекс содержит полные сайты связывания E (выход), P (пептидил-тРНК) и A (аминоацил-тРНК), с Met-tRNA^{iMet}, связанным с сайтом P.

PABP



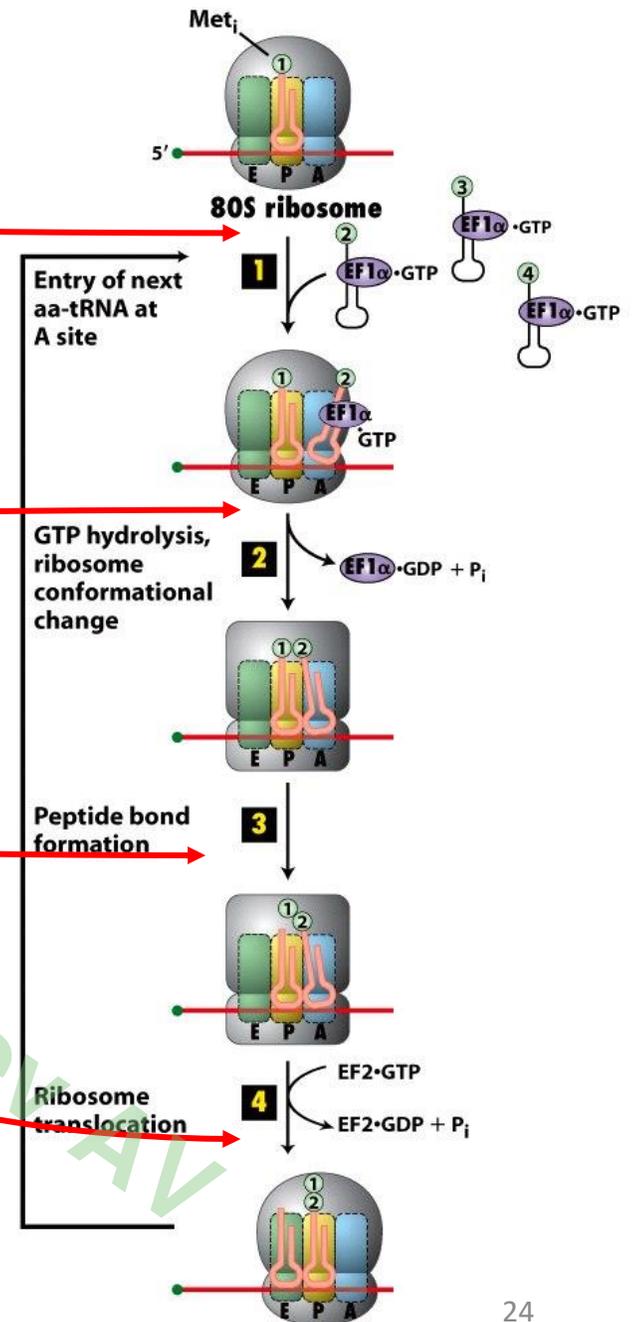
Элонгация трансляции у эукариот

Элонгация требует факторов элонгации.

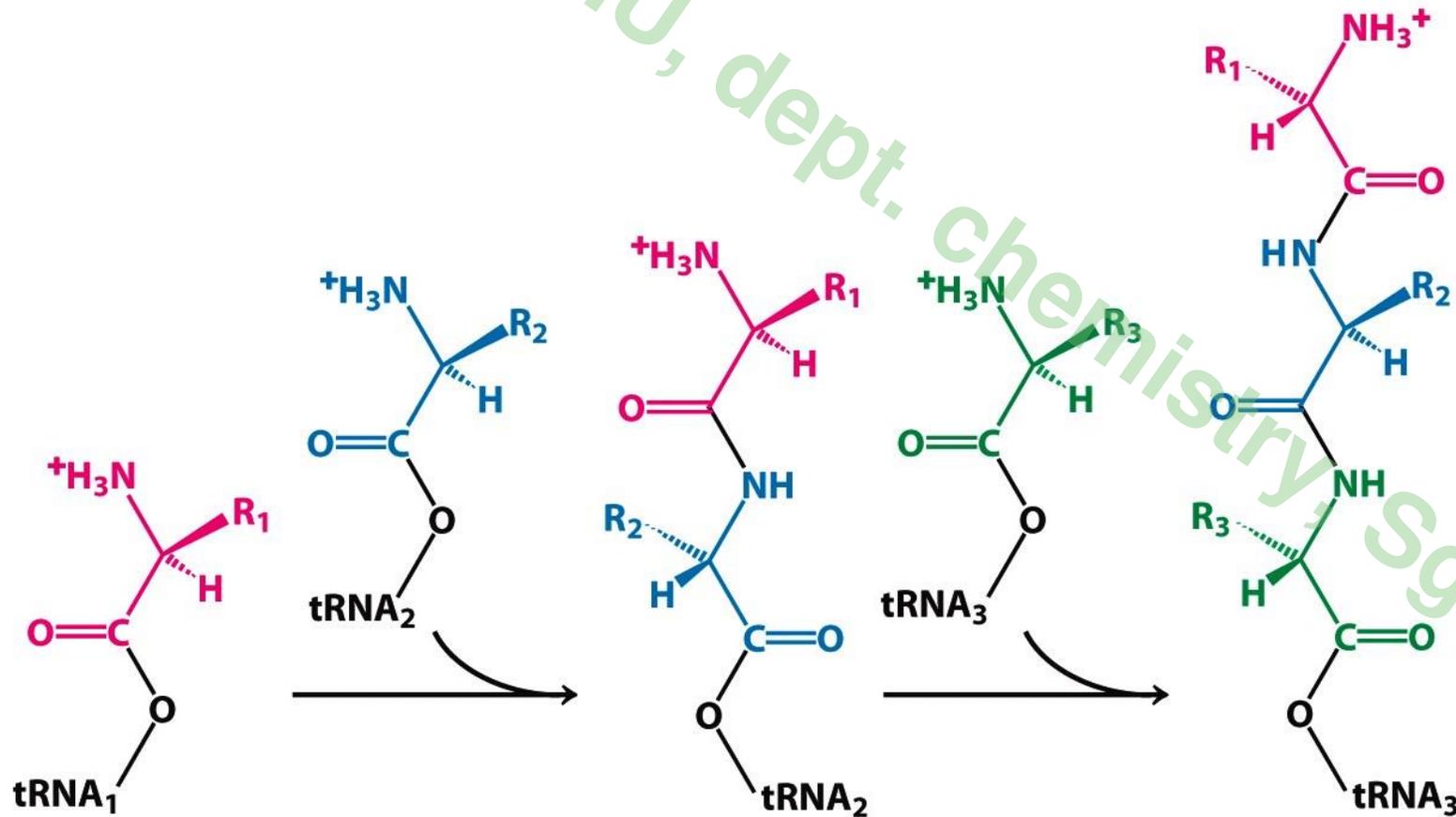
На этапе **1** элонгации вторая аминокислота полипептида переносится в сайт А рибосомы с помощью комплекса EF1a.GTP. Он связывается с мРНК через антикодон, расположенный в сайте А. На этапе **2** GTP гидролизуется, и EF1a уходит.

На этапе **3** 28S рРНК 60S субъединицы катализирует образование пептидной связи, в результате чего дипептидил-тРНК находится в А-сайте.

На этапе **4** фактор EF2.GTP связывается, рибосома перемещает один кодон вдоль мРНК, и GTP гидролизуется. В результате дипептидил-тРНК помещается в сайт Р, а незаряженная тРНК^{Met} попадает в сайт Е. Незаряженная тРНК выбрасывается из рибосомы в следующем цикле элонгации.



Белки синтезируются последовательным добавлением аминокислот к карбоксильному концу



фаза элонгации - последовательное добавление аминоксил-тРНК до тех пор, пока не получится пептид, который достигнет стоп-кодона, а затем потребуется терминация.

Figure 39.9
Biochemistry: A Short Course, First Edition
© 2010 W. H. Freeman and Company

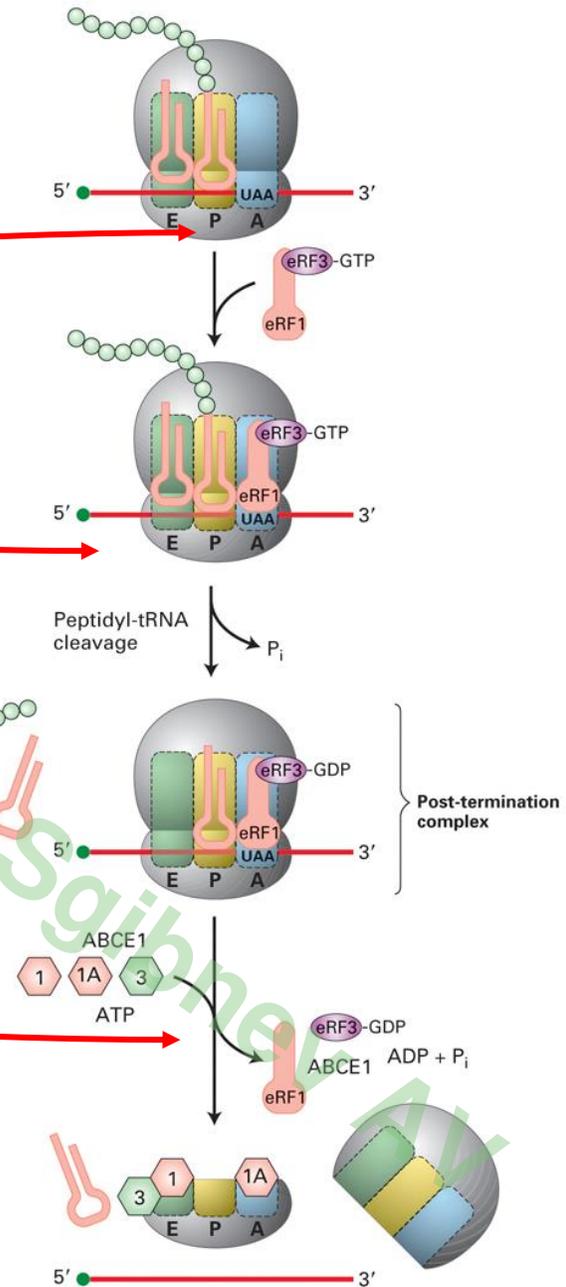
Терминация трансляции у эукариот

Когда стоп-кодон (UAA, UAG, UGA) попадает в сайт A, он распознается и связывается фактором высвобождения eRF1.

eRF1 образует комплекс с eRF3.GTP. Гидролиз GTP с помощью eRF3 приводит к расщеплению связи между полипептидом и пептидил-тРНК и высвобождению белка из комплекса пост-терминации рибосомы.

Затем белок, называемый ABCE1, связывается с комплексом, и посредством гидролиза ABCE1 АТФ субъединицы 40S и 60S разделяются. Субъединица 40S рекомбинирует с факторами eIF1, eIF1A и eIF3, делая ее готовой к следующему раунду инициации.

