

Механизмы регуляции транскрипции

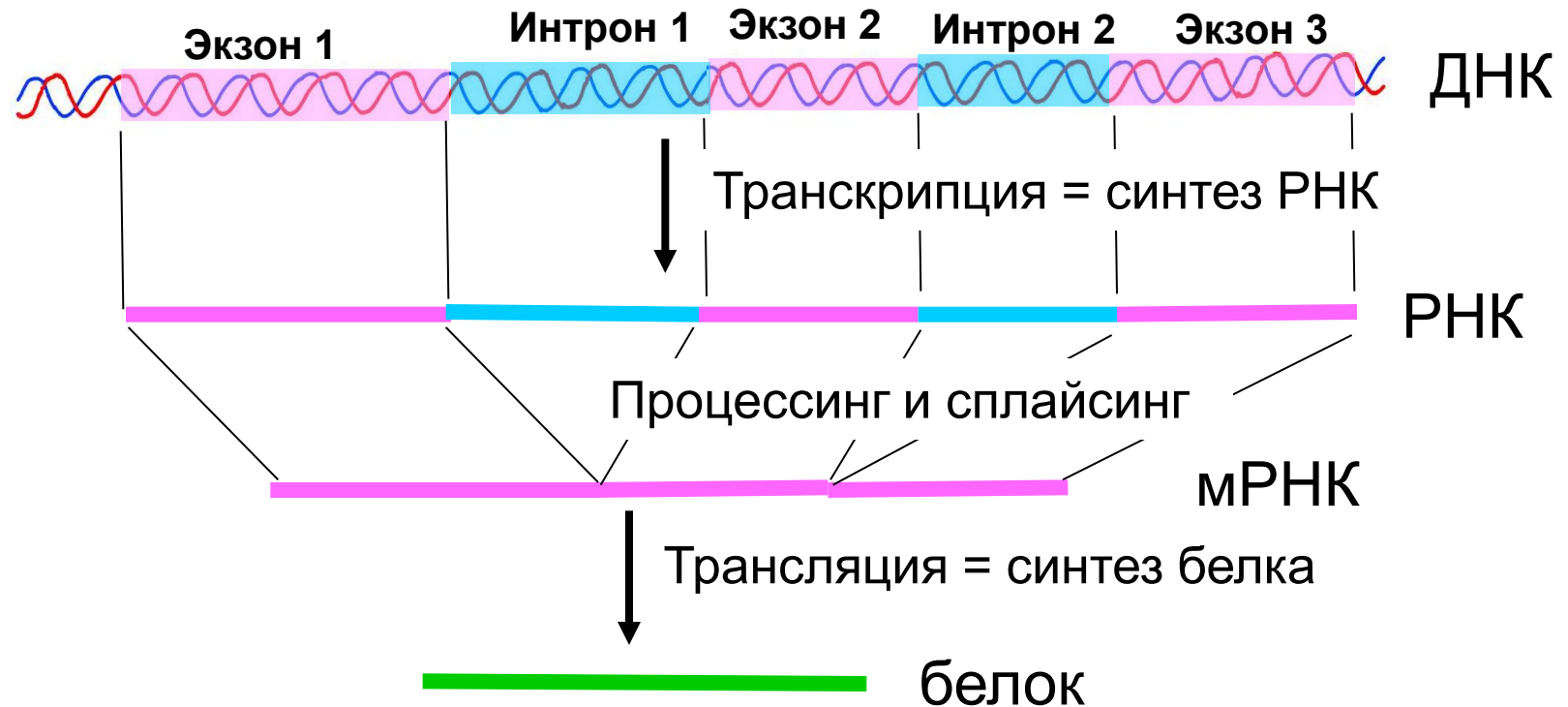
(Лекция 1)

Игнатьева Е.В.

к.б.н., с.н.с. лаб. эволюционной биоинформатики и теоретической генетики,

"Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»"





Экспрессия генов - последовательность реакций на пути от гена к белку = процесс передачи генетической информации от ДНК через РНК к полипептидам и белкам.

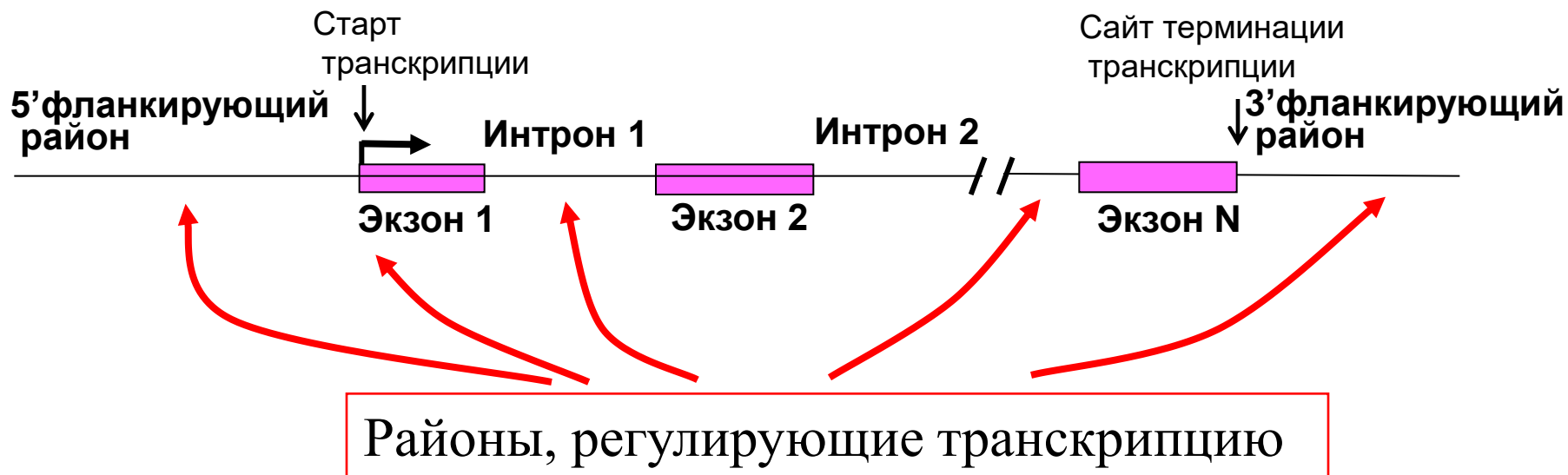
Транскрипция - синтез РНК. Образуется незрелая РНК, содержащая участки, соответствующие экзонам и интронам

Процессинг - вырезание участков, соответствующих интронам,

Сплайсинг - сшивание участков РНК, транскрибируемых с экзонов, в результате чего образуется матричная РНК

Трансляция - синтез белка в цитоплазме клетки при участии рибосом

Ген - протяженный участок ДНК, несущий целостную информацию о строении одной молекулы белка или одной молекулы РНК. Ген включает участки, соответствующие экзонам и интронам, старт транскрипции, сайт терминации транскрипции.



Понятие гена не ограничено только кодирующим участком ДНК, а представляет собой более широкую концепцию, включающую в себя и последовательности, регулирующие транскрипцию. Регуляторные последовательности могут находиться как в 5'- и 3'-фланкирующих районах гена, так и в интронах.

Регуляторные последовательности могут находиться как в непосредственной близости от старта транскрипции, так и на расстоянии многих миллионов пар оснований (нуклеотидов) от начала транскрипта.

Регуляция экспрессии генов может осуществляться на всех этапах.

Транскрипция - первый этап, на котором осуществляется выбор, будет ген экспрессироваться или нет.

Рассмотрим три вопроса

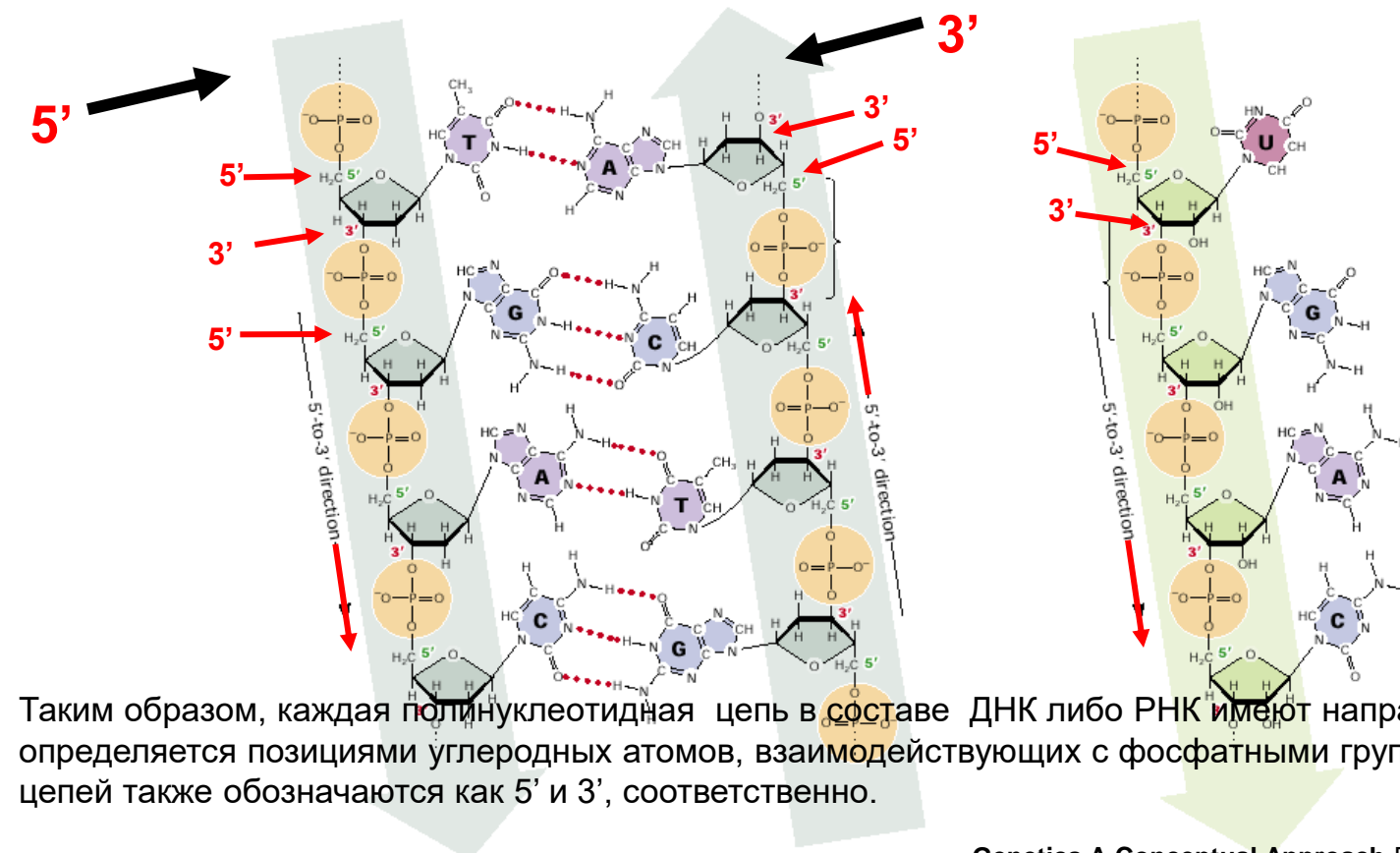
- как осуществляется транскрипция
- чем определяется старт транскрипции
- какие механизмы в клетке регулируют интенсивность транскрипции

Молекулы РНК и ДНК – линейные гетерополимеры, построенные из нуклеотидов



ДНК – состоит из двух комплиментарных и антипараллельных друг другу полинуклеотидных нитей

