

# Регуляция экспрессии генов на уровне трансляции продолжение

Игнатьева Е.В.

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



Лекция подготовлена с использованием материалов,  
любезно предоставленных член-корр. РАН, д.б.н. Кочетовым А.В.

## **Повторение**

**Структуры мРНК и процесс трансляции у прокариот и эукариот имеют свои отличительные особенности.**

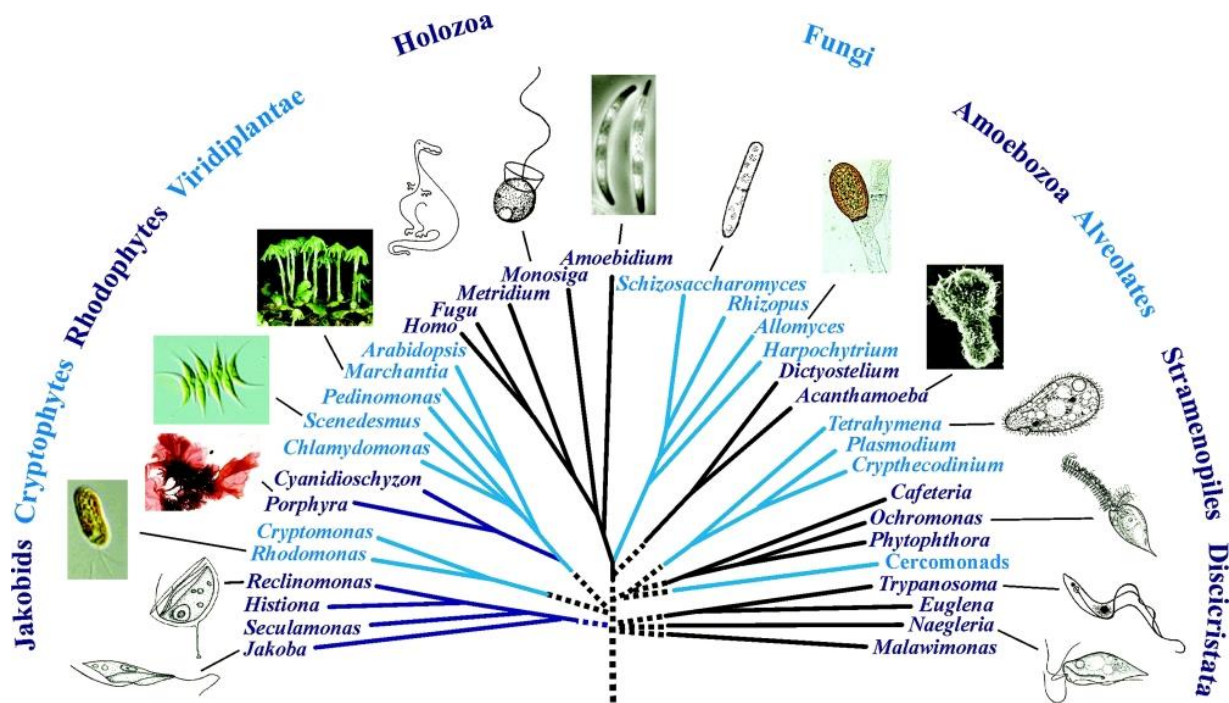
**Функционально наиболее сильно отличается процесс **инициации** трансляции**

## Повторение

# Особенности процесса трансляции у прокариот

1. Особая инициаторная тРНК (fMet-тРНК) закладывает первое звено полипептида
2. Участие факторов инициации (IF-1, IF-2, IF-3)
3. Сайт Шайна-Дальгарно (SD) в комбинации с AUG кодоном определяют старт трансляции
4. Транскрипция и трансляция сопряжены
5. мРНК имеет оперонную структуру

# Эукариоты



# Особенности трансляции у эукариот

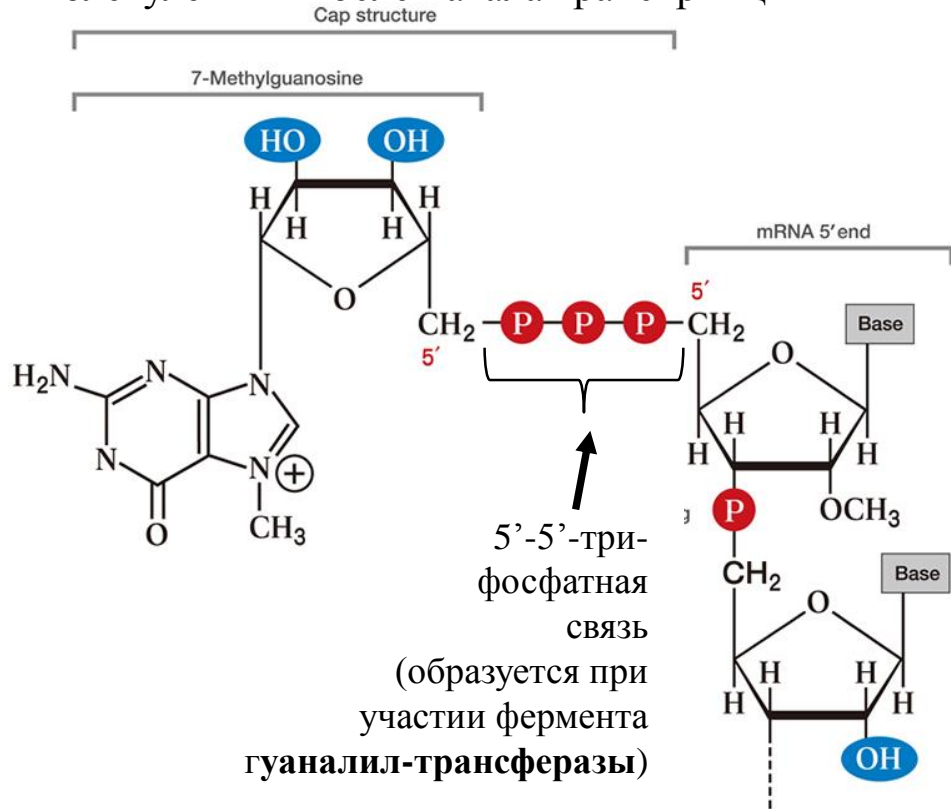
- Эукариотическая моноцистронная мРНК



- cap                      AUG                      UGA                      poly(A)
- транскрипция и трансляция разобщены (ядро – цитоплазма)
- мРНК имеет 5'-кэп
- мРНК имеет поли-А тракт (100-200 оснований поли(А) на 3'-конце)
- Число вспомогательных факторов больше
- Другой способ стыковки малых субъединиц рибосом со своими сайтами связывания в мРНК
- рибосомы связываются с 5'-концом мРНК и движутся вдоль 5'-НТП в поиске подходящего стартового кодона трансляции

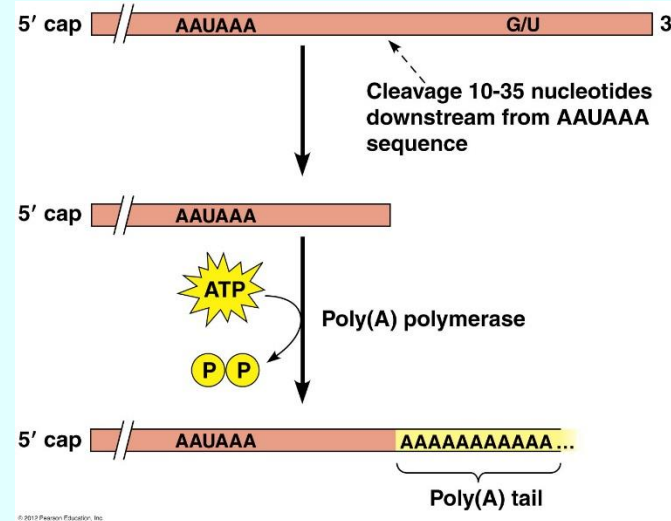
# Особенности трансляции у эукариот: 5'-кэп и поли(А)

5'-кэп (7-метилгуанозин) добавляется к исходной молекуле РНК после начала транскрипции



**Гуанозин** присоединяется к 5'-концу РНК в противоположной всем нуклеотидам ориентации.  
+ Метильная группа добавляется в 7-ю позицию концевому гуанину (при участии фермента **гуанин-7-метилтрансферазы**)

К ядерному транскрипту после транскрипции добавляется участок поли(А) длиной около 200 нуклеотидов



Функции поли(А):

- 1) Защищает от деградации
- 2) Связывается с поли(А)-связывающим белком (**РАВР**, poly(A)-binding protein)

Функции 5'-кэпа:

- 1) Защищает от деградации
- 2) Опознается факторами инициации

# Эукариоты: особая инициаторная тРНК (Met-тРНК<sub>i</sub>)

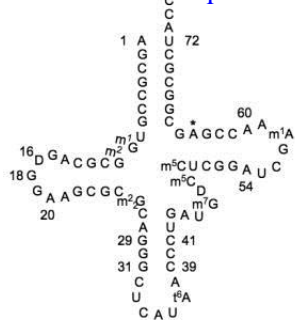
## закладывает первое звено полипептида

В эукариотической инициации всегда используется инициаторный кодон AUG, он соответствует аминокислоте метионину.

Инициаторная тРНК (Met-тРНК<sub>i</sub>) отличается от регулярных аминоацил-тРНК, а ее метионин не подлежит формилированию. Элонгаторная тРНК, несущая метионин, обозначается как Met-тРНК<sub>m</sub>

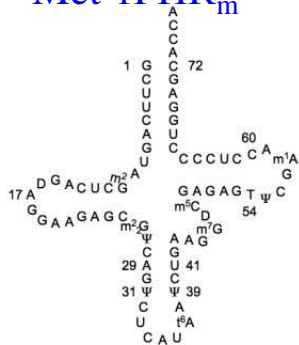
The position 64 Orribosylphosphate modification is indicated by an asterisk. There is some confusion in the literature and databases about the identity of base 64 in the elongator tRNA. In most cases, including all elongator tRNA genes in the *S. cerevisiae* genome, this base is a C. However, in a few cases it is reported as a U. It is possible that this is the result of deamination of C in a fraction of the tRNAs; in this case, sequencing of the corresponding cDNA would give a U at this position

Met-тРНК<sub>i</sub>



*S. cerevisiae* initiator tRNA<sup>Met</sup>

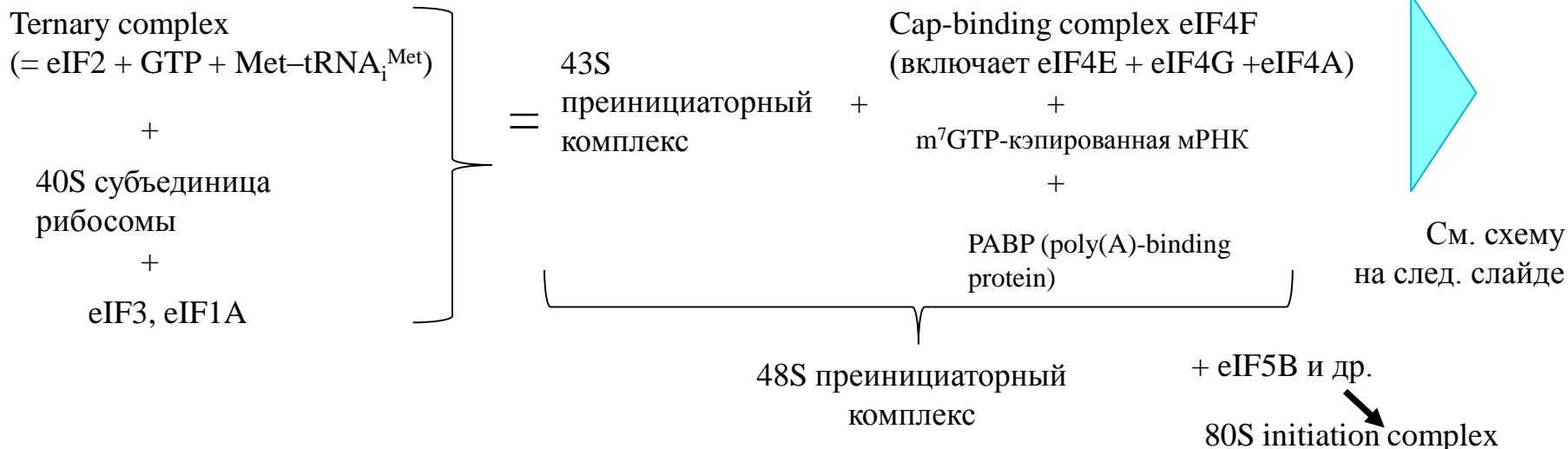
Met-тРНК<sub>m</sub>



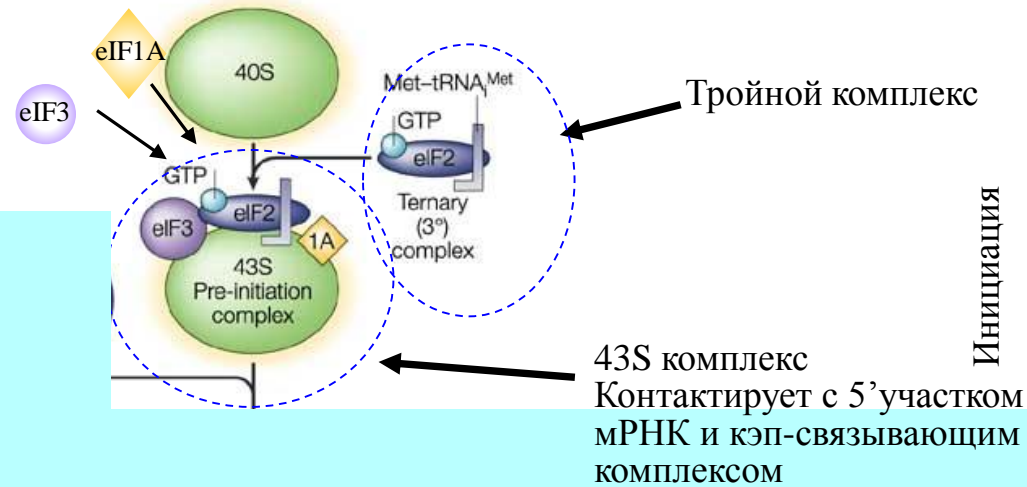
*S. cerevisiae* elongator tRNA<sup>Met</sup>

## Эукариоты: факторы инициации

У эукариот изучено 12 факторов инициации. Они имеют обозначения eIF1, eIF2 и т.д. (eukaryotic translation initiation factor 1,...). eIFs функционируют в составе комплексов:

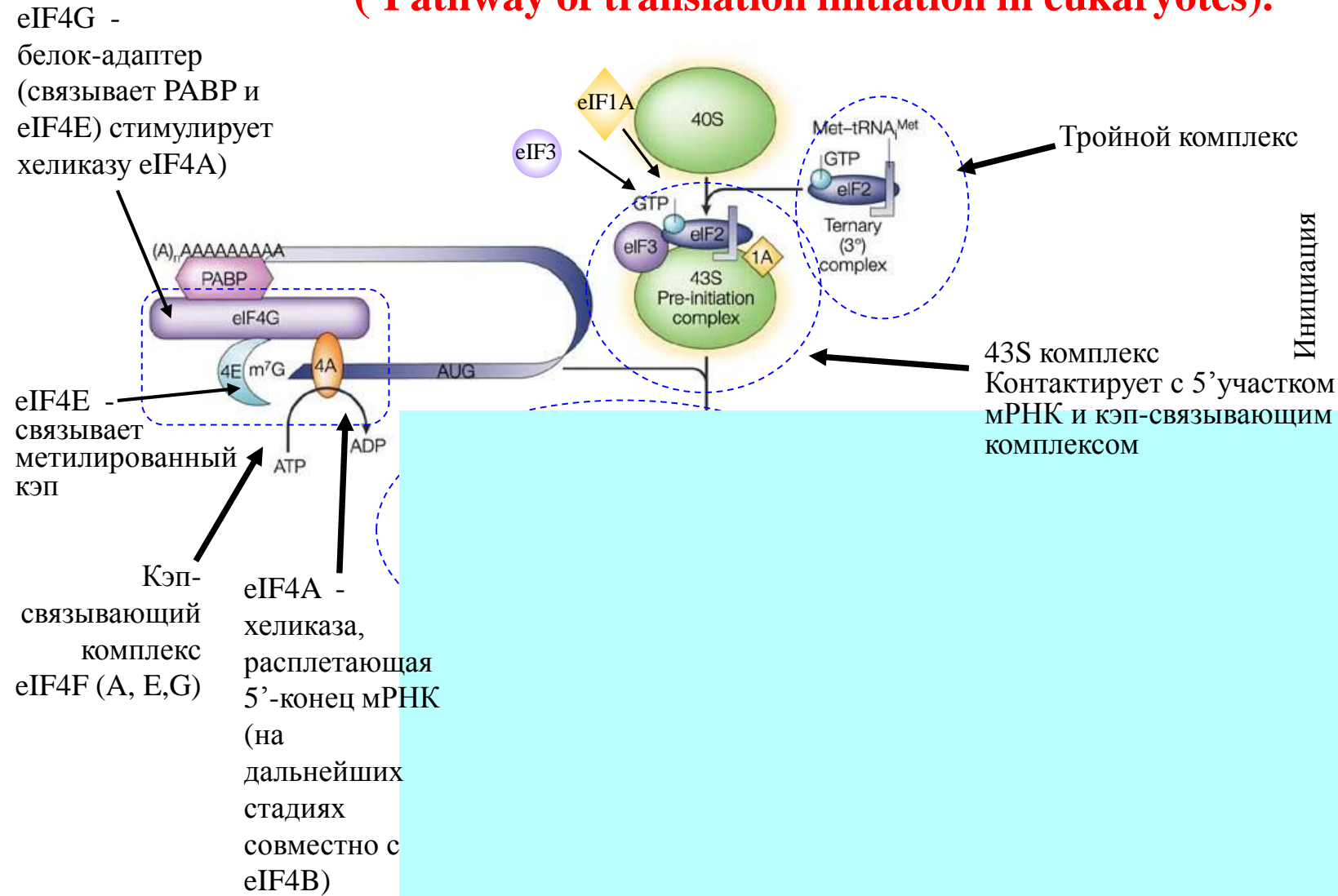


# Схематическое изображение этапов формирования инициаторного комплекса у эукариот. ( Pathway of translation initiation in eukaryotes).





# Схематическое изображение этапов формирования инициаторного комплекса у эукариот. ( Pathway of translation initiation in eukaryotes).