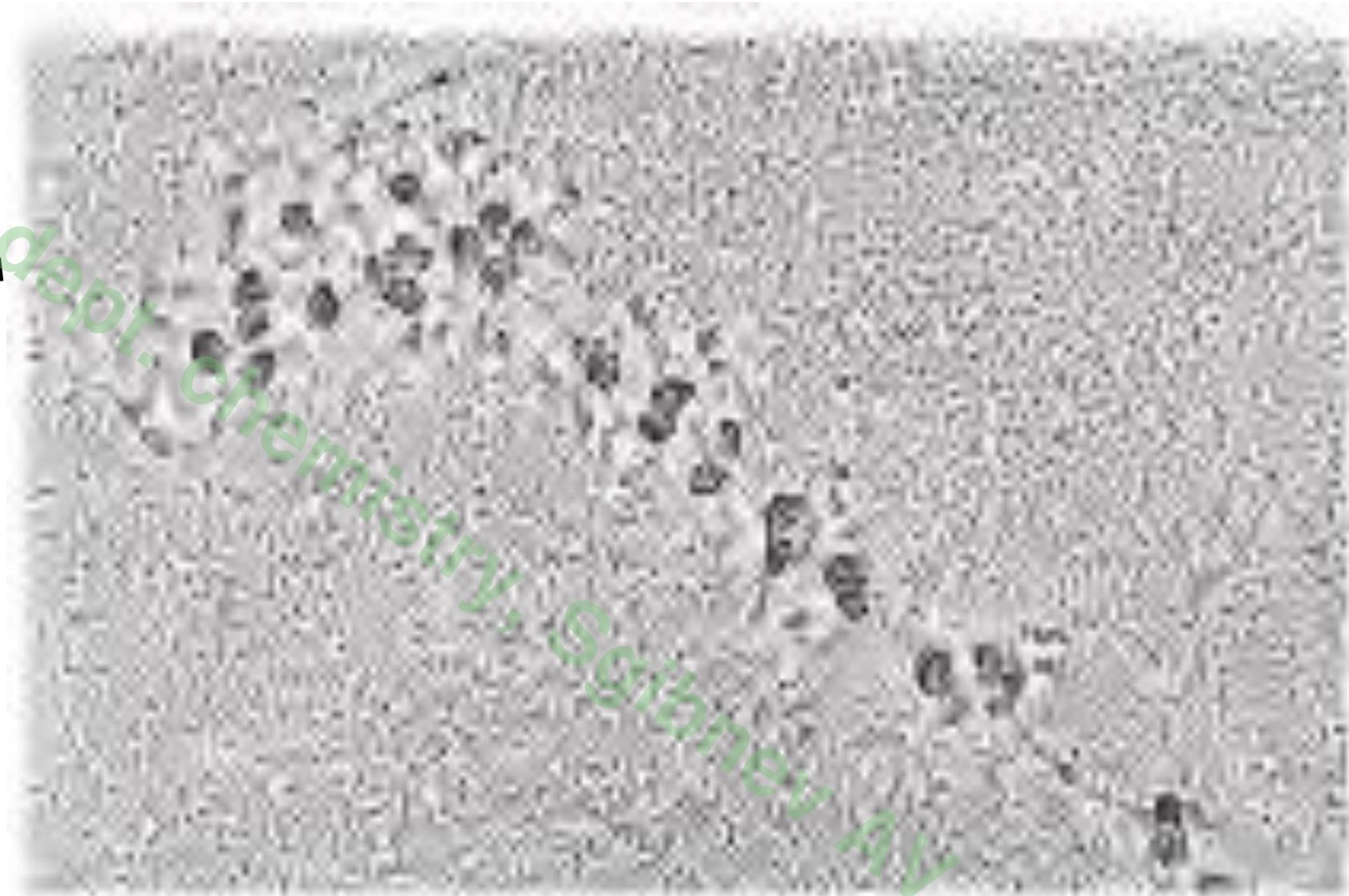
Сворачиванию высвободившейся полипептидной цепи помогают шапероны (не показаны).



Полисомы

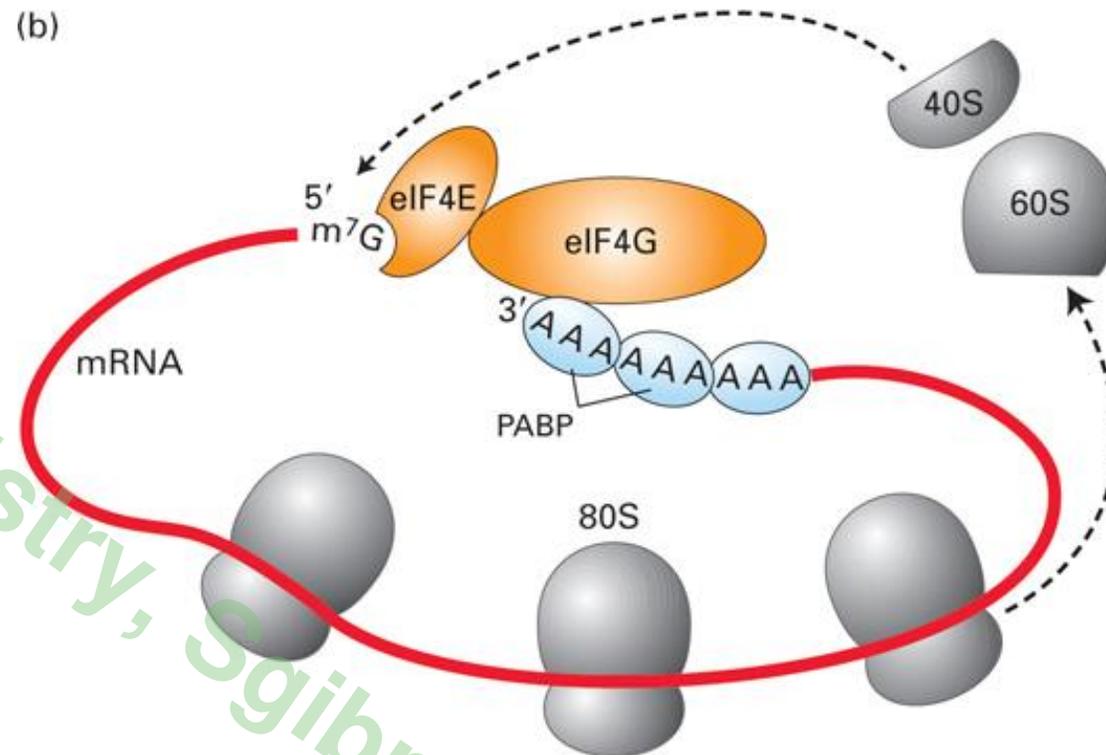
Из бактериальных и эукариотических клеток можно выделить крупные кластеры из 10-100 рибосом – полисомы, в которых соседние рибосомы соединены между собой молекулами мРНК, с которых происходит трансляция белка одновременно многими рибосомами.

Высокая эффективность процесса.



Полисомы и рециклинг рибосом

Удлинение полипептидной цепи происходит со скоростью 3-5 аминокислот в секунду. Эффективность трансляции увеличивается за счет связывания нескольких рибосом (полисом) с мРНК в заданное время. Эффективность трансляции дополнительно увеличивается за счет комплекса между поли (А)-связывающим белком (РАВР) и 5'-кэпом eIF4-мРНК, который встречается в мРНК. Этот кольцевой комплекс позиционирует рибосомы, которые только что завершили трансляцию сообщения, около своего 5'-конца. Эти рибосомы повторно используются и быстро запускают новый раунд трансляции.

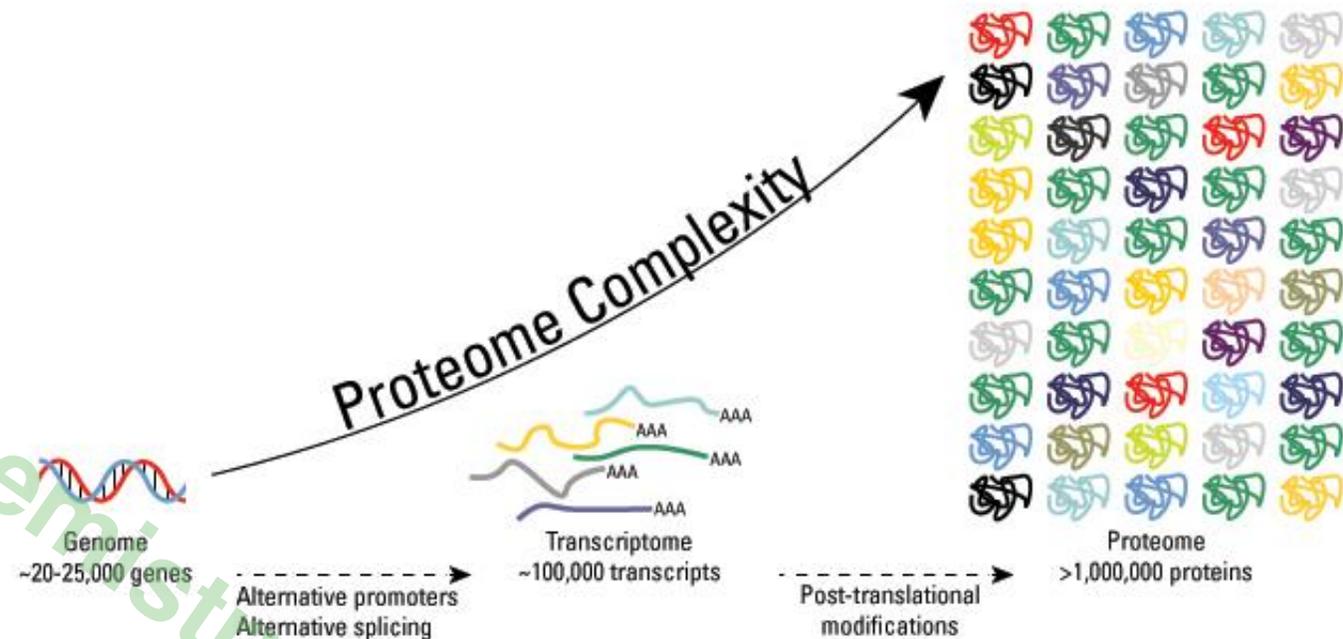


- **Процессинг белка** - совокупность посттрансляционных и котрансляционных изменений в полипептиде, приводящих к образованию структурно- и функционально зрелому белку.