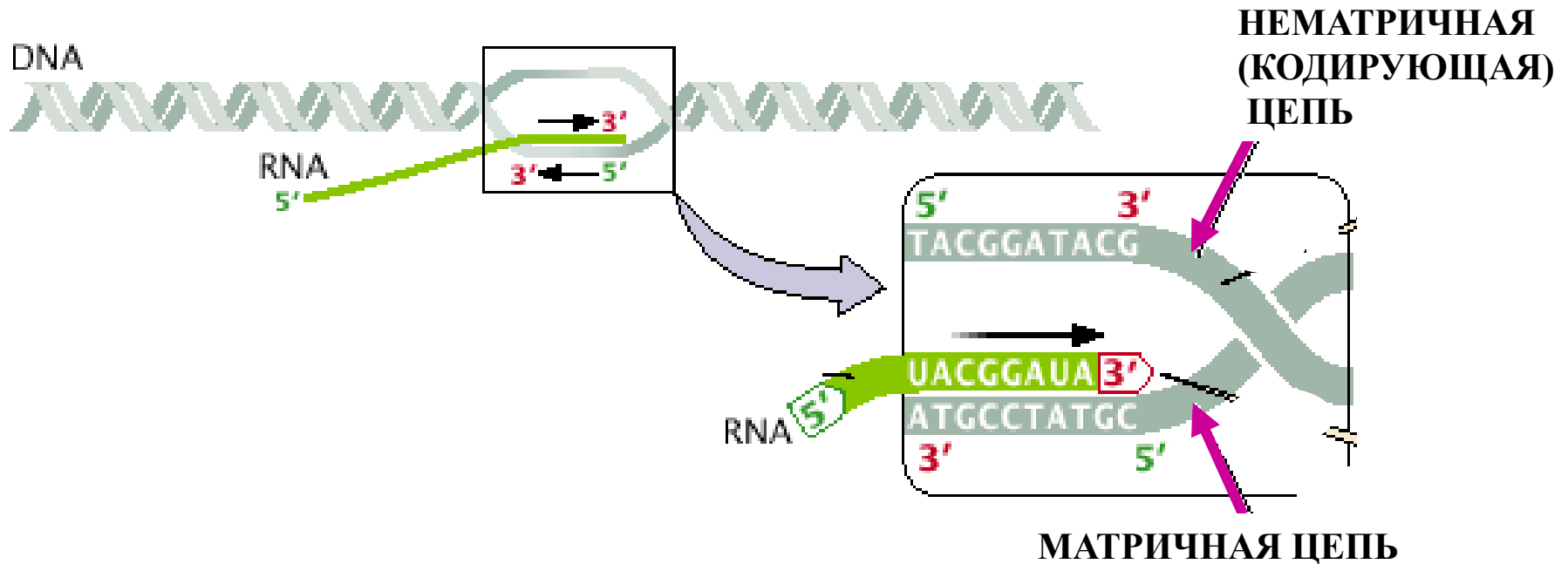
РНК – включает одну полинуклеотидную цепь



В каждой цепи РНК либо ДНК нуклеотиды соединены фосфодиэфирными связями, образованными с участием 3'-углеродного атома углевода одного нуклеотида и фосфатной группы, связанной с 5'-углеродным атомом углевода следующего нуклеотида.

Таким образом, каждая полинуклеотидная цепь в составе ДНК либо РНК имеют направление, которое определяется позициями углеродных атомов, взаимодействующих с фосфатными группами (5' или 3'), и концы цепей также обозначаются как 5' и 3', соответственно.

ТРАНСКРИПЦИЯ – СИНТЕЗ МОЛЕКУЛЫ РНК, КОМПЛИМЕНТАРНОЙ И АНТИПАРАЛЛЕЛЬНОЙ ОДНОЙ ИЗ ЦЕПЕЙ ДНК (МАТРИЧНОЙ ЦЕПИ)

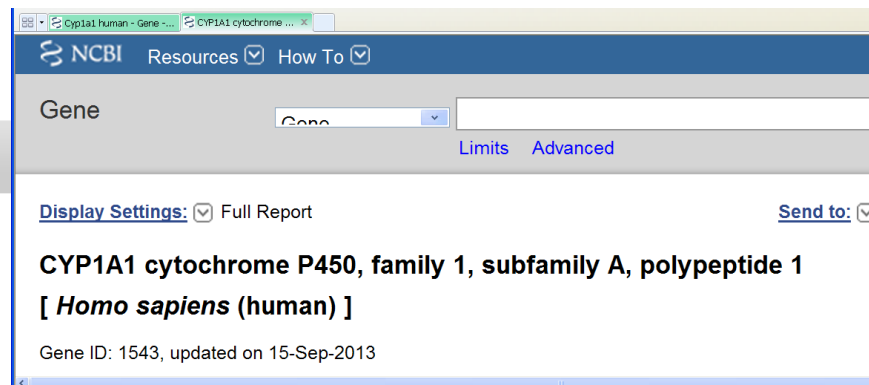


В процессе транскрипции вместо тиминового нуклеотида, включающего основание Т (тимин), в РНК включается урациловый нуклеотид, содержащий основание U (урацил).

Цепь ДНК, на основе которой строится комплиментарная цепь РНК, называется матричной цепью.

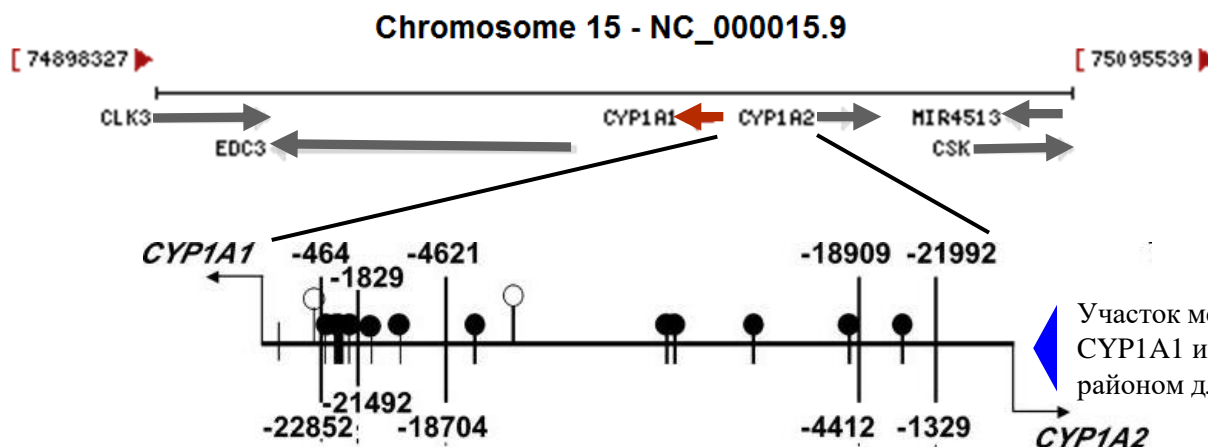
Другая цепь ДНК называется кодирующей цепью, поскольку ее последовательность идентична последовательности РНК (с учетом замены тиминового нуклеотида на урациловый).

РАСПОЛОЖЕНИЕ ГЕНОВ НА ХРОМОСОМЕ: ВИЗУАЛИЗАЦИЯ В БАЗЕ EntrezGene (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>) (15-ая хромосома человека)



Genomic context

Location: 15q24.1
Sequence: Chromosome: 15; NC_000015.9
(75011883..75017951, complement)



Протяженность линий со стрелками соответствует длинам генов. Стрелками обозначено направление, в котором осуществляется транскрипция генов.

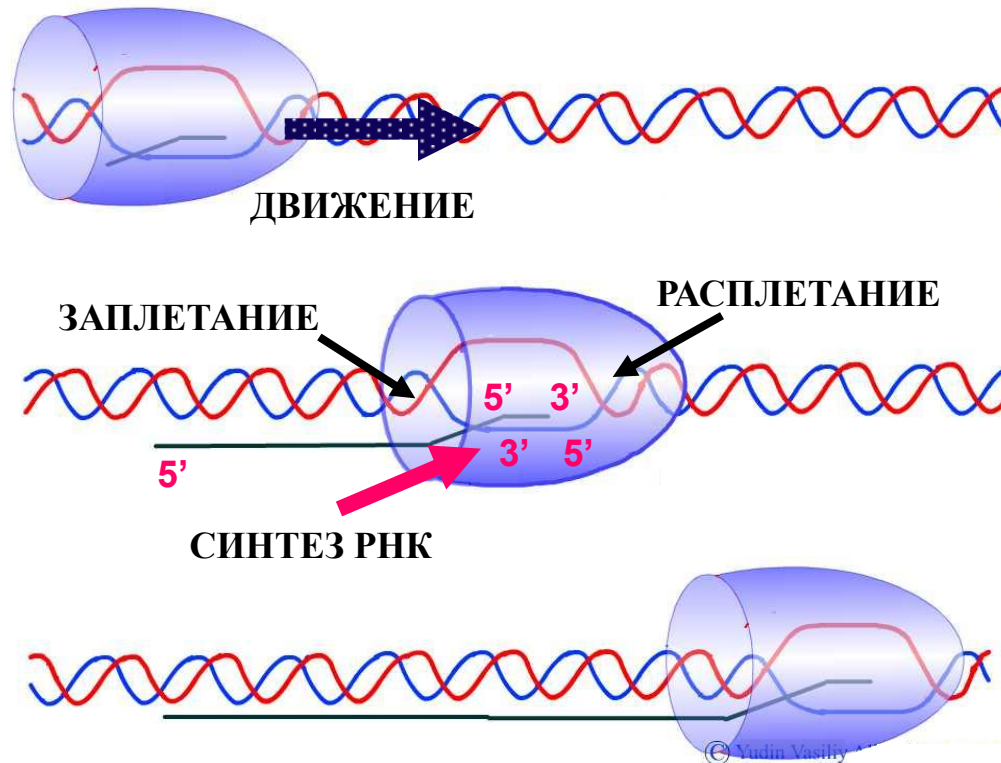
Участок между стартами транскрипции генов CYP1A1 и CYP1A2 является регуляторным районом для обоих генов

Цепи ДНК, входящие в состав хромосомы, обозначаются как прямая («+» цепь) и обратная («-» цепь). Для «+» цепи ДНК отсчет позиций нуклеотидов на хромосоме слева направо соответствует направлению цепи ДНК от 5' к 3' концу. Для «-» цепи ДНК отсчет позиций нуклеотидов на хромосоме слева направо соответствует направлению цепи ДНК от 3' к 5' концу.

Если транскрипция гена осуществляется слева направо, то прямая цепь ДНК будет для данного гена кодирующей (нематричной).

Если транскрипция гена осуществляется справа налево, то прямая цепь ДНК будет для данного гена матричной, а обратная цепь ДНК будет кодирующей

РНК-ПОЛИМЕРАЗА



ТРАНСКРИПЦИЯ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ ПРИ УЧАСТИИ ФЕРМЕНТА – РНК ПОЛИМЕРАЗЫ.

РНК-ПОЛИМЕРАЗА В ХОДЕ ТРАНСКРИПЦИИ ВЫПОЛНЯЕТ СЛЕДУЮЩИЕ ФУНКЦИИ :

- ДВИЖЕНИЕ ВДОЛЬ ЦЕПИ ДНК**
- РАСПЛЕТАНИЕ И ЗАПЛЕТАНИЕ ДНК**
- СИНТЕЗ РНК** (Скорость синтеза в бактериальных клетках составляет 40 нуклеотидов в секунду при 37° C).



Varying Rate of RNA Chain Elongation during *rrn* Transcription in *Escherichia coli*

P. P. Dennis^{1,*}, M. Ehrenberg², D. Fange², and H. Bremer³

[+](#) Author Affiliations

ABSTRACT

The value of the rRNA chain elongation rate in bacteria is an important physiological parameter, as it affects not only the rRNA promoter activity but also the free-rRNA polymerase concentration and thereby the transcription of all genes. On average, rRNA chains elongate at a rate of 80 to 90 nucleotides (nt) per s, and the transcription of an entire *rrn* operon takes about 60 s (at 37°C). Here we have analyzed a reported distribution obtained from electron micrographs of RNA polymerase molecules along *rrn* operons in *E. coli* growing at 2.5 doublings per hour (S. Quan, N. Zhang, S. French, and C. L. Squires, J. Bacteriol. 187:1632–1638, 2005). The distribution exhibits two peaks of higher polymerase density centered within the 16S and 23S rRNA genes. An evaluation of this distribution indicates that RNA polymerase transcribes the 5' leader region at speeds up to or greater than 250 nt/s. Once past the leader, transcription slows down to about 65 nt/s within the 16S gene, speeds up in the spacer region between the 16S and 23S genes, slows again to about 65 nt/s in the 23S region, and finally speeds up to a rate greater than 400 nt/s near the end of the operon. We suggest that the slowing

Скорость транскрипции у *E. coli*
(стадия элонгации)

80-90 нуклеотидов / сек

250 нуклеотидов / сек

400 нуклеотидов / сек

МЕХАНИЗМ ТРАНСКРИПЦИИ ИМЕЕТ СВОИ ОСОБЕННОСТИ У РАЗНЫХ ОРГАНИЗМОВ. МЫ БУДЕМ РАССМАТРИВАТЬ ДВА НАДЦАРСТВА:

Прокариоты – организмы , клетки которых не имеют ограниченного мембраной ядра. Это все бактерии, включая архе- и цианобактерии. Аналог ядра – структура, состоящая из ДНК, белков и РНК (генофор) закреплён на мембране клеток.

