

# Механизмы регуляции транскрипции

(Лекция 3)

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

# ОСОБЕННОСТИ ТРАНСКРИПЦИИ У ЭУКАРИОТ:

- ✓ **1) 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 + многие миРНК
  - pol III транскрибируемые : гены тРНК + гены низкомолекулярных РНК (5S рРНК, и др.)
- ✓ **2) Каждая РНК-полимераза имеет сложное, многосубъединичное строение, например, pol II включает более 10 субъединиц;**
- ✓ **3) Для точной посадки РНК-полимераз на участок, прилежащий к старту транскрипции, нужны вспомогательные белки – базальные (или общие) транскрипционные факторы;**
- ✓ **4) Для достижения необходимого уровня транскрипции каждого гена, помимо базальных (общих) транскрипционных факторов, требуются другие белки (транскрипционные факторы, коактиваторы, корепрессоры, медиаторы и др.);**
- ✓ **5) Промоторы генов, транскрибируемых каждым типом полимераз, имеют характерное строение**
- 6) Транскрипция генов эукариот зависит от состояния хроматина и плотности нуклеосомной упаковки.**

# ОСОБЕННОСТИ ТРАНСКРИПЦИИ У ЭУКАРИОТ:

1) 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 + многие миРНК
- pol III транскрибируемые : гены тРНК + гены низкомолекулярных РНК (5S рРНК, и др.)

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

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

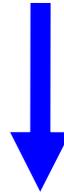
4) Для достижения необходимого уровня транскрипции каждого гена, помимо базальных (общих) транскрипционных факторов, требуются другие белки (транскрипционные факторы, коактиваторы, корепрессоры, медиаторы и др.);



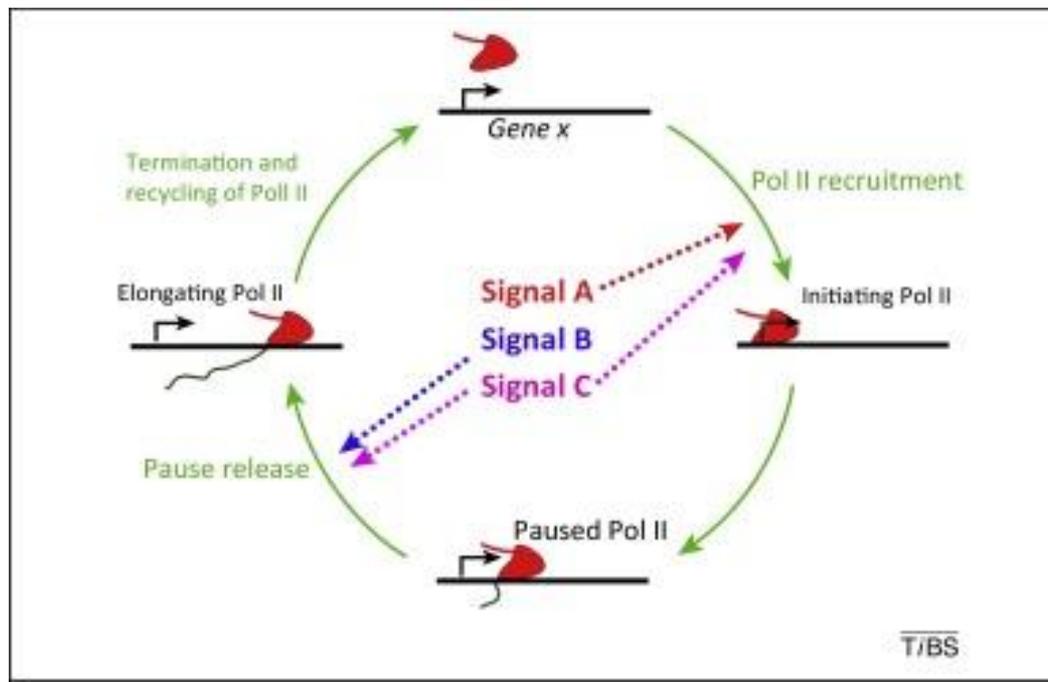
5) Промоторы генов, транскрибируемых каждым типом полимераз, имеют характерное строение

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

# РЕГУЛЯТОРНЫЕ БЕЛКИ РЕГУЛИРУЮТ ТРАНСКРИПЦИЮ НЕ ТОЛЬКО НА СТАДИИ ИНИЦИАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ

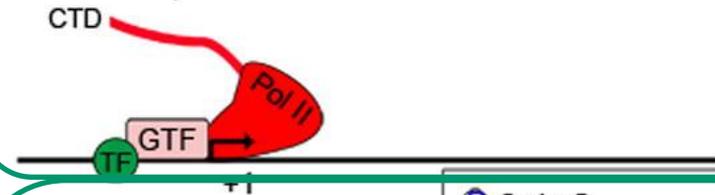


Этап регуляции транскрипции – остановка (pausing)  
РНК-полимеразы на стадии начала элонгации

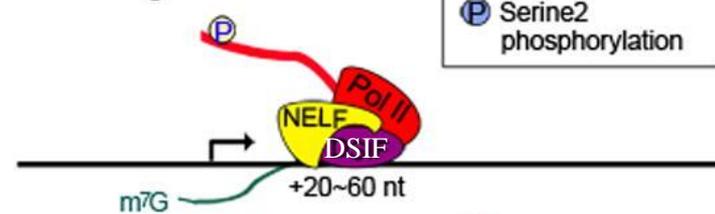


# Дополнительный этап регуляции – остановка (pausing) РНК-полимеразы на стадии элонгации (начало)

## 1. PIC complex and Initiation



## 2. Pausing



**Этап 1:** Транскрипционные факторы (TF) рекрутируют базальные транскрипционные факторы (GTF) и РНК-полимеразу II (Pol II), после чего образуется прединициаторный комплекс (ПИК = PIC) в районе промотора.

**Этап 2:** Pol II синтезирует РНК длиной 20-60 нуклеотидов и останавливается. Остановка происходит при участии факторов остановки (pausing factors):

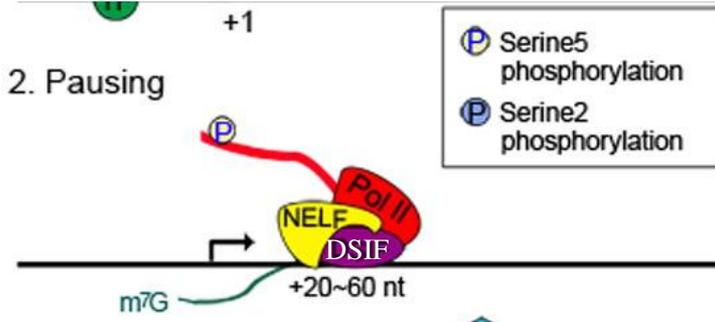
**DSIF - the DRB\* sensitivity-inducing factor,**

**NELF - the negative elongation factor**

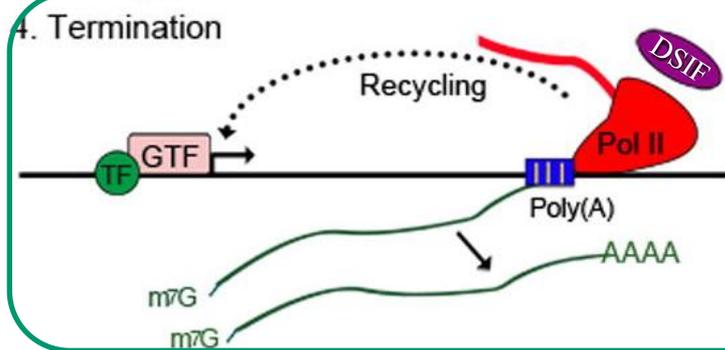
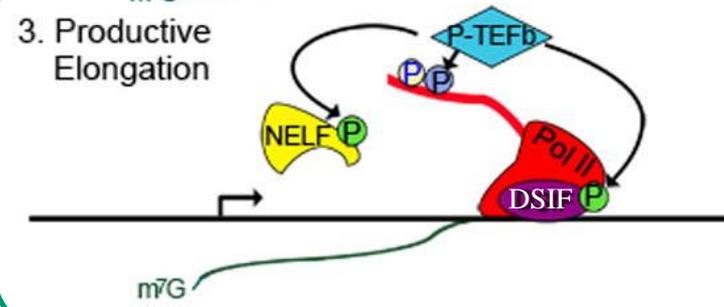
В этот момент карбокси-терминальный домен полимеразы II фосфорилирован по остаткам серина в 5-ой позиции. Цепь РНК связана с Pol II и имеет 5'кэп.

\* - DRB (=5,6-Dichloro-1-β-D-ribofuranosylbenzimidazole) is a chemical compound that inhibits transcription elongation by RNA Polymerase II

# Дополнительный этап регуляции – остановка (пауза) РНК-полимеразы на стадии элонгации (продолжение)



**P-TEFb** = positive transcription elongation factor



**Этап 2:** Pol II синтезирует РНК длиной 20-60 нуклеотидов и останавливается (пауза). Остановка происходит при участии факторов остановки (pausing factors):

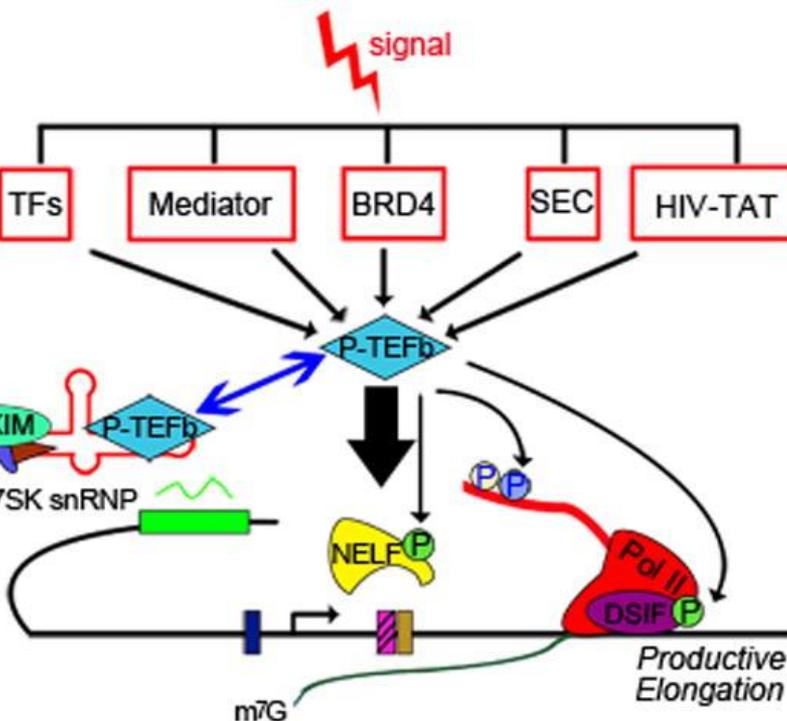
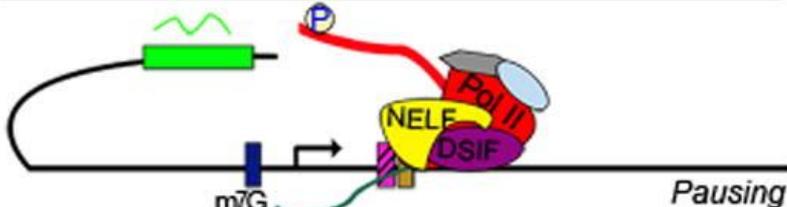
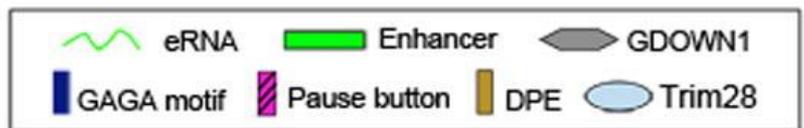
**DSIF** - the DRB sensitivity-inducing factor,  
**NELF** - the negative elongation factor

В этот момент карбокси-терминальный домен полимеразы II фосфорилирован по остаткам серина в 5-ой позиции. Цепь РНК связана с Pol II и имеет 5'кэп.