Посттрансляционная модификация

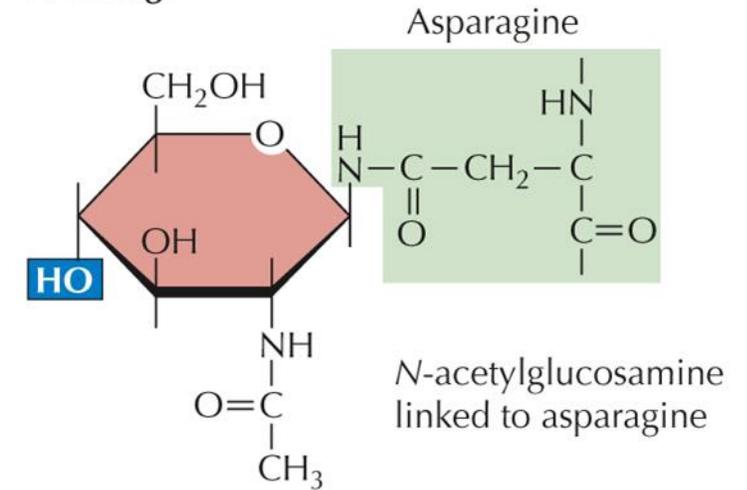
Химическая модификация белка - последний этап синтеза

- Известно более 200 вариантов посттрансляционной модификации белков
- эффекты ПМ - продолжительность жизни белков, ферментативную активность, взаимодействие с другими белками
- Частичный гидролиз, гликозилирование (половина всех белков человека), фосфорилирование, алкилирование, убиквитирование, тирозинирование и т.д.

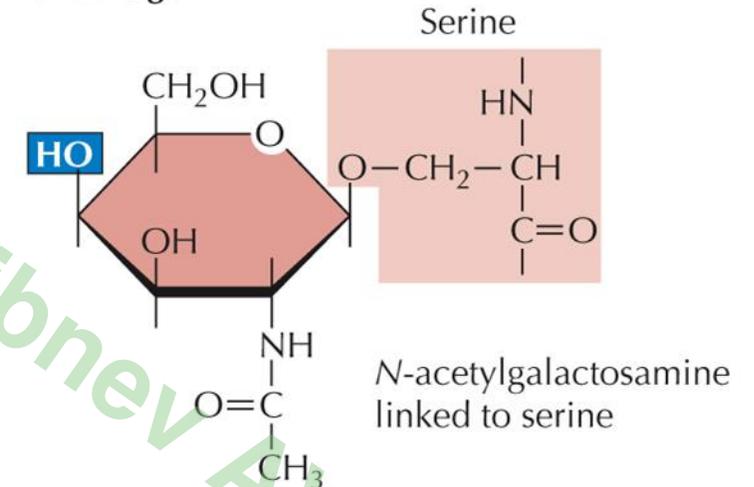


- **Гликозилирование** добавляет к белкам углеводные цепи с образованием **гликопротеинов**.
- Углеводные фрагменты играют важную роль в сворачивании белков в ER, в нацеливании на белки для транспорта и в качестве сайтов узнавания при межклеточных взаимодействиях.
- N-связанные гликопротеины: углевод присоединен к атому азота в боковой цепи аспарагина.
- O-связанные гликопротеины: углевод присоединен к атому кислорода в боковой цепи серина или треонина.

N-linkage

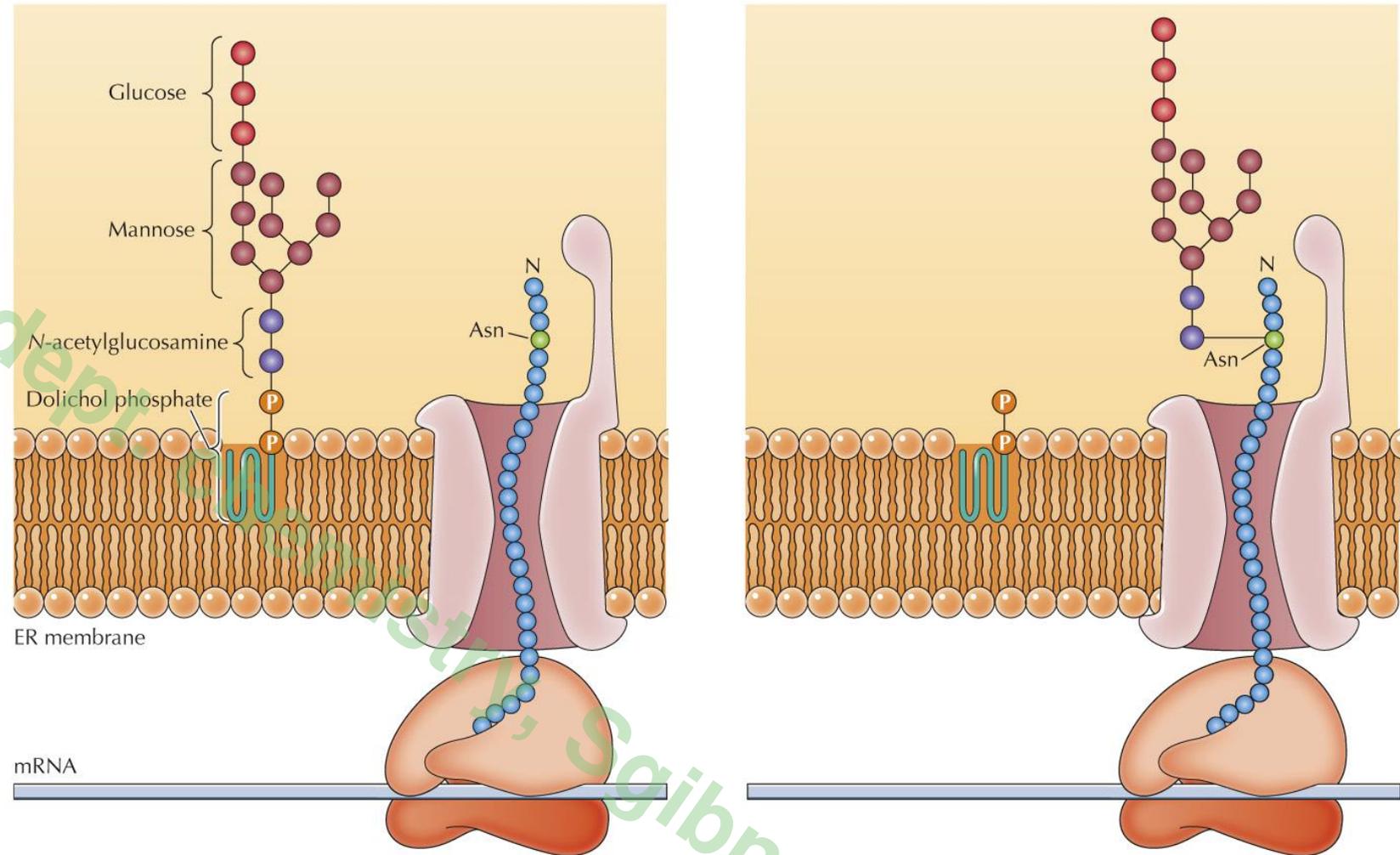


O-linkage



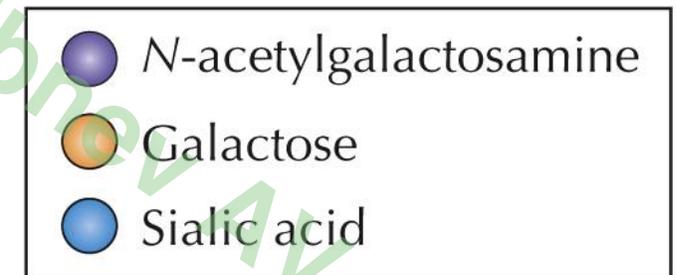
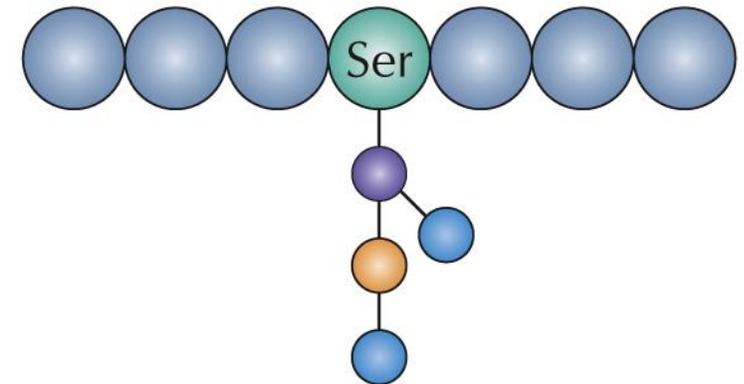
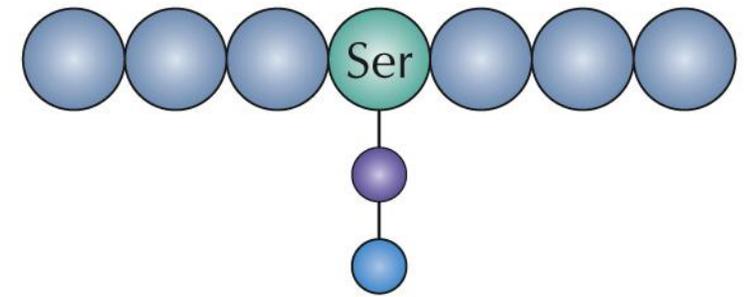
THE CELL: A MOLECULAR APPROACH 7e, Figure 9.32
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

- Гликозилирование начинается в ER еще до завершения трансляции.
- Олигосахарид собирается на липидном носителе в мембране ER, а затем переносится на остаток аспарагина.
- Дальнейшие модификации приводят к множеству различных N-связанных олигосахаридов.



THE CELL: A MOLECULAR APPROACH 7e, Figure 9.33
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

- O-связанные олигосахариды в аппарате Гольджи.
- Они образуются путем добавления одного сахара за раз.
- Многие цитоплазматические и ядерные белки, включая факторы транскрипции, также модифицируются путем добавления одного O-связанного остатка N-ацетилглюкозамина.