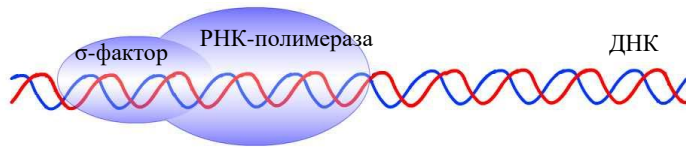
Представитель **E.Coli** – кишечная палочка.

Эукариоты - организмы, клетки которых содержат оформленные ядра.

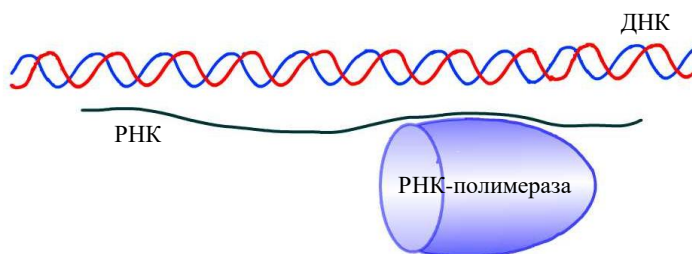
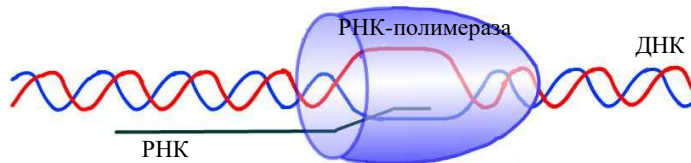
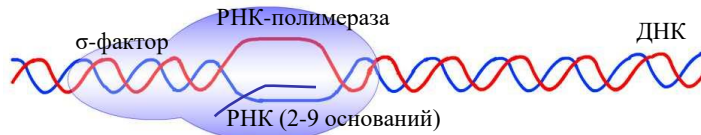
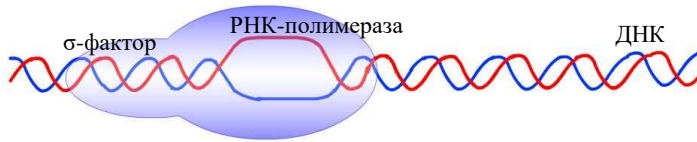
Примеры – высшие животные и растения, одноклеточные и многоклеточные водоросли, грибы.

ПРОКАРИОТЫ - ЭТАПЫ ТРАНСКРИПЦИИ:

1-ая стадия: закрытый комплекс



2-ая стадия: открытый комплекс



Связывание РНК-полимеразы с промотором

РНК-полимераза при участии вспомогательных белков (у *E.coli* σ-факторы) связывается с промотором и формирует закрытый комплекс, в котором ДНК сохраняет двуспиральную структуру. На этой стадии РНК-полимераза еще не способна начать синтез РНК. Далее закрытый комплекс превращается в открытый, в котором РНК-полимераза расплетает двойную спираль ДНК в районе точки инициации транскрипции.

Инициация

Синтез короткой цепи РНК (2-9 оснований), комплиментарной матричной цепи ДНК; Этот этап завершается диссоциацией комплекса РНК-полимеразы с белками, обеспечившими ее специфическое взаимодействие с промотором: σ-фактором (у прокариот) либо базальными транскрипционными факторами (у эукариот).

Элонгация

Движение РНК-полимеразы вдоль ДНК, в ходе которого осуществляется синтез РНК, а также расплетание и заплетание ДНК.

Терминация

Окончание транскрипции, комплекс «ДНК-РНК-полимераза» распадается, и транскрипция заканчивается. Происходит после распознавания терминатора

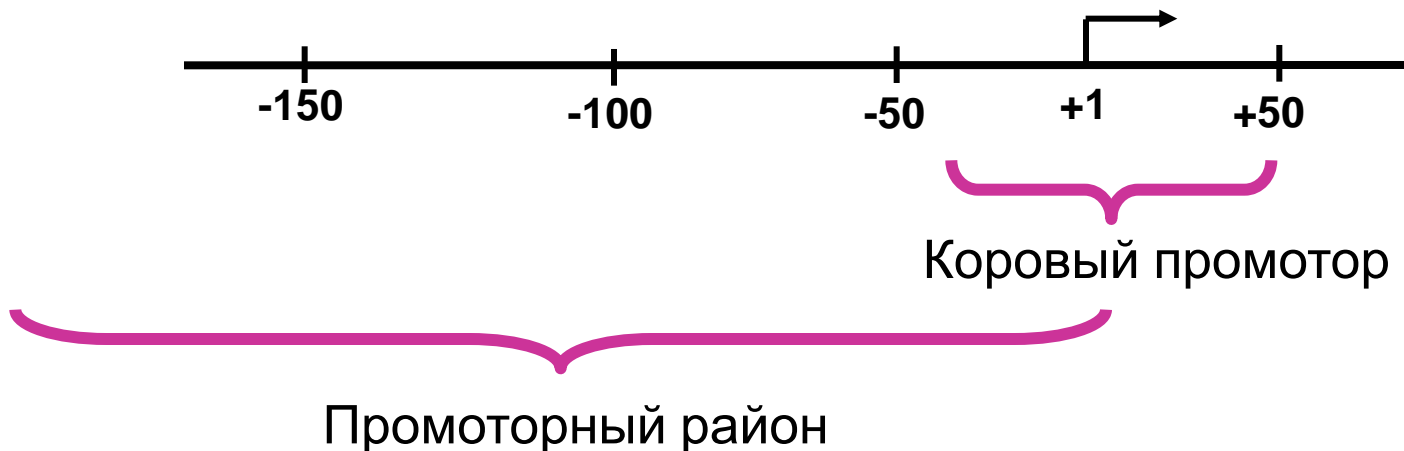
ГЕНОМ E.coli - $4 \cdot 10^6$ пар оснований

Каким образом РНК-полимераза находит нужное место, с которого должна начаться транскрипция конкретного гена ?????

ПРОМОТОР – участок, прилегающий к старту транскрипции. Содержит регуляторные элементы, которые опознаются с белками, обеспечивающими точную посадку РНК-полимераз в районе стартов транскрипции и инициацию транскрипции

Коровый промотор – участок приблизительно – 40 +50

Промоторный район – 5' фланкирующий район вплоть до старта транскрипции



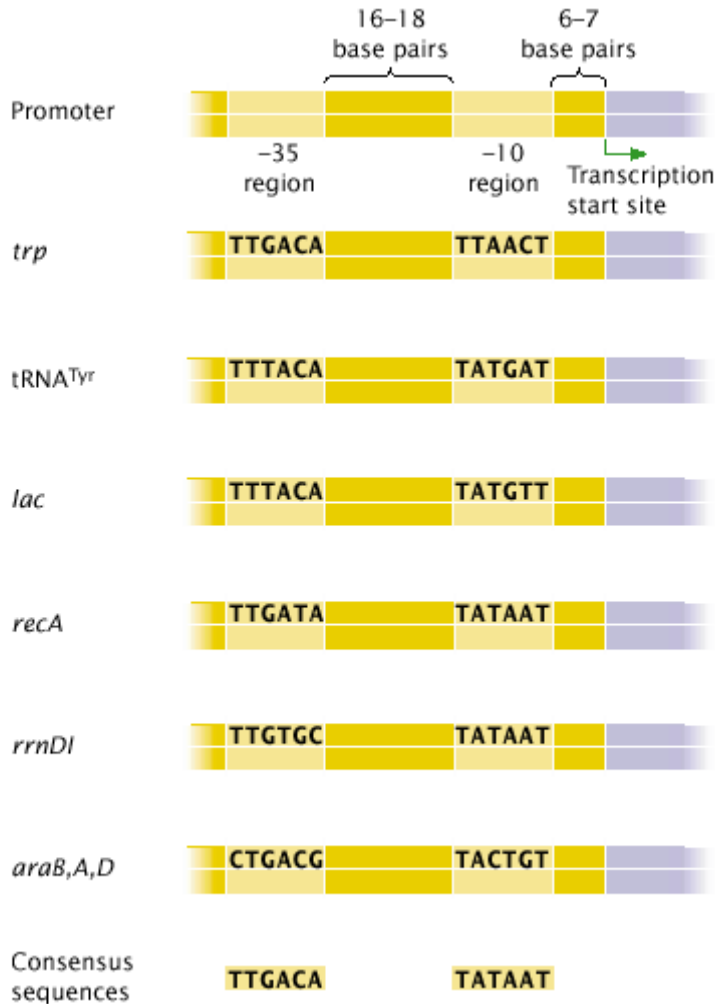
Анализ последовательностей более 100 промоторов у E.coli выявил сходное строение:

- 1) в районе старта транскрипции – пурины, часто «CAT»**
- 2) в позиции «-10» гексамер TATAAT (последовательность «-10»)**
- 3) в позиции «-35» гексамер TTGACA (последовательность «-35»)**
- 4) расстояние между последовательностями «-35» и «-10» ~16-18 нуклеотидов**

Изучение
функции
участка
с помощью
мутационного
анализа



Консенсусная последовательность

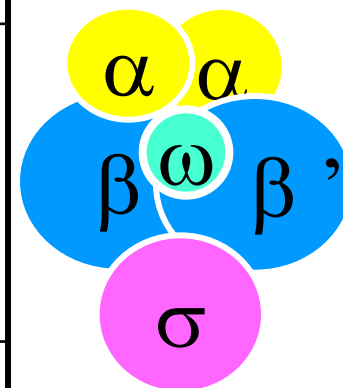


Консенсусная последовательность представляет собой результат множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей, включающих одинаковые по функциям мотивы. Консенсусная последовательность показывает, какие нуклеотиды наиболее представлены в каждой позиции выравнивания.

Например, реальная последовательность «-10» промоторов прокариот отличается от гексануклеотида «ТАТААТ», который является консенсусной последовательностью этого участка.

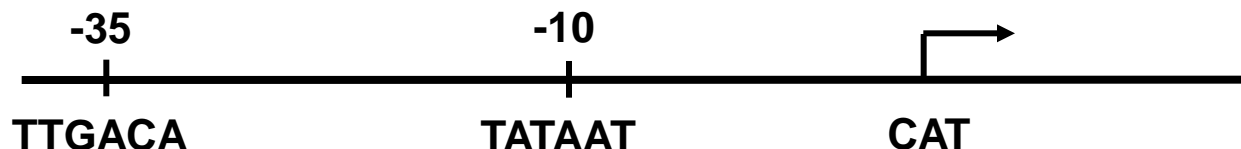
СУБЪЕДИНИЧНЫЙ СОСТАВ КОМПЛЕКСА СИГМА ФАКТОР – РНК ПОЛИМЕРАЗА (E.coli)

субъединица	Мол. Масса (кД)	Количество	Локализация	Функция
альфа	40.000	2	РНК полимераза	Сборка фермента
бета	155.000	1	РНК полимераза	Полимеразное действие: катализирует синтез РНК. Осуществляет инициацию и управляет элонгацией
бета'	160.000	1	РНК полимераза	Неспецифически связывается с ДНК
омега	10.1		РНК полимераза	Восстанавливает денатурированную РНК-полимеразу в дееспособную форму <i>in vitro</i> .
сигма	32-92.000	1	сигма фактор	Связывание с промотором



Е.coli имеет несколько сигма факторов , специфичных для различных ситуаций, которые распознают промоторы разных групп генов

Пример фактора	Функция генов	Мол. Масса сигма фактора	«-35» последовательность	спейсер	«-10» последовательность
$\sigma 70$	общая	70.000	TTGACA	16-18 п.о.	TATAAT
$\sigma 32$	тепловой шок	32.000	CCCTTGAA	13-15 п.о.	CCCGATNT
$\sigma 54$	отсутствие азота	54.000	CTGGNA	6 п.о.	TTGCA
$\sigma 28$	хемотаксис	28.000	CTAAA	15 п.о.	GCCGATAA



$\sigma 38$ (RpoS) - общий стресс и стационарная фаза

σ^{28} (RpoF) - жгутиковый аппарат и хемотаксис

σ^{24} (RpoE) - внецитоплазматические гены и экстремальный тепловой шок

σ^{19} (FecI) - транспорт цитрата железа (ген fec) и внецитоплазматические гены

ОСОБЕННОСТИ ТРАНСКРИПЦИИ У ЭУКАРИОТ:

-А) У эукариот транскрипция осуществляется при участии РНК-полимераз трех типов, которые обозначаются как pol I, pol II, и pol III. Можно выделить три группы генов:

- pol I транскрибируемые: гены рРНК (18S, 5.8S и 28S)
- pol II транскрибируемые: все белок-кодирующие гены + гены многих мяРНК (U1, U2, U4, U5, U11, U12 и др.)
- pol III транскрибируемые : гены тРНК + гены низкомолекулярных РНК (5S рРНК, 7SL РНК, U6 РНК, 7SK РНК и др.)