**Этап 3:** Пауза заканчивается под действием фактора **P-TEFb**. P-TEFb фосфорилирует карбокси-терминальный домен РНК-полимеразы (Pol II) по серину 2. Кроме того, P-TEFb фосфорилирует факторы DSIF и NELF, что приводит к диссоциации NELF. Фосфорилированный фактор DSIF становится активатором элонгации и движется вместе с Pol II вдоль гена.

**Этап 4:** Когда Pol II достигает точки терминации транскрипции, транскрипция прекращается. Pol II и РНК отсоединяются от ДНК.

# Остановка РНК-полимеразы на стадии элонгации и ее освобождение регулируется множеством сигнальных путей и многими факторами



У дрозофил пауза возникает особенно часто в генах, содержащих такие регуляторные элементы:

**DPE - downstream promoter element**

**pause button**

**GAGA – сайт связывания GAGA-фактора (ТФ)**

**P-TEFb - positive transcription elongation factor**

Может высвобождаться из

7SK-HEXIM inhibitory complex

**Окончание паузы происходит при:**

- Тепловом шоке (ТФ = HSF)

- Гипоксии (ТФ = HIF1 $\alpha$ )

- Воспалении (ТФ = Nf-kB)

- Репрограммировании индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (BRD4, ТФ = KLF4)

- И т.д.

**P-TEFb** активируется при участии:

BRD4 - Bromodomain-containing protein 4

SEC - super elongation complex

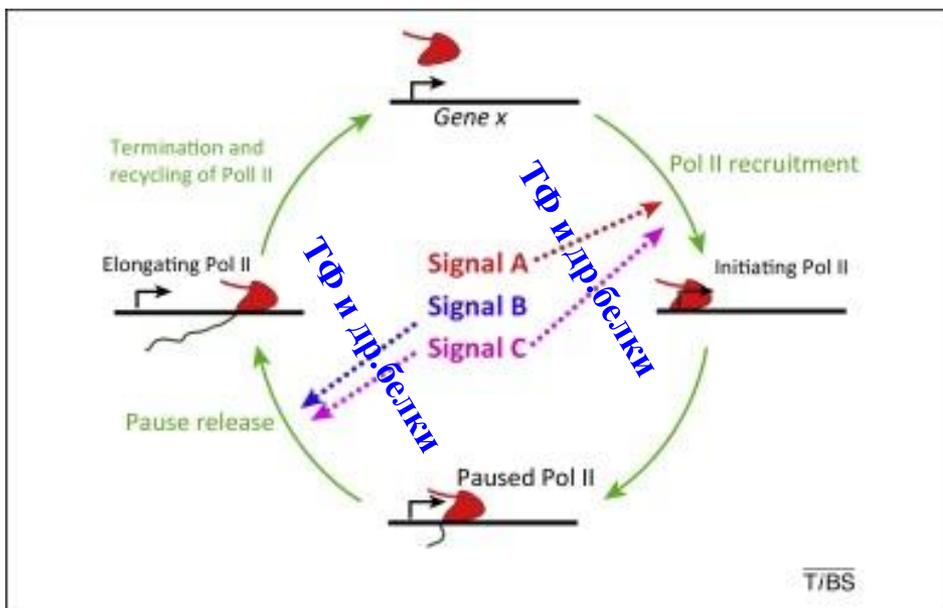
HIV-TAT - HIV-encoded transcriptional transactivator protein Tat

eRNAs – энхансерные транскрипты

Р  
Е  
Г  
У  
Л  
Я  
Т  
О  
Р  
Н  
Ы  
Е  
Б  
Е  
Л  
К  
И

# Этап регуляции транскрипции – остановка (pausing) РНК-полимеразы на стадии начала элонгации

## Регуляция транскрипционными факторами и другими регуляторными белками



### Окончание паузы происходит при:

- Тепловом шоке (ТФ = HSF)
- Гипоксии (ТФ = HIF1 $\alpha$ )
- Воспалении (ТФ = Nf-kB)
- Репрограммировании индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (BRD4, ТФ = KLF4)
- И т.д.

# 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.);

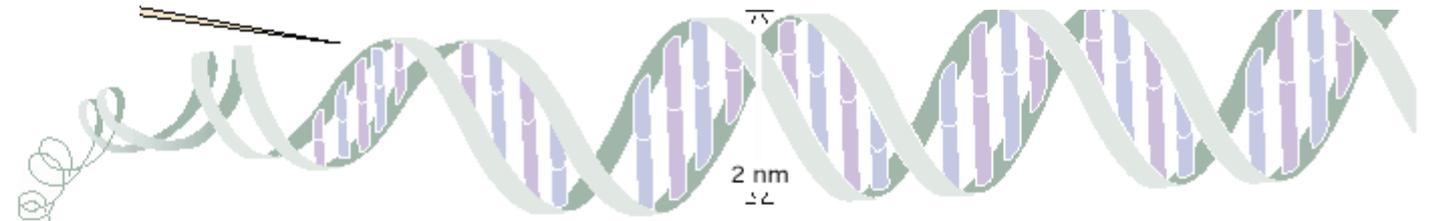
Д) Промоторы генов, транскрибируемых каждым типом полимераз, имеют характерное строение

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

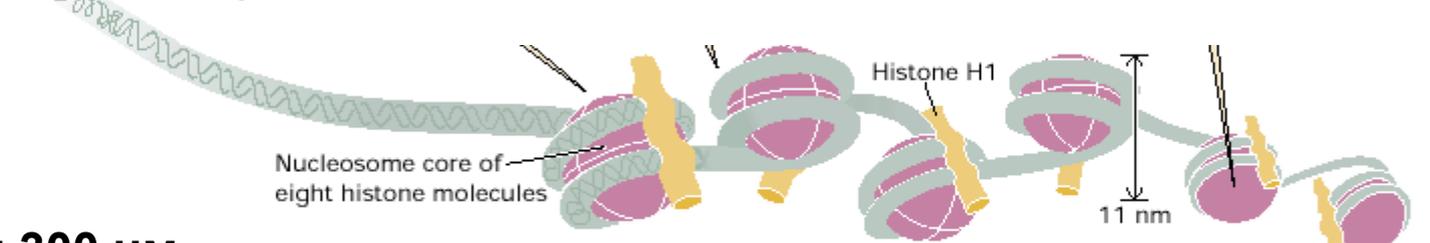


# Уровни организации хроматина

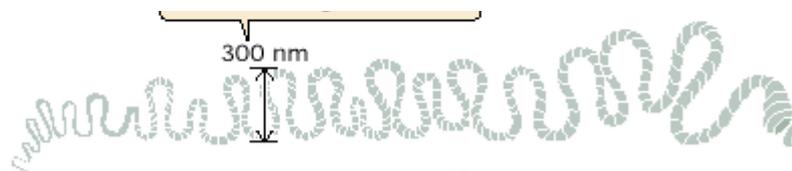
ДНК (двойная спираль)



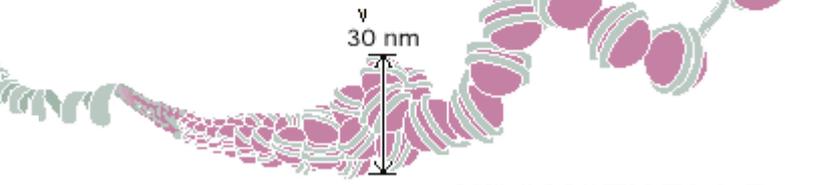
Нуклеосомы - комплекс ДНК с гистоновыми белками



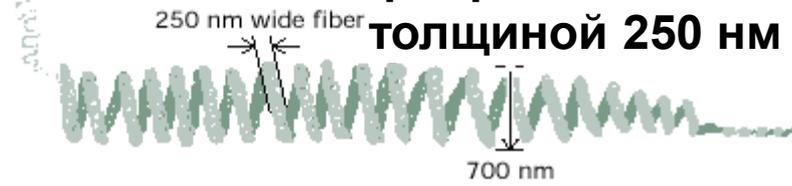
петли длиной 300 нм



30-нм фибриллы



фибрилы  
толщиной 250 нм

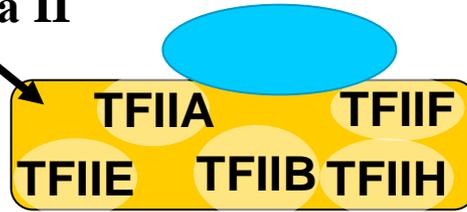


хроматиды в  
хромосоме

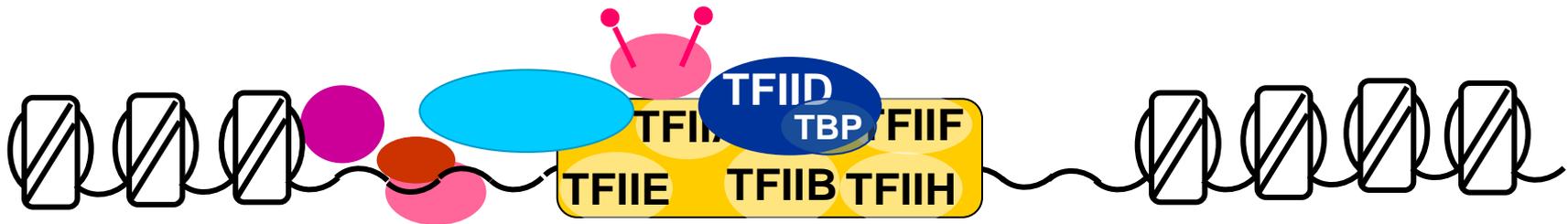
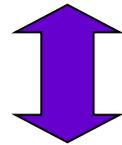
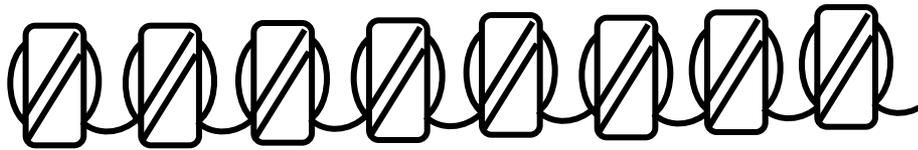