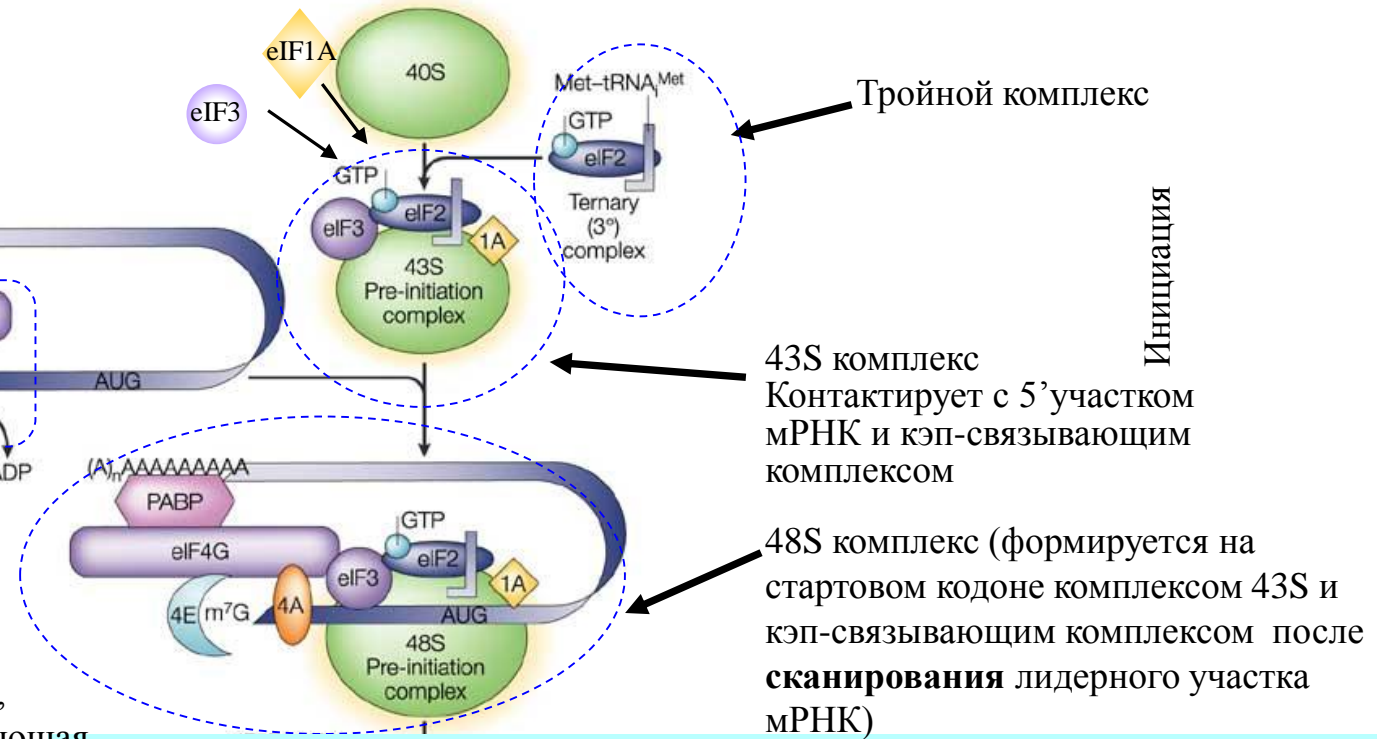
# Схематическое изображение этапов формирования инициаторного комплекса у эукариот. ( Pathway of translation initiation in eukaryotes).

eIF4G -  
белок-адаптер  
(связывает PABP и  
eIF4E) стимулирует  
хеликазу eIF4A)

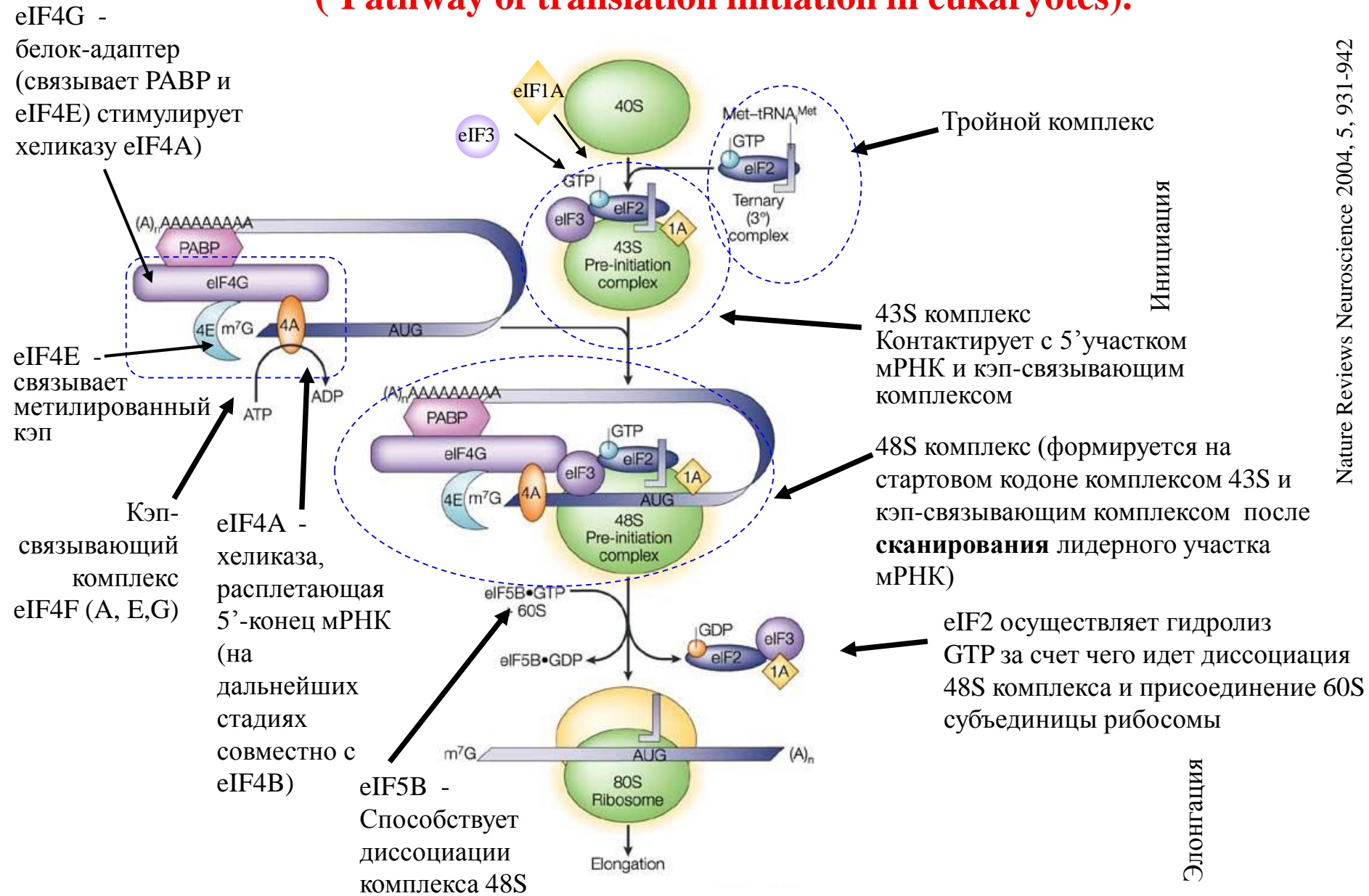
eIF4E -  
связывает  
метилированный  
кЭП

КЭП-  
связывающий  
комплекс  
eIF4F (A, E, G)

eIF4A -  
хеликаза,  
расплетающая  
5'-конец мРНК  
(на  
дальнейших  
стадиях  
совместно с  
eIF4B)



# Схематическое изображение этапов формирования инициаторного комплекса у эукариот. ( Pathway of translation initiation in eukaryotes).

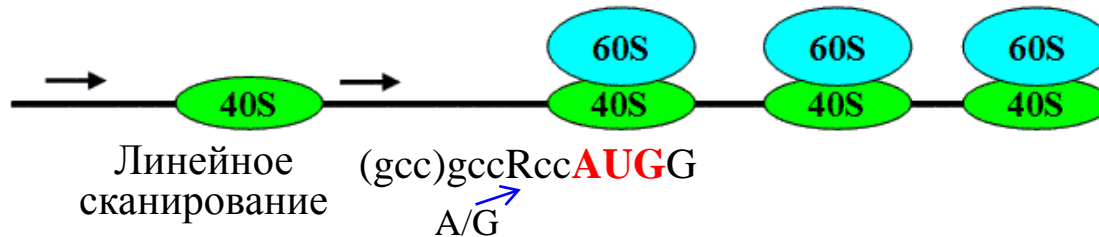


# **ЭУКАРИОТЫ: способ стыковки малых субъединиц рибосом со своими сайтами связывания в мРНК.**

**В эукариотических клетках выделяют два механизма инициации трансляции:**

- линейное сканирование**
- внутренняя инициация трансляция (при участии IRES)**

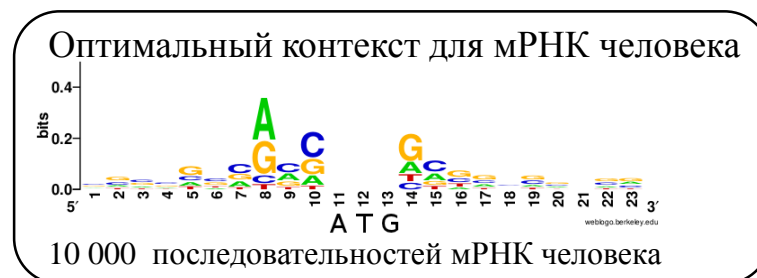
# Контекстные характеристики лидерной последовательности мРНК (5'-НТП), влияющие на эффективность трансляции: Консенсусная последовательность Козак



**Консенсусная последовательность Козак** (последовательность Козак = *Kozak consensus sequence*) впервые описана Marilyn Kozak) в 1986 году на основе анализа 699 последовательностей разных видов позвоночных: human, cow, cat, dog, chicken, guinea pig, hamster, mouse, pig, rabbit, sheep, and xenopus

Оптимальный контекст стартового кодона мРНК у разных эукариотических таксонов различен

Оптимальным для инициации трансляции контекстом стартового кодона у млекопитающих является NNNPuNNAUGG (Pu = A либо G)



# Контекстные характеристики лидерной последовательности мРНК (5'-НТП), влияющие на эффективность трансляции у разных эукариотических таксонов

Млекопитающие: NNN**Pu**NN**AUGG**

↑
↑
↑  
-3
+1
+4

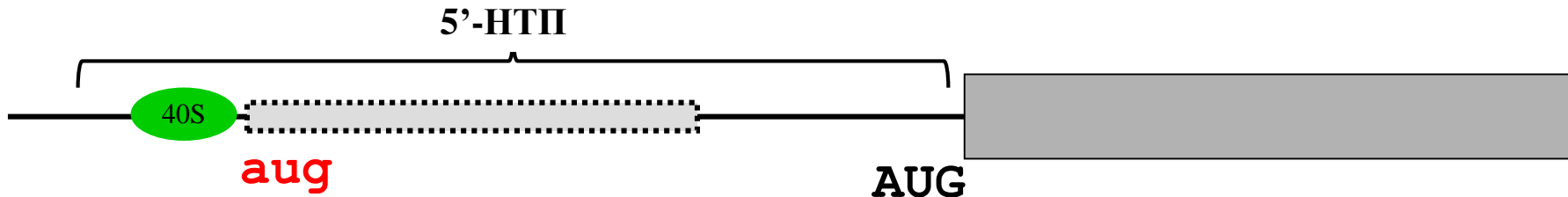
Consensus and anticonsensus sequences of start codon contexts of eukaryotic mRNAs

	Организм/Таксон															
	<i>A.thaliana</i>				<i>Liliopsida</i> (Однодольные растения)				<i>Arthropoda</i> (Членистоногие)				<i>H.sapiens</i>			
Позиция	-3	-2	-1	+4	-3	-2	-1	+4	-3	-2	-1	+4	-3	-2	-1	+4
Консенсус	Pu	A	A	G	Pu	C	C	G	Pu	A	A	—	Pu	C	C	G
Антиконсенсус	Pu	notA	notA	notG	Pu	notC	notC	notG	Pu	notA	notA	—	Pu	notC	notC	notG

Pu, purine; Py, pyrimidine.

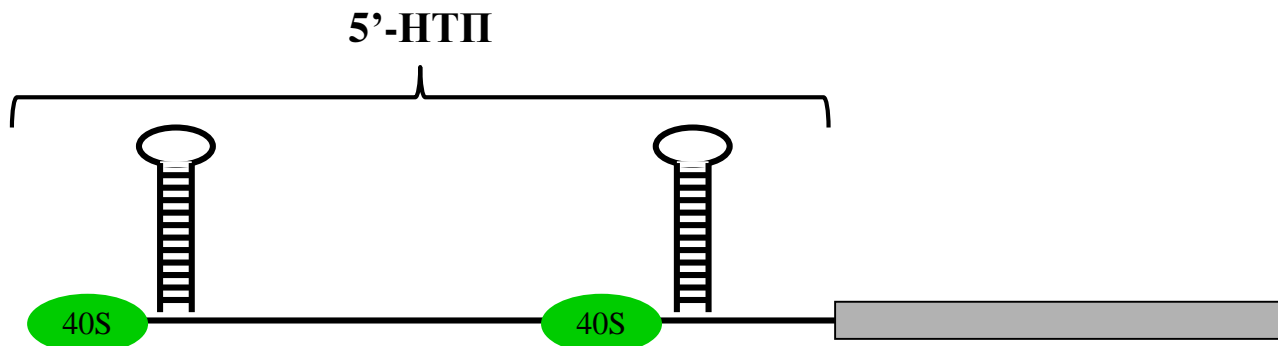
# Контекстные характеристики лидерной последовательности мРНК (5'-НТП), влияющие на эффективность трансляции

**Не оптимальная ситуация:** наличие в 5'-НТП добавочного AUG кодона (в отсутствии оптимального контекста) приводит к задержке инициаторного комплекса и **снижает** эффективность трансляции с основного AUG кодона



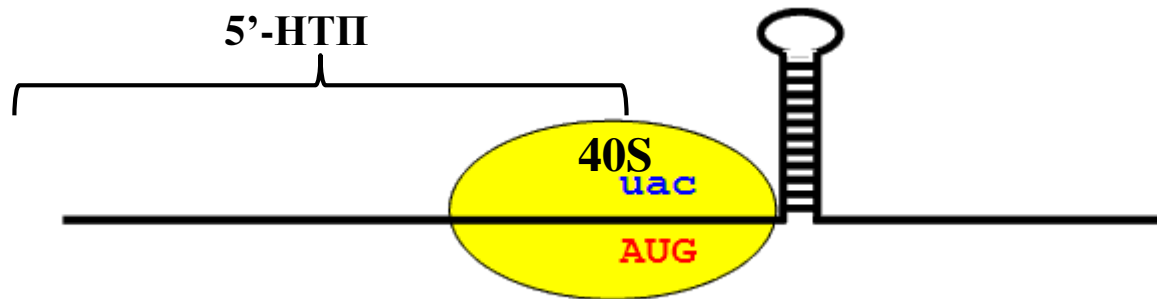
Механизм - добавочные AUG-кодоны в составе 5'-НТП могут распознаваться как альтернативные сайты инициации трансляции, что снижает трансляцию основной рамки считывания

**Не оптимальная ситуация:** Стабильная вторичная структура в районе 5'-НТП мРНК взаимодействует с eIF-4F (=кэп-связывающий комплекс) и 40S субъединицей рибосомы и **ингибирует** инициацию трансляции



## Контекстные характеристики лидерной последовательности мРНК (5'-НТП), влияющие на эффективность трансляции

Дополнительный фактор: наличие шпилечной структуры ниже AUG кодона (на расстоянии 11-17 нуклеотидов) приводит к задержке инициаторного комплекса и **повышает** эффективность трансляции с данного AUG кодона



**!!!!** Возможно существуют и другие характеристики, компенсирующие отсутствие оптимального контекста стартового кодона.

Программа, предсказывающая наличие шпилечной структуры ниже AUG кодона:

**AUG\_hairpin:** program for prediction of a downstream hairpin potentially increasing initiation of translation at start AUG codon in a suboptimal context.

[http://wwwmgs.bionet.nsc.ru/mgs/programs/aug\\_hairpin/](http://wwwmgs.bionet.nsc.ru/mgs/programs/aug_hairpin/)



# Результат работы программы AUG\_hairpin: предсказание шпилечной структуры ниже AUG кодона

[http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/programs/aug\\_hairpin/](http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/programs/aug_hairpin/)

## AUG\_hairpin: program for prediction of a downstream hairpin potentially increasing initiation of translation at start AUG codon in a suboptimal context.

It has been experimentally shown that a downstream hairpin in certain positions with respect to start codon could compensate in part for the suboptimal AUG context (Kozak, 1990; see Tutorial for details). Basing on this observation, AUG\_hairpin program predicts the stem-loop structures whose 5'-borders are located within the critical region (from 11th to 18th nucleotides by default; the borders can be adjusted)

[Tutorial](#)

Enter nucleotide sequence of 5'-untranslated region (preferably 10 nucleotides upstream the start AUG codon; do not include AUG).  
Notes: (plain sequence or FASTA-format may be used; no gaps are allowed; only a,t,g,c symbols may be used).

aaa

Выберите файл | Файл не выбран

Enter the 5'-end segment of a nucleotide sequence of a protein coding region (~100 nucleotides starting from the start AUG codon)

augugcugacguuuacugggaaaggaccscaauauggggaccscauagcgcgcgacuggaucgscsugauaucscaugc

Выберите файл | Файл не выбран

Min position for hairpin start:

12

Max position for hairpin start (<= 30):

18

Detect only perfect helices:

Max bulge or interior loop size if imperfect helices are allowed:

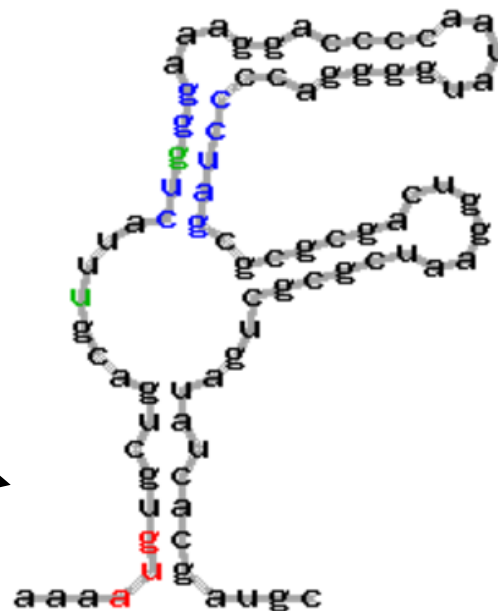
1

ENTER | Clear

Energy of secondary structure = -26.8 kcal/mol

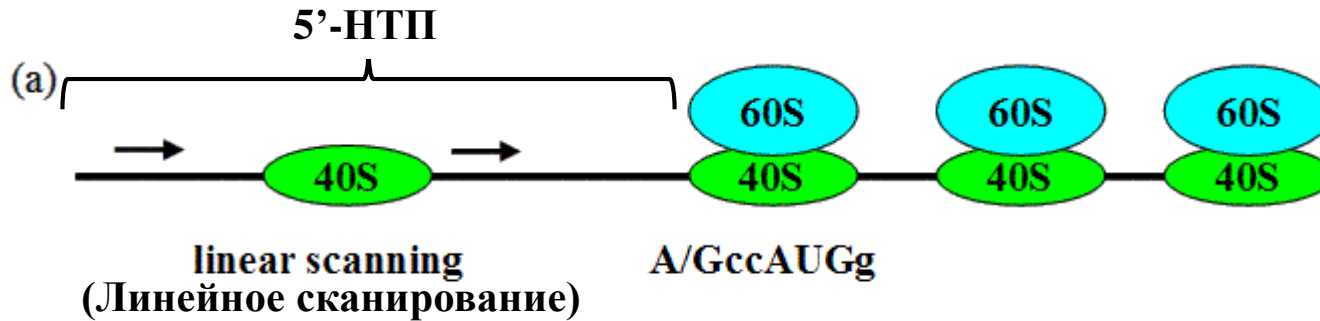
Position of Hairpin start: 16

Energy of double strands in Hairpin: -6.8 kcal/mol

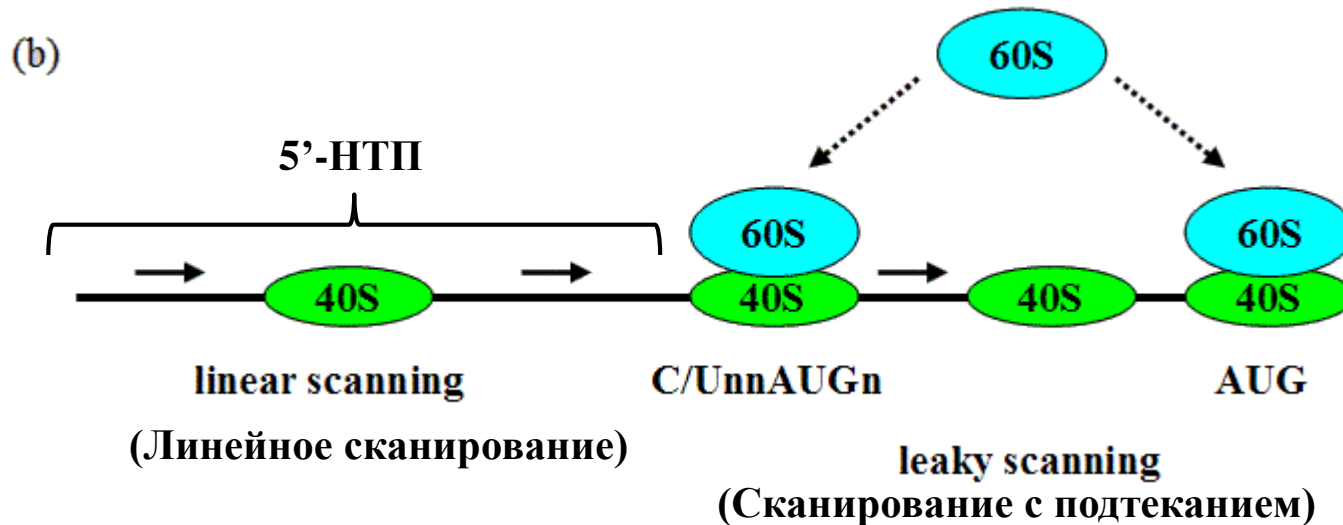


# Линейное сканирование и линейное сканирование с подтеканием

Инициация трансляции осуществляется при наличии AUG кодона в окружении оптимального контекста (у млекопитающих - NNNPuNNAUGG (Pu = А либо G))



А также инициация трансляции возможна с добавочных AUG кодонов при наличии других контекстных характеристик, способствующих задержке инициаторного комплекса



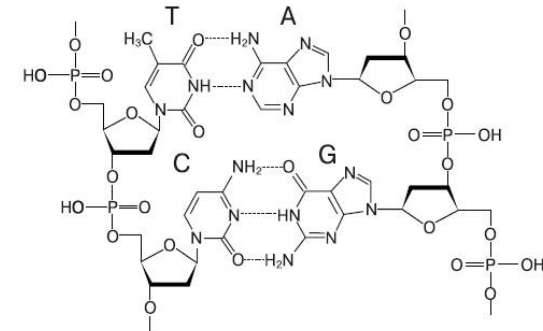
Если контекст первого кодона AUG не оптимален, часть 40S субъединиц рибосом его распознает и иницирует на нем трансляцию. Однако, некоторые рибосомы его пропускают (не распознают в качестве сайта инициации), продолжают сканирование мРНК далее в 3'-направлении могут и иницировать трансляцию на следующем кодоне AUG. Этот механизм получил название leaky scanning (что можно перевести как «сканирование с подтеканием») (Kozak, 2005; Кочетов, 2006)

# Контекстные характеристики лидерной последовательности мРНК (5'-НТП), влияющие на эффективность трансляции

## Дополнительные факторы, влияющие на эффективность трансляции:

- Длина 5'-НТП: Слишком короткое расстояние между кэпом и AUG кодоном (менее 10-15 нуклеотидов) снижает вероятность распознавания AUG кодона 40S субъединицей рибосомы. Увеличение длины (если это не приводит к возникновению стабильных шпилечных структур) повышает эффективность трансляции. Однако, чрезмерно длинные 5'-НТП, как правило принадлежат мРНК с низкой эффективностью трансляции

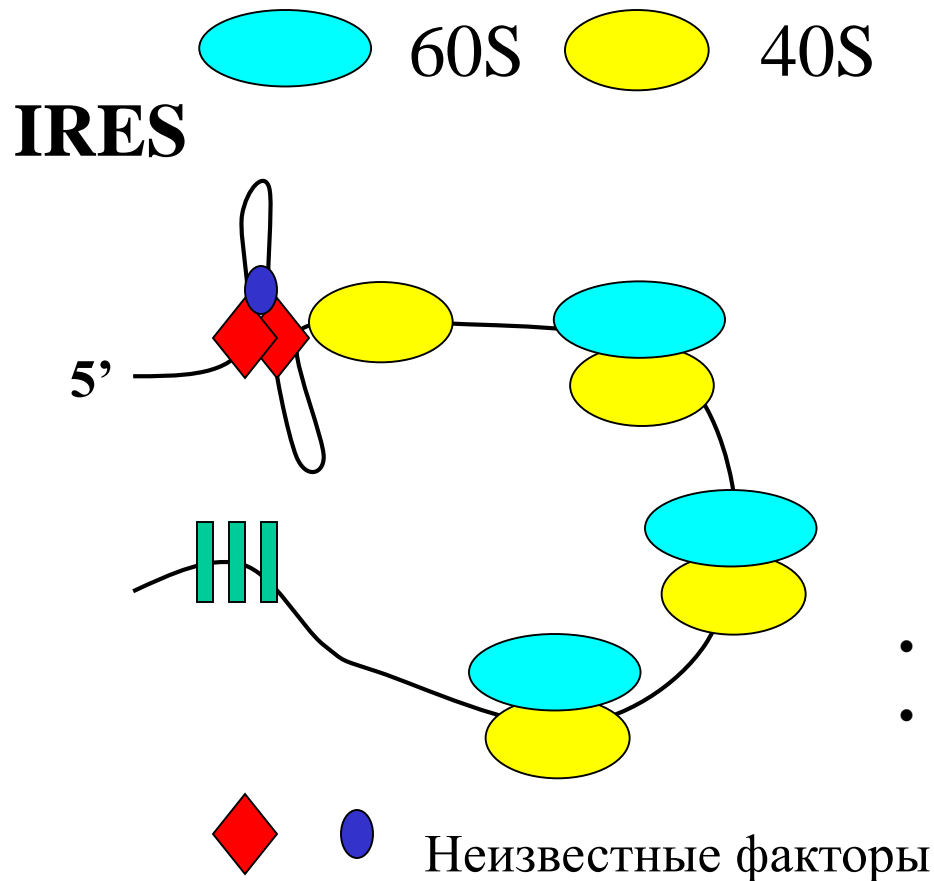
- Высокий уровень GC% в 5'-НТП при прочих равных условиях обеспечивает стабильность вторичных структур и таким образом коррелирует с низкой эффективностью трансляции [Kochetov A.V. et al., 1998]



- Наличие internal ribosome entry sites (IRES)

Kochetov A.V., Ischenko IV, Vorobiev DG, Kel AE, Babenko VN, Kisselev LL, Kolchanov NA. Eukaryotic mRNAs encoding abundant and scarce proteins are statistically dissimilar in many structural features. FEBS Lett. 1998 Dec 4;440(3):351-5.

# IRES (internal ribosome entry site) = - участок внутренней посадки рибосомы.



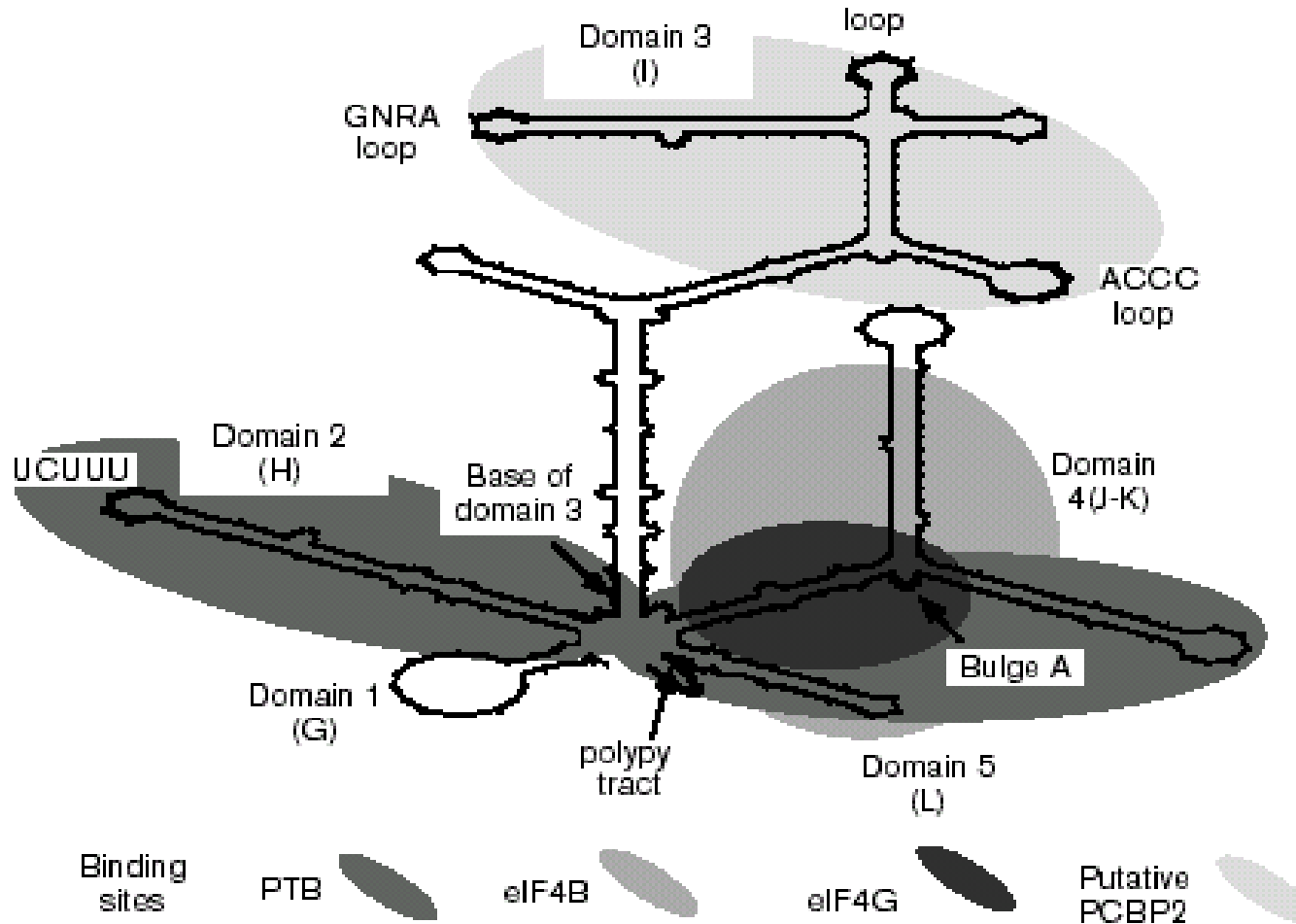
IRES - регуляторные мотивы мРНК, задействованные в кэп-независимом механизме инициации трансляции, при котором рибосома связывается с мРНК в области этих мотивов в 5'-нетранслируемой области недалеко от сайта инициации трансляции

Первая публикация в Pubmed про вирус энцефаломиокардита (encephalomyocarditis virus = EMCV) [Genes Dev. 1990 Sep;4(9):1560-72].

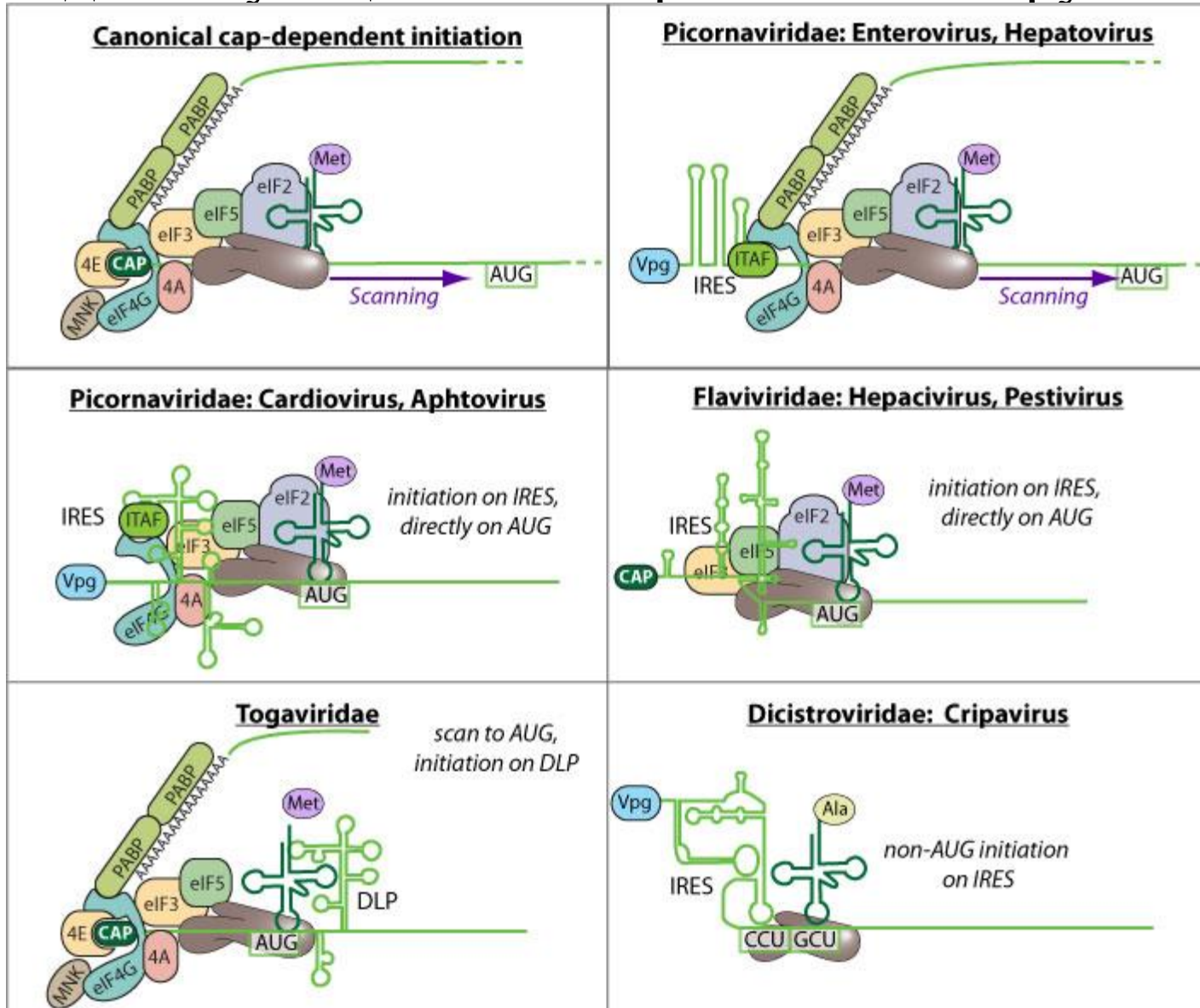
К сентябрю 2009 г. было известно 115 клеточных (у дрожжей, растений и других высших эукариот) и 68 вирусных IRES.

- мРНК не содержит кэпа
- 40S связывается не с 5'-концом мРНК

- Модель IRES EMCV (вирус энцефаломиокардита = encephalomyocarditis virus)



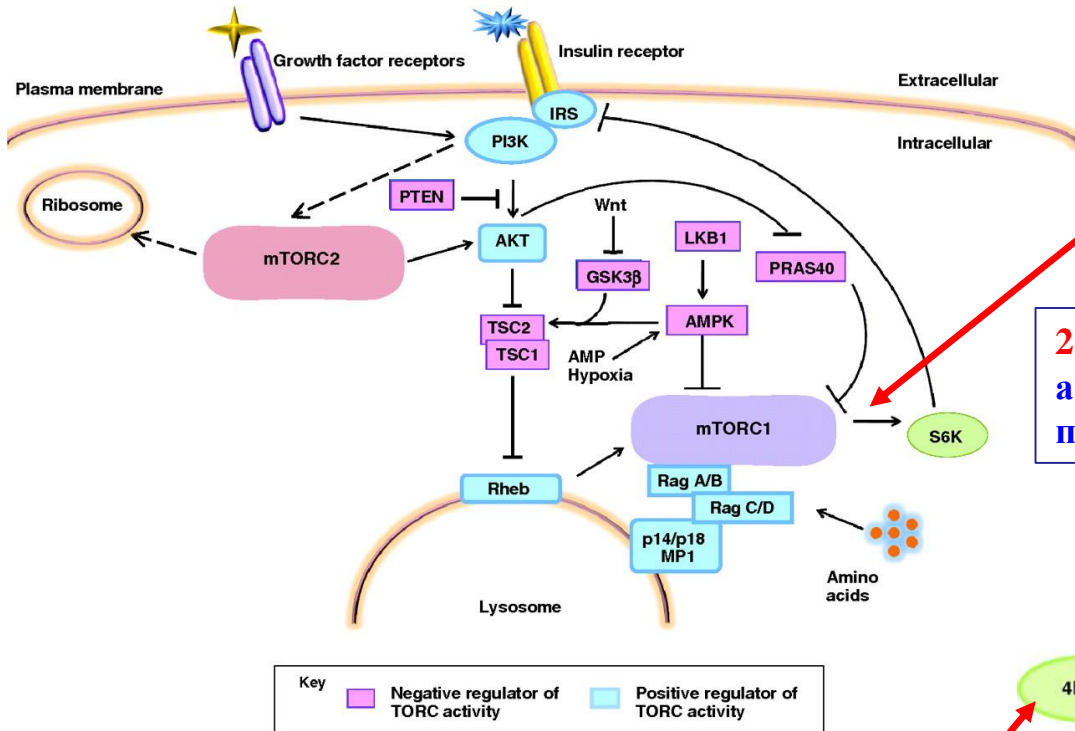
# Состав и структура белковых комплексов, взаимодействующих с IRES различных вирусов



Каков биологический смысл существования альтернативного способа инициации трансляции с участием IRES ??