Б) Каждая РНК-полимераза имеет сложное, многосубъединичное строение, например, pol II включает более 10 субъединиц;

В) Для точной посадки РНК-полимераз на участок, прилежащий к старту транскрипции, нужны вспомогательные белки – базальные (или общие) транскрипционные факторы;

Г) Для достижения необходимого уровня транскрипции каждого гена, помимо базальных (общих) транскрипционных факторов, требуются другие белки (транскрипционные факторы, коактиваторы, корепрессоры, медиаторы и др.);

Д) Промоторы генов, транскрибируемых каждым типом полимераз, имеют характерное строение

Е) Транскрипция генов эукариот зависит от состояния хроматина и плотности нуклеосомной упаковки.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ РНК-ПОЛИМЕРАЗ ЭУКАРИОТ: гены, транскрибируемые РНК-полимеразами

РНК-полимераза I

- предшественник высокомолекулярной рибосомной РНК (пре-рРНК, у человека 45S rRNA), который затем расщепляется с образованием 18S, 5.8S и 28S рибосомных РНК (рРНК)

Организованы в форме повторов. У человека локализованы на 13, 14, 15, 21 и 22 хромосомах. Количество копий различно в зависимости от хромосомы и специфично для каждого индивида. В среднем по 30-40 повторов на каждой хромосоме. Не аннотированы на текущей версии генома человека.

Единичные гены

РНК-полимераза II

- все мРНК (у человека ~ 20500 генов, кодирующих белки),
- многие малые ядерные РНК (например, такие как U1, U2, U4, U5, U11, U12)
- большинство миРНК

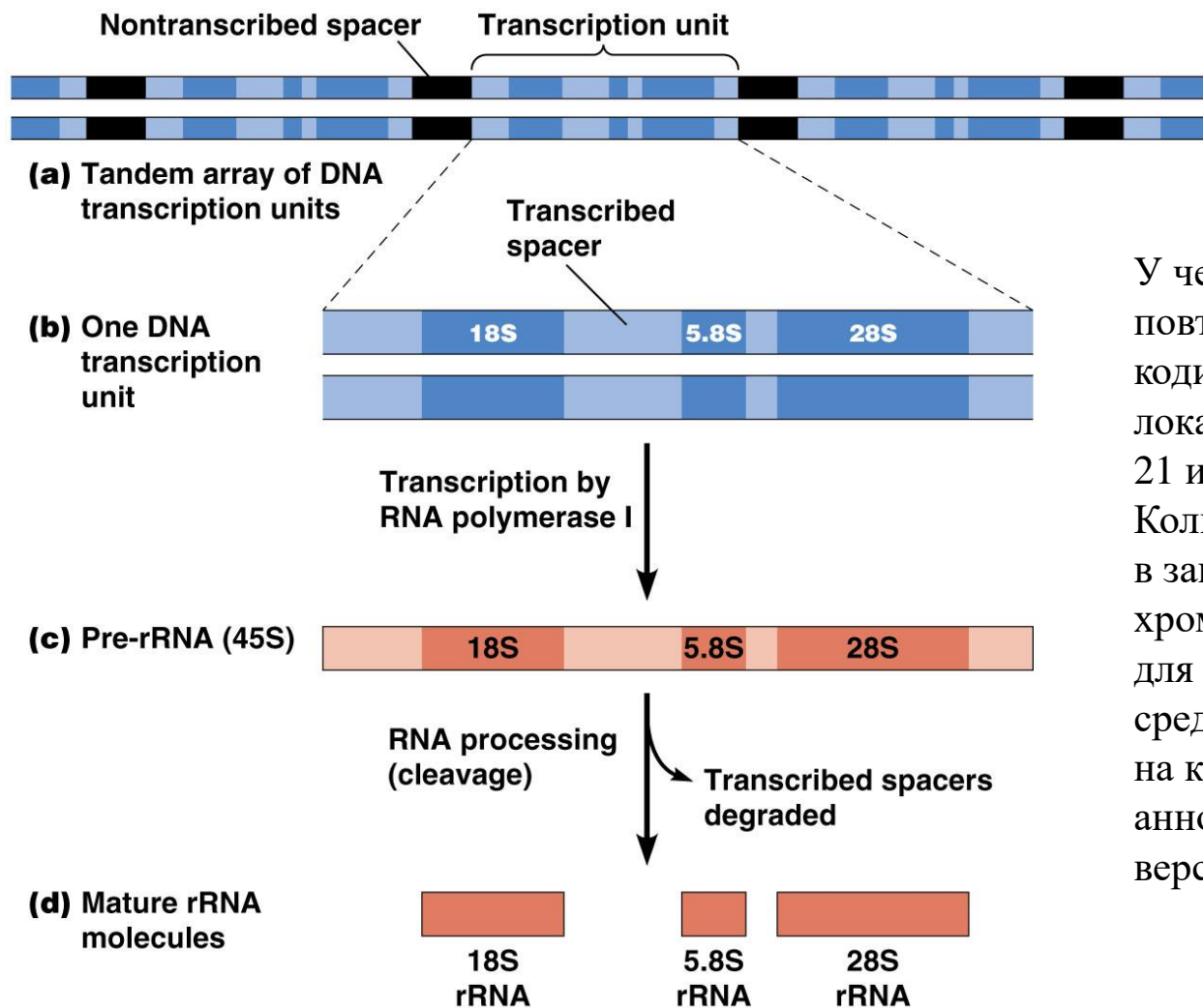
Большая часть
генома

РНК-полимераза III

- все транспортные РНК,
- низкомолекулярные РНК, выполняющих важные внутриклеточные функции: 5S рРНК, 7SL РНК (внутриклеточный транспорт белков),
- U6 РНК (сплайсинг мРНК),
- РНК-компонент рибонуклеазы MRP млекопитающих (пост-транскрипционный процессинг тРНК, созревание РНК-праймера при репликации митохондриальной ДНК),
- 7SK РНК (регуляция активности РНК-полимеразы II на стадии элонгации у позвоночных),
- BC1 и BC200 РНК (регуляция трансляции РНК в дендритных клетках грызунов и приматов)

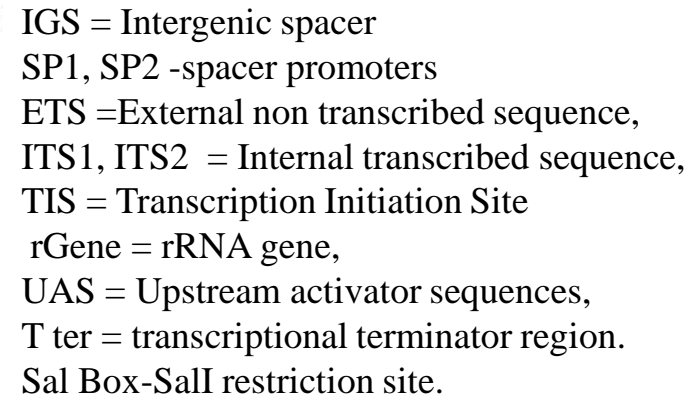
Группы генов

Схематическое строение кластера генов, транскрибируемых РНК-полимеразой I и кодирующих pre-rRNA (45S rRNA)



У человека тандемные повторы генов, кодирующих 45S rRNA локализованы на 13, 14, 15, 21 и 22 хромосомах. Количество копий различно в зависимости от хромосомы и специфично для каждого индивида. В среднем по 30-40 повторов на каждой хромосоме. Не аннотированы на текущей версии генома человека.

**- строение кластера генов, кодирующих pre-rRNA
(45S rRNA)**



The diagram illustrates the structure of a mammalian rDNA repeat unit. The top section shows the DNA organization with the Intergenic Sequence (IGS) and the rRNA genes (18S, 5.8S, and 28S). The IGS contains the UCE (Upstream Control Element) and the Core region, with a +1 start site indicated. The rRNA genes are flanked by T and P regions. The bottom section shows the 47S pre-rRNA transcript and the mature rRNAs (18S, 5.8S, and 28S) after processing.

Russell J1, Zomerdijk JC. RNA-polymerase-I-directed rDNA transcription, life and works. Trends Biochem Sci. 2005 Feb;30(2):87-96.

СУБЪЕДИНИЧНЫЙ СОСТАВ РНК-ПОЛИМЕРАЗ ЭУКАРИОТ

У дрожжей: РНК-полимераза I включает 13 субъединиц,

РНК-полимераза II - 12 субъединиц

РНК-полимераза III - 15 субъединиц [Archambault J. & Friesen J.D. 1993].

Способ обозначения субъединиц, входящих в состав различных полимераз:

Pol I - “Rpa” (RNA polymerase A),
Pol II - “Rpb” (RNA polymerase B),
Pol III - “Rpc” (RNA polymerase C)

+

Номер, присвоенный каждой субъединице конкретной РНК-полимеразы в порядке убывания ее молекулярной массы

Например, субъединицы РНК-полимеразы II имеют обозначения RPB1–RPB12.

Субъединицы РНК-полимеразы II дрожжей (*S. cerevisiae*):

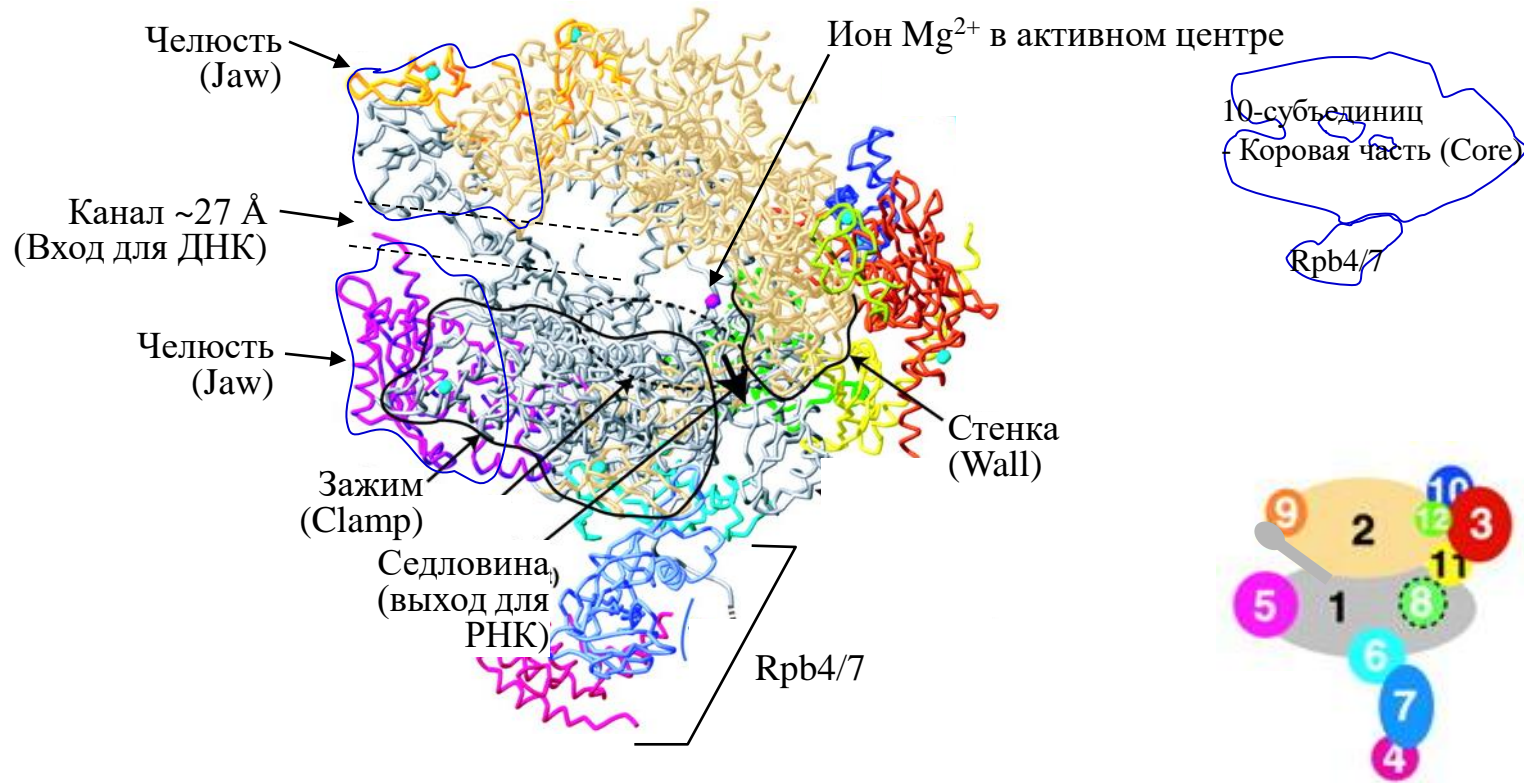
Масса субъединицы (kDa)	Ген
220	RPB1/RPO21
150	RPB2
45	RPB3
32	RPB4
27	RPB5
23	RPB6/RPO26
16	RPB7
14.5	RPB8
13	RPB11
12	RPB9
10	RPC10
10	RPB10