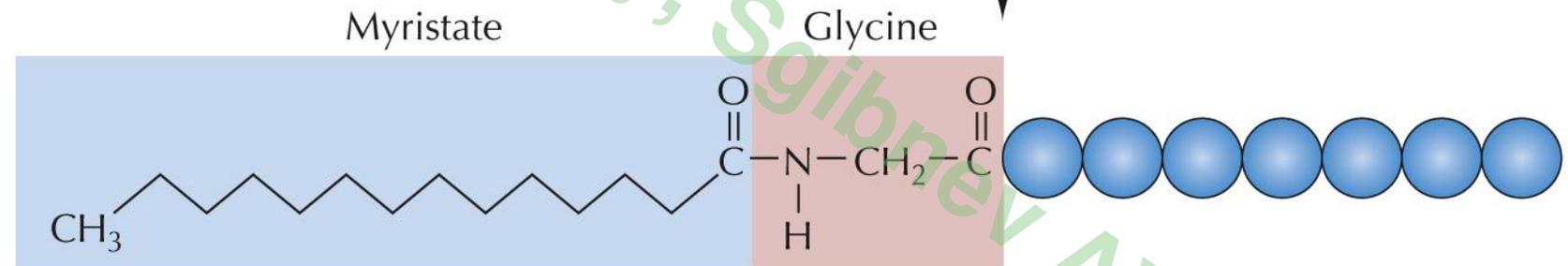
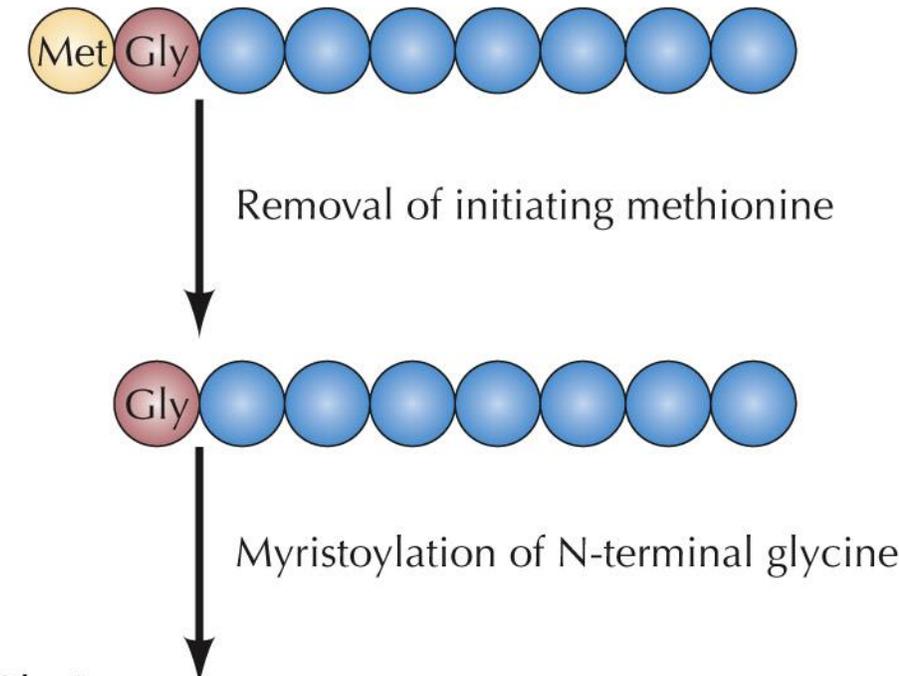


THE CELL: A MOLECULAR APPROACH 7e, Figure 9.34
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

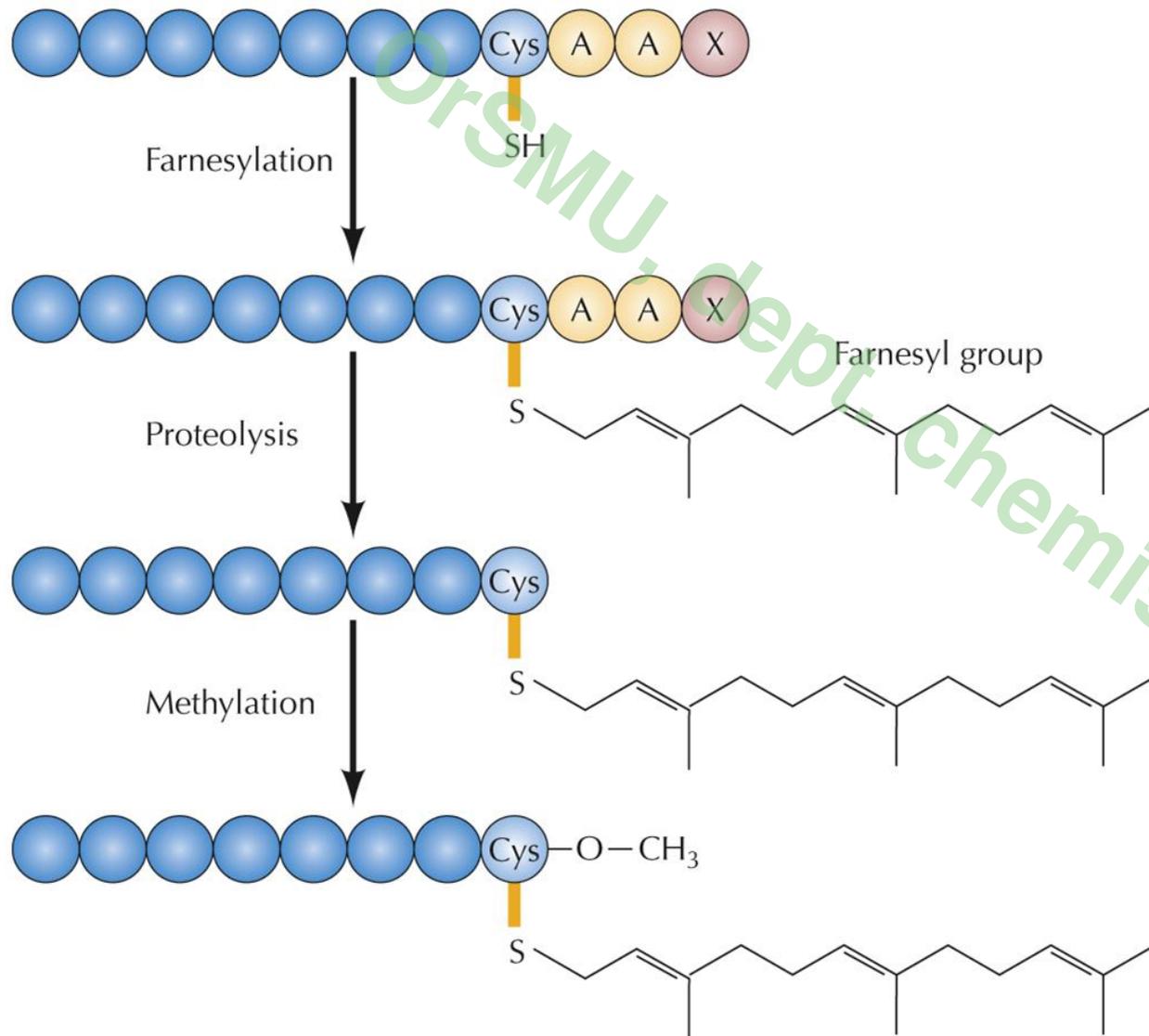
- Некоторые эукариотические белки модифицированы липидами, которые часто служат для закрепления их на плазматической мембране.

- Четыре типа липидных модификаций:

- **1. N-миристоилирование:** миристиновая кислота присоединяется к N-концевому глицину. Эти белки связаны с внутренней стороной плазматической мембраны.

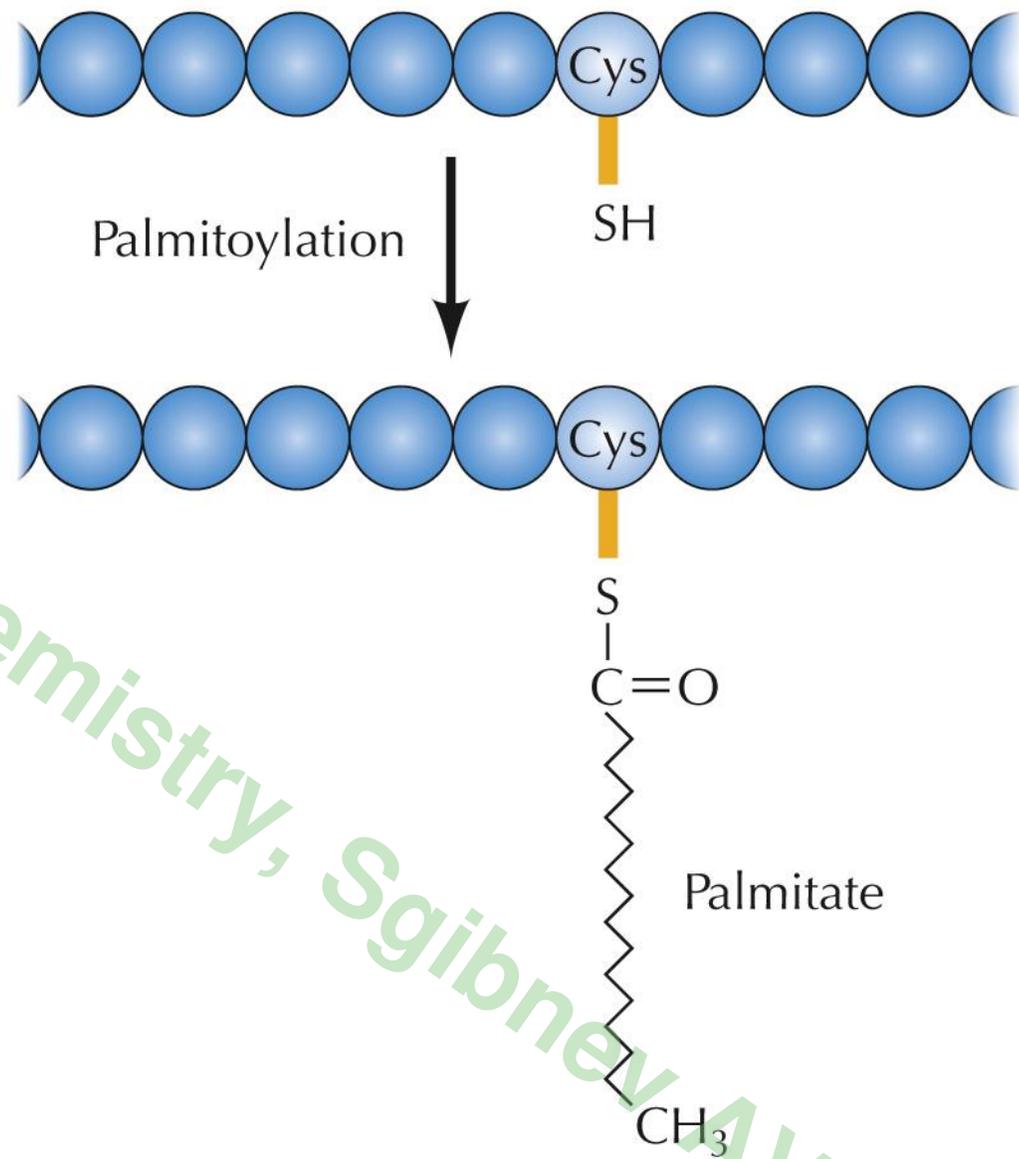


THE CELL: A MOLECULAR APPROACH 7e, Figure 9.35
© 2016 Sinauer Associates, Inc.