- Экспрессия белка с мРНК при участии IRES не подвержена общим регуляторным механизмам, управляющим трансляцией большинства мРНК

# Общий контроль интенсивности трансляции при участии mTOR сигнального пути

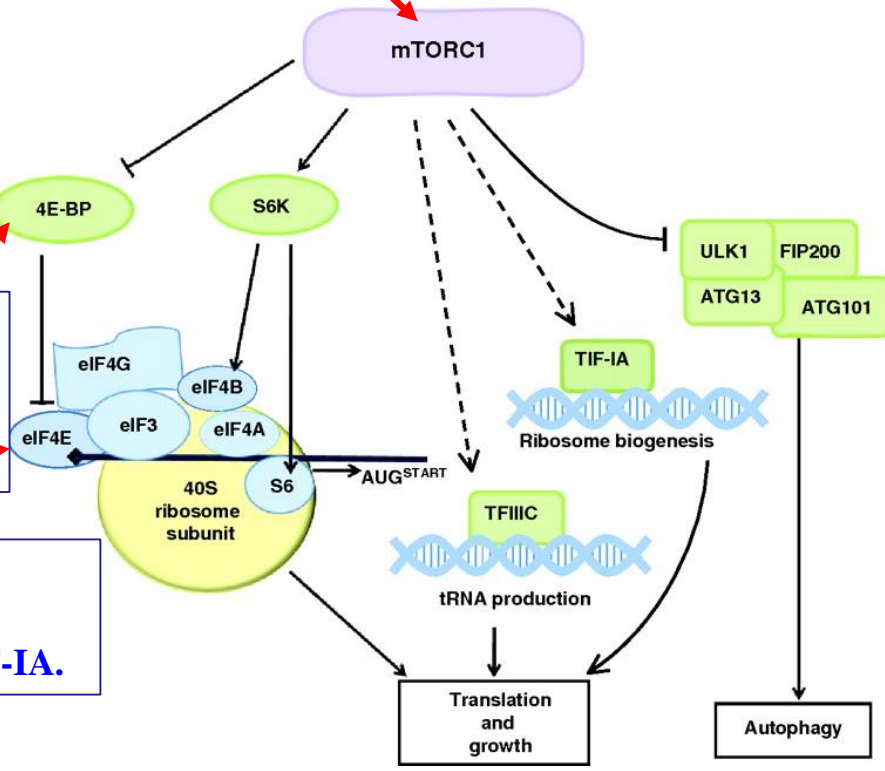


1. mTOR (=mechanistic target of rapamycin) – протеин киназа, которая активируется в ответ на воздействие ростовыми факторами и инсулином

2. Далее, mTOR посредством влияния на активность факторов инициации трансляции повышает интенсивность трансляции

3. mTORC1 фосфорилирует ингибиторный белок 4E-BP (eIF4E-binding protein). Фосфорилирование 4E-BP нарушает его связывание с фактором eIF4E. Таким образом eIF4E становится свободным и активным.

4. Представлены также и другие механизмы влияния mTORC1 на трансляционную машину (eIF4B, S6K = ribosomal S6 kinase), а также на активность TFIIIC и TIF-IA.



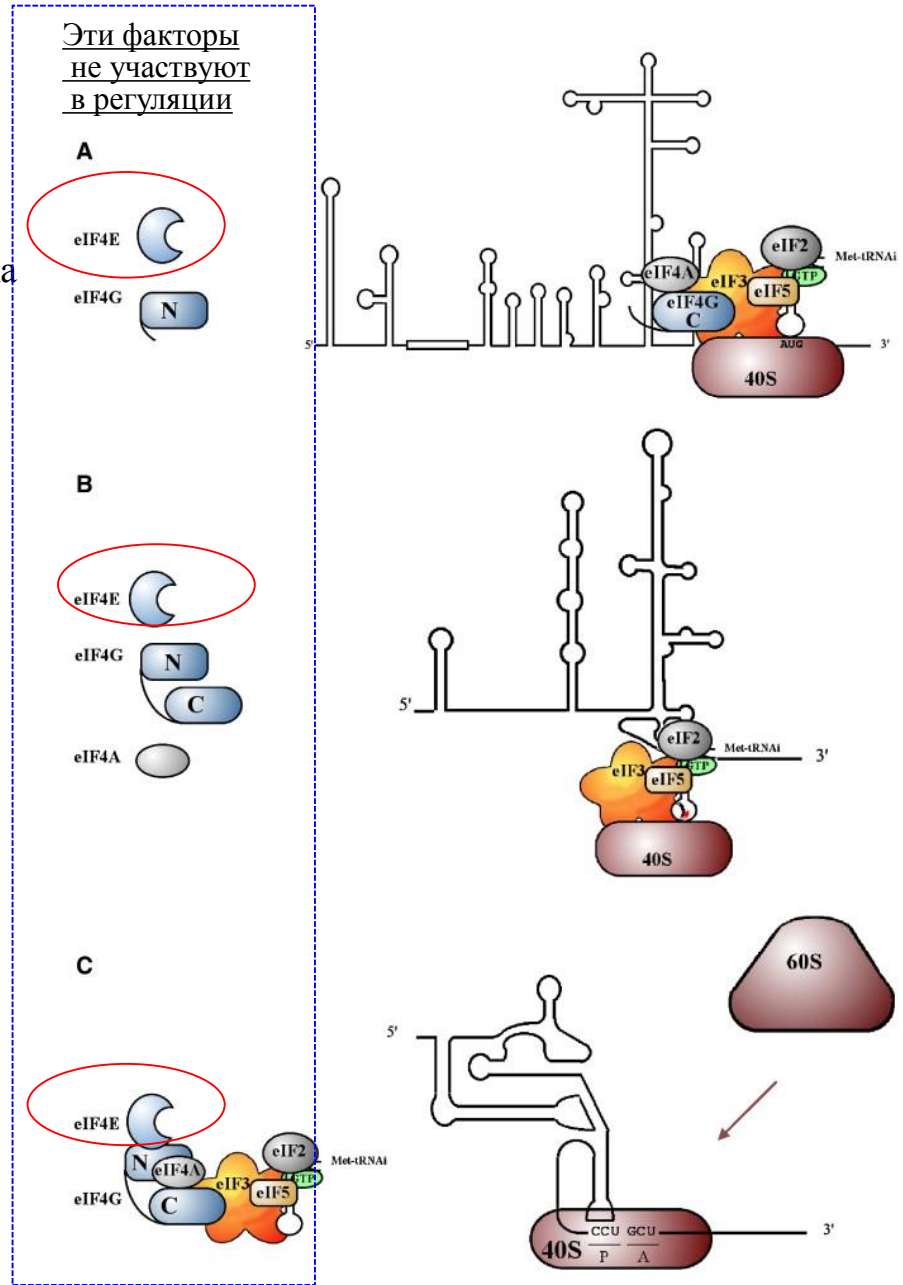


# Состав и структура белковых комплексов, взаимодействующих с IRES различных вирусов

(A) Most viral IRESes including Picornaviruses and Lentiviruses. Участвуют почти все канонические факторы инициации (за исключением eIF4E и белка Nt из eIF4G).

(B) Flaviviral/pestiviruses IRES. Участвуют eIF5, eIF2 and eIF3 Не участвуют eIFs 4F/4A/4B/1/1A

(C) Dicistrovirus IGR IRESes. IRES длиной 200 нуклеотидов способен контактировать с 40S субъединицей и присоединять 80S субъединицу без участия факторов инициации



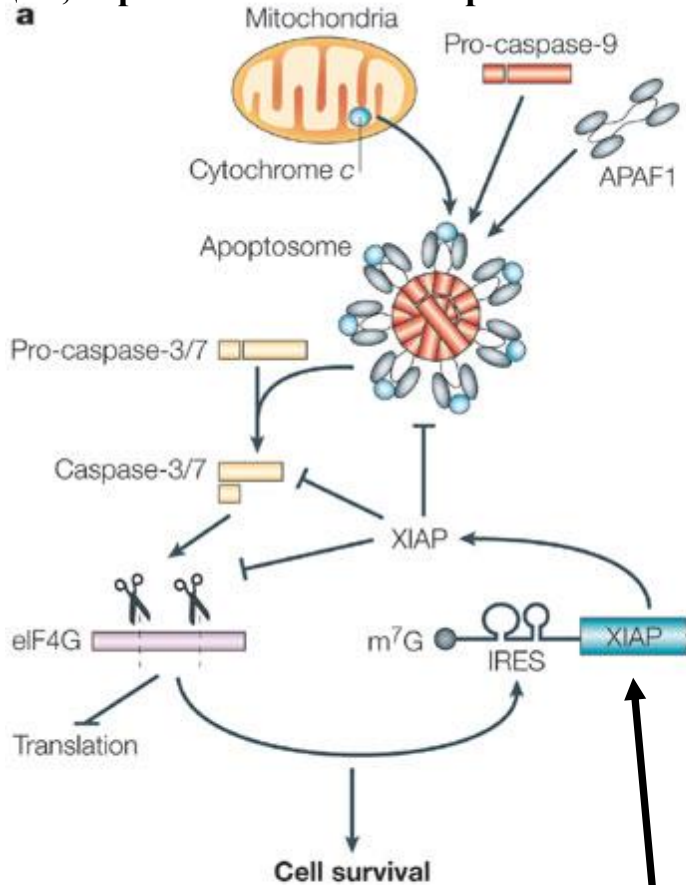
# Трансляция при участии IRES и регуляция апоптоза.

**XIAP** – ингибитор апоптоза,

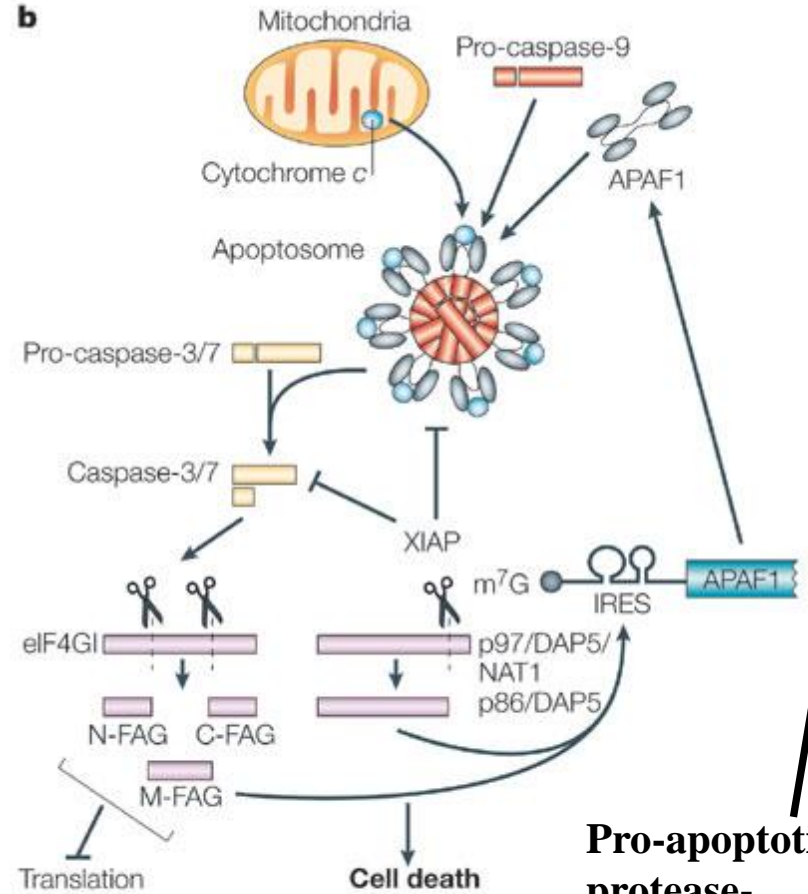
Активируется такими стрессовыми факторами как недостаток питательных веществ, низкие дозы радиации, обработка клеток интерлейкином 6

**APAF1** – индуктор апоптоза,

активируется этопозидом (цитостатик, ингибитор топоизомеразы II)



**X-chromosome-linked inhibitor of apoptosis**



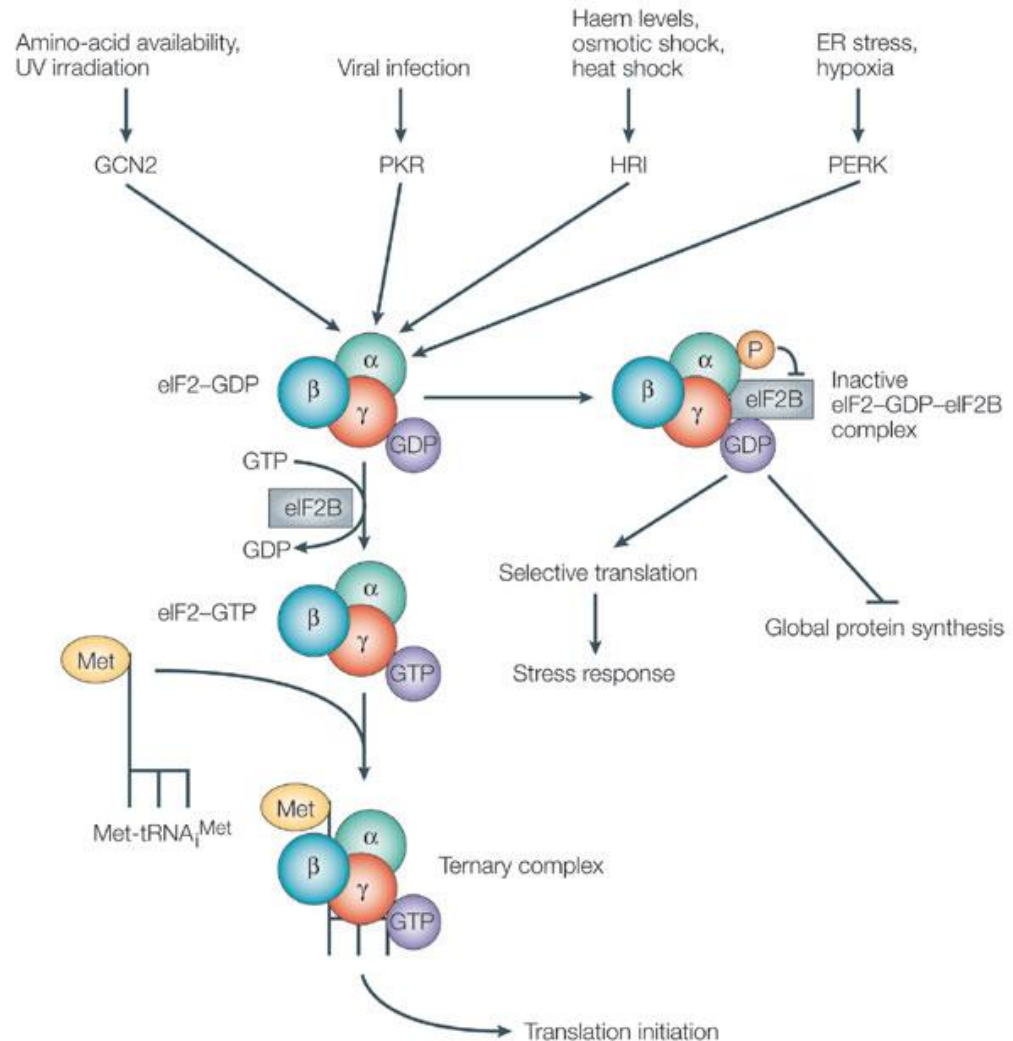
**Pro-apoptotic protease-activating factor-1**

Разные механизмы и белки участвуют во взаимодействии с IRES

Соответственно, активация трансляции XIAP и APAF1 приводит к противоположным эффектам на апоптоз

# Роль IRES в эукариотических клетках

- Инициация трансляции со слабых (нестандартных) AUG кодонов
- Экспрессия генов в условиях, когда кэп-зависимая инициация трансляции подавляется стрессом, определённой стадией клеточного цикла или апоптоза. (Гены, чьи мРНК содержат IRES — с-Мус, ARAF1, Bcl-2)

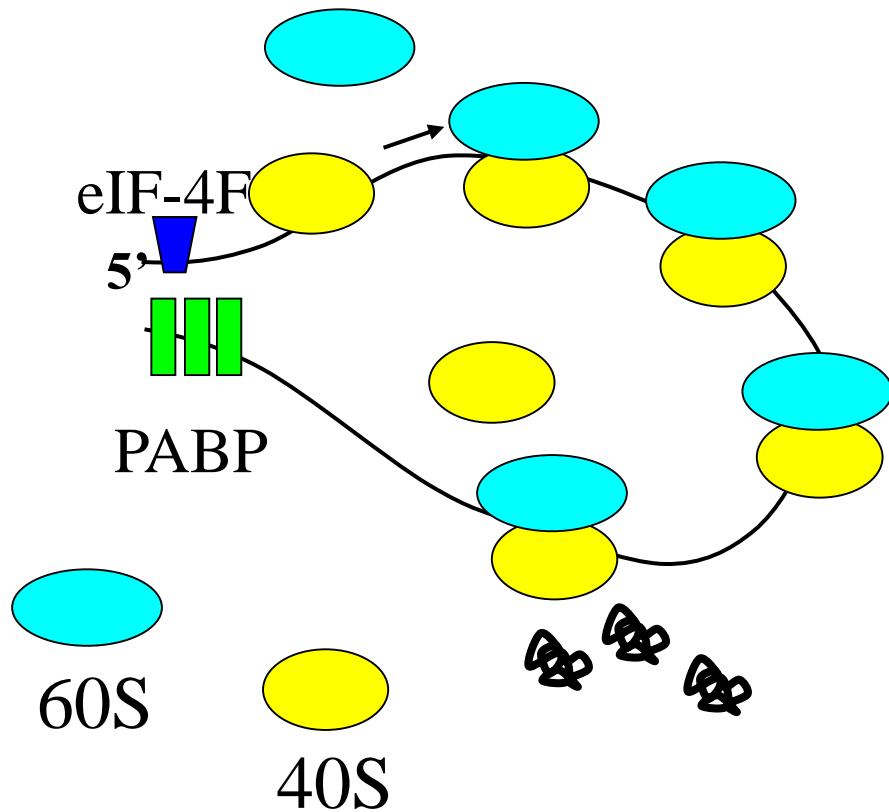


.....Методы предсказания IRES пока не разработаны и существующие ресурсы в области биоинформатики представлены только базами данных:

- IRESdb (<http://ifr31w3.toulouse.inserm.fr/IRESdatabase/>, в настоящее время недоступна) и
- IRESite (<http://www.iresite.org>)