Наиболее крупными субъединицами всех трех полимераз эукариот являются Rpa1, Rpb1 Rpc1. У дрожжей их молекулярная масса составляет 190, 220 и 160 кДа соответственно.

Вторые по молекулярной массе субъединицы эукариотических РНК-полимераз имеют обозначение Rpa2, Rpb2, Rpc2. Их масса у дрожжей - 135, 150 и 128 кДа.

Структура полного 12-субъединичного комплекса РНК-полимеразы II дрожжей (*S. cerevisiae*).

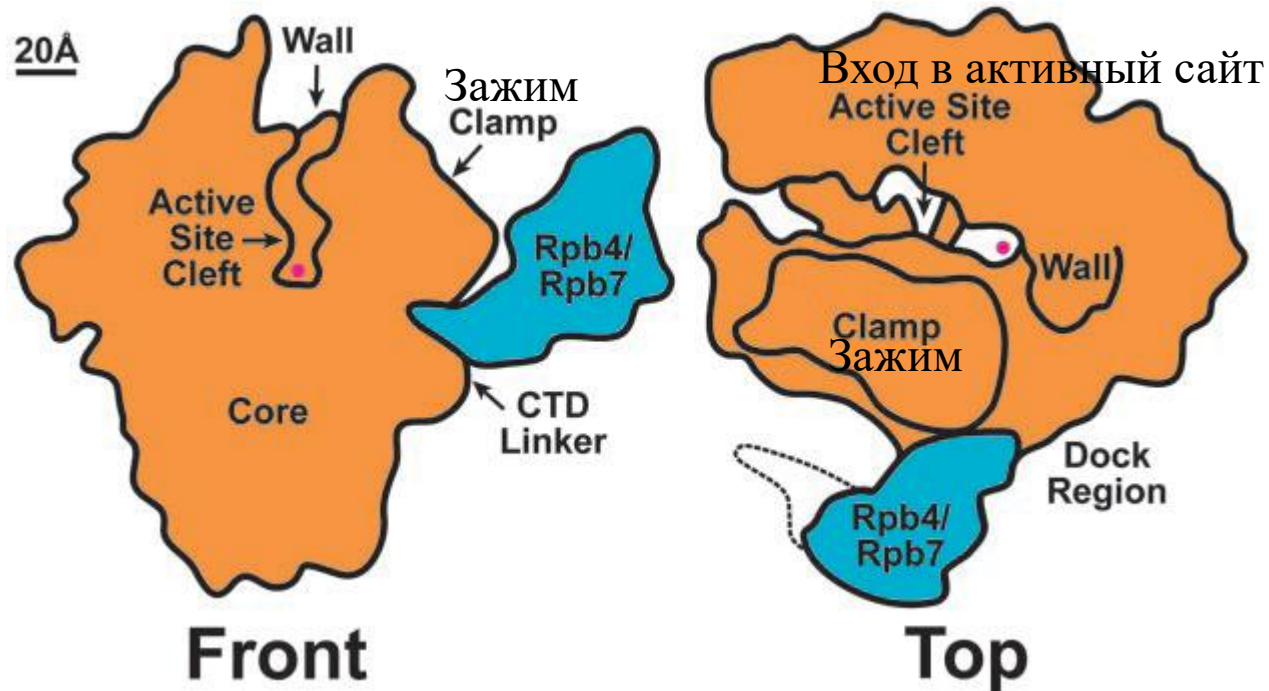
«Вид сверху» по данным входа 1NT9 из Банка белковых структур (PDB).



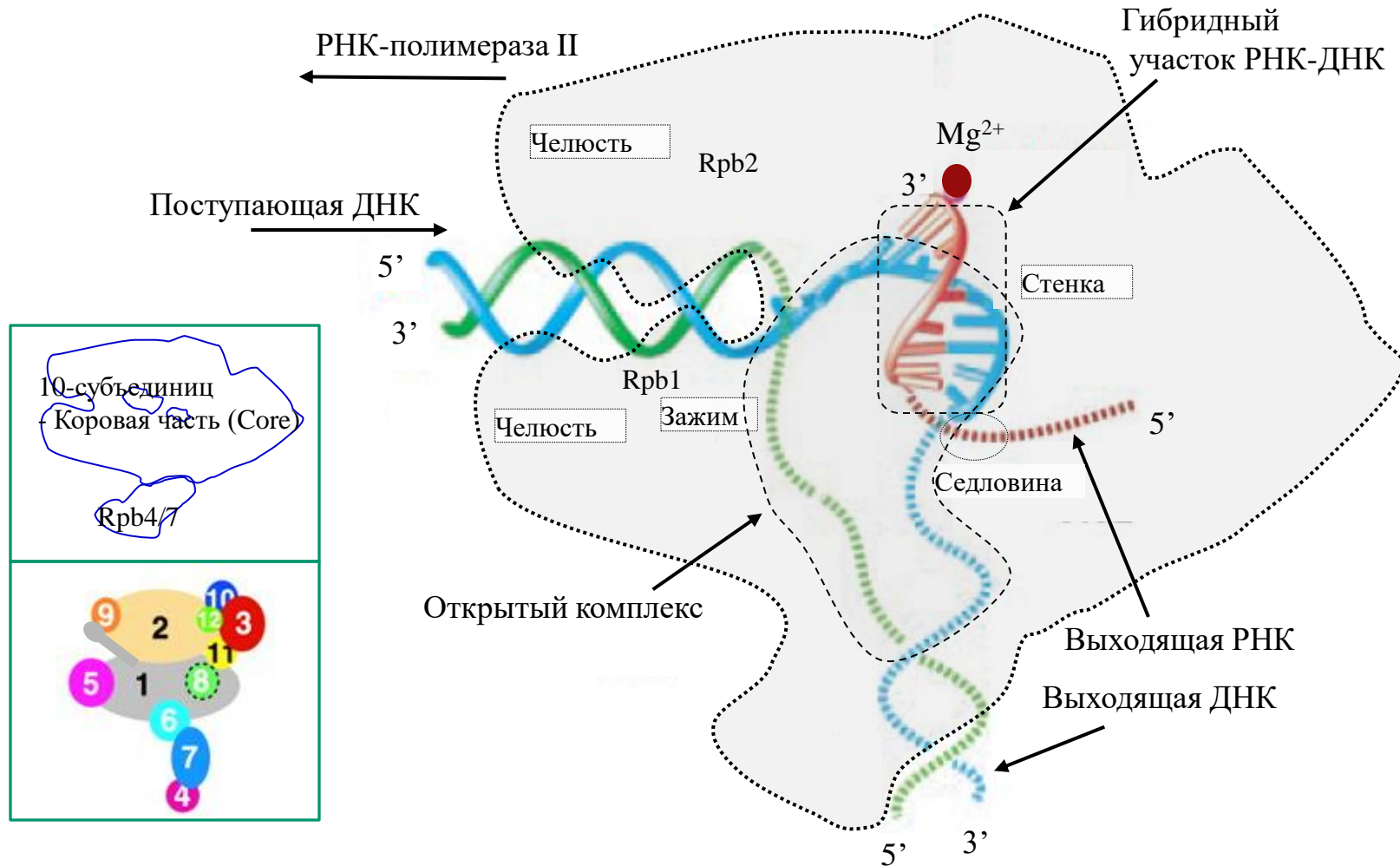
Модель построена на основе данных рентгеноструктурного анализа [Bushnell DA, and Kornberg RD. 2003; Armache K.J. et al., 2003]. Этот комплекс, напоминающий, как отмечают авторы, клешню краба или полуоткрытый рот лягушки, состоит из коровой части, включающей 10-субъединиц и дополнительной части, включающей субъединицы Rpb4 и Rpb7

Показано, что коровая часть фермента обладает элонгационной активностью, однако гетеродимер Rpb4/Rpb7 необходим для инициации транскрипции и полноценной регуляции на следующих стадиях.

Схема взаимного расположения отдельных функциональных доменов 12-субъединичного комплекса РНК-полимеразы II дрожжей (*S. cerevisiae*).



Схематическое представление комплекса РНК-полимераза II / ДНК / РНК на стадии элонгации «вид сверху».



Голубым обозначена матичная цепь ДНК, зеленым - нематричная (кодирующая) цепь ДНК, красным – вновь синтезированная цепь РНК. Mg^{2+} - ион магния, расположенный в активном центре РНК-полимеразы II. В прямоугольниках, обведенных пунктиром, даны названия функциональных доменов РНК-полимеразы II. Представлено по [Gnatt A.L. et al., 2001] с дополнениями.

Роджер Корнберг – Нобелевский лауреат в области химии, удостоенный награды за цикл работ, в которых исследована трехмерная структура дрожжевой РНК-полимеразы II и ее комплексов с ДНК на основе данных рентгеноструктурного анализа



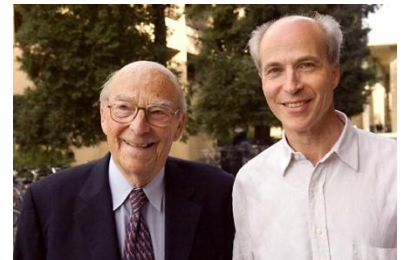
Роджер Корнберг,
Нобелевский
лауреат (2006 г.)

Роджер Дэвид Корнберг родился в 1947 году в США. Его отец, тоже нобелевский лауреат Артур Корнберг, признанный авторитет в области биохимии ферментов, получил премию по физиологии и медицине в 1959 году. 12-летний Роджер присутствовал на церемонии вручения награды отцу. В 1967 году Корнберг окончил Гарвардский университет, через пять лет получил ученую степень доктора в Стэнфордском университете. В качестве сотрудника научно-исследовательской лаборатории поработал в Кембриджском университете в Великобритании. Два года провел в Гарварде на должности доцента, а затем вернулся в Стэнфорд уже в качестве профессора. В 1997 году Корнберг стал лауреатом Премии Харви. А в 2006 году получил Нобелевскую премию в области химии за исследования механизма копирования клетками генетической информации (получение точных изображений молекул **РНК-полимеразы** в различные моменты процесса транскрипции)

Артур Корнберг - американский биохимик, удостоенный в 1959 Нобелевской премии по физиологии и медицине (совместно с С.Очоа) за открытие механизма биосинтеза нуклеиновых кислот. Исследуя механизм синтеза нуклеотидов – мономерных единиц ДНК и РНК – А. Корнберг подошел к проблеме их соединения друг с другом (полимеризации). Выделил и очистил фермент, называемый теперь **ДНК-полимеразой**, который катализирует копирование (репликацию) ДНК при делении клетки. Используя в качестве матрицы природную ДНК, А.Корнберг впервые осуществил синтез функционально активной ДНК *in vitro*.