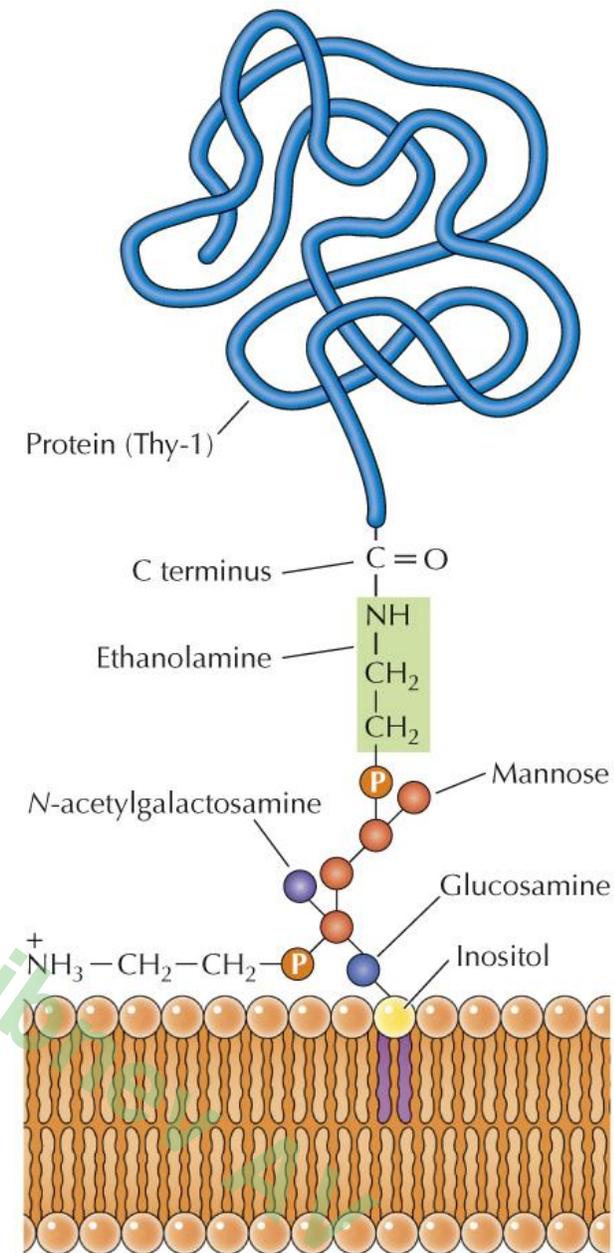
- **2. Пренилирование:** пренильные группы присоединены к сере в боковых цепях цистеина около С-конца.
- Многие из этих белков участвуют в контроле роста и дифференцировки клеток, в том числе онкогенные белки Ras, ответственные за многие виды рака у человека.

- **3. Пальмитоилирование:** пальмитиновая кислота добавляется к сере в боковых цепях внутренних остатков цистеина.
- Это также важно для ассоциации некоторых белков с цитозольной стороной плазматической мембраны.



THE CELL: A MOLECULAR APPROACH 7e, Figure 9.37
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

- 4. Гликолипиды (липиды, связанные с олигосахаридами) добавляются к С-концевым карбоксильным группам. Они прикрепляют белки к внешней плазматической мембране.
- Гликолипиды содержат фосфатидилинозитол: гликозилфосфатидилинозитол (GPI) якорь.



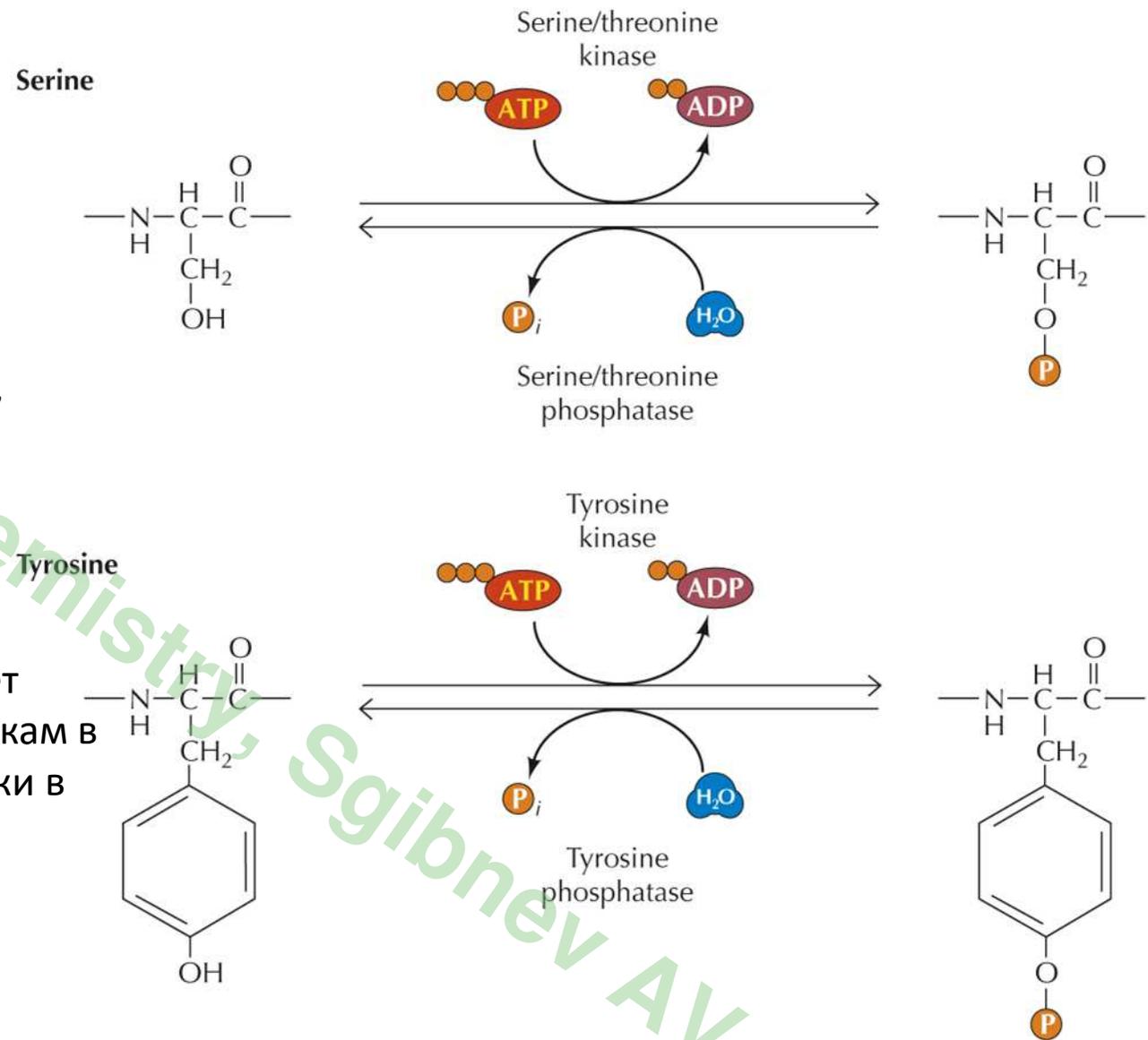
THE CELL: A MOLECULAR APPROACH 7e, Figure 9.38
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

- Фосфорилирование и другие модификации Фосфорилирование обратимо; он может активировать или ингибировать белки в ответ на сигналы окружающей среды. Протеинкиназы переносят фосфатные группы от АТФ к гидроксильным группам боковых цепей серина, треонина или тирозина.

Фосфорилирование отменяется протеинфосфатазами, которые катализируют гидролиз фосфорилированных аминокислот.

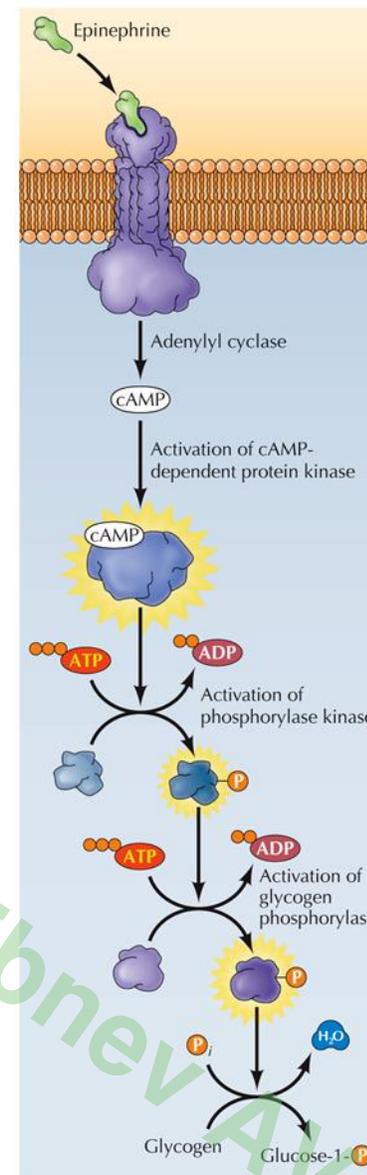
Протеинкиназы часто являются компонентами путей передачи сигналов.

Последовательное действие ряда протеинкиназ может передавать сигнал с поверхности клетки целевым белкам в клетке, что приводит к изменениям в поведении клетки в ответ на стимулы окружающей среды.



THE CELL: A MOLECULAR APPROACH 7e, Figure 9.41
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

- Пример: в мышечных клетках адреналин → распад гликогена до глюкозо-1-фосфата, обеспечивает энергию для повышения мышечной активности.
- Это катализируется гликогенфосфорилазой, которая регулируется протеинкиназой.



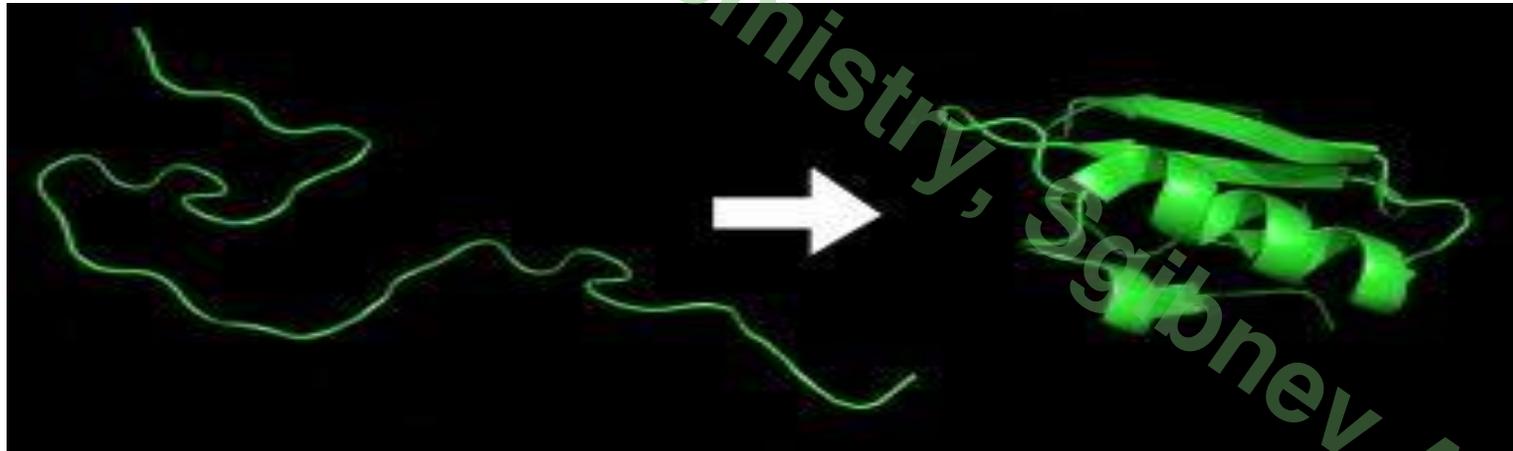
THE CELL: A MOLECULAR APPROACH 7e, Figure 9.42
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

Фолдинг

формирование пространственной структуры белка.