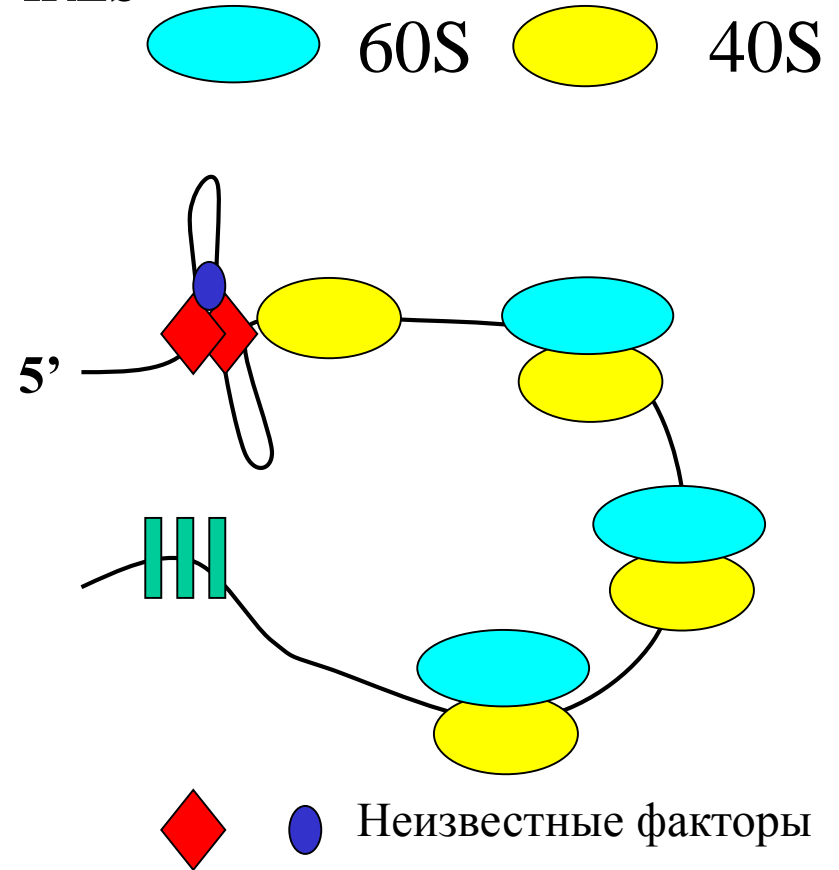
# Основные механизмы инициации трансляции эукариотических мРНК

## Модель “линейного сканирования”



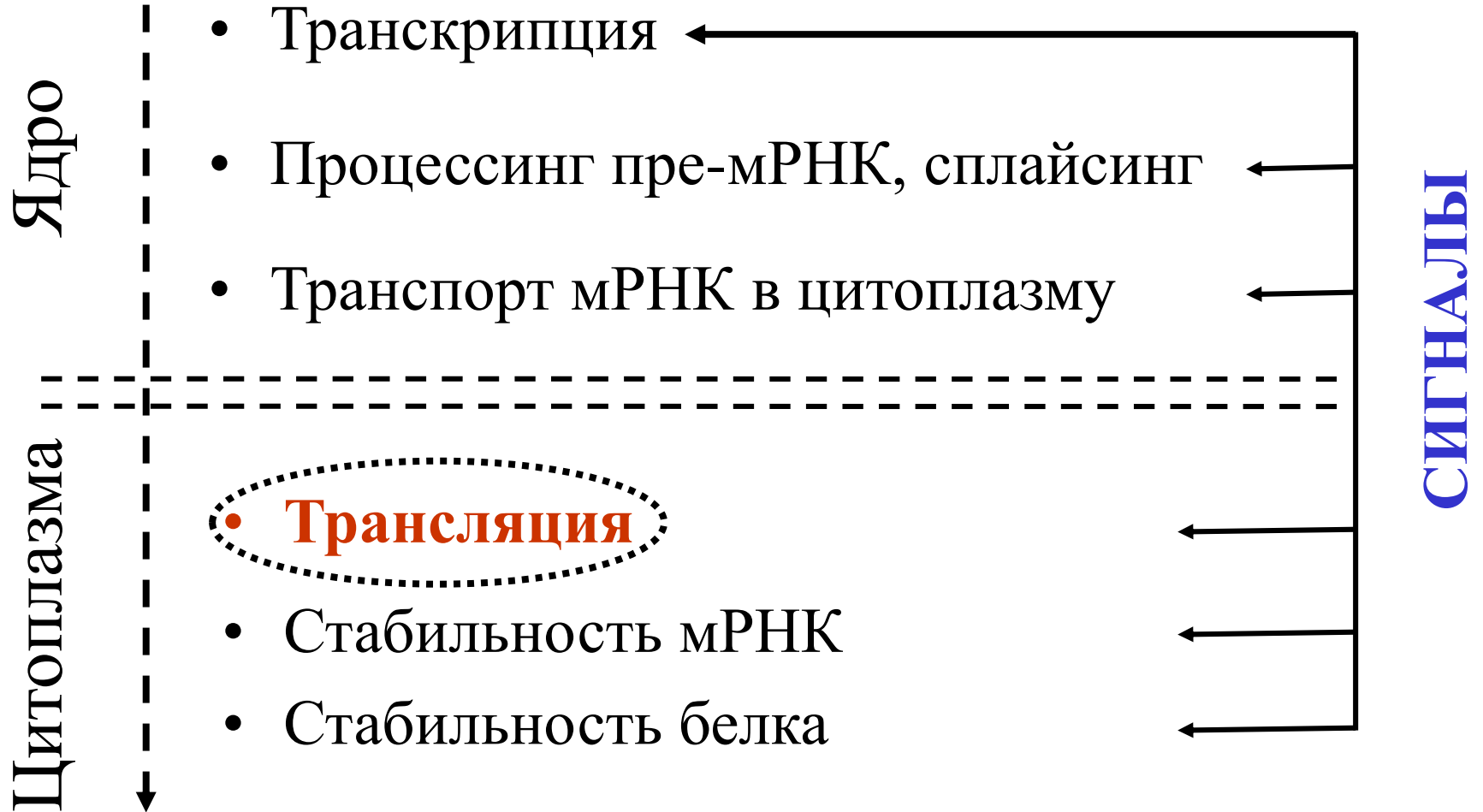
- Участие кепы и поли(А)-хвоста
- Расплетенный 5' UTR
- Роль контекста AUG кодона (-3,+4 позиции)

## IRES

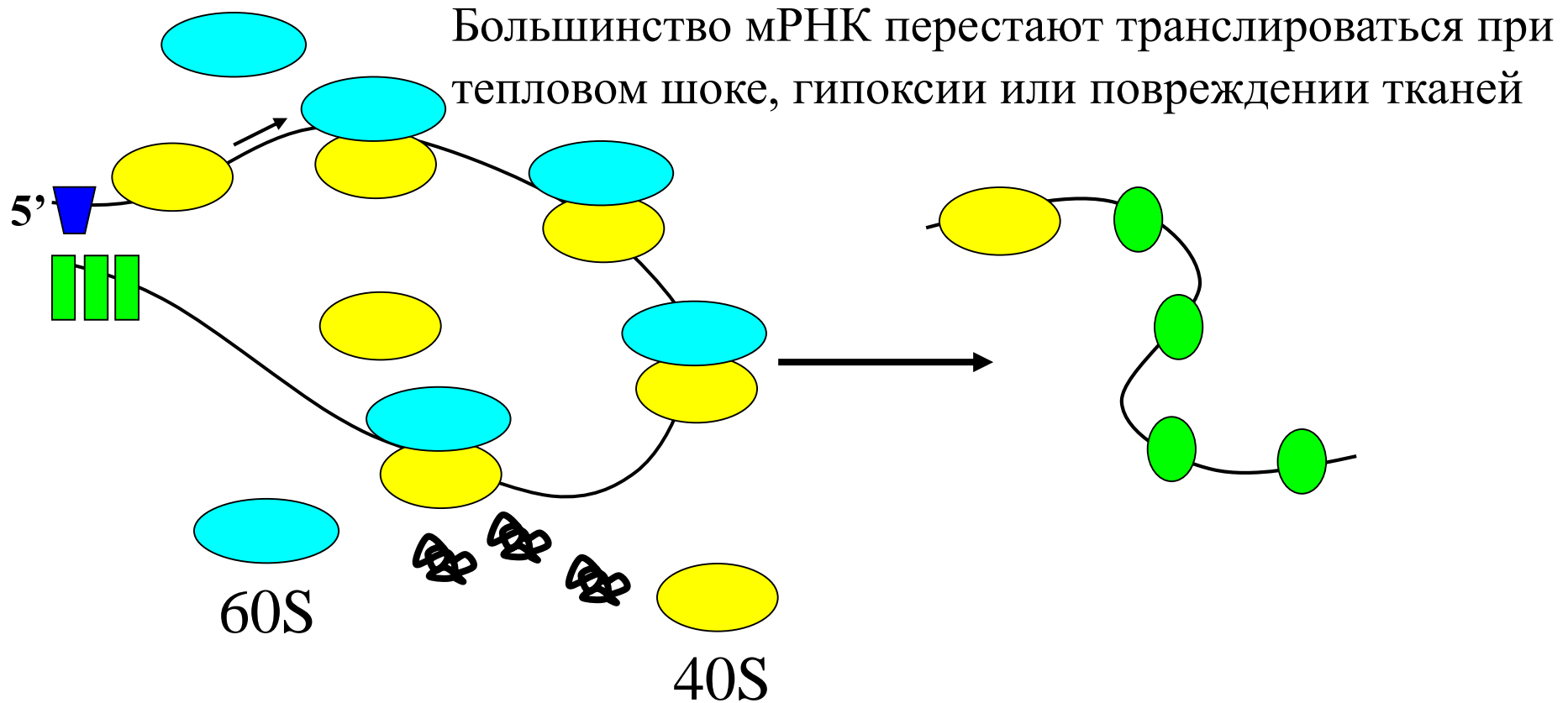


- мРНК не содержит кепы
- 40S связывается не с 5'-концом мРНК

# Контроль экспрессии генов в клетках эукариот

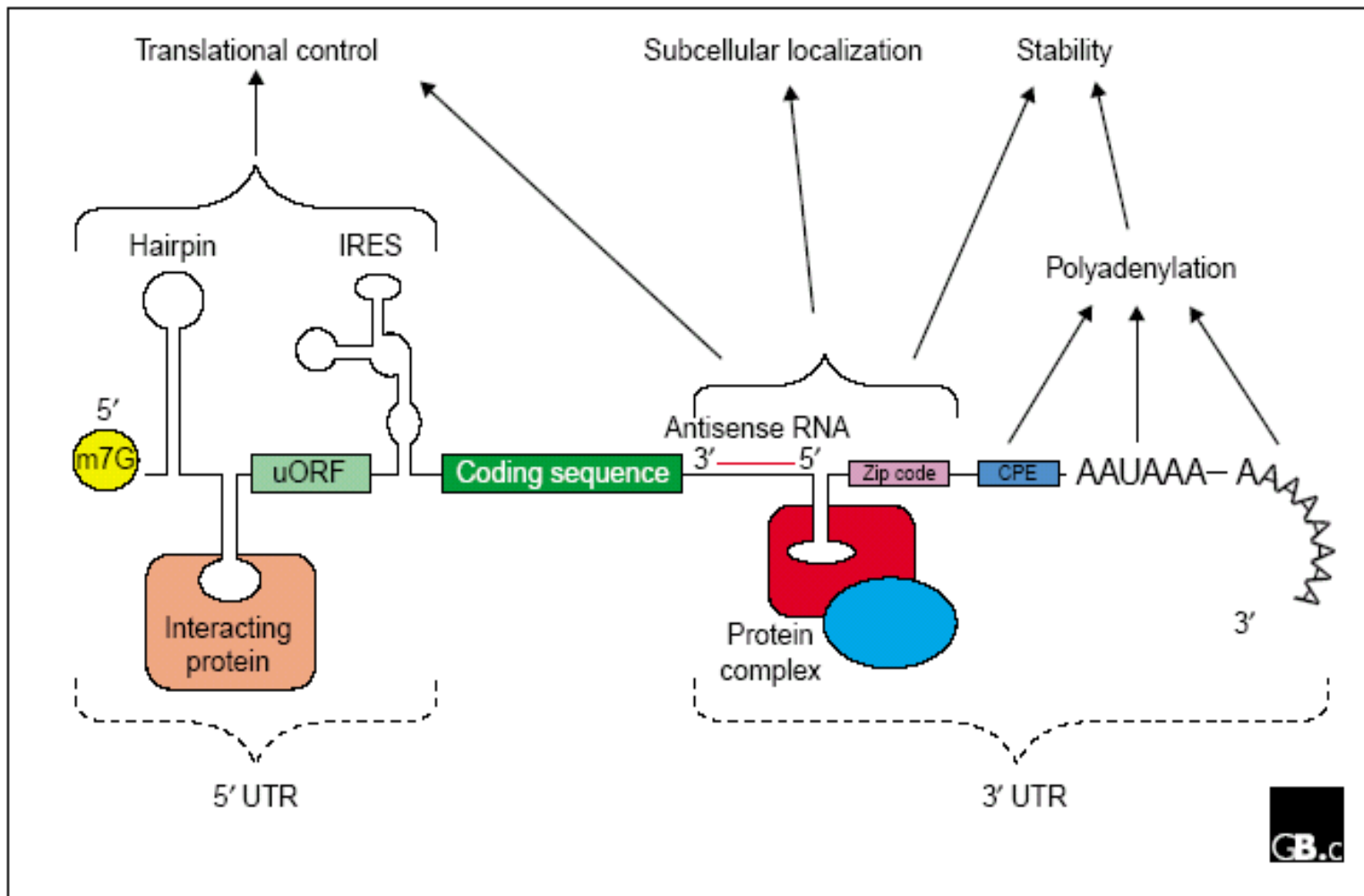


# Существуют стресс-, стадие- и ткане-специфические регуляторы трансляции и цитоплазматической стабильности мРНК



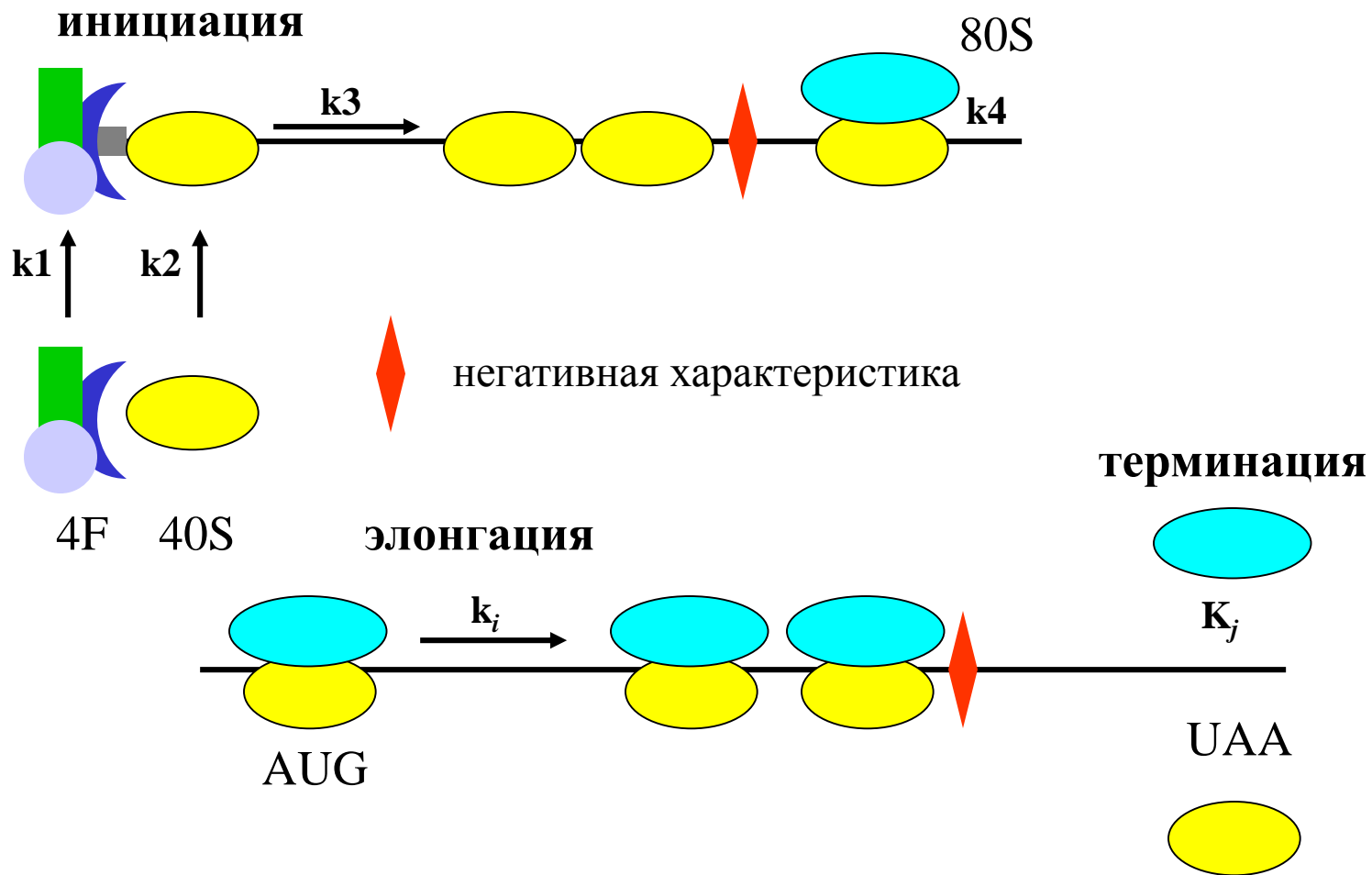
Интенсивная трансляция мРНК некоторых генов продолжается и при стрессе

# мРНК эукариот часто содержат специфические сигналы экспрессии



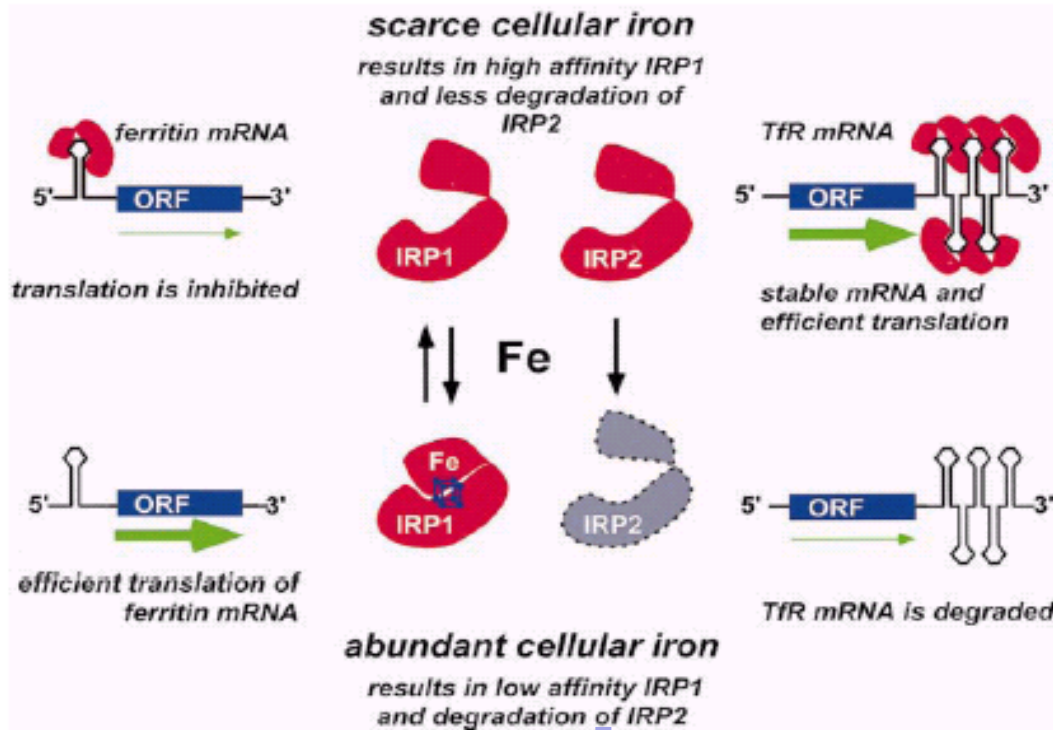


# Активность мРНК различна и определяется совокупной эффективностью разных этапов процесса трансляции



# Координированная регуляция экспрессии генов ферритина и рецептора трансферрина (*TfR*) через регуляцию трансляции с участием iron-responsive elements (IREs) и белков IRP1 and IRP2

IRP1 и IRP2 = iron regulatory proteins, их активность регулируется (ингибируется) железом.

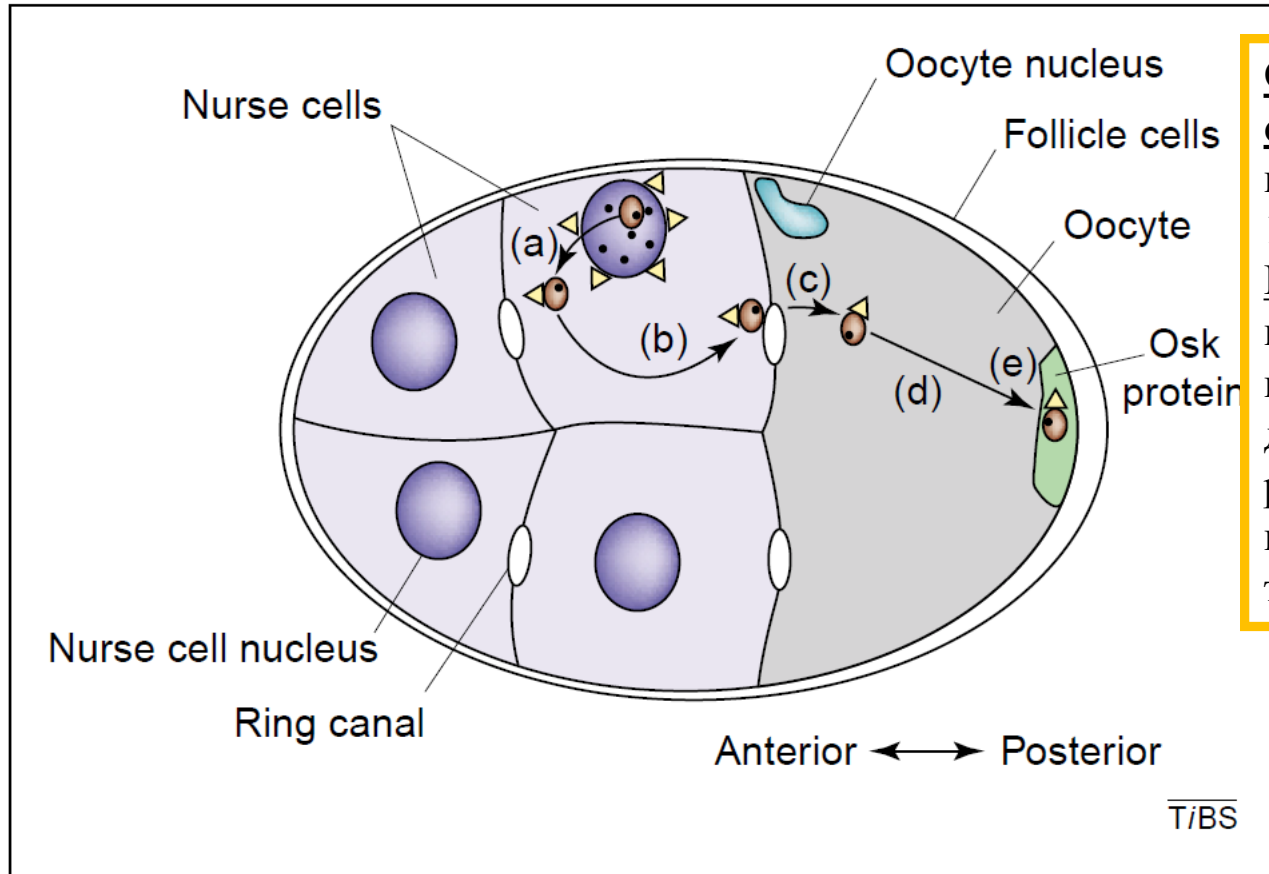


5'-НТП мРНК **ферритина** содержит один регуляторный элемент IRE (=iron-responsive element). При низком уровне железа белок IRP1 свободен (от ионов железа) и может взаимодействовать с элементом IRE в 5'-НТП мРНК ферритина. Это взаимодействие ингибирует трансляцию ферритина. При высоком уровне железа белок IRP1 взаимодействует с ионами железа и поэтому не может взаимодействовать с 5' IRE в мРНК ферритина. Трансляция ферритина активируется

3'-НТП мРНК **рецептора трансферрина** (*TfR*) содержит пять регуляторных элементов IRE (=iron-responsive element). При низком уровне железа один или несколько белков взаимодействуют с элементами IREs в 3'-НТП мРНК рецептора трансферрина. Это взаимодействие стабилизирует мРНК *TfR* и активирует трансляцию рецептора трансферрина. При высоком уровне железа белок IRP2 деградирует. 3'-НТП мРНК *TfR* остается свободной, что ускоряет деградацию мРНК. Активность трансляции снижается.

# Эукариотические мРНК могут содержать сигналы, определяющие их расположение в клетке

Wilkie et al., Trends Biochem. Sci., 2003, 28: 182-188



**Ооцит дрозофилы на стадии 9.** Для простоты показаны только четыре из 15 питающих клеток. Ген *Oskar* транскрибируется в клетках-кормилках, подвергается сплайсингу и далее в составе рибонуклеопротеиновых комплексов транспортируется в ооцит.

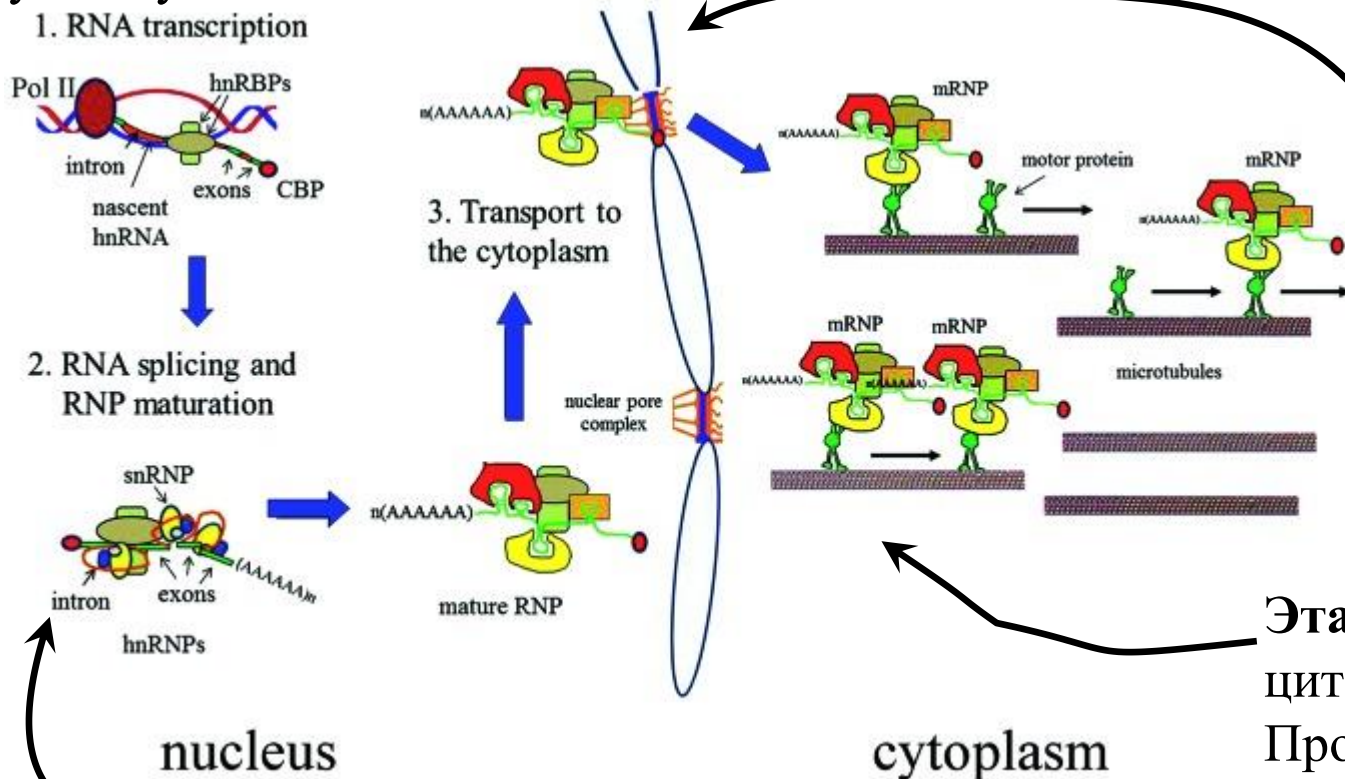
Примеры ситуаций, когда транспорт мРНК хорошо изучен и очень важен:

- 1) Ооцит дрозофилы, мРНК гена *Oskar*
- 2) Нервные клетки (транспорт по аксонам, дендритам)

См. след. слайды

# Пост-транскрипционные события в жизни мРНК

**Этап 1.** Транскрипция – незрелые гетерогенные первичные транскрипты (nascent heterogeneous nuclea (hnRNA)) образуют комплексы с РНК-связывающими белками (RBPs). Некоторые из этих белков в дальнейшем участвуют в сплайсинге.

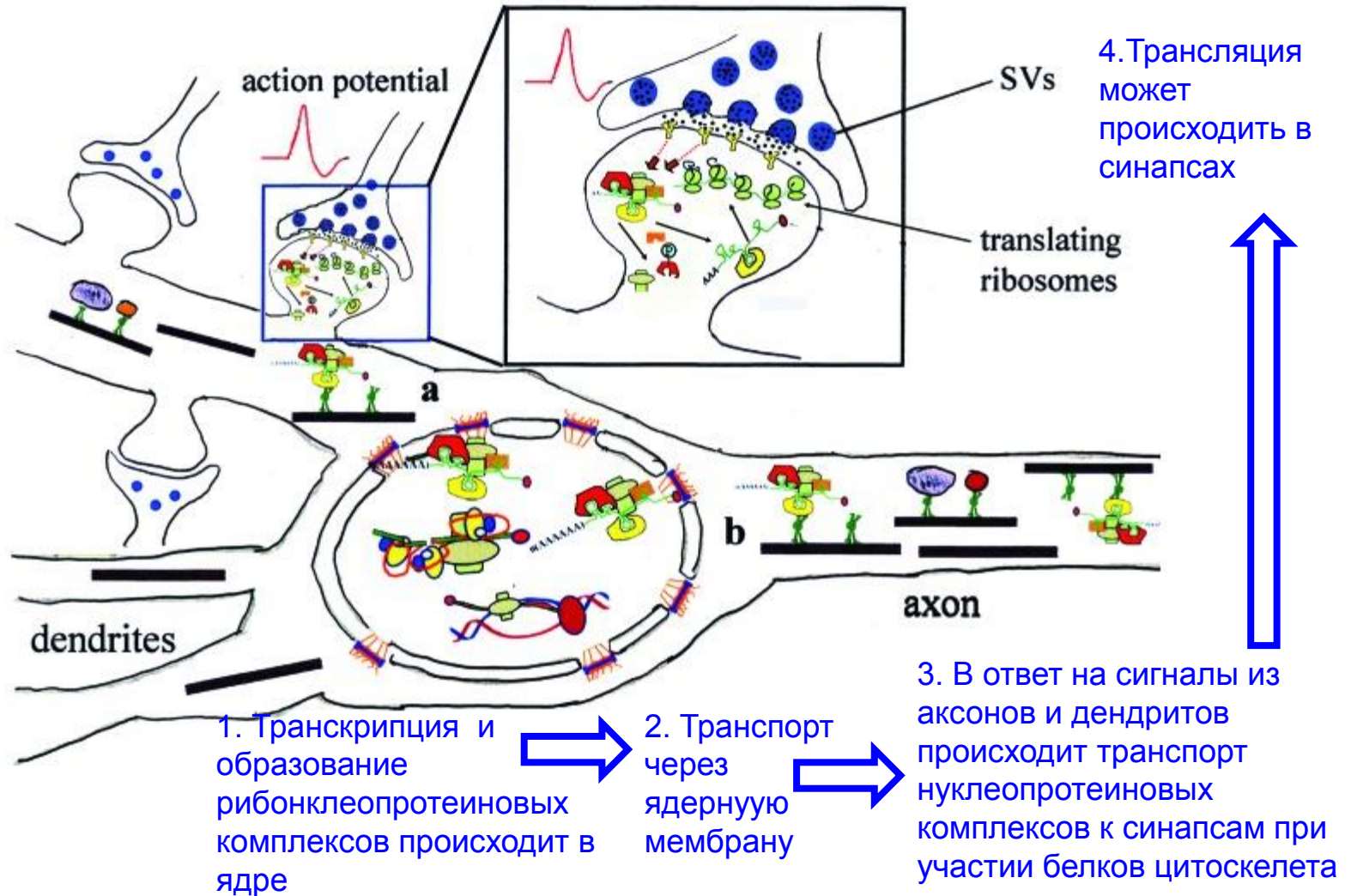


**Этап 3.** Транспорт в цитоплазму при участии белков ядерных пор.

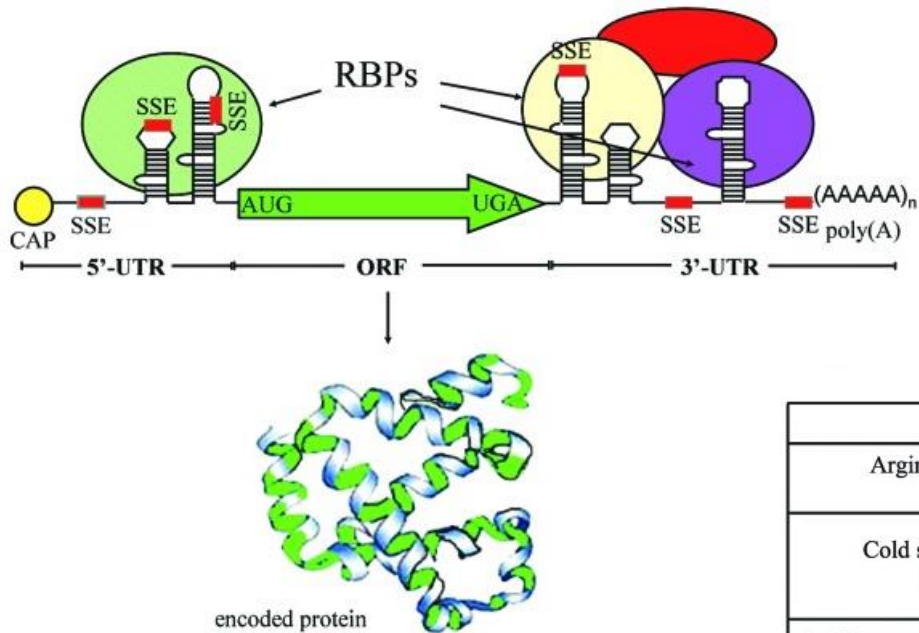
**Этап 4.** Транспорт по цитоплазме. Происходит благодаря взаимодействию РНП частиц с белками микротрубочек (молекулярный мотор)

**Этап 2.** Сплайсинг – вырезание интронов и образование зрелой мРНК, которая находится в составе РНК-белковых частиц (RNP = РНП), готовых к транспорту в цитоплазму.

# Транспорт мРНК в нейроне



# Связывание мРНК с регуляторными, структурными и транспортными белками происходит, преимущественно в 5'- и 3'- НТП



Белки опознают вторичную/третичную структуру РНК, а также мотивы первичной последовательности РНК (simple sequence elements = SSE).

Best known RNA-binding domains

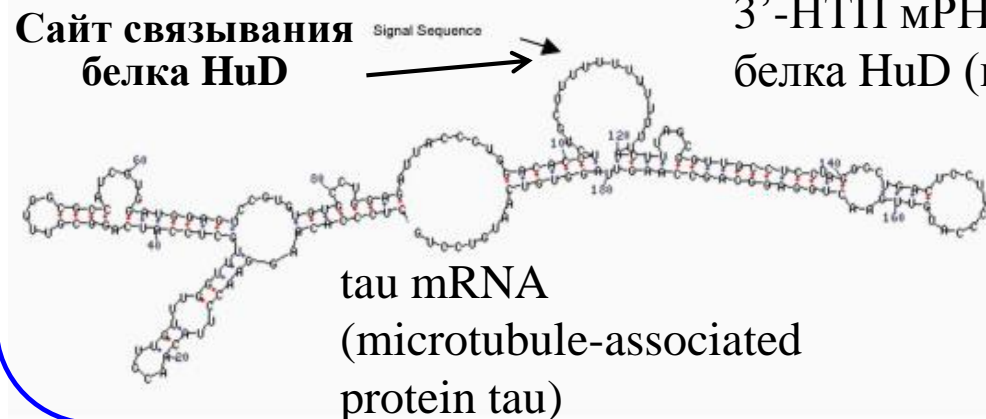
Name	Secondary structure	Examples
Arginine-Rich Motif (ARM)	Three kinds of structures: β-hairpin, α-helix, helix bend helix	hnRNP K hnRNP U
Cold shock domain (CSD)	five-stranded anti-parallel β-barrel with an oligonucleotide/oligosaccharide-binding fold	YB-1, CRHSP-24, CSDC2 (PIPPin)
double-stranded RNA binding motif (dsRBM)	αβββ topology	Staufen Drosha
hnRNP K homology (KH) domain	type I, eukaryotic: βααββ topology type II, prokaryotic: αββααβ topology	hnRNP K FMRP Nova1
RNA Recognition Motif (RRM) or RNA binding domain (RBD) or Ribonucleoprotein domain (RNP)	β <sub>1</sub> α <sub>1</sub> β <sub>2</sub> β <sub>3</sub> α <sub>2</sub> β <sub>4</sub> : forming a four-stranded beta sheet packed against two alpha helices	Msi1 Elav/Hu PABP CPEB
Zinc finger domain (ZnF)	ββα protein fold in which a β hairpin and an α helix are pinned together by a Zn ion. Classified depending on the amino acids that interact with Zn ion in: CCHH, CCCH or CCCC	Hzf100 (CCHH) TTP (CCCH) MKRN1 (CCCH)

# Теоретическое предсказание вторичных структур, участвующих в локализации мРНК в аксонах нервных клеток

**Известно:**

Белок HuD содержится в составе транспортных РНП частиц и защищает мРНК от разрушения.

3'-НТП мРНК белка tau содержит сайт связывания белка HuD (последовательность, богатая уридинами).



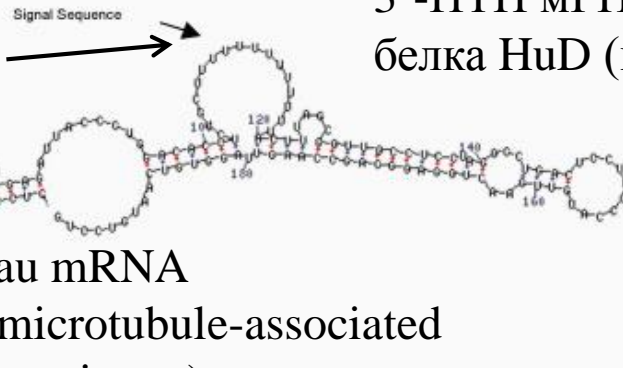
# Теоретическое предсказание вторичных структур, участвующих в локализации мРНК в аксонах нервных клеток

**Известно:**

Белок HuD содержится в составе транспортных РНП частиц и защищает мРНК от разрушения.

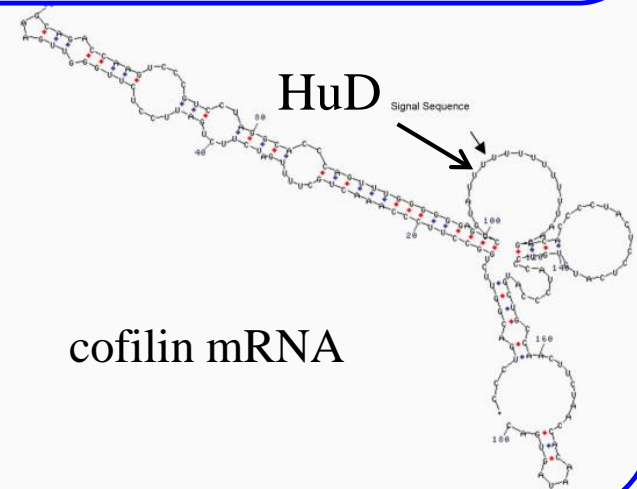
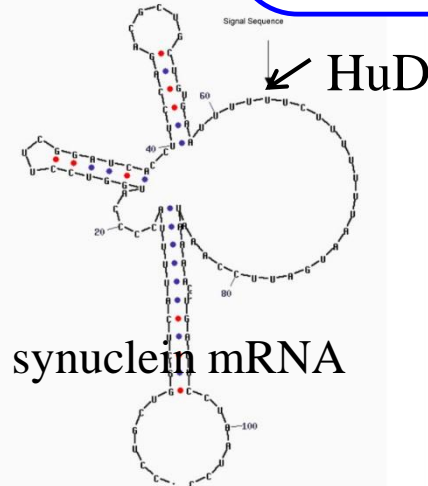
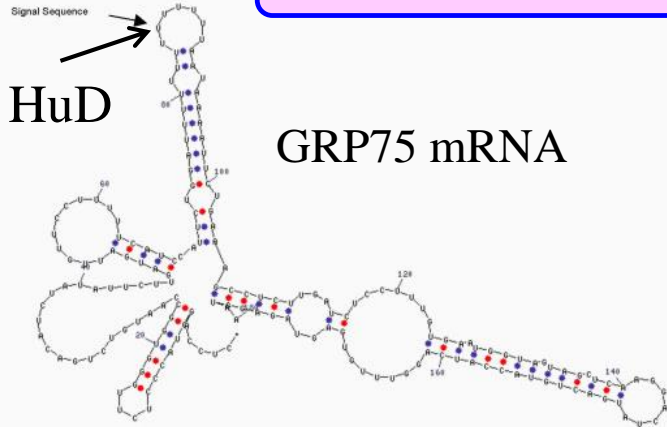
3'-НТП мРНК белка tau содержит сайт связывания белка HuD (последовательность, богатая уридинами).

Сайт связывания  
белка HuD



Выравнивание 3'-НТП мРНК белков, экспрессирующихся в мозге, выявило уридин-богатые участки, а компьютерное предсказание вторичной структуры позволило предсказать сайты связывания белка HuD

**Предсказано:**

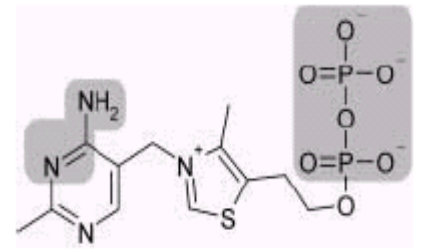
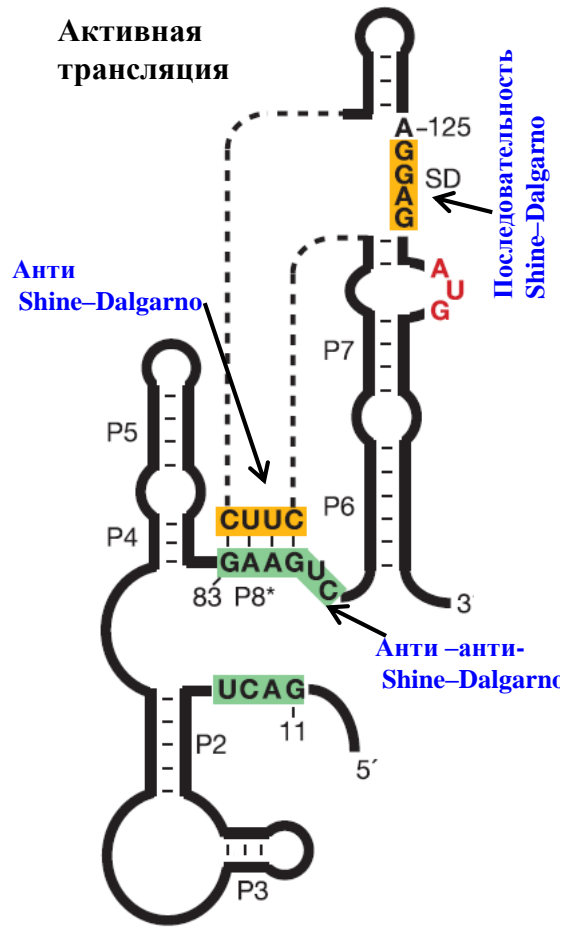




# Рибопереключателъ ("RiboSwitch"): сенсорная структура в составе РНК, взаимодействующая с метаболитами, и регулирующая трансляционную активность

Пример: тиаминпирофосфатный (ТРР) рибопереключателъ в 5'-нетранслируемой последовательности мРНК гена *thiM* (Hydroxyethylthiazole kinase) у *E. coli*.

Ген *thiM* кодирует фермент, участвующий в синтезе ТРР



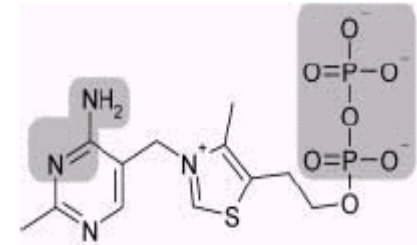
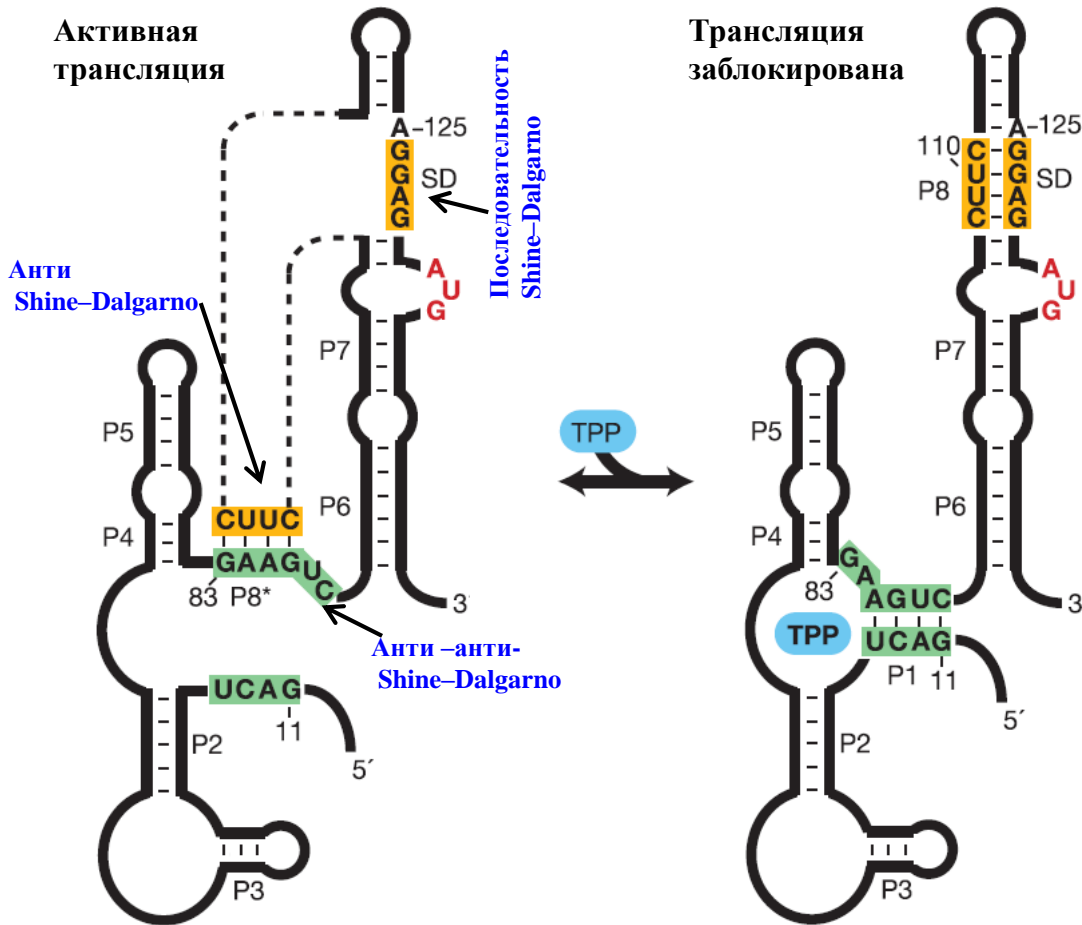
ТРР (thiamine pyrophosphate) = витамин В1

Winkler W, Nahvi A, Breaker RR Thiamine derivatives bind messenger RNAs directly to regulate bacterial gene expression. Nature. 2002 Oct 31;419(6910):952-6. .

# Рибопереключателъ ("RiboSwitch"): сенсорная структура в составе РНК, взаимодействующая с метаболитами, и регулирующая трансляционную активность

Пример: тиаминпирофосфатный (TPP) рибопереключателъ в 5'-нетранслируемой последовательности мРНК гена *thiM* (Hydroxyethylthiazole kinase) у *E. coli*.

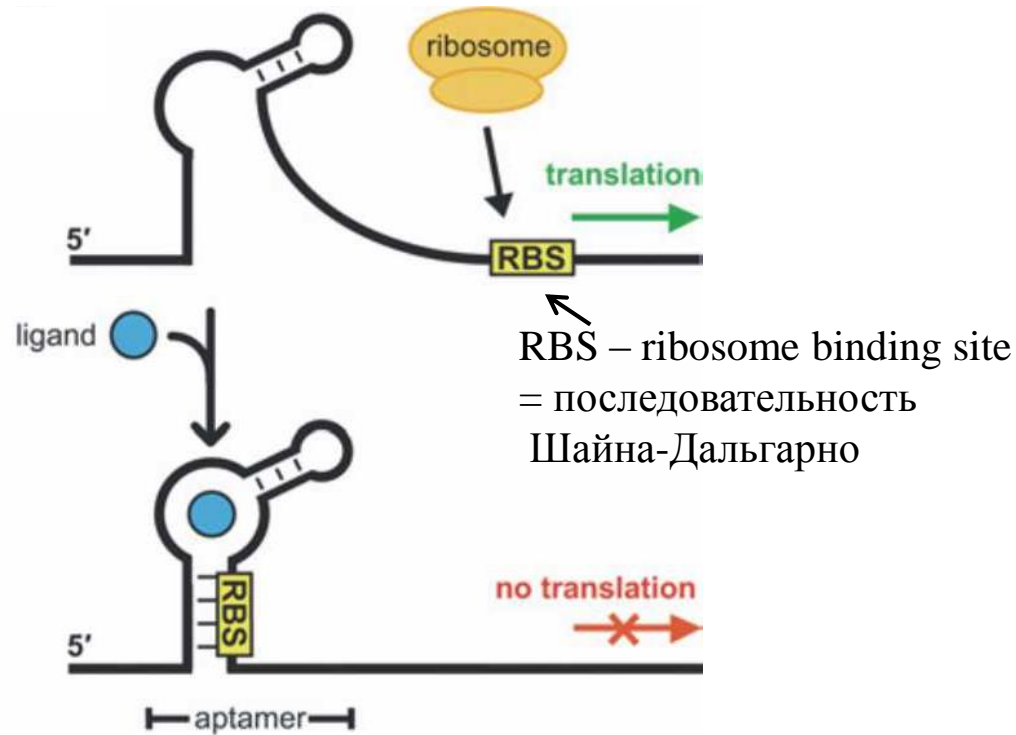
Ген *thiM* кодирует фермент, участвующий в синтезе TPP



TPP (thiamine pyrophosphate) = vitamin B1

В присутствии TPP образуется вторичная структура, включающая стебель P1. При этом задействована часть последовательности anti-anti-SD. Создается условие для формирования стебля P8. Контакт рибосомы с последовательностью SD становится невозможным. Трансляция подавляется.

# Общая схема строения рибопереключателя в 5'-НТП



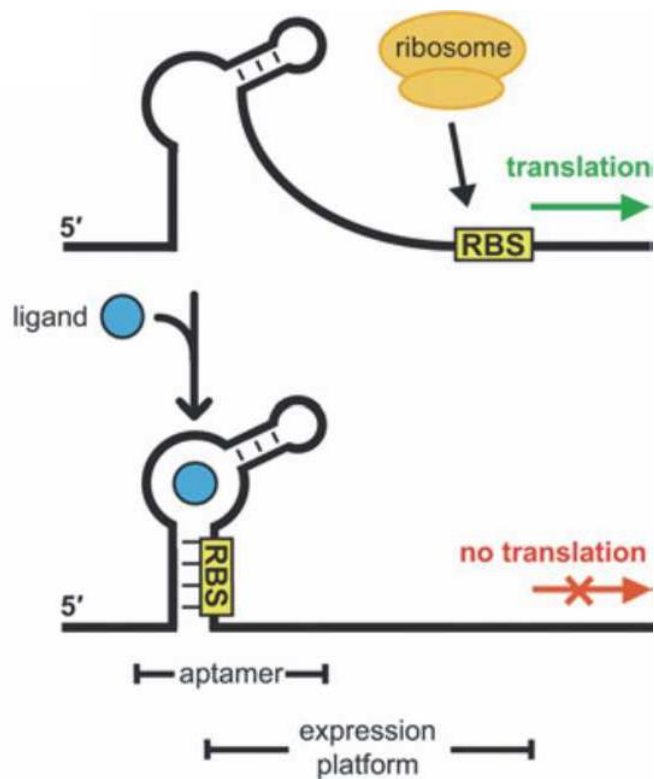
Аптамерный домен,  
осуществляет распознавание  
лиганда и связывание с ним

Платформа экспрессии (*expression platform*), взаимодействует с белками трансляции.

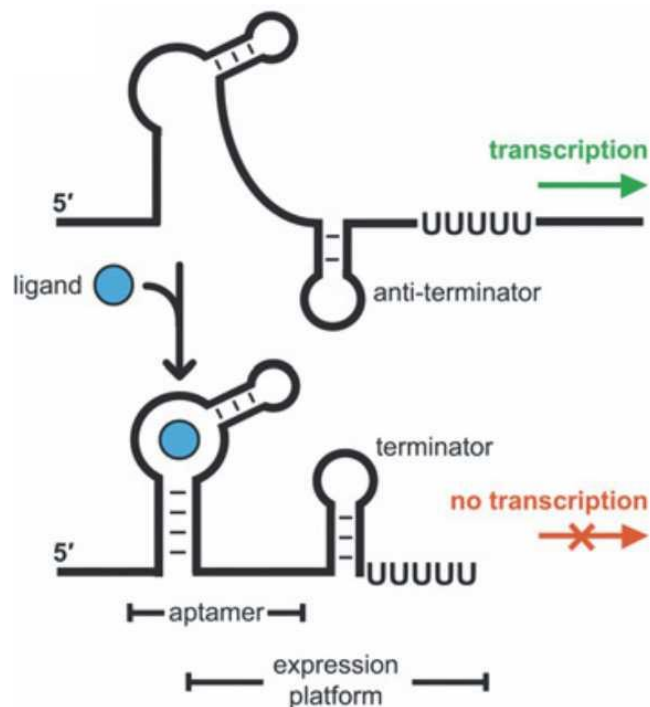
Переключающая последовательность  
– участок перекрывания аптамерного домена и платформы экспрессии. Отвечает за сворачивание РНК в две взаимноисключающие вторичные структуры, за счёт чего и осуществляется регуляция.

# Две модели функционирования рибопереключателя

Локализация в 5'-НТП:  
ингибирование инициации трансляции



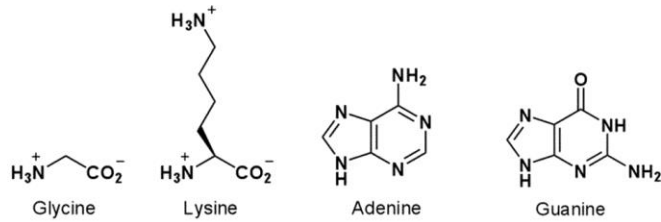
Локализация ниже старта  
транскрипции: преждевременная  
терминация транскрипции



Транскрипция останавливается, когда только что синтезированная молекула РНК формирует стебель-петлю, за которой расположено несколько урацилов, что приводит к отсоединению молекулы РНК от матрицы ДНК (ро-независимый механизм)

# Примеры лигандов, регулирующих структуру рибопереключателя.

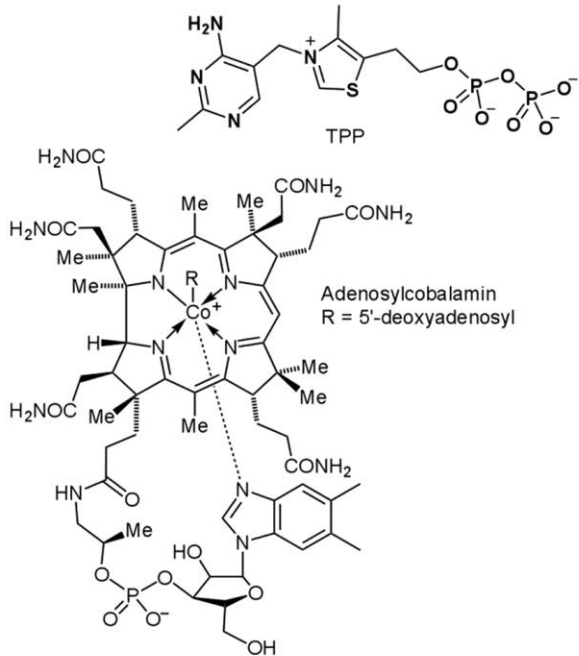
A



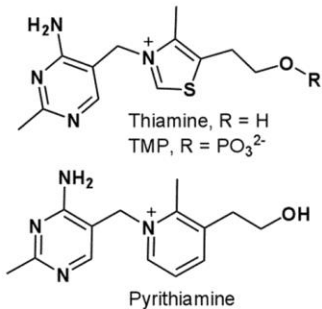
Пурины и их производные, коферменты белков и родственные соединения, аминокислоты и фосфорилированные сахара металлы (ионы  $Mg^{2+}$ ), которые притягиваются к отрицательно заряженному сахарофосфатному остову РНК и к отрицательно заряженным анионам фтора

У бактерий выявлено по меньшей мере 15 метаболитов, регулирующих структуру рибопереключателей (наиболее простой – глицин, наиболее сложный – витамин  $B_{12}$ ).

Рибопереключатели, регулируемые TPP (thiamine pyrophosphate= витамин  $B_1$ ) найдены у грибов (*Aspergillus nidulans*, *Neurospora crassa*), высших растений (*Arabidopsis thaliana*), зеленых водорослей (*Chlamydomonas reinhardtii*).



B



# TRANSIG - БАЗА ДАННЫХ трансляционных сигналов

<http://wwwmgs.bionet.nsc.ru/mgs/dbases/trsig/index.html>

**TRANSIG: База данных трансляционных энхансеров**

- Главная
- Содержание
- Описание
- Как искать
- Линки
- Благодарности
- Контакты

## Обзор

База данных посттранскрипционных сигналов экспрессии TRANSIG (TRanslational SIGnals) предназначена для подбора сигналов, обеспечивающих дополнительный контроль экспрессии трансгена на уровне трансляции. К числу таких сигналов можно отнести трансляционные энхансеры. База данных содержит структурированную информацию о локализованных в МРНК трансляционных энхансерах, которые контролируют экспрессию генов эукариот на посттранскрипционном уровне.

Заполнение базы данных TRANSIG проводится путем аннотации научных публикаций.

Описание потенциального сигнала экспрессии в базе TRANSIG включает разностороннюю информацию: (1) тип энхансера (например, стресс-специфический), (2) организм; (3) нуклеотидные последовательности, содержащие потенциальные сигналы, с которыми проводили эксперименты; (4) первичные экспериментальные данные (относительная активность сигнал-содержащих нуклеотидных последовательностей в эксперименте, описание параметров эксперимента и ссылка на источник данных (статью)); (5) дополнительные характеристики потенциальных сигналов (полноразмерные варианты сигнал-содержащих экспериментальных МРНК, ссылки на базу данных нуклеотидных последовательностей).

База TRANSIG реализована на платформе SRS (Sequence Retrieval System) и состоит из двух слинкованных таблиц OBJECT и ENHANCER, содержащих информацию об исходных МРНК и трансляционных энхансерах. Интерфейс SRS позволяет пользователю использовать гибкую систему запросов для получения разносторонней информации о потенциальных сигналах экспрессии.

[TRANSIG\\_OBJECT](#)  
[TRANSIG\\_ENCHANCER](#)

# Типы данных в базе TRANSIG

- (1) тип энхансера (например, стресс-специфический),
- (2) организм;
- (3) нуклеотидные последовательности, содержащие потенциальные сигналы, с которыми проводили эксперименты;
- (4) первичные экспериментальные данные (относительная активность сигнал-содержащих нуклеотидных последовательностей в эксперименте, описание параметров эксперимента и ссылка на источник данных (статью));
- (5) дополнительные характеристики потенциальных сигналов (полноразмерные варианты сигнал-содержащих экспериментальных мРНК, ссылки на базу данных нуклеотидных последовательностей).

## Информационное содержание базы TRANSIG

68 энхансеров из 20 различных организмов

# TRANSIG – возможность поиска с помощью стандартного поисковика системы SRS

<b>Status</b>	The current release has 58 entries and was indexed 03-Nov-2015.																																																																																																														
<b>Data-fields in SRS</b>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Name</th> <th>Short Name</th> <th>Type</th> <th>No of Keys</th> <th>No of Entry References</th> <th>Indexing Date</th> <th>Status</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td><a href="#">Id</a></td><td><a href="#">id</a></td><td>id</td><td>58</td><td>58</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">Location</a></td><td><a href="#">loc</a></td><td>index</td><td>5</td><td>59</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">Type</a></td><td><a href="#">typ</a></td><td>index</td><td>12</td><td>61</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">QC</a></td><td><a href="#">qc</a></td><td>index</td><td>80</td><td>676</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">OS</a></td><td><a href="#">os</a></td><td>index</td><td>23</td><td>59</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">Gene</a></td><td><a href="#">gene</a></td><td>index</td><td>36</td><td>64</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">Cap</a></td><td><a href="#">cap</a></td><td>index</td><td>3</td><td>57</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">PolyA</a></td><td><a href="#">pla</a></td><td>index</td><td>4</td><td>56</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">Sequence</a></td><td><a href="#">sq</a></td><td>show</td><td>0</td><td>0</td><td></td><td>not indexed</td></tr> <tr><td><a href="#">CommentSeq</a></td><td><a href="#">csq</a></td><td>index</td><td>157</td><td>602</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">Keywords</a></td><td><a href="#">key</a></td><td>index</td><td>37</td><td>186</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">Comment</a></td><td><a href="#">cc</a></td><td>index</td><td>753</td><td>4235</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">Link_enh</a></td><td><a href="#">lnk_enh</a></td><td>index</td><td>68</td><td>68</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">Link</a></td><td><a href="#">lnk</a></td><td>index</td><td>32</td><td>37</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> </tbody> </table>	Name	Short Name	Type	No of Keys	No of Entry References	Indexing Date	Status	<a href="#">Id</a>	<a href="#">id</a>	id	58	58	03-Nov-2015	ok	<a href="#">Location</a>	<a href="#">loc</a>	index	5	59	03-Nov-2015	ok	<a href="#">Type</a>	<a href="#">typ</a>	index	12	61	03-Nov-2015	ok	<a href="#">QC</a>	<a href="#">qc</a>	index	80	676	03-Nov-2015	ok	<a href="#">OS</a>	<a href="#">os</a>	index	23	59	03-Nov-2015	ok	<a href="#">Gene</a>	<a href="#">gene</a>	index	36	64	03-Nov-2015	ok	<a href="#">Cap</a>	<a href="#">cap</a>	index	3	57	03-Nov-2015	ok	<a href="#">PolyA</a>	<a href="#">pla</a>	index	4	56	03-Nov-2015	ok	<a href="#">Sequence</a>	<a href="#">sq</a>	show	0	0		not indexed	<a href="#">CommentSeq</a>	<a href="#">csq</a>	index	157	602	03-Nov-2015	ok	<a href="#">Keywords</a>	<a href="#">key</a>	index	37	186	03-Nov-2015	ok	<a href="#">Comment</a>	<a href="#">cc</a>	index	753	4235	03-Nov-2015	ok	<a href="#">Link_enh</a>	<a href="#">lnk_enh</a>	index	68	68	03-Nov-2015	ok	<a href="#">Link</a>	<a href="#">lnk</a>	index	32	37	03-Nov-2015	ok					
Name	Short Name	Type	No of Keys	No of Entry References	Indexing Date	Status																																																																																																									
<a href="#">Id</a>	<a href="#">id</a>	id	58	58	03-Nov-2015	ok																																																																																																									
<a href="#">Location</a>	<a href="#">loc</a>	index	5	59	03-Nov-2015	ok																																																																																																									
<a href="#">Type</a>	<a href="#">typ</a>	index	12	61	03-Nov-2015	ok																																																																																																									
<a href="#">QC</a>	<a href="#">qc</a>	index	80	676	03-Nov-2015	ok																																																																																																									
<a href="#">OS</a>	<a href="#">os</a>	index	23	59	03-Nov-2015	ok																																																																																																									
<a href="#">Gene</a>	<a href="#">gene</a>	index	36	64	03-Nov-2015	ok																																																																																																									
<a href="#">Cap</a>	<a href="#">cap</a>	index	3	57	03-Nov-2015	ok																																																																																																									
<a href="#">PolyA</a>	<a href="#">pla</a>	index	4	56	03-Nov-2015	ok																																																																																																									
<a href="#">Sequence</a>	<a href="#">sq</a>	show	0	0		not indexed																																																																																																									
<a href="#">CommentSeq</a>	<a href="#">csq</a>	index	157	602	03-Nov-2015	ok																																																																																																									
<a href="#">Keywords</a>	<a href="#">key</a>	index	37	186	03-Nov-2015	ok																																																																																																									
<a href="#">Comment</a>	<a href="#">cc</a>	index	753	4235	03-Nov-2015	ok																																																																																																									
<a href="#">Link_enh</a>	<a href="#">lnk_enh</a>	index	68	68	03-Nov-2015	ok																																																																																																									
<a href="#">Link</a>	<a href="#">lnk</a>	index	32	37	03-Nov-2015	ok																																																																																																									
<b>Links</b>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>From Databank</th> <th>Entries Linked</th> <th>To Databank</th> <th>Entries Linked</th> <th>Links Total</th> <th>Indexing Date</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><a href="#">TRANSIG_OBI</a></td> <td><a href="#">58</a></td> <td><a href="#">TRANSIG_ENH</a></td> <td><a href="#">68</a></td> <td>68</td> <td>03-Nov-2015</td> </tr> <tr> <td><a href="#">TRANSIG_ENH</a></td> <td><a href="#">68</a></td> <td><a href="#">TRANSIG_OBI</a></td> <td><a href="#">58</a></td> <td>68</td> <td>03-Nov-2015</td> </tr> </tbody> </table>	From Databank	Entries Linked	To Databank	Entries Linked	Links Total	Indexing Date	<a href="#">TRANSIG_OBI</a>	<a href="#">58</a>	<a href="#">TRANSIG_ENH</a>	<a href="#">68</a>	68	03-Nov-2015	<a href="#">TRANSIG_ENH</a>	<a href="#">68</a>	<a href="#">TRANSIG_OBI</a>	<a href="#">58</a>	68	03-Nov-2015																																																																																												
From Databank	Entries Linked	To Databank	Entries Linked	Links Total	Indexing Date																																																																																																										
<a href="#">TRANSIG_OBI</a>	<a href="#">58</a>	<a href="#">TRANSIG_ENH</a>	<a href="#">68</a>	68	03-Nov-2015																																																																																																										
<a href="#">TRANSIG_ENH</a>	<a href="#">68</a>	<a href="#">TRANSIG_OBI</a>	<a href="#">58</a>	68	03-Nov-2015																																																																																																										
<b>SRS Description</b>	<a href="#">Structure</a> ( <a href="#">srsgen.i</a> . <a href="#">srsdb.i</a> . <a href="#">href.i</a> ) <a href="#">Syntax</a>																																																																																																														

<b>Name</b>	<b>TRANSIG_ENH</b>						<input type="text" value="Search"/>																																																														
<b>Status</b>	The current release has 68 entries and was indexed 03-Nov-2015.																																																																				
<b>Data-fields in SRS</b>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Name</th> <th>Short Name</th> <th>Type</th> <th>No of Keys</th> <th>No of Entry References</th> <th>Indexing Date</th> <th>Status</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td><a href="#">Id</a></td><td><a href="#">id</a></td><td>id</td><td>68</td><td>68</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">ObjID</a></td><td><a href="#">oi</a></td><td>index</td><td>58</td><td>68</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">Sequence</a></td><td><a href="#">sq</a></td><td>show</td><td>0</td><td>0</td><td></td><td>not indexed</td></tr> <tr><td><a href="#">CommentSeq</a></td><td><a href="#">csq</a></td><td>index</td><td>343</td><td>1590</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">OS</a></td><td><a href="#">os</a></td><td>index</td><td>33</td><td>118</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">Keywords</a></td><td><a href="#">key</a></td><td>index</td><td>31</td><td>101</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">Comment</a></td><td><a href="#">cc</a></td><td>index</td><td>554</td><td>3224</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> <tr><td><a href="#">Reference</a></td><td><a href="#">ref</a></td><td>index</td><td>518</td><td>1596</td><td>03-Nov-2015</td><td>ok</td></tr> </tbody> </table>	Name	Short Name	Type	No of Keys	No of Entry References	Indexing Date	Status	<a href="#">Id</a>	<a href="#">id</a>	id	68	68	03-Nov-2015	ok	<a href="#">ObjID</a>	<a href="#">oi</a>	index	58	68	03-Nov-2015	ok	<a href="#">Sequence</a>	<a href="#">sq</a>	show	0	0		not indexed	<a href="#">CommentSeq</a>	<a href="#">csq</a>	index	343	1590	03-Nov-2015	ok	<a href="#">OS</a>	<a href="#">os</a>	index	33	118	03-Nov-2015	ok	<a href="#">Keywords</a>	<a href="#">key</a>	index	31	101	03-Nov-2015	ok	<a href="#">Comment</a>	<a href="#">cc</a>	index	554	3224	03-Nov-2015	ok	<a href="#">Reference</a>	<a href="#">ref</a>	index	518	1596	03-Nov-2015	ok					
Name	Short Name	Type	No of Keys	No of Entry References	Indexing Date	Status																																																															
<a href="#">Id</a>	<a href="#">id</a>	id	68	68	03-Nov-2015	ok																																																															
<a href="#">ObjID</a>	<a href="#">oi</a>	index	58	68	03-Nov-2015	ok																																																															
<a href="#">Sequence</a>	<a href="#">sq</a>	show	0	0		not indexed																																																															
<a href="#">CommentSeq</a>	<a href="#">csq</a>	index	343	1590	03-Nov-2015	ok																																																															
<a href="#">OS</a>	<a href="#">os</a>	index	33	118	03-Nov-2015	ok																																																															
<a href="#">Keywords</a>	<a href="#">key</a>	index	31	101	03-Nov-2015	ok																																																															
<a href="#">Comment</a>	<a href="#">cc</a>	index	554	3224	03-Nov-2015	ok																																																															
<a href="#">Reference</a>	<a href="#">ref</a>	index	518	1596	03-Nov-2015	ok																																																															
<b>Links</b>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>From Databank</th> <th>Entries Linked</th> <th>To Databank</th> <th>Entries Linked</th> <th>Links Total</th> <th>Indexing Date</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><a href="#">TRANSIG_OBI</a></td> <td><a href="#">58</a></td> <td><a href="#">TRANSIG_ENH</a></td> <td><a href="#">68</a></td> <td>68</td> <td>03-Nov-2015</td> </tr> <tr> <td><a href="#">TRANSIG_ENH</a></td> <td><a href="#">68</a></td> <td><a href="#">TRANSIG_OBI</a></td> <td><a href="#">58</a></td> <td>68</td> <td>03-Nov-2015</td> </tr> </tbody> </table>	From Databank	Entries Linked	To Databank	Entries Linked	Links Total	Indexing Date	<a href="#">TRANSIG_OBI</a>	<a href="#">58</a>	<a href="#">TRANSIG_ENH</a>	<a href="#">68</a>	68	03-Nov-2015	<a href="#">TRANSIG_ENH</a>	<a href="#">68</a>	<a href="#">TRANSIG_OBI</a>	<a href="#">58</a>	68	03-Nov-2015																																																		
From Databank	Entries Linked	To Databank	Entries Linked	Links Total	Indexing Date																																																																
<a href="#">TRANSIG_OBI</a>	<a href="#">58</a>	<a href="#">TRANSIG_ENH</a>	<a href="#">68</a>	68	03-Nov-2015																																																																
<a href="#">TRANSIG_ENH</a>	<a href="#">68</a>	<a href="#">TRANSIG_OBI</a>	<a href="#">58</a>	68	03-Nov-2015																																																																
<b>SRS Description</b>	<a href="#">Structure</a> ( <a href="#">srsgen.i</a> . <a href="#">srsdb.i</a> . <a href="#">href.i</a> ) <a href="#">Syntax</a>																																																																				



# UTRdb

(<http://utrdb.ba.itb.cnr.it/>)

The screenshot shows the UTRdb website homepage. At the top left is the UTRdb logo. To its right is the text 'ITB - INSTITUTE FOR BIOMEDICAL TECHNOLOGIES'. Further right is a search bar with the placeholder text 'Insert UTR AC' and a 'search' button. Below this is a blue navigation bar with the following links: HOME, RETRIEVAL, UTRSITE, TOOLS, DOWNLOAD, and REFERENCES. The main content area has a heading 'Welcome to UTRdb' followed by a paragraph of text describing the database's purpose and features.

**UTRdb** ITB - INSTITUTE FOR BIOMEDICAL TECHNOLOGIES

Insert UTR AC search

HOME RETRIEVAL UTRSITE TOOLS DOWNLOAD REFERENCES

## Welcome to UTRdb

The 5' and 3' untranslated regions of eukaryotic mRNAs play crucial roles in the posttranscriptional regulation of gene expression through the modulation of nucleo-cytoplasmic mRNA transport, translation efficiency, subcellular localization and message stability. UTRdb is a curated database of 5' and 3' untranslated sequences of eukaryotic mRNAs, derived from several sources of primary data. Experimentally validated functional motifs are annotated and also collated as the UTRsite database where more specific information on the functional motifs and cross-links to interacting regulatory protein are provided. In the current update the UTR entries have been organized in a gene-centric structure to better visualize and retrieve 5' and 3'UTR variants generated by alternative initiation and termination of transcription and alternative splicing. Experimentally validated miRNA targets and conserved sequence elements are also annotated. The integration of UTRdb with genomic data has allowed the implementation of an efficient annotation system and a powerful retrieval resource for the selection and extraction of specific UTR subsets.

Виды UTR –сигналов , всего 60

Возможностей заявлено много, однако полезных результатов мало.

Вход под паролем ??

Часть опций не поддерживается ???

Grillo G et al., UTRdb and UTRsite (RELEASE 2010): a collection of sequences and regulatory motifs of the untranslated regions of eukaryotic mRNAs. *Nucleic Acids Res.* 2010 Jan;38(Database issue):D75-80.

# РАЗДЕЛ “STATISTICS” базы UTRdb

## UTRsite motifs in 5'UTRs

UTRSITE ID	FEATURE KEY	STANDARD NAME	5' UTREF		5' UTREF (HUMAN)		5' UTRFULL	
			NO OF UTRS	NO OF MOTIFS	NO OF UTRS	NO OF MOTIFS	NO OF UTRS	NO OF MOTIFS
U0002	IRE	Iron Responsive Element (IRE)	249	249	24	24	61	61
U0011	TOP	Terminal Oligopyrimidine Tract (TOP)	13797	14703	874	994	3369	3774
U0015	IRES	Internal Ribosome Entry Site (IRES)	98508	98508	7959	7959	32046	32046
U0016	SXL_BS	SXL binding site	534	565	0	0	0	0
U0017	UNR-bs	UNR binding site	6948	7255	625	656	2939	3072

9 регуляторных элементов (мотивов)

## UTRsite motifs in 3'UTRs

UTRSITE ID	FEATURE KEY	STANDARD NAME	3' UTREF		3' UTREF (HUMAN)		3' UTRFULL	
			NO OF UTRS	NO OF MOTIFS	NO OF UTRS	NO OF MOTIFS	NO OF UTRS	NO OF MOTIFS
U0001	HSL3	Histone 3'UTR stem-loop structure (HSL3)	645	647	55	55	10	10
U0002	IRE	Iron Responsive Element (IRE)	399	427	68	76	267	303
U0003	SECIS1	Selenocysteine Insertion Sequence - type 1 (SECIS1)	2497	2508	312	315	1134	1150
U0004	SECIS2	Selenocysteine Insertion Sequence - type 2 (SECIS2)	2075	2087	255	258	949	965
U0005	APP_SCE	Amyloid precursor protein mRNA stability control element (APP_SCE)	15	15	5	5	0	0
U0006	CPE	Cytoplasmic polyadenylation element (CPE)	17018	17018	1271	1271	5418	5418

38 регуляторных элементов (мотивов)

# Конец лекции!!!