Артур Корнберг ,
Нобелевский
лауреат (1959 г.)



Артур Корнберг (слева) и
Роджер Корнберг (справа).
2006 г.

ОСНОВНЫЕ КЛАССЫ БЕЛКОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ ТРАНСКРИПЦИЮ ЭУКАРИОТ:

- 1) РНК-полимеразы;
- 2) Базальные транскрипционные факторы
= general transcription factors (GTFs);
- 3) Транскрипционные факторы;
- 4) Белки-медиаторы;
- 5) Корегуляторные белки (коактиваторы и
корепрессоры);

ОПРЕДЕЛЕНИЯ:

Базальные транскрипционные факторы (GTFs = БТФ) - особый класс вспомогательных белков, необходимых для точной посадки РНК-полимераз на участки ДНК, прилежащие к стартам транскрипции. БТФ являются общими для всех генов и вовлечены в образование прединициаторного комплекса (ПИК) ;

Транскрипционные факторы (ТФ) белки, специфически связывающиеся с ДНК и регулирующие транскрипцию. Они взаимодействуют с короткими участками ДНК (сайтами связывания), которые расположены в различных районах генов. ТФ специфично регулируют определенные группы генов ;

Прединициаторный комплекс (ПИК) или базальный транскрипционный комплекс - комплекс РНК-полимеразы с базальными транскрипционными факторами, обеспечивающий инициацию транскрипции.

Белки-медиаторы и корегуляторные белки (коактиваторы и корепрессоры) не имеют ДНК-связывающих доменов и участвуют в регуляции транскрипции без непосредственного специфического взаимодействия с ДНК

БАЗАЛЬНЫЕ ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ (БТФ)

-класс вспомогательных белков, необходимых для точной посадки РНК-полимераз на участки ДНК, прилежащие к стартам транскрипции. БТФ являются общими для всех генов и вовлечены в образование прединициаторного комплекса

Названия базальных транскрипционных факторов включают тип РНК-полимераз, с которыми они взаимодействуют.

Например, базальные транскрипционные факторы, обеспечивающие инициацию транскрипции генов с участием РНК-полимеразы II, обозначаются как:

TFIIA,
TFIIB,
TFIID,
TFIIE,
TFIIF,
TFIIN.

РОЛЬ БАЗАЛЬНЫХ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ:

Формирование прединициаторного комплекса (ПИК), обеспечивающего:

- А) точную посадку РНК-полимеразы на участки ДНК, прилежащие к стартам транскрипции
- Б) инициацию транскрипции РНК-полимеразой

Предполагается два механизма формирования ПИК:

- 1) Пошаговая сборка;
- 2) Сборка с привлечением холоэнзима, включающего РНК-полимеразу II

Схема пошаговой сборки прединициаторного комплекса в районе старта транскрипции гена, транскрибируемого РНК-полимеразой II

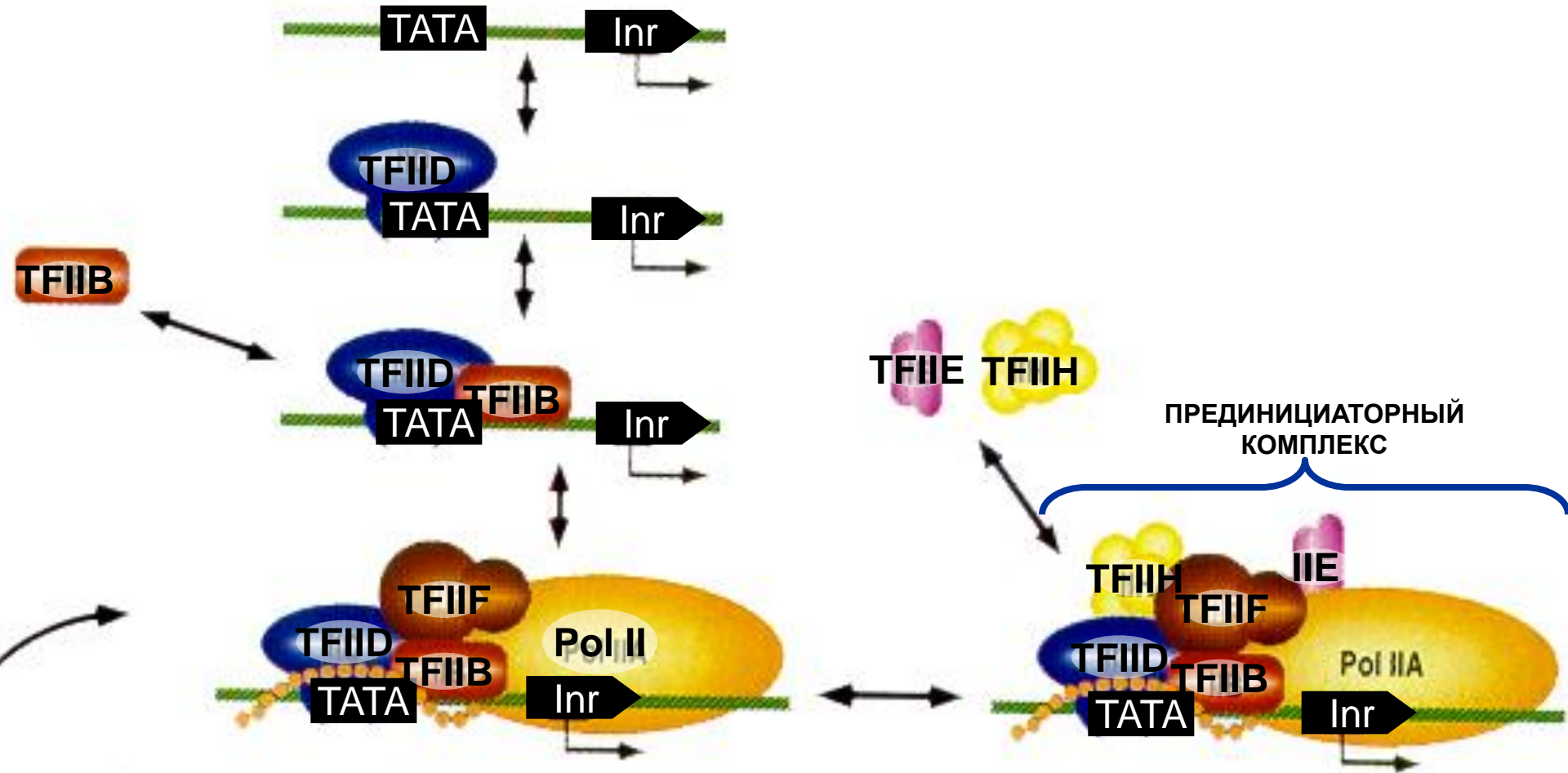
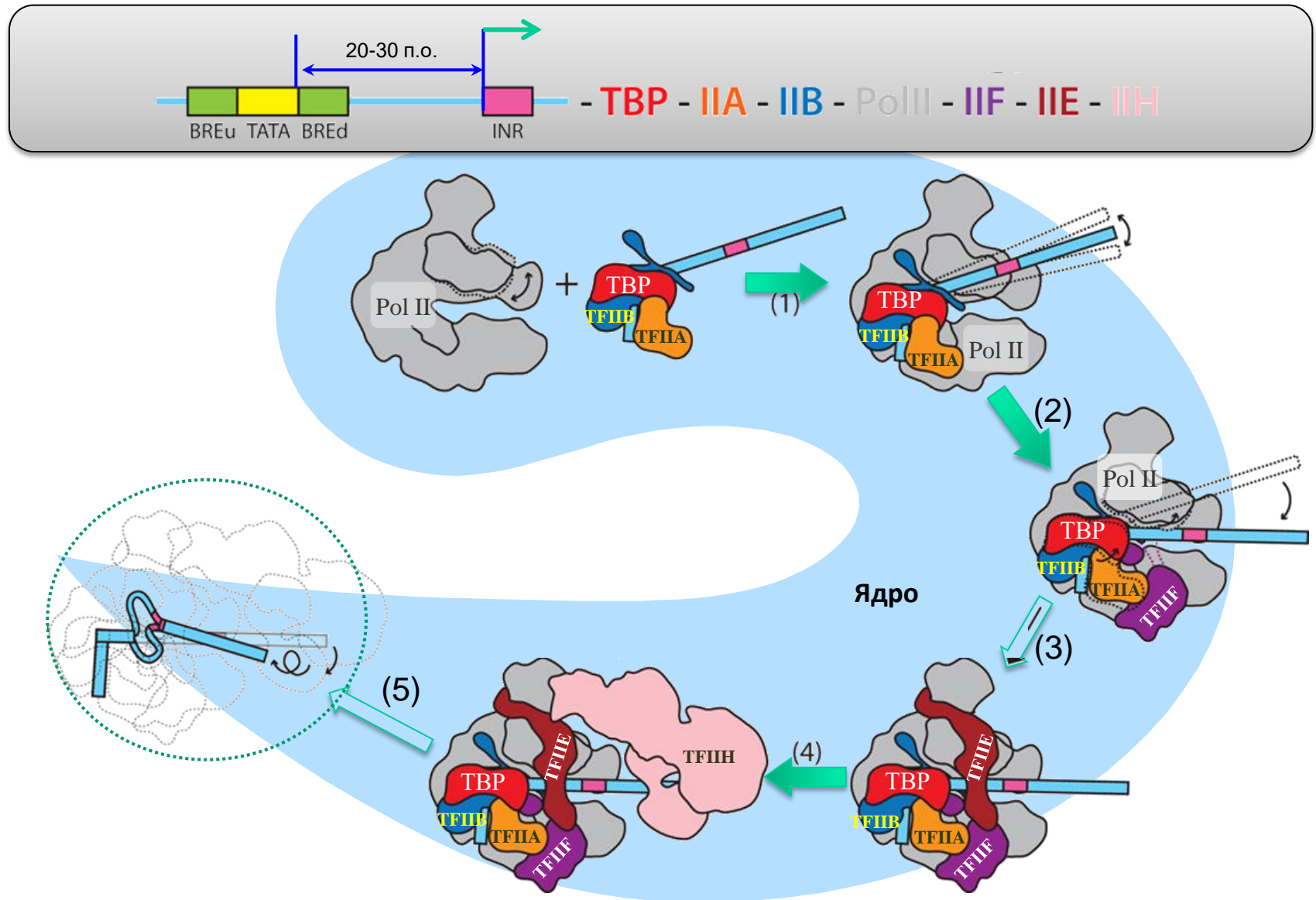
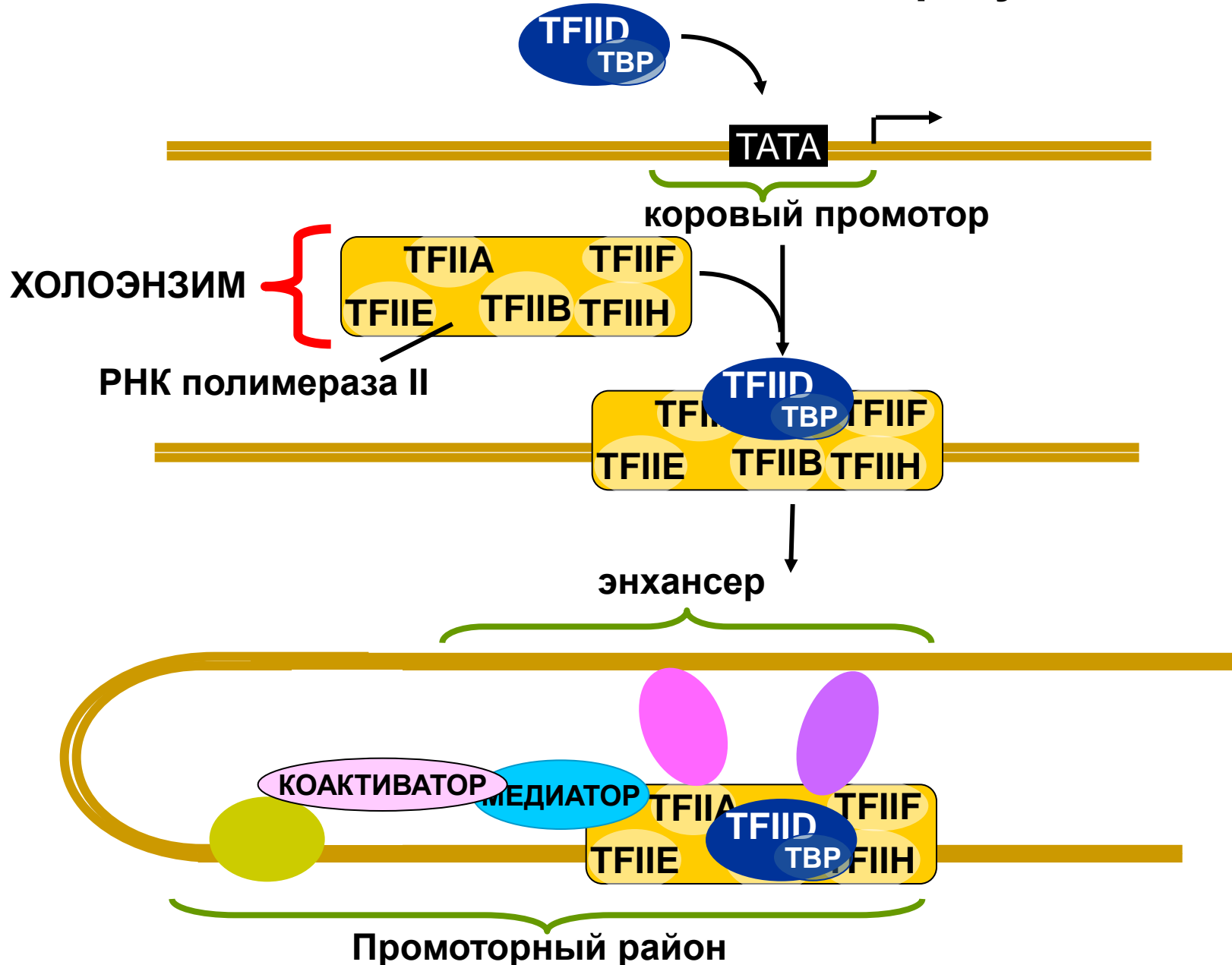