Факторы, обеспечивающие формирование нативной структуры белка:

- Аминокислотная последовательность.
- Ферменты фолдинга – ускоряют процесс.
- Шапероны.



Семь процессов, влияющих на содержание белка в клетке

У каждого процесса есть несколько потенциальных точек регулирования

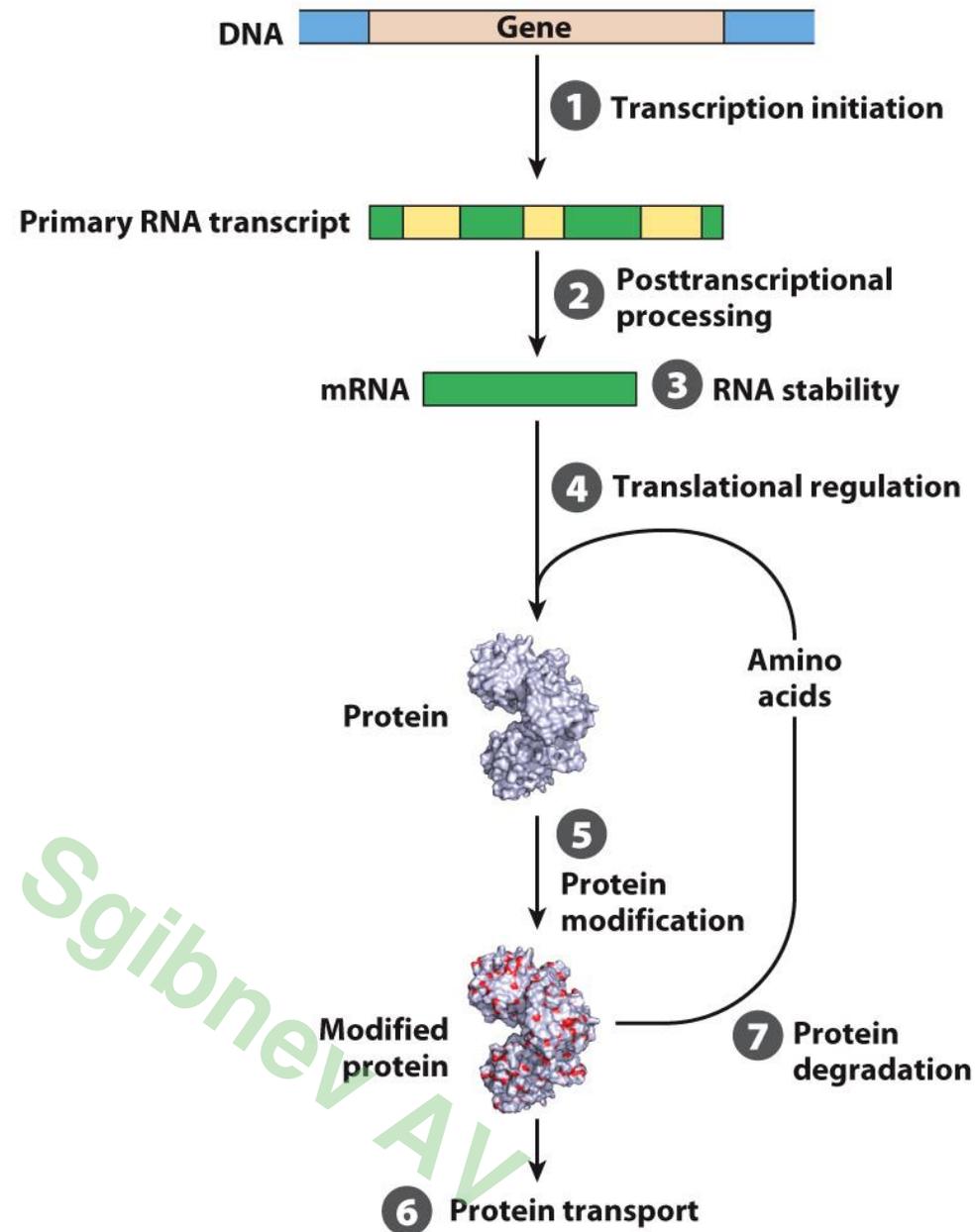


Figure 28-1

Lehninger Principles of Biochemistry, Seventh Edition
© 2017 W. H. Freeman and Company

Особенности гормонально-опосредованной регуляции матричных синтезов

- Комплекс гормон-рецептор связывается с участками ДНК, называемыми элементом, реагирующий на воздействие гормона (**hormone response elements (HREs)**) (короткая последовательность ДНК внутри промотора гена, способная связывать конкретный гормональный рецептор в комплекс и, следовательно, регулировать транскрипцию).
- Рецепторы гормонов имеют ДНК-связывающий домен с цинковыми пальцами.
- Рецепторы гормонов также имеют лиганд-связывающую область на С-конце, которая сильно различается у различных рецепторов.

Особенности гормонально-опосредованной регуляции матричных синтезов

- стероидные и тиреоидные гормоны регулируют скорость транскрипции специфических генов
- в отсутствие гормона внутриклеточные рецепторы связаны с другими белками, что препятствует связыванию рецептора с молекулой ДНК
 - например, рецепторы глюкокортикоидов образуют в цитозоле комплекс с шапероном
- взаимодействие гормона с центром связывания на С-концевом участке полипептидной цепи рецептора вызывает конформационные изменения и освобождение рецептора от шаперона
- образование гомодимера рецептора
- узнавание димером рецептора специфической последовательности нуклеотидов, которая расположена в промоторной области гена.

Особенности гормонально-опосредованной регуляции матричных синтезов

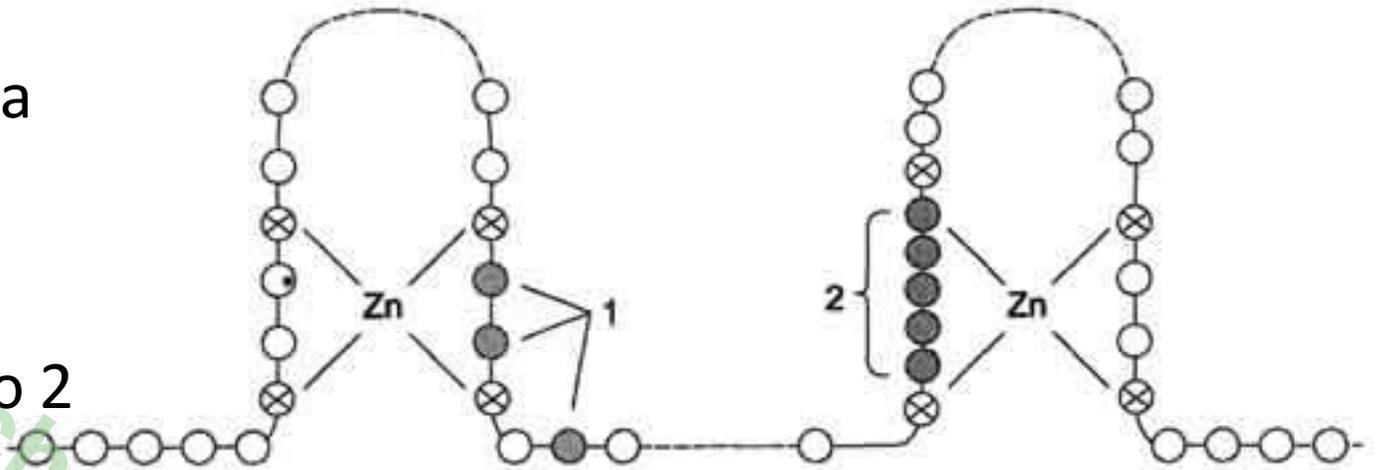
Регуляция активности рецептора стероидных гормонов

1 - в отсутствие гормона рецептор через гормонсвязывающий домен образует комплекс с шапероном, что препятствует связыванию рецептора с молекулой ДНК;
2 - в присутствии гормона рецептор освобождается от шаперона, образуется димер рецептора, который присоединяется к молекуле ДНК и вызывает активацию транскрипции.



Особенности гормонально-опосредованной регуляции матричных синтезов: связывание с ДНК

- HRE (от англ, *hormone response element*, элемент, реагирующий на воздействие гормона)
- центральный домен рецептора содержит аминокислотную последовательность, образующую 2 "цинковых пальца"
 - в каждом "цинковом пальце" атом цинка связан с 4 остатками цистеина
 - один «палец» отвечает за связывание с ДНК, второй участвует в димеризации рецепторов.
- взаимодействие комплекса гормон-рецептор с определённой последовательностью нуклеотидов в промоторной части ДНК приводит к активации транскрипции.



Структура центрального домена стероидного гормона.

1 - аминокислотные остатки, участвующие в связывании ДНК; 2 - область димеризации. Центральный ДНК-связывающий домен содержит 2 "цинковых пальца". Атомы цинка связаны с аминокислотной последовательностью через остатки цистеина. Функциональные области 1 и 2 отвечают соответственно за связывание ДНК и димеризацию рецептора.

Последовательность событий, приводящих к активации транскрипции

- гормон проходит через двойной липидный слой клеточной мембраны.
- взаимодействие гормона с рецептором (R) приводит к изменению конформации рецептора и снижению сродства к белкам-шаперонам, отделяющимся от комплекса гормон-рецептор.
- комплекс гормон-рецептор проходит в ядро, взаимодействует с регуляторной нуклеотидной последовательностью в ДНК - энхансером или сайленсером.
- увеличивается (при взаимодействии с энхансером) или уменьшается (при взаимодействии с сайленсером) доступность промотора для РНК-полимеразы.
- соответственно увеличивается или уменьшается скорость транскрипции структурных генов.
- увеличивается или уменьшается скорость трансляции.
- изменяется количество белков, которые могут влиять на метаболизм и функциональное состояние клетки.
 - Эффекты гормонов, которые передают сигнал через внутриклеточные рецепторы, нельзя наблюдать сразу, так как на протекание матричных процессов (транскрипцию и трансляцию) требуются часы.

Два типа рецепторов, связывающих гидрофобные лиганды

- Мономерные рецепторы типа I (**NR**) обнаруживаются в цитоплазме в комплексе с белком теплового шока (**Hsp70**). Рецепторы **эстрогена, прогестерона, андрогенов и глюкокортикоидов** относятся к этому типу.
- Когда гормон связывается, Hsp70 диссоциирует, и **рецептор димеризуется**, обнажая сигнал ядерной локализации.
- Димерный рецептор со связанным гормоном **мигрирует в ядро**, где он связывает элемент гормонального ответа (HRE) и действует как активатор транскрипции.
- Активность рецептора может быть подавлена путем связывания с **днРНК**, которая напрямую конкурирует со связыванием с HRE.