# КОНКУРЕНЦИЯ МЕЖДУ ГИСТОНОВЫМИ БЕЛКАМИ И ТРАНСКРИПЦИОННЫМИ ФАКТОРАМИ ЗА ДОСТУП К ДНК

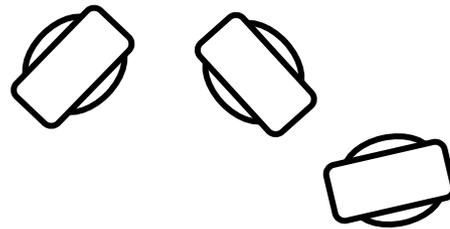
РНК полимераза II



Нуклеосомная упаковка ДНК препятствует взаимодействию ДНК с мультибелковым комплексом, включающим РНК-полимеразу и базальные транскрипционные факторы



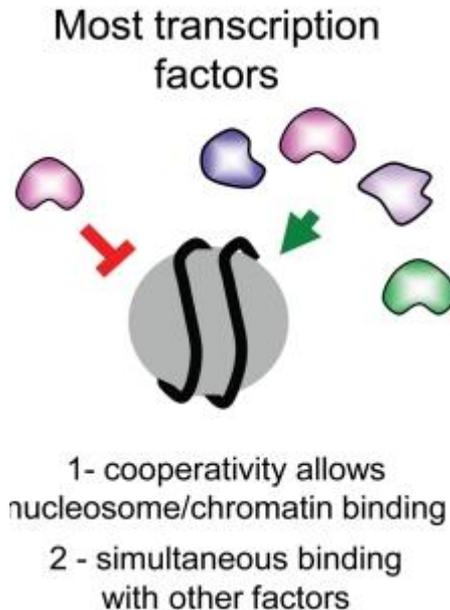
Отсутствие нуклеосомной упаковки в окрестностях старта транскрипции создает условия для контакта регуляторных белков с ДНК и формирования базального транскрипционного комплекса (ПИК)



# ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ ДЕЛЯТСЯ НА ДВЕ ГРУППЫ ПО СПОСОБНОСТИ СВЯЗЫВАТЬСЯ С САЙТАМИ НА ДНК В СОСТАВЕ НУКЛЕОСОМЫ:

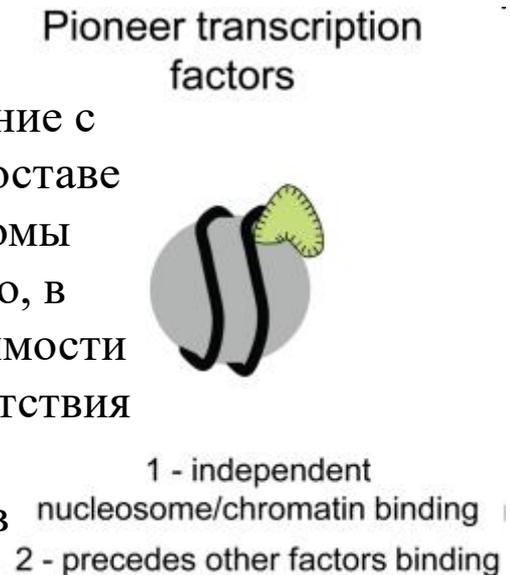
- НЕ СПОСОБНЫЕ К СВЯЗЫВАНИЮ С ДНК В СОСТАВЕ НУКЛЕОСОМ

Связывание с ДНК в составе нуклеосомы возможно, только если ТФ скооперируются с другими ТФ

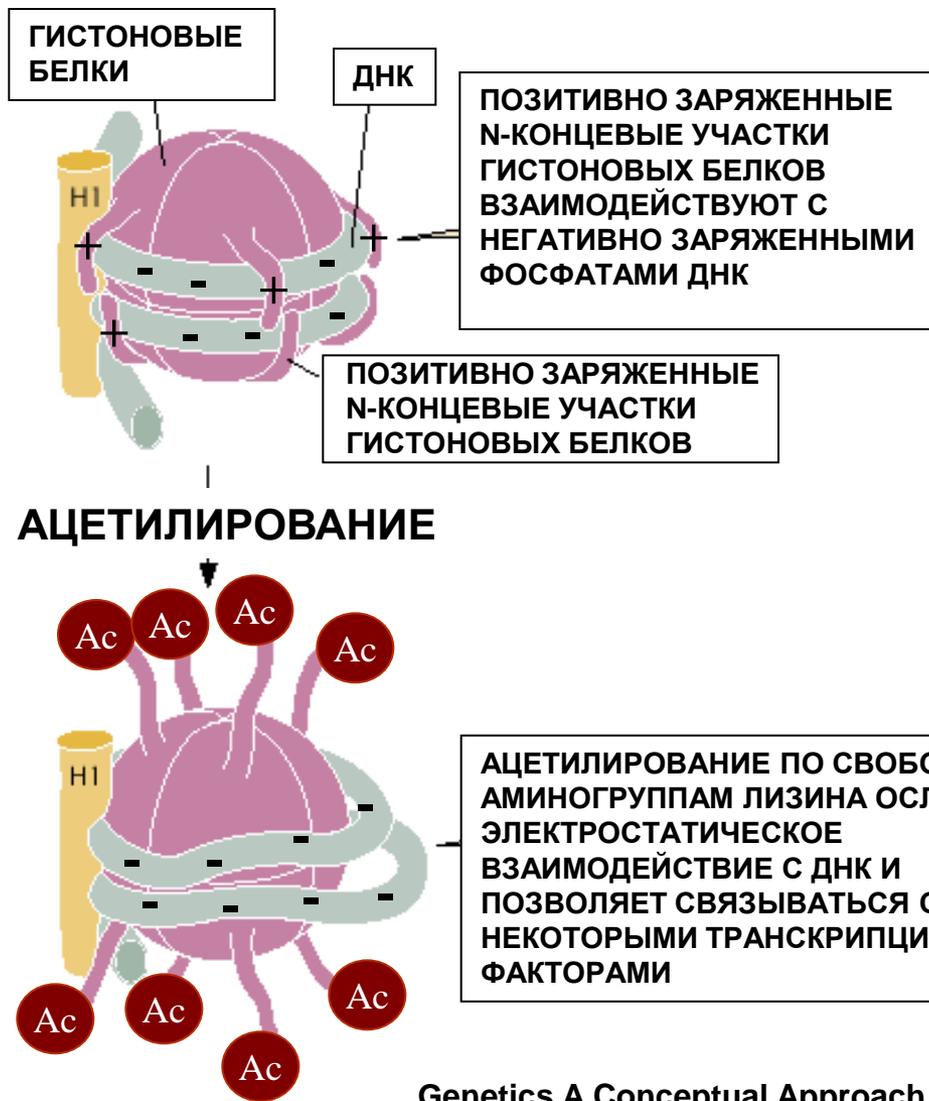


- СПОСОБНЫЕ СВЯЗЫВАТЬСЯ С ДНК В СОСТАВЕ НУКЛЕОСОМ (ПИОНЕРНЫЕ ТФ);

Связывание с ДНК в составе нуклеосомы возможно, в независимости от присутствия других факторов