Схема сборки прединициационного комплекса (ПИК) и плавления участка ДНК в районе инициации транскрипции (по данным Nature 2013)



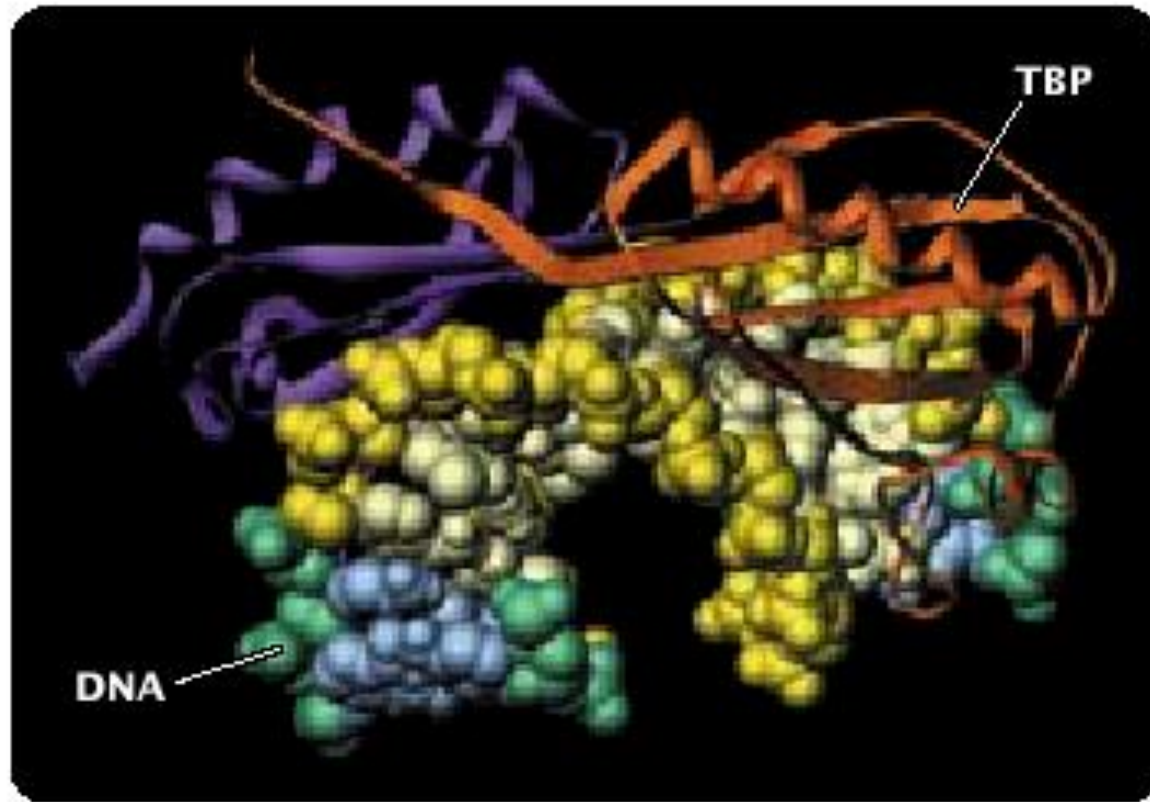
Инициация транскрипции при участии холоэнзима, включающего РНК-полимеразу II



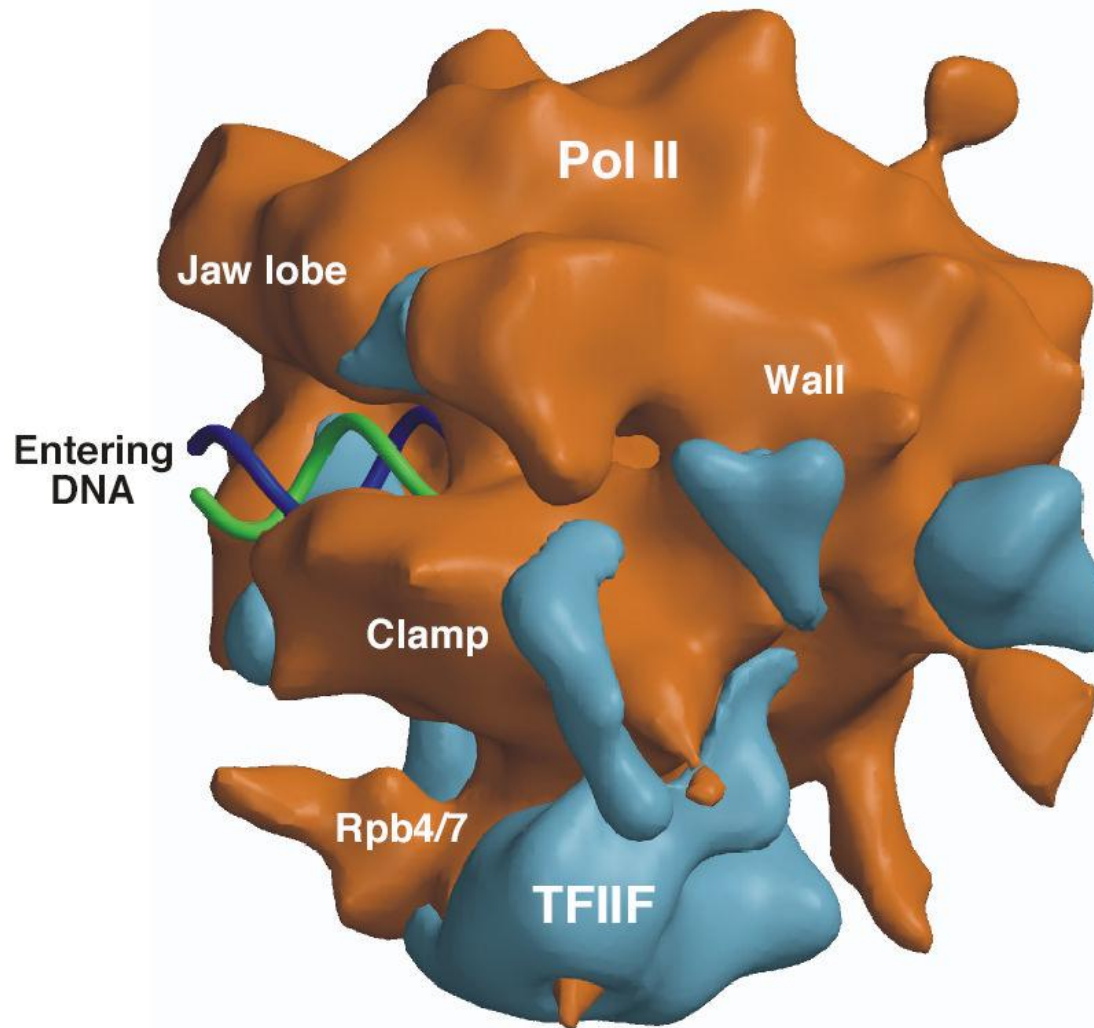
Субъединичный состав и основные функции базальных транскрипционных факторов и РНК полимеразы II

Фактор	Субъединичный состав	Функция
РНК-полимераза II (Pol II)	12 субъединиц	Инициация транскрипции и элонгация цепи РНК
TFIIA	Димер из одной α и одной β субъединицы	Контактирует с ТВР; стабилизирует взаимодействие ТВР-ТАТА
TFIIB	Отдельный полипептид	Связывается с комплексом ТВР/ТАТА; выбор сайта инициации; взаимодействие с активационными доменами транскрипционных факторов и с TAF-ами
TFIID	ТВР (=TATA binding protein) и большое количество TAFs (= Transcription Activation Factors) У дрожжей 14 субъединиц	Связывается с ТАТА-боксом; служит центром сборки ПИК; ТВР контактирует с активационными доменами ТФ, с TAFs, TFIIA, TFIIB, и TFIIF; TAFs контактируют с TFIIA, TFIIB и TFIIF и связываются с INR и DPE элементами на ДНК.
TFIIE	2 субъединицы	Способствует образованию и стабилизации открытого комплекса, усиливает киназную и АТФазную активность фактора TFIIH.
TFIIF	2 субъединицы: Rap74 (Tfg1), и Rap30(Tfg2)	Вовлекает Pol II в состав ПИК. В составе ПИК локализуется на участке промотора в позициях от -24 до -1.
TFIIH	Многосубъединичный комплекс	Включает субъединицы с ДНК-зависимой АТФазной, АТФ-зависимой киназной и геликазной активностями, а также серин-треонин-киназной активностью, обеспечивающей фосфорилирование СТД РНК-полимеразы II. Необходим для образования открытого комплекса.