Сигнал ядерной локализации (англ. nuclear localization signal, NLS)— это место узнавания белка транспортными факторами — кариоферинами (транспортными), которые осуществляют его перенос в ядро.

ОрГМУ, кафедра химии, Сгибнев А.В.

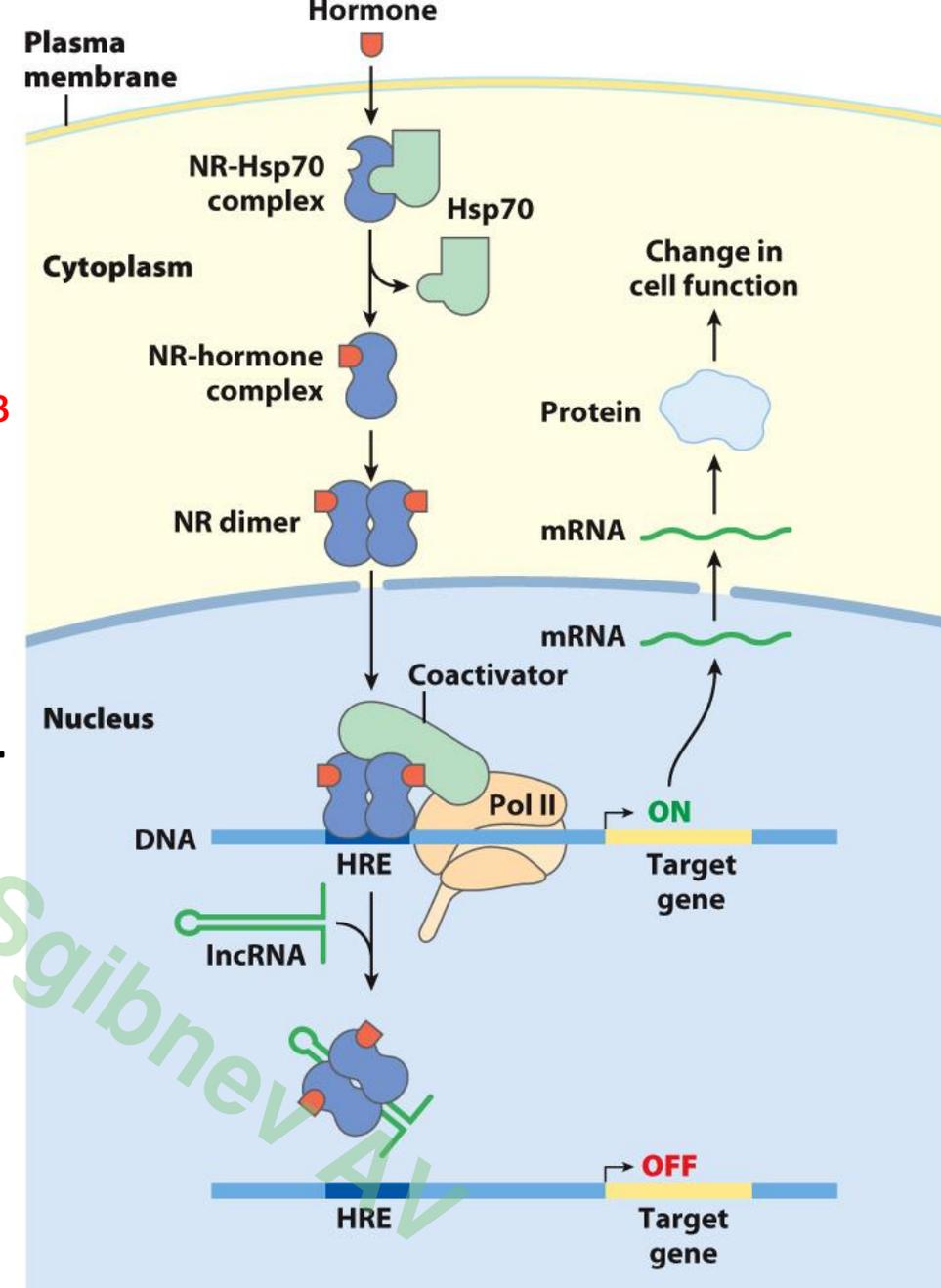


Figure 28-33a

Lehninger Principles of Biochemistry, Seventh Edition
© 2017 W. H. Freeman and Company

Два типа рецепторов, связывающих гидрофобные лиганды

- Рецепторы типа II всегда находятся в ядре, связаны с HRE в ДНК и с корепрессором, который делает их неактивными.
- Рецептор гормона щитовидной железы (TR) относится к этому типу.
- Гормон мигрирует через цитоплазму и диффундирует через ядерную мембрану.
- В ядре он связывается с гетеродимером, состоящим из рецептора тироидного гормона и рецептора ретиноида X (RXR).
- Изменение конформации приводит к диссоциации корепрессора, и рецептор затем действует как активатор транскрипции.

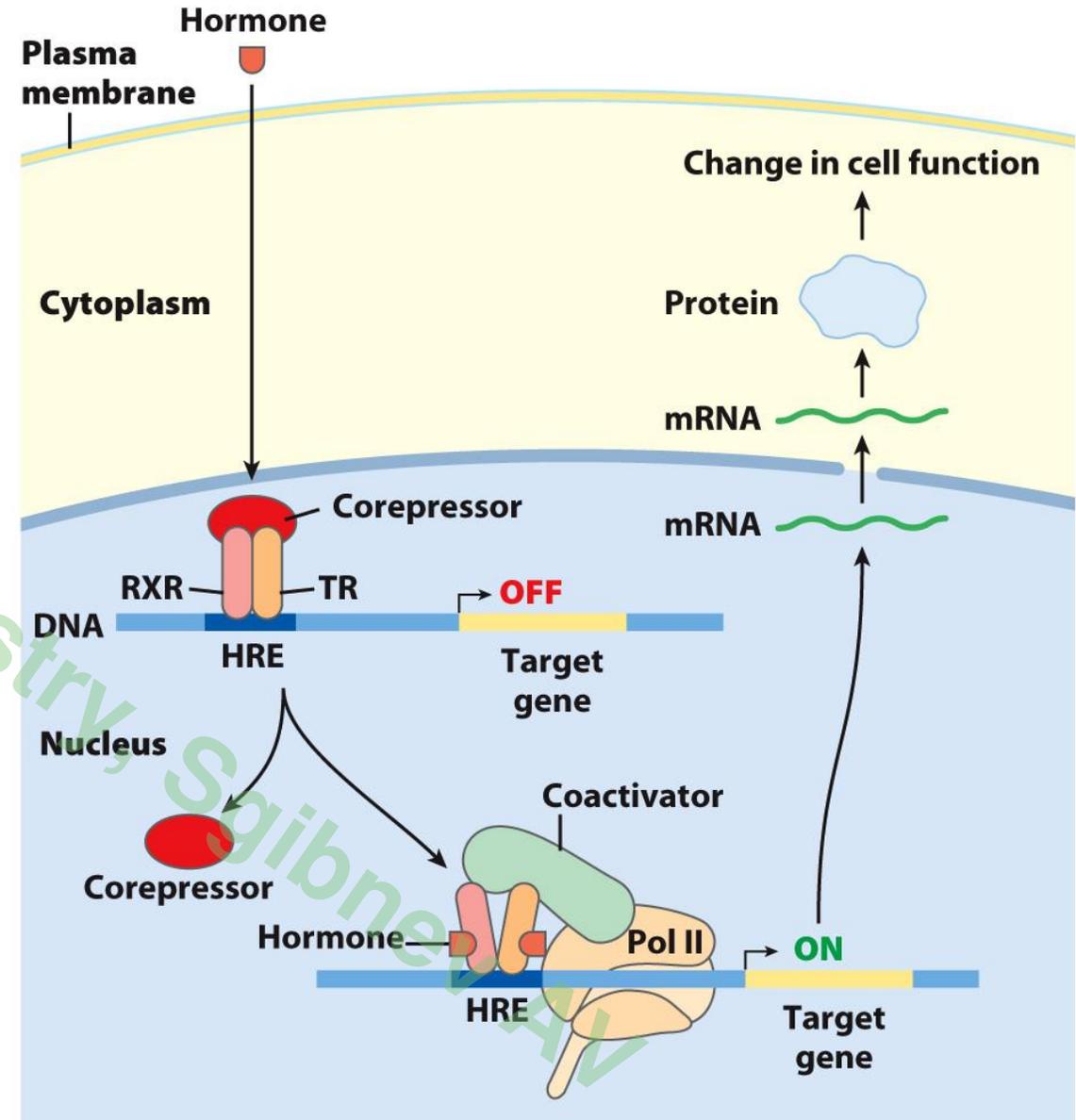


Figure 28-33b

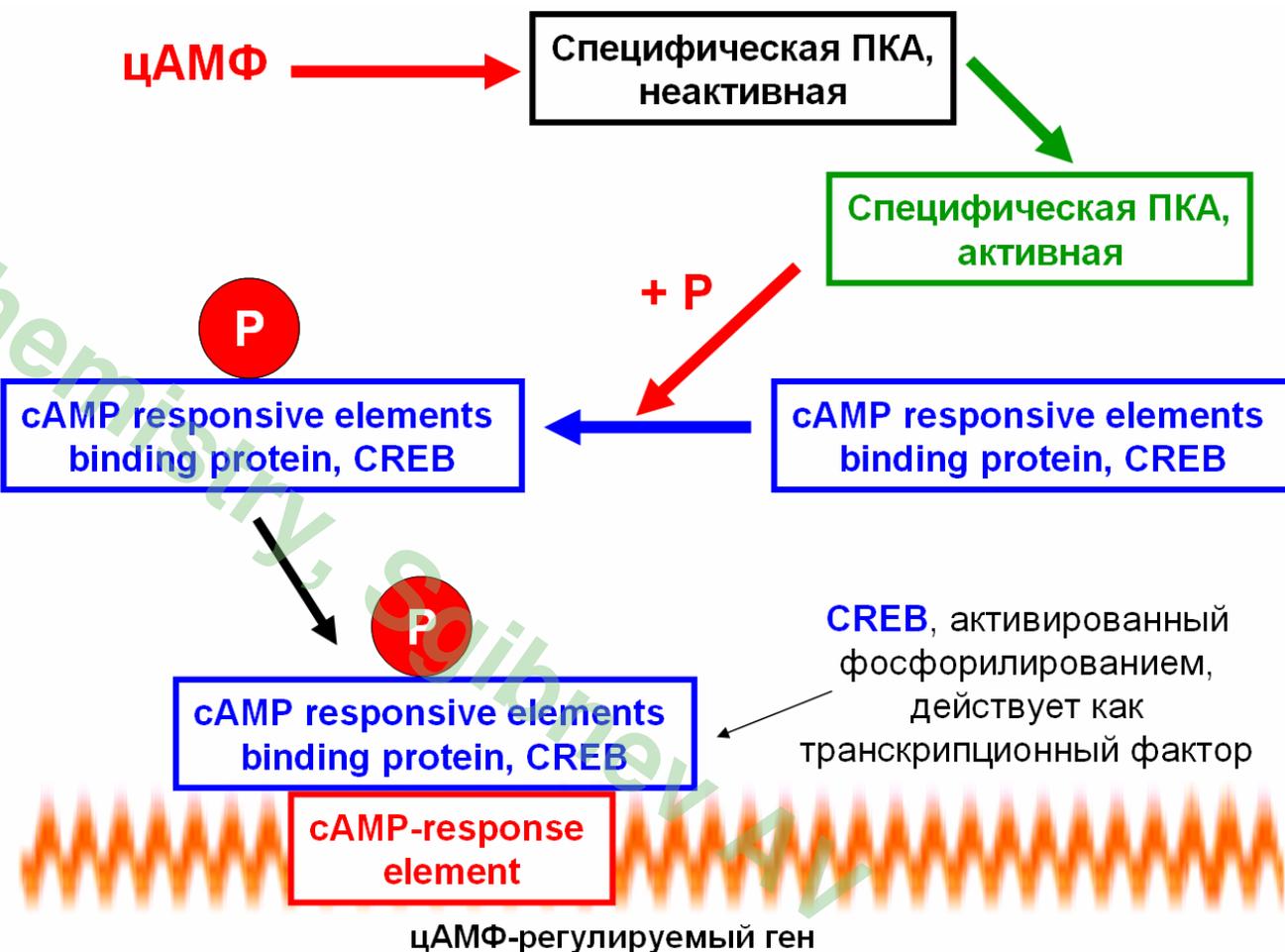
Экспрессия эукариотических генов также регулируется и гидрофильными лигандами