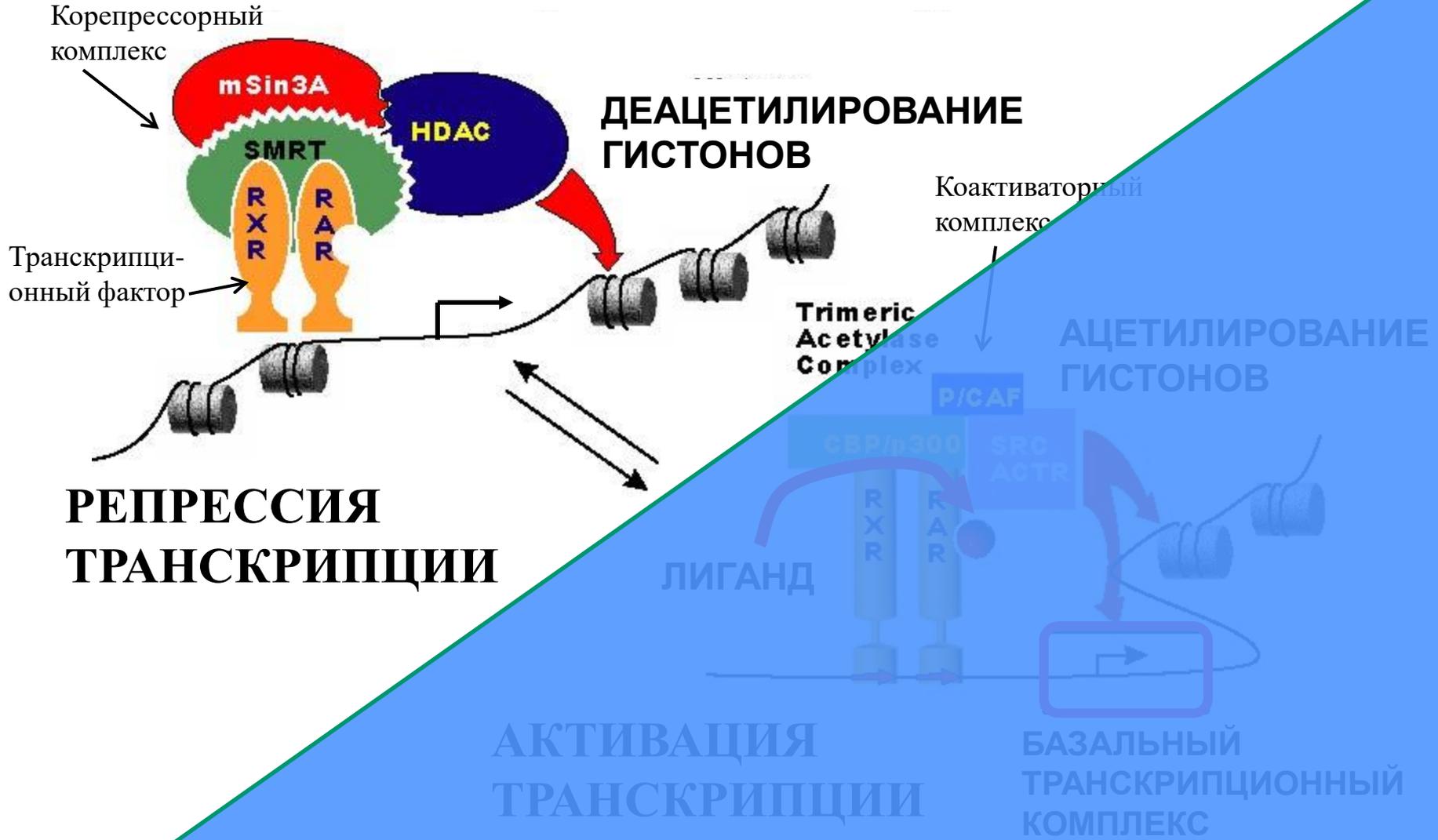


# Влияние ацетилирования N-концевых фрагментов гистоновых белков на плотность нуклеосомной укладки

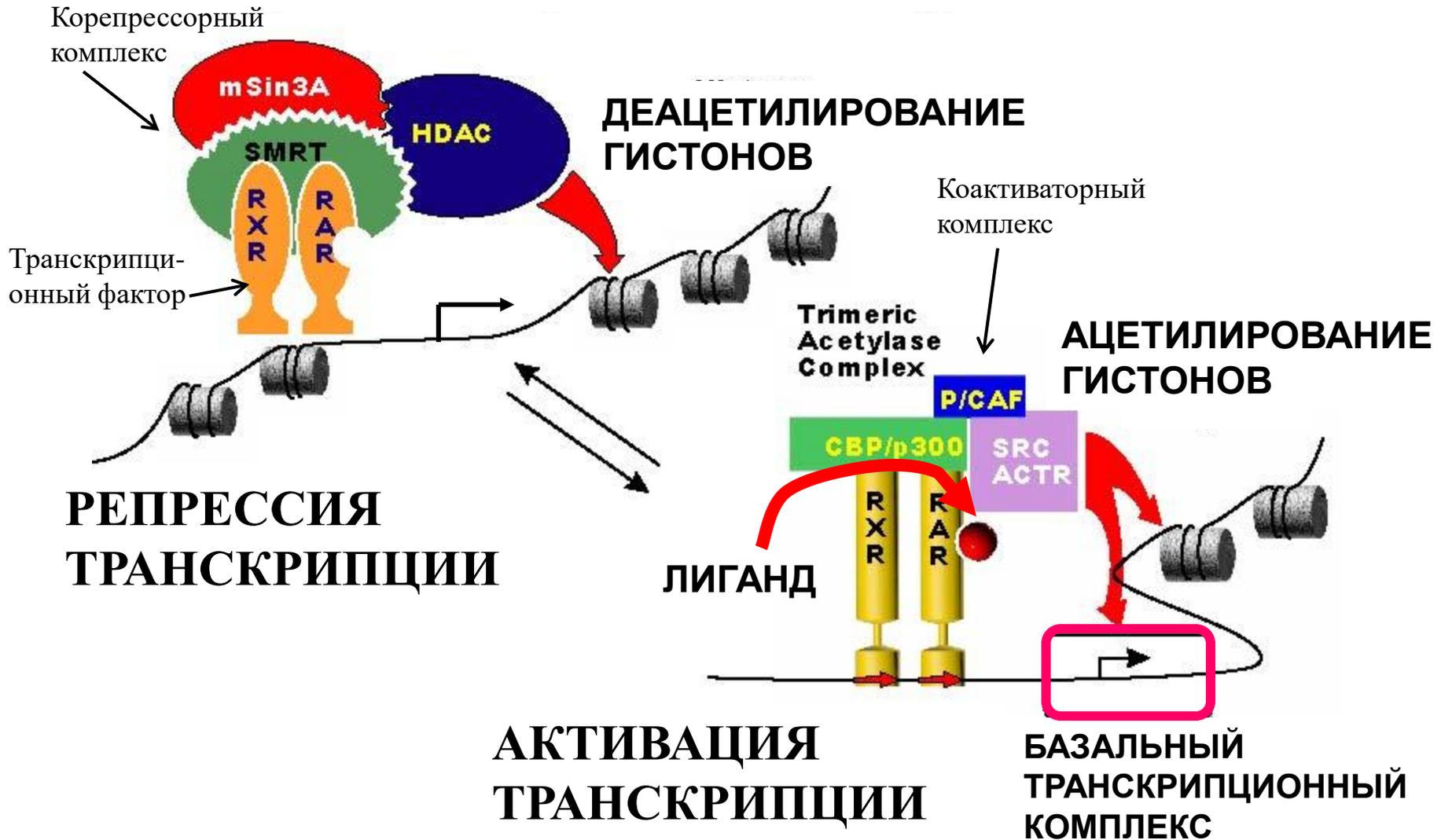


Концевые фрагменты гистоновых белков имеют высокое содержание положительно заряженных (основных) аминокислотных остатков (лизина и аргинина). Суммарный положительный заряд концевых фрагментов гистонов, экспонированных на поверхности белковой глобулы, обеспечивает их плотный контакт с отрицательно заряженными фосфатами сахарофосфатного остова ДНК. Это взаимодействие стабилизирует комплекс ДНК с белками

# Механизм регуляции плотности нуклеосомной укладки при активации транскрипционного фактора RXR/RAR под действием лиганда

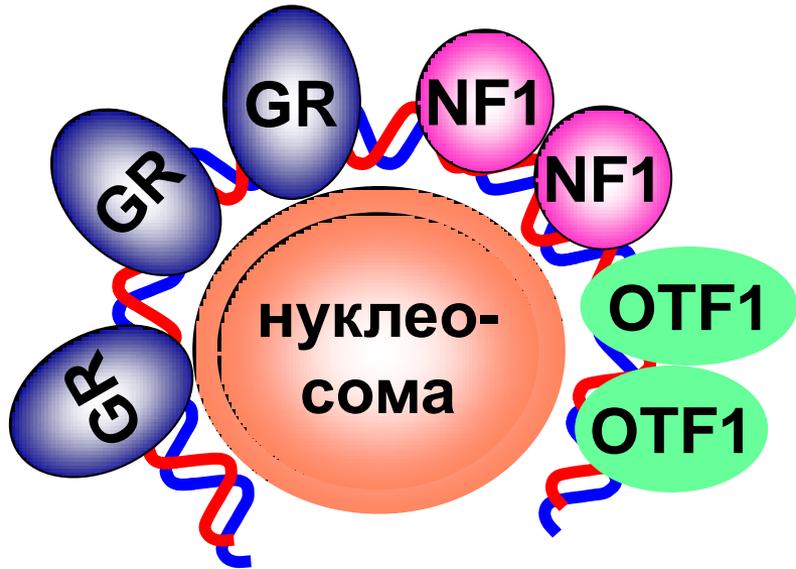


# Механизм регуляции плотности нуклеосомной укладки при активации транскрипционного фактора RXR/RAR под действием лиганда

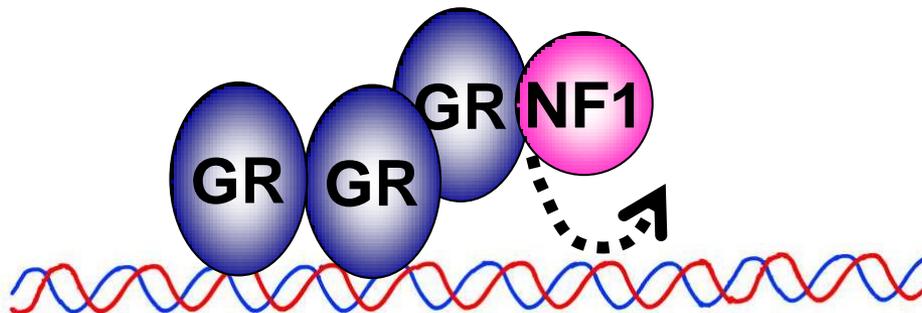


**ОБРАТНАЯ СИТУАЦИЯ: нуклеосомная укладка ДНК является необходимым условием для взаимодействия с белками.**

**Промотор MMTV (Mouse mammary tumor virus = вирус опухоли молочной железы мышей) - транскрипционные факторы взаимодействуют с сайтами на ДНК, только если ДНК имеет нуклеосомную укладку.**



**ДНК в составе нуклеосомы:  
GR и NF1 одновременно  
связываются с ДНК, только когда  
она изогнута на поверхности  
нуклеосомы**



**Свободная ДНК:  
Транскрипционные факторы GR и  
NF1 конкурируют друг с другом за  
связывание с близко  
расположенными сайтами их  
связывания на ДНК**

# МОДИФИКАЦИИ ХРОМАТИНА :

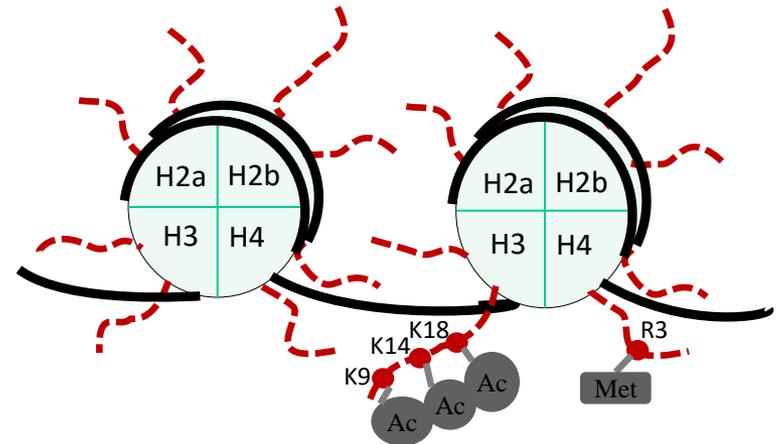
## ДНК

Метилирование (и другие модификации) цитозина в составе ДНК



## БЕЛКИ

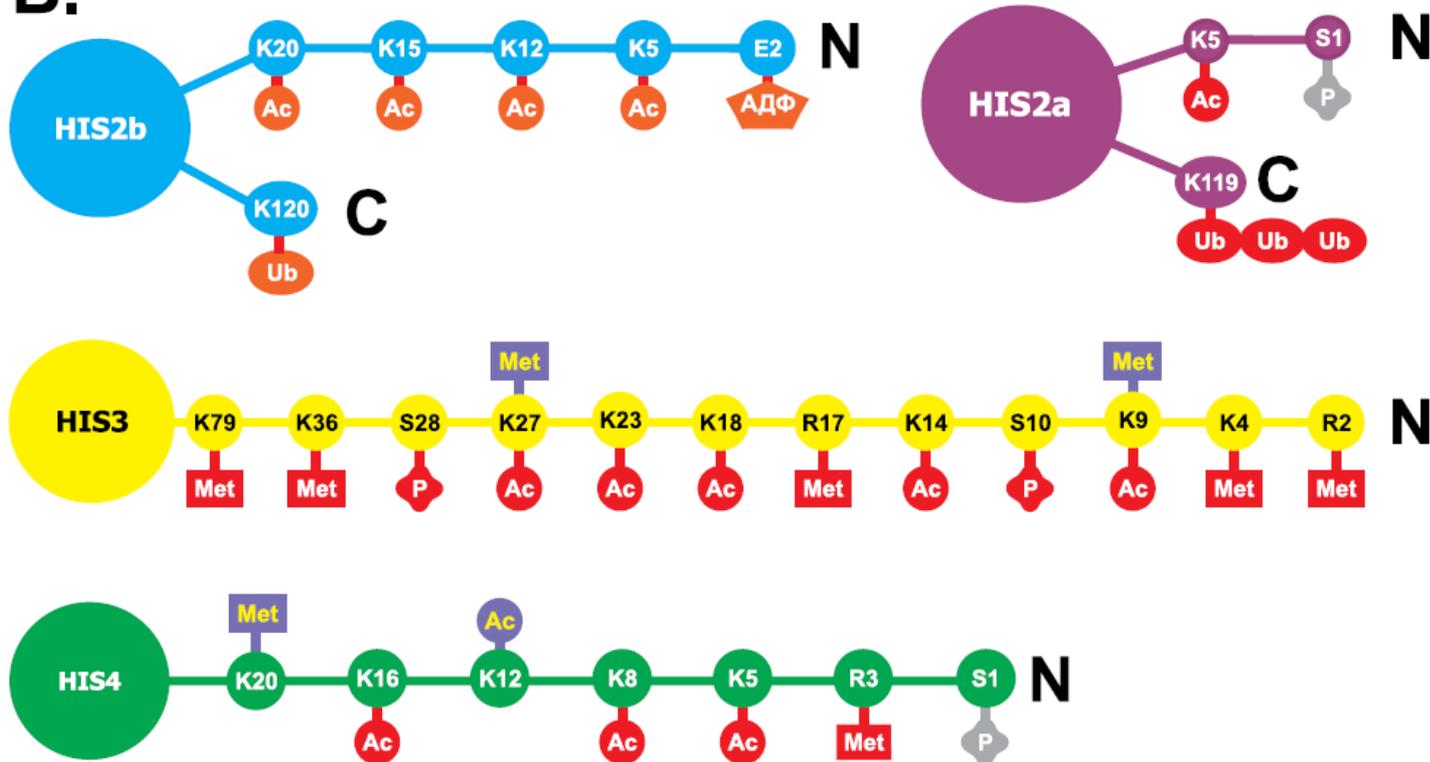
Посттрансляционные ковалентные модификации гистоновых белков.



Модификациям, как правило, подвергаются N-концевые участки гистонов, не входящие в состав нуклеосомной глобулы и остающиеся экспонированными на ее поверхности.

# ВАРИАНТЫ КОВАЛЕНТНЫХ МОДИФИКАЦИЙ ГИСТОНОВ

Б.



Подлежащие модификации аминокислоты в концевых фрагментах гистонов обозначены однобуквенным кодом и номером, соответствующим положению начиная с N-конца молекулы.

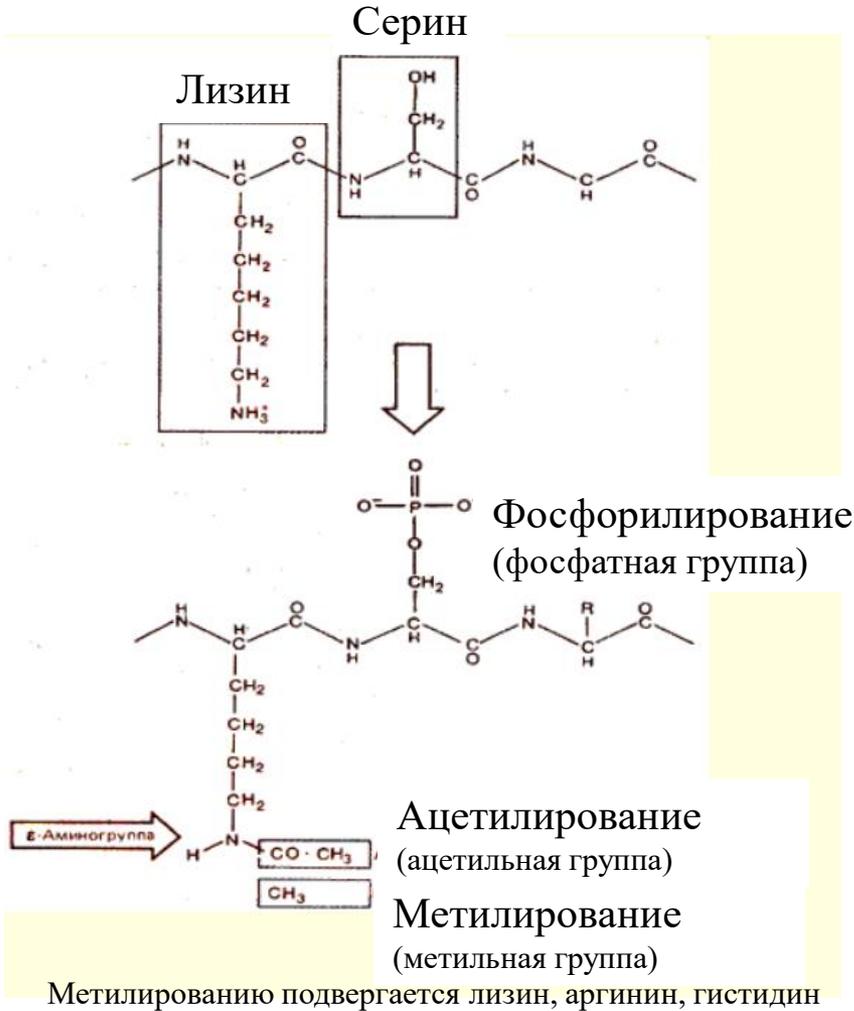
Ac – ацетилирование, Met – метилирование, P-фосфорилирование, Ub-убиквитинилирование, АДФ-рибозилирование.

K – лизин, R – аргинин, E – глутамин, S-серин

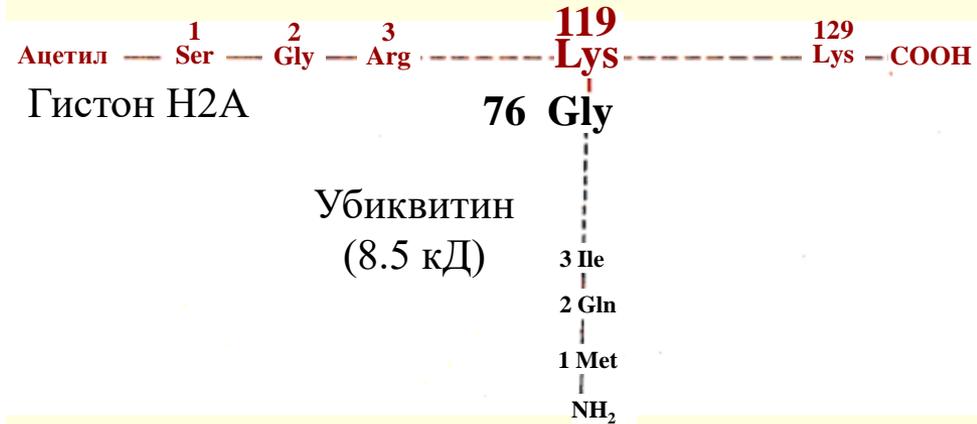
Фиолетовым цветом обозначены модификации, характерные для репрессированного хроматина, красным – для активного. Серым цветом обозначены модификации, связанные с конденсацией хромосом при митозе либо гаметогенезе.

# СУЩНОСТЬ НЕКОТОРЫХ МОДИФИКАЦИИ ГИСТОНОВЫХ БЕЛКОВ

## Ацетилирование, метилирование, фосфорилирование:



**Убиквитинирование** – присоединение белка убиквитина .



Убиквитин содержит 76 остатков (сравним с гистоном H2A, содержащим примерно 130 остатков). Изопептидная связь образуется между C-концевым глицином убиквитина и свободной ε-NH<sub>2</sub>-группой лизина в положении 119 гистона H2A. (Названием *изопептидная связь* подчеркивается, что данная εNH<sub>2</sub>-группа - это не обычная аминогруппа, участвующая в образовании пептидной связи.) Убиквитин - кислый белок, в котором содержание глутаминовой и аспарагиновой кислот таково, что общее отношение основные/кислые аминокислоты во вновь образованном конъюгированном белке оказывается пониженным.

**Сумоилирование** – присоединение небольших (молекулярная масса 12 кД) белков семейства SUMO (Small Ubiquitin-like Modifier). Сумоилированию подвергается лизин.

# МОДИФИКАЦИИ ХРОМАТИНА И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ТРАНСКРИПЦИОННУЮ АКТИВНОСТЬ ГЕНОВ <sup>1</sup>

Тип модификации	Позиция(и) <sup>2</sup>	Влияние на транскрипцию
<b>Метилирование ДНК</b>		
<b>Метилирование цитозина</b>	<b>СрG острова</b>	<b>Репрессия</b>
<b>Ковалентные модификации гистонов</b>		
<b>Ацетилирование лизина</b>	<b>H3 (9, 14, 18, 56), H4 (5, 8, 13, 16), H2A, H2B</b>	<b>Активация</b>
<b>Фосфорилирование серина или треонина</b>	<b>H3 (3, 10, 28), H2A, H2B</b>	<b>Активация</b>
<b>Метилирование аргинина</b>	<b>H3 (17, 23), H4 (3)</b>	<b>Активация</b>
<b>Метилирование лизина</b>	<b>H3 (4, 36, 79) H3 (9, 27), H4 (20)</b>	<b>Активация Репрессия</b>
<b>Убиквитинирование лизина</b>	<b>H2B (123<sup>3</sup>/120<sup>4</sup>) H2A (119<sup>4</sup>)</b>	<b>Активация Репрессия</b>
<b>Сумоилирование лизина</b>	<b>H2B (6/7), H2A (126)</b>	<b>Репрессия</b>
<b>Изомеризация пролина</b>	<b>H3 (30–38)</b>	<b>Активация /Репрессия</b>

<sup>1</sup> - представлено по данным (Berger S.L. 2007)

<sup>2</sup> - позиции хорошо исследованных сайтов с указанием геномной локализации метилированной ДНК или локализации аминокислотных остатков, подвергшихся посттрансляционным модификациям.

<sup>3</sup> - дрожжи

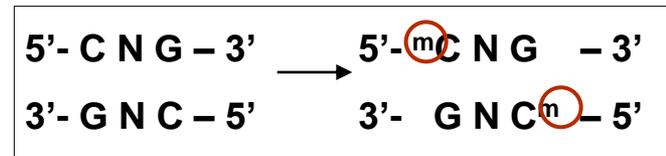
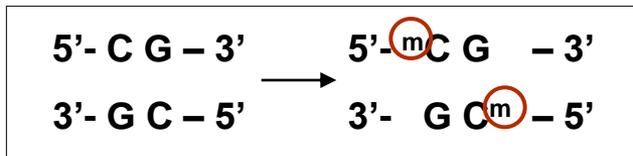
<sup>4</sup> - млекопитающие

**В ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ УРОВЕНЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК ЧАСТО КОРРЕЛИРУЕТ С УРОВНЕМ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА. МЕТИЛИРОВАННЫЕ УЧАСТКИ ДНК ТРАНСКРИБИРУЮТСЯ МЕНЕЕ АКТИВНО, ЧЕМ НЕМЕТИЛИРОВАННЫЕ УЧАСТКИ**



**МЕТИЛИРОВАНИЕ ЦИТОЗИНА ПРИВОДИТ К ОБРАЗОВАНИЮ 5-МЕТИЛЦИТОЗИНА**

**НАИБОЛЕЕ ЧАСТО МЕТИЛИРОВАНИЮ ПОДВЕРГАЮТСЯ ЦИТОЗИНОВЫЕ НУКЛЕОТИДЫ, В СОСТАВЕ CG-ДИНУКЛЕОТИДОВ ЛИБО CNG-ТРИНУКЛЕОТИДОВ**



У млекопитающих метилирование по цитозину в позиции C5 осуществляется, преимущественно, в динуклеотидах CpG. Метилирование осуществляется ферментами DNMT (DNA methyltransferase).

# Код модификаций хроматина (сложность)

**Код модификаций хроматина** - разнообразный набор **модификаций** гистоновых белков и цитозина в составе ДНК. Характеризует различные состояния хроматина (активный, неактивный и т.п.)

1) **Возможные модификации гистоновых белков (11):**

ацетилирование, метилирование, фосфорилирование, АДФ-рибозилирование, деиминирование, убиквитинирование, сумоилирование, присоединение N-ацетилглюкозамина, удаление концевых участков гистоновых белков (*Histone tail clipping*), изомеризация пролина

2) **Варианты модификаций гистоновых белков:**

- модификациям могут подвергаться аминокислотные остатки как на N- так и на C-концевых участках гистонов;
- каждый гистон может иметь модификации по нескольким позициям;
- боковая цепь остатка лизина может метилироваться несколько раз (моно-, ди-, триметилирование)

3) **Возможны** следующие модификации **цитозина в составе ДНК (4):**

- метилирование;
- 5'-гидроксиметилирование;
- карбоксилирование;
- формилирование (присоединение формильной группы)



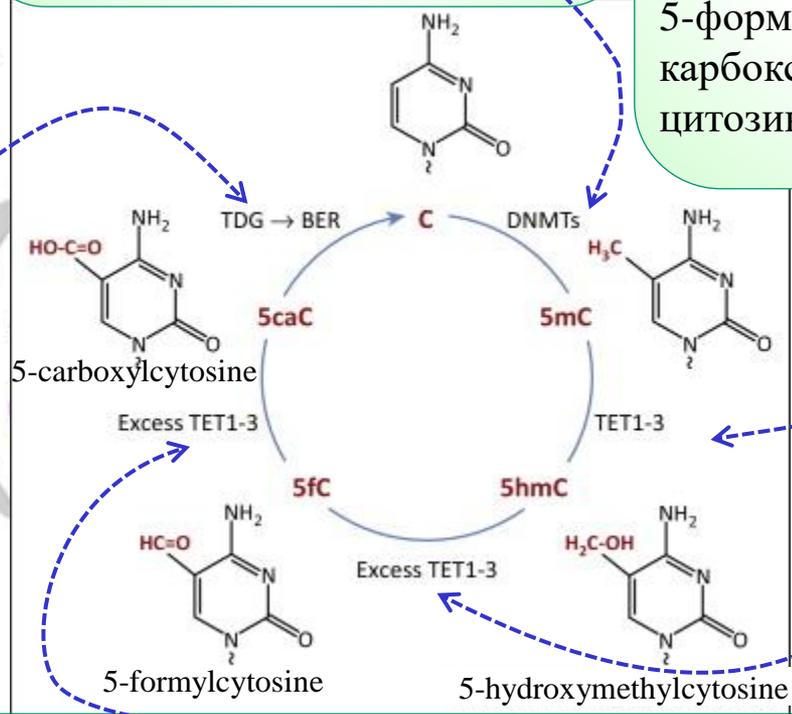
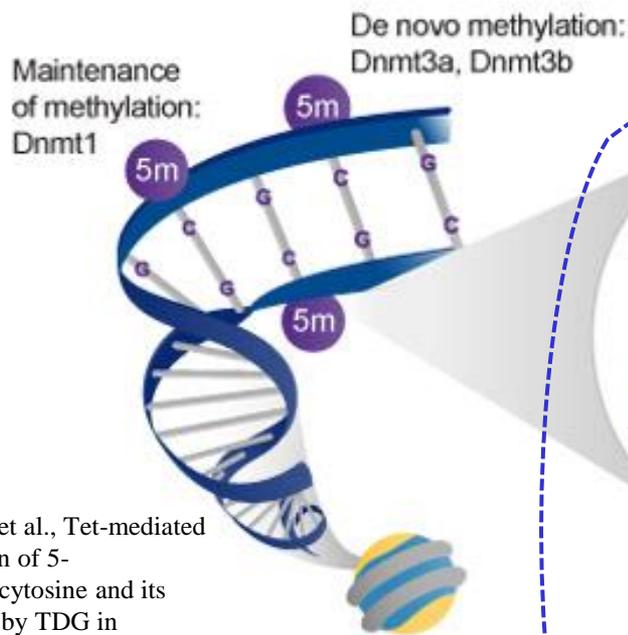
# Цикл модификаций цитозина

Метилирование осуществляется ферментами DNMT (DNA methyltransferase)

Фермент DNMT1 – способен метилировать цитозин в составе CpG динуклеотида, только если цитозин в комплементарном CpG динуклеотиде тоже метилирован. Это механизм поддержания метилированного статуса ДНК во время репликации

Шаг 1. Ферменты DNMT3a и DNMT3b способны метилировать ДНК *de novo*, то есть CpG динуклеотиды, которые не имеют в комплементарной позиции метилированного цитозина.

Шаг 2. 5-метилцитозин подвергается воздействию ферментами семейства ТЕТ (ten–eleven translocation family of dioxygenases) с образованием 5-гидрокси-метилцитозина (5-hmC), 5-формил- (5-fC) и 5-карбокси- (5-caC) цитозина.

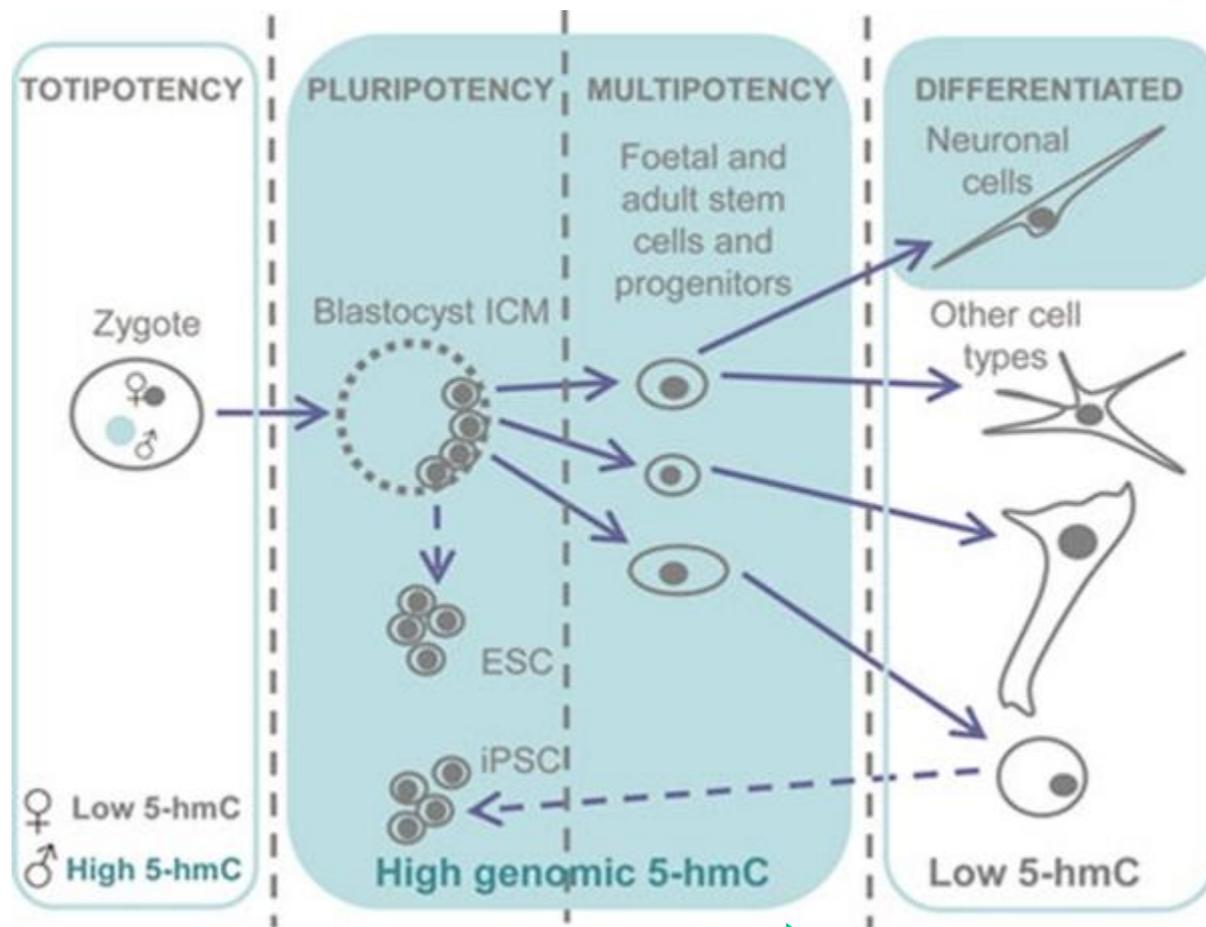


He YF, et al., Tet-mediated formation of 5-carboxylcytosine and its excision by TDG in mammalian DNA.. Science 333 (6047): 1303–7.

Epigenetic mechanisms of importance for drug treatment. Trends in Pharmacological Sciences, 2014, 35, (8):384–396

Шаг 3. Карбоксильная группа опознается и удаляется тимин-ДНК-гликозилазой (TDG). В дальнейшем сайт подвергается эксцизионной репарации (BER= base excision repair), и образуется цитозин.

# Содержание 5-гидрокси-метилцитозина (5-hmC) в клетках в ходе развития млекопитающих

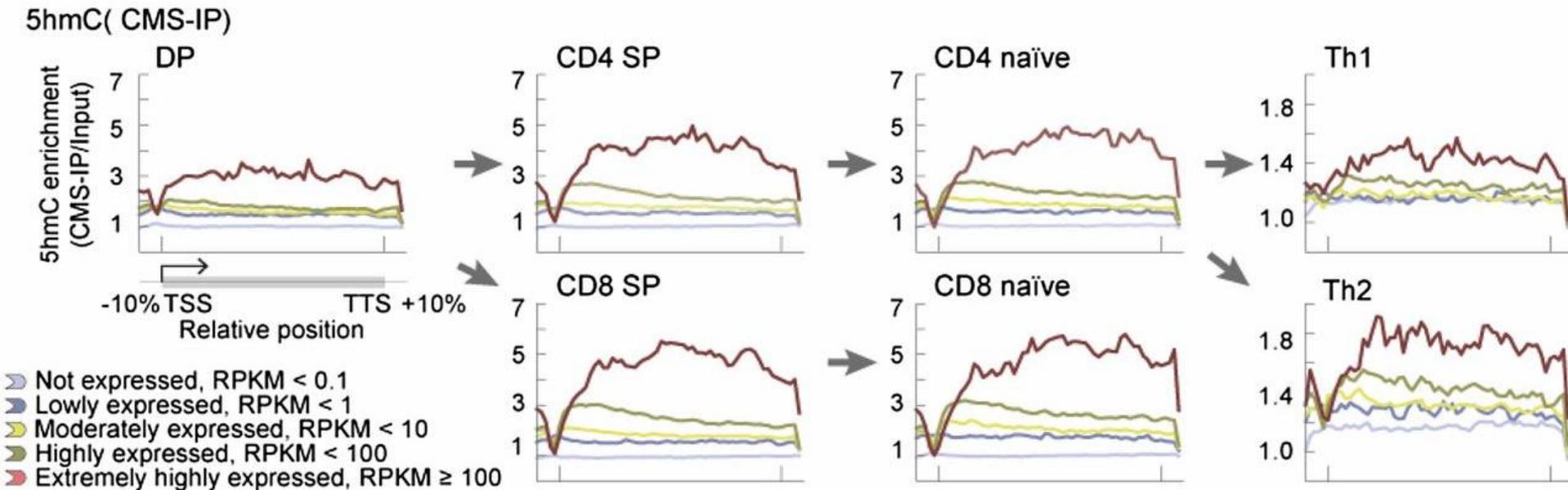


Высокое содержание 5-hmC

# Гены, экспрессирующиеся на высоком уровне, имеют высокое содержание 5-гидроксиметилцитозина (Т-клетки мыши)

HERGs = 5hmC-enriched regions of the genome

C



Типы клеток:

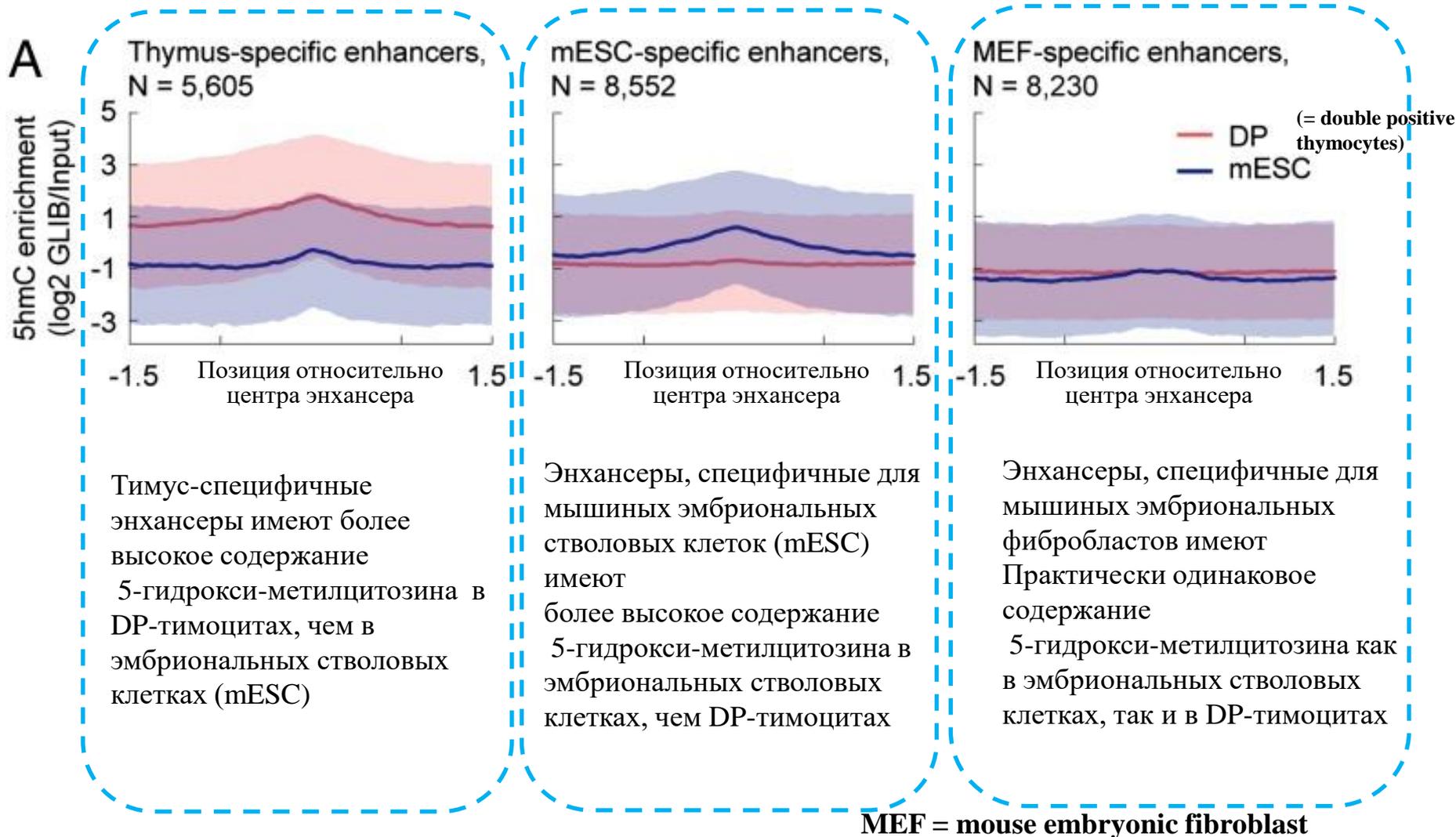
DP - double positive thymocytes;

CD4 SP and CD8 SP - thymic CD4+ and CD8+ cells;

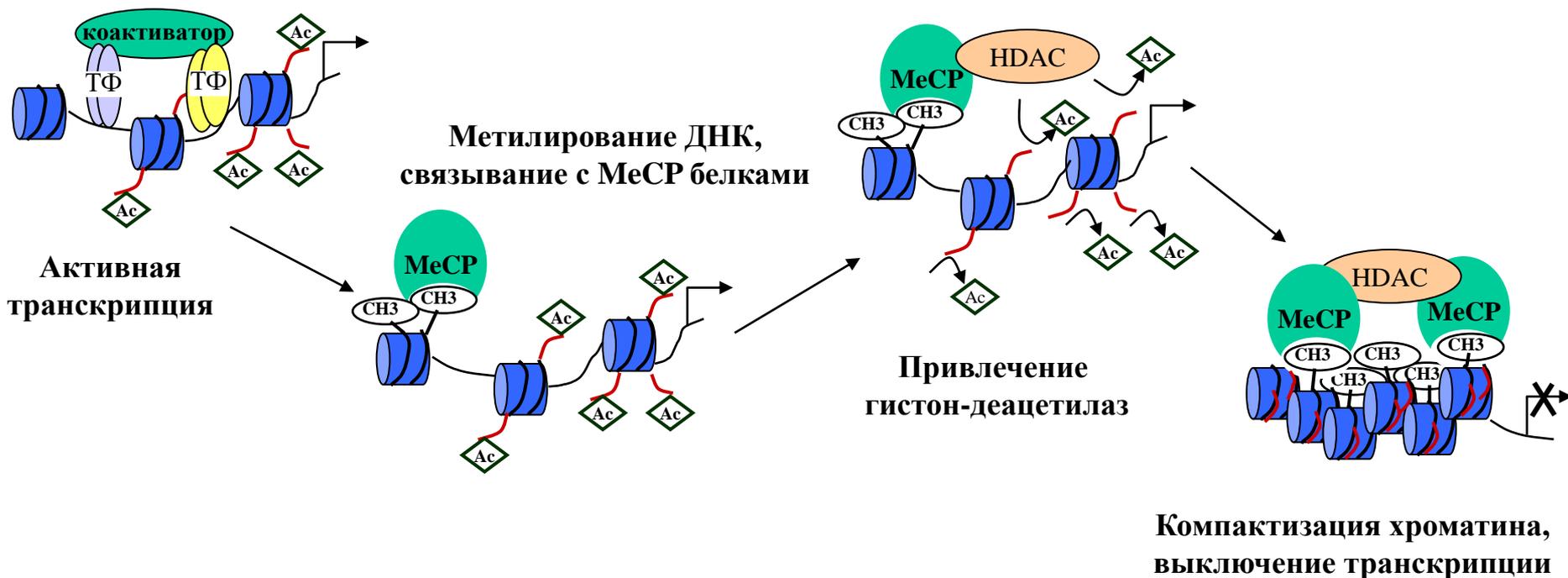
CD4 naïve and CD8 naïve – precursors of T helper cells

Th1 and Th2 - differentiated T helper cells

# Энхансеры , обеспечивающие высокую ткане-специфическую экспрессию генов, имеют высокое содержание 5-гидрокси-метилцитозина



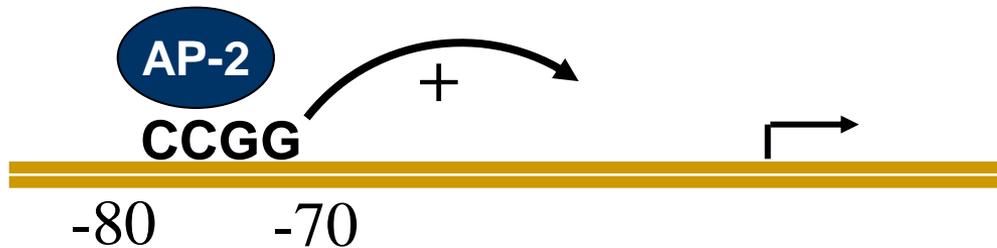
# Схематическое представление механизма подавления транскрипции генов, инициированного метилированием ДНК и последующим привлечением гистон-деацетилаз.



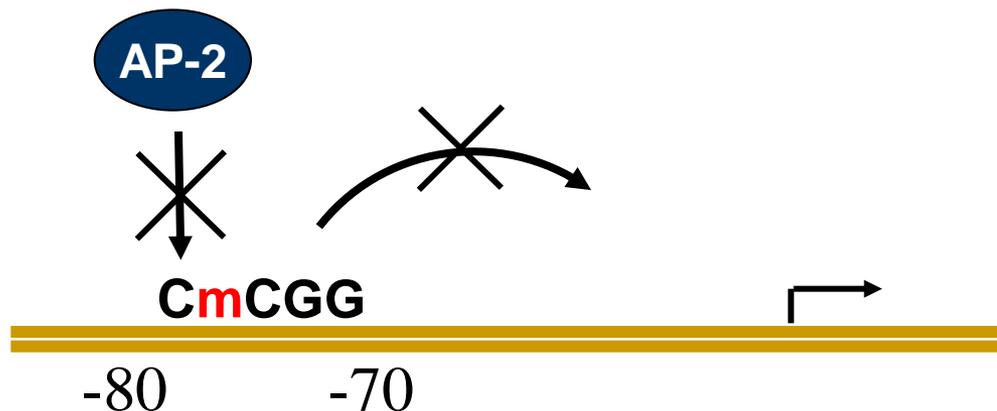
MeCP - метил-CpG-связывающие белки ,  
HDAC – гистон-деацетилаза.

Метилирование нуклеотидов в пределах сайтов связывания транскрипционных факторов затрудняет их специфическое взаимодействие с факторами.

ПРИМЕР: ген проэнкефалина человека содержит сайт связывания транскрипционного фактора AP-2 районе -80/-70 от старта транскрипции.



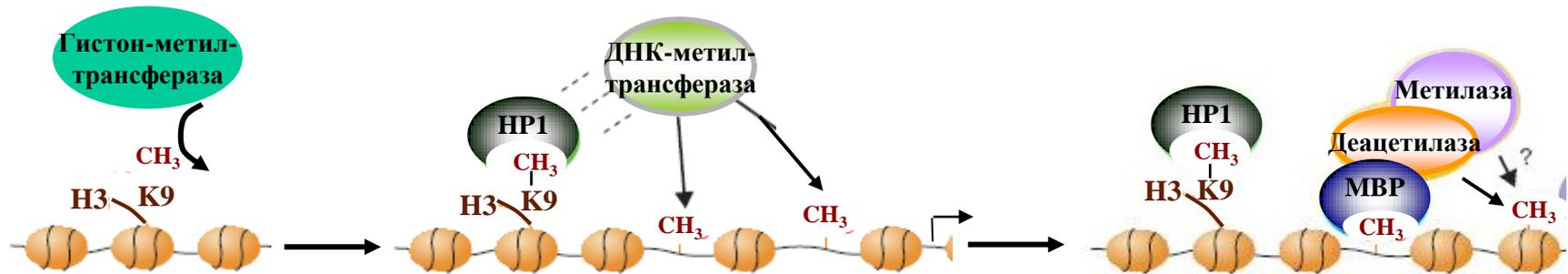
Если сайт связывания AP-2 находится в деметилированном состоянии, AP-2 эффективно взаимодействует с этим сайтом, что приводит к активации транскрипции гена



Метилирование нарушает связывание белка AP-2 с ДНК и транскрипция снижается

# МЕХАНИЗМ, СОПРЯГАЮЩИЙ ПРОЦЕССЫ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГИСТОНОВ И МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК

предложен по результатам исследования на модельном организме *Neurospora crassa*  
(Нейроспора густая из рода «Красная хлебная плесень»)

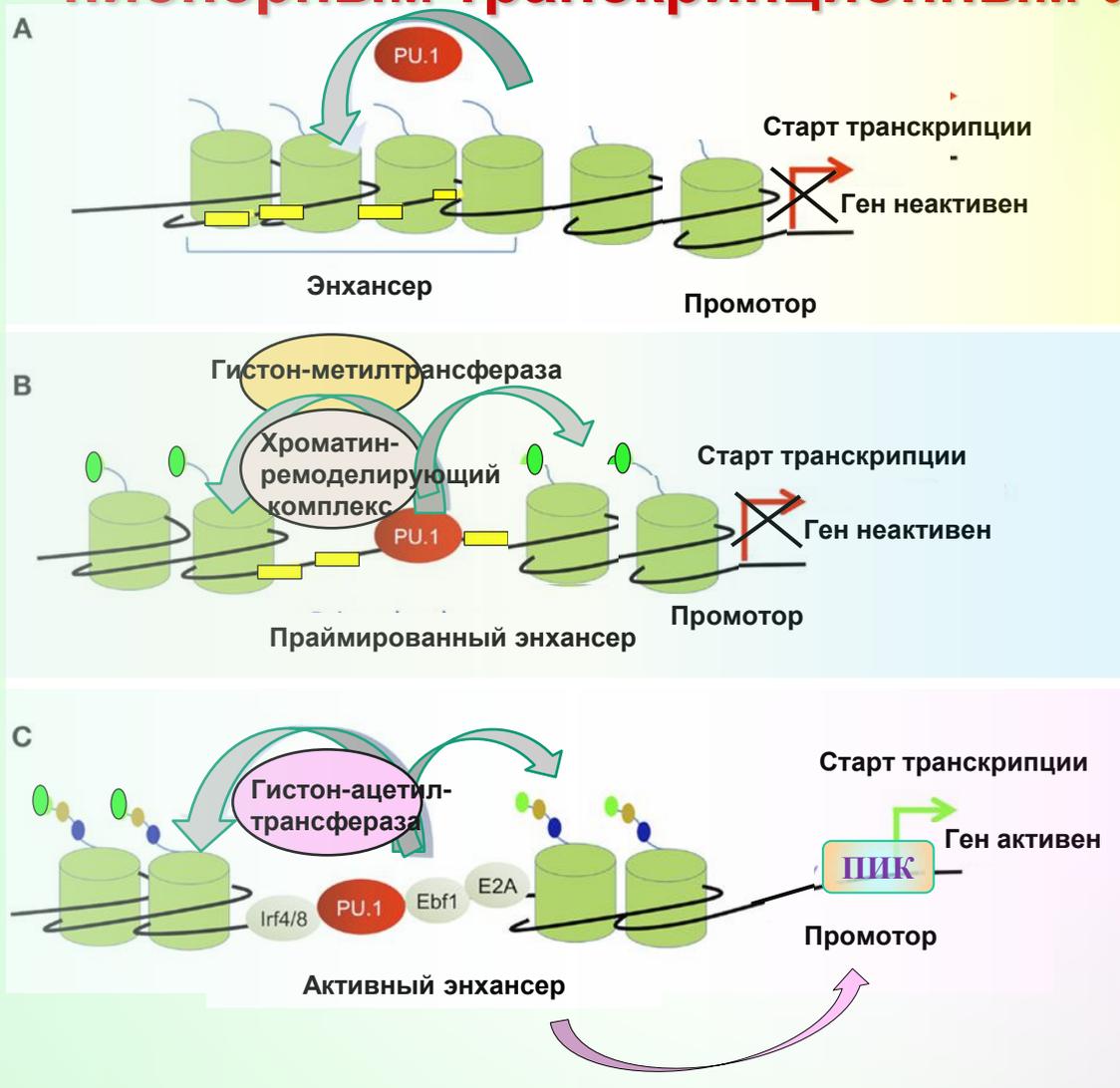


## Основные этапы:

- 1) Метилирование лизина H3-K9 при участии гистон-метилтрансфераз (например, Suvar39h).
- 2) Возникновение высокоаффинного участка связывания структурного белка гетерохроматина HP1 (heterochromatin protein 1).
- 3) Белок HP1 привлекает ДНК-метилтрансферазу, осуществляющую метилирование ДНК.
- 4) Метилированные участки ДНК взаимодействуют с МВР-белками, содержащими метил-связывающие домены (МВД).
- 5) МВР-белки оказывают дальнейшее инактивирующее влияние на хроматин, поскольку способны привлекать белки с деацетилазными активностями, и, весьма вероятно, с гистон-метилтрансферазными активностями.

Результат: стабилизация инактивированного состояния хроматина и его распространение вдоль хромосомы.

# Пошаговая упрощенная схема ремоделинга энхансерного хроматина, индуцированного пионерным транскрипционным фактором PU.1



- Пионерный транскрипционный фактор = фактор - «первопроходец»
- Другие транскрипционные факторы

Модификации хроматина