При взаимодействии с ТВР (ТАТА связывающий белок) ДНК изгибается



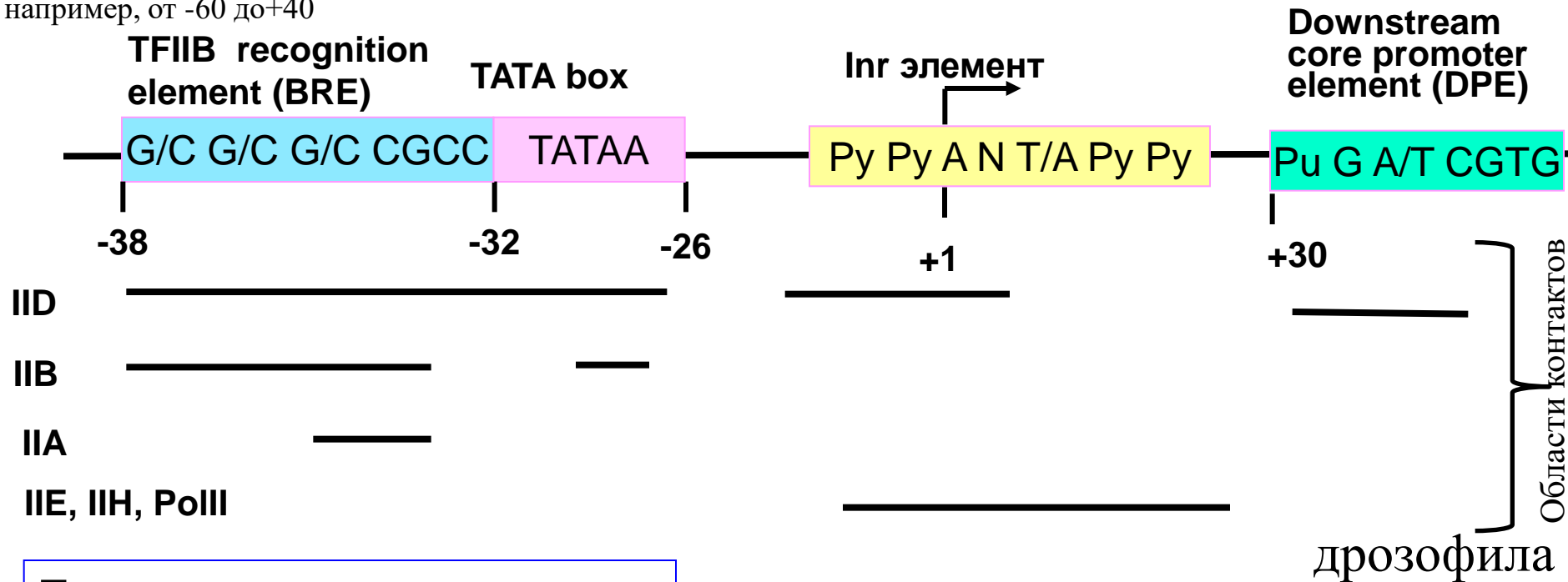
МОДЕЛЬ КОМПЛЕКСА POL II ДРОЖЖЕЙ С БАЗАЛЬНЫМ ТРАНСКРИПЦИОННЫМ ФАКТОРОМ TFIIF



Домен Rpb4/7 находится в тесном контакте с TFIIF

ТИПИЧНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КОРОВОГО ПРОМОТОРА Pol II ТРАНСКРИБИРУЕМЫХ ГЕНОВ.

Коровый (базальный) промотор - участок ДНК минимальной длины в окрестностях старта транскрипции гена, необходимый для формирования прединициаторного комплекса. Понятие корового промотора не содержит строгих данных о его размерах и точной локализации относительно старта транскрипции. Коровым промотором именуют либо очень короткий участок (-35 и + 35 относительно старта транскрипции) либо более протяженный район, например, от -60 до+40



Типы коровых промоторов:

TATA+ Inr+;

TATA+ Inr-;

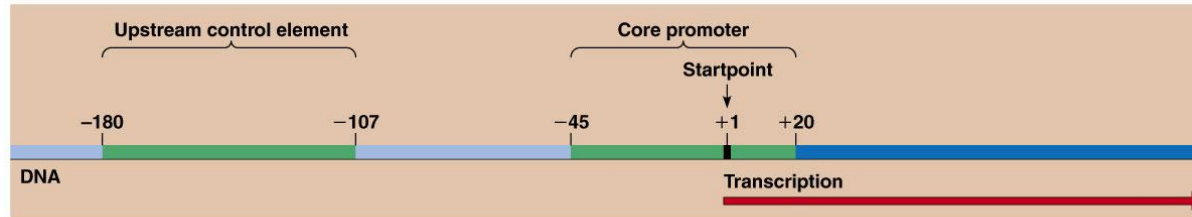
TATA- Inr+;

TATA- Inr-;

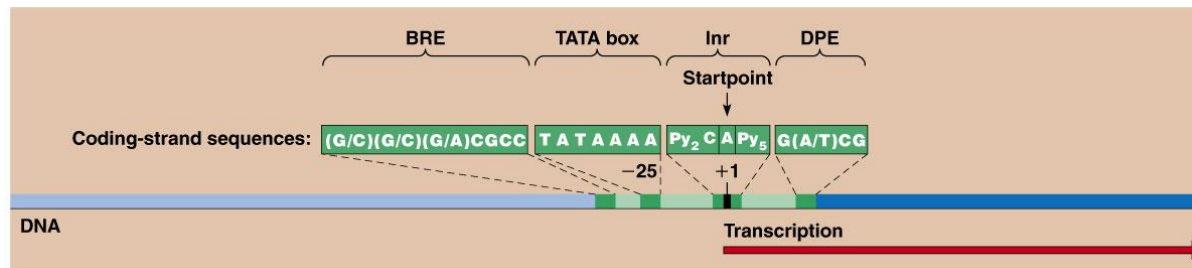
«Py» – пиримидин «С» либо «Т»
«Pu» пури́н «А» либо «G»

ТАТА бокс выявляется в 33-35% коровых промоторов человека и в 33-43% коровых промоторов дрозоды

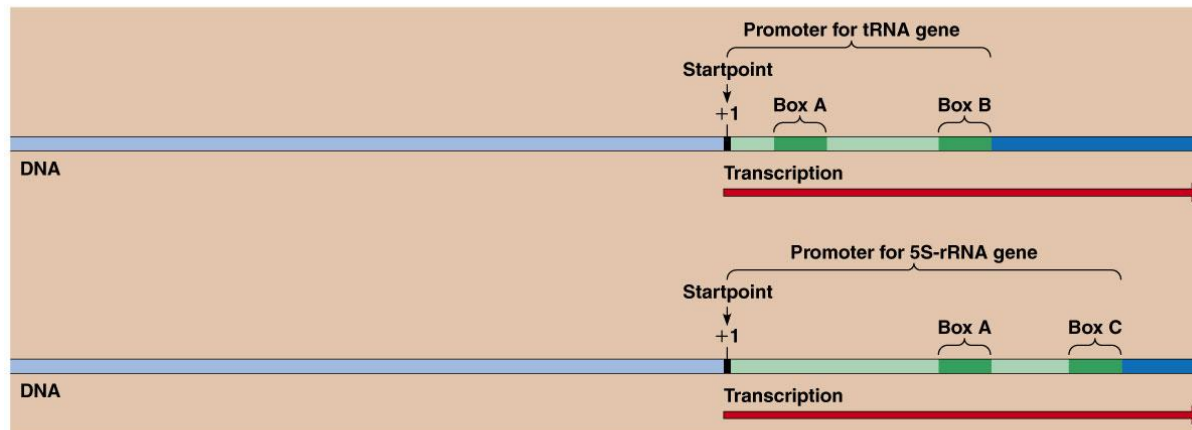
Промоторы генов, транскрибируемых каждым типом полимераз, имеют характерное строение



(a) Promoter for RNA polymerase I



(b) Core promoter elements for RNA polymerase II



(c) Two types of promoters for RNA polymerase III

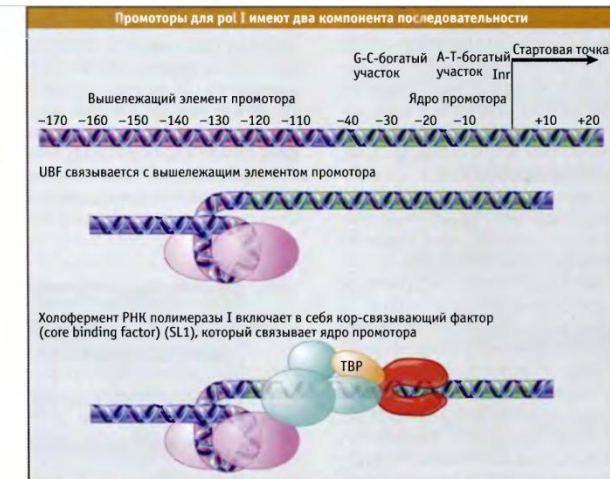
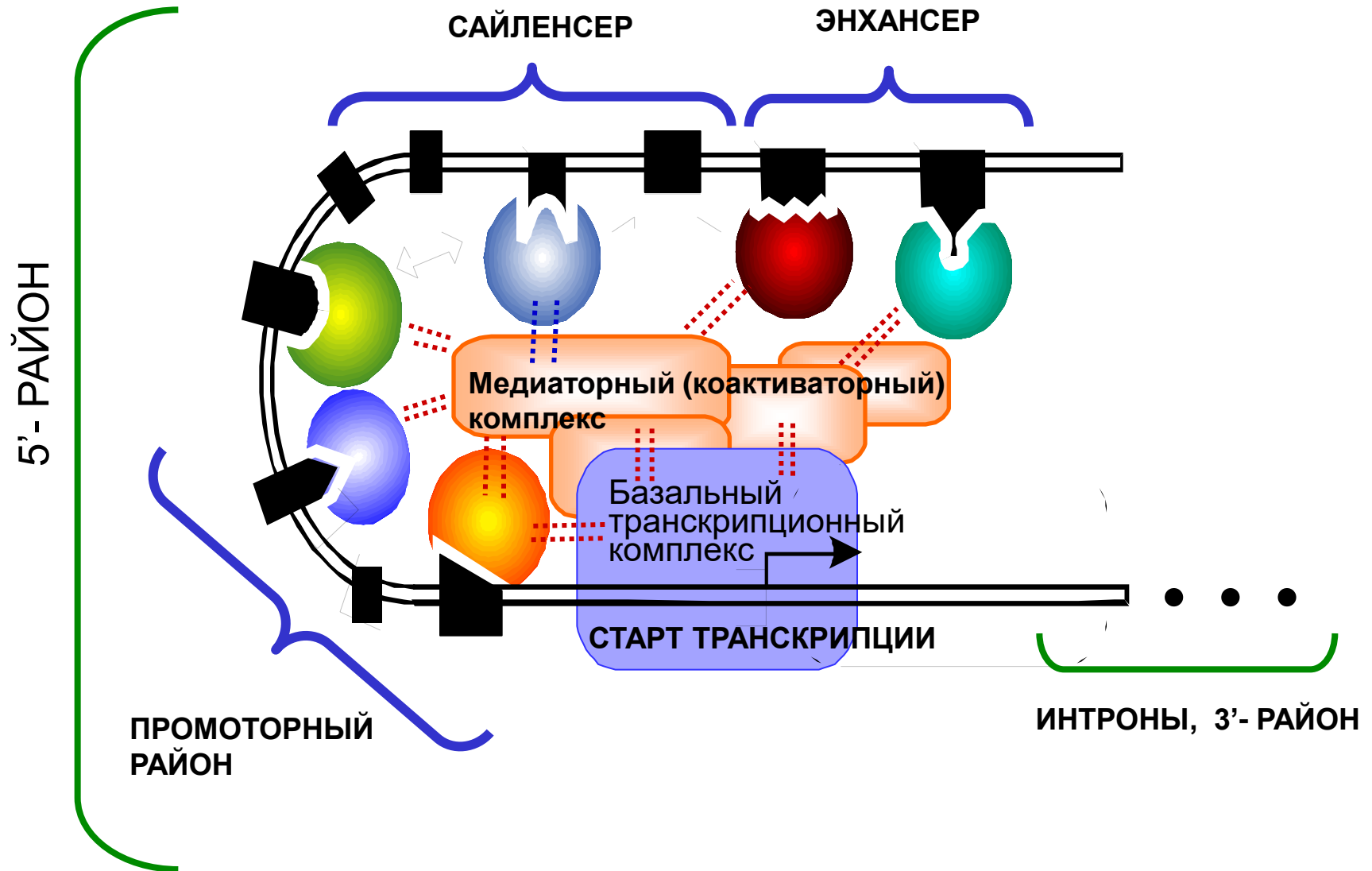


Рис. 24.5 Транскрипционная единица для РНК-полимеразы I включает в себя ядро промотора, удаленное от вышележащего промоторного элемента примерно на 70 пн. Связывание UBF с UPE увеличивает способность кор-связывающего фактора соединиться с ядром промотора. Кор-связывающий фактор (SL1) позиционирует РНК-полимеразу I на стартовой точке

МОДЕЛЬ РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ ЭУКАРИОТИЧЕСКОГО ГЕНА



Промоторный район, энхансеры, сайленсеры -
РЕГУЛЯТОРНЫЕ ЕДИНИЦЫ

Регуляторные единицы – включают сайты
связывания транскрипционных факторов.

Транскрипционные факторы – белки, специфически
связывающиеся с ДНК и регулирующие
транскрипцию.

Коактиваторы и корепрессоры, медиаторы – белки,
не взаимодействующие с ДНК. Они также
регулируют транскрипцию, опосредуя влияние
транскрипционных факторов.

Конец 1-ой лекции