- Вторичные мессенджеры приводят к активации факторов транскрипции
- пример: β -адренэргический сигнальный путь
 - \uparrow цАМФ активирует протеинкиназу А (ПКА).
 - ПКА проникает в ядро и фосфорилирует белок, связывающий цАМФ-чувствительные элементы (cAMP response element-binding protein (CREB)).
 - CREB является активатором транскрипции генов.

Участие цАМФ в регулировании транскрипции

цАМФ способна имитировать действие стероидных и тиреоидных гормонов.

цАМФ-регулируемые гены, содержат **цАМФ-чувствительные элементы (cAMP response elements)**. **CREB** активируют **элементы**, которые действуют как энхансеры транскрипции. Гены, транскрибируемые при участии **CREB**, различаются в зависимости от типа клеток.



Четыре механизма регуляции трансляции

1. Фосфорилирование факторов инициации трансляции
2. Трансляционные репрессоры (обычно связываются с 3' UTR (3'-Нетранслируемая область — некодирующий участок мРНК, располагающийся на её 3'-конце после кодирующей области))
3. Нарушение взаимодействий эукариотических факторов инициации трансляции eIF4E и eIF4G (распознают и связывают кэп мРНК, содержащую 7-метилгуанозин, на ранней стадии инициации синтеза белка и облегчает связывание с рибосомой, индуцируя раскручивание вторичных структур мРНК)
4. РНК-опосредованная регуляция (подавление гена)

Микро-РНК предотвращают трансляцию

- Микро-РНК (миРНК) заставляют гены молчать путем связывания с мРНК
 - может предотвратить трансляцию мРНК, расщепляя ее (с помощью эндонуклеаз Drosha или Dicer, это ядерные дцРНК-рибонуклеазы, участвующие в процессинге предшественников рибосомной РНК) или блокируя ее
- Некоторые миРНК быстро образуются во время развития клетки; их называют малыми временными РНК (small temporal RNAs (stRNAs)).

Можно отключать гены с помощью интерференции РНК

- Любая дцРНК, которая соответствует мРНК и вводится в клетку, будет расщеплена эндонуклеазой Dicer на короткие сегменты, называемые малыми интерферирующими РНК (small interfering RNAs (siRNAs)).
- Они будут связываться с мРНК, чтобы заглушить ее трансляцию.
- Этот процесс называется РНК-интерференцией.
- В широком понимании РНК-интерференция - процесс подавления экспрессии гена на стадии транскрипции, трансляции, деаденилирования или деградации мРНК при помощи малых молекул РНК

Подавление экспрессии гена за счет интерференции РНК

(а) Малые временные РНК (stRNA) генерируются посредством Dicer-опосредованного расщепления более длинных предшественников, которые сворачиваются с образованием дуплексных областей. Затем stRNA связываются с мРНК, что приводит к деградации мРНК или ингибированию трансляции.

(б) Двухцепочечные РНК могут быть сконструированы и введены в клетку. Dicer преобразует дуплексные РНК в малые интерферирующие РНК (миРНК), которые взаимодействуют с целевой мРНК. Опять же, либо мРНК деградирует, либо трансляция ингибируется.

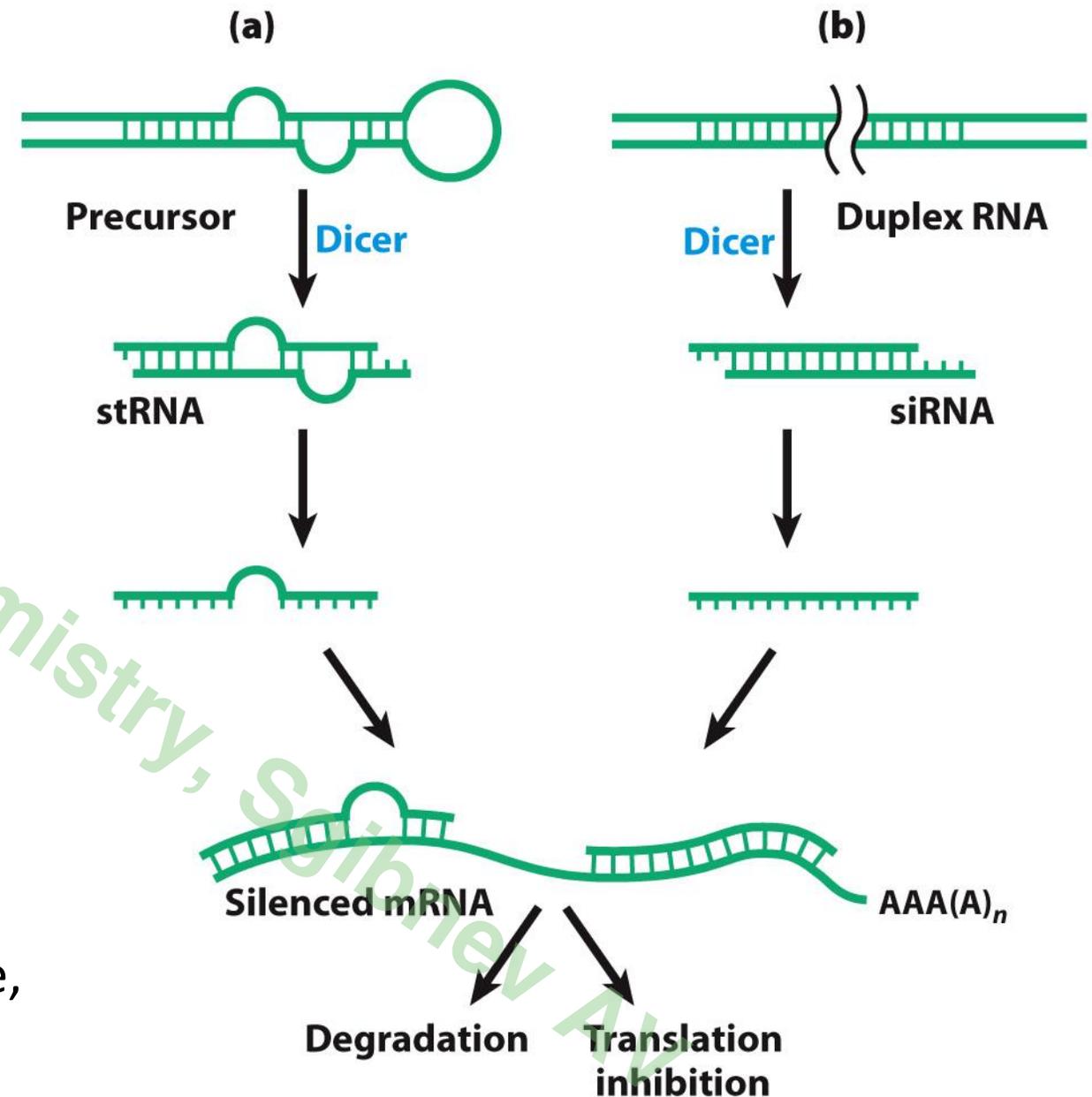
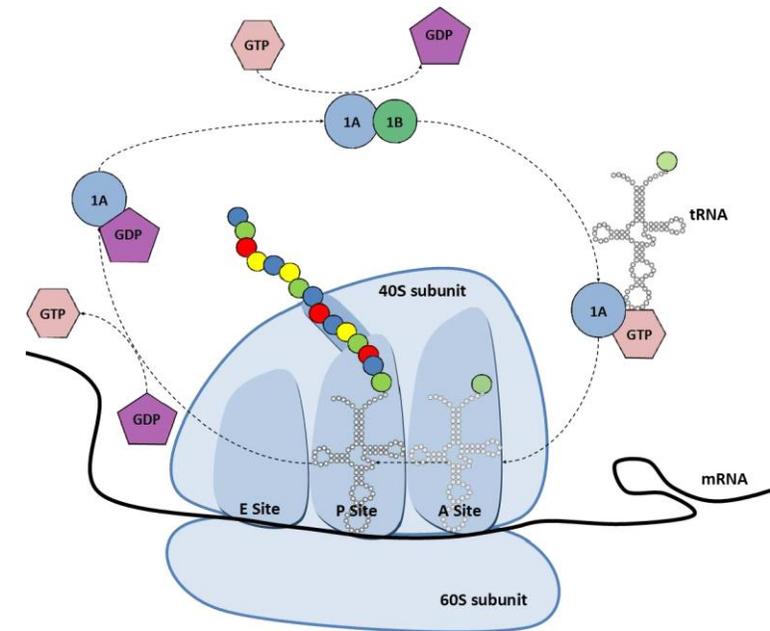


Figure 28-36

нкРНК также регулируют экспрессию генов

- Известны длинные некодирующие РНК (long non-coding RNAs, lncRNAs), их длина превышает 200 н.
 - пример: HSR1 – lncRNA (~600н) взаимодействует с eEF1a (эукариотический фактор элонгации 1-альфа 1 (eEF1a1), фактор элонгации-1, отвечает за ферментативную доставку аминоксил-тРНК к рибосоме), чтобы регулировать трансляцию в клетках, подвергнутых стрессу
 - пример: 7SK – связывает РНК Pol II с фактором транскрипции рTEFb для подавления элонгации
- знания о нкРНК быстро расширяются по мере продолжения дальнейших исследований в этой области



OrSMU, dept. chemistry, Sgibnev AV

Спасибо за внимание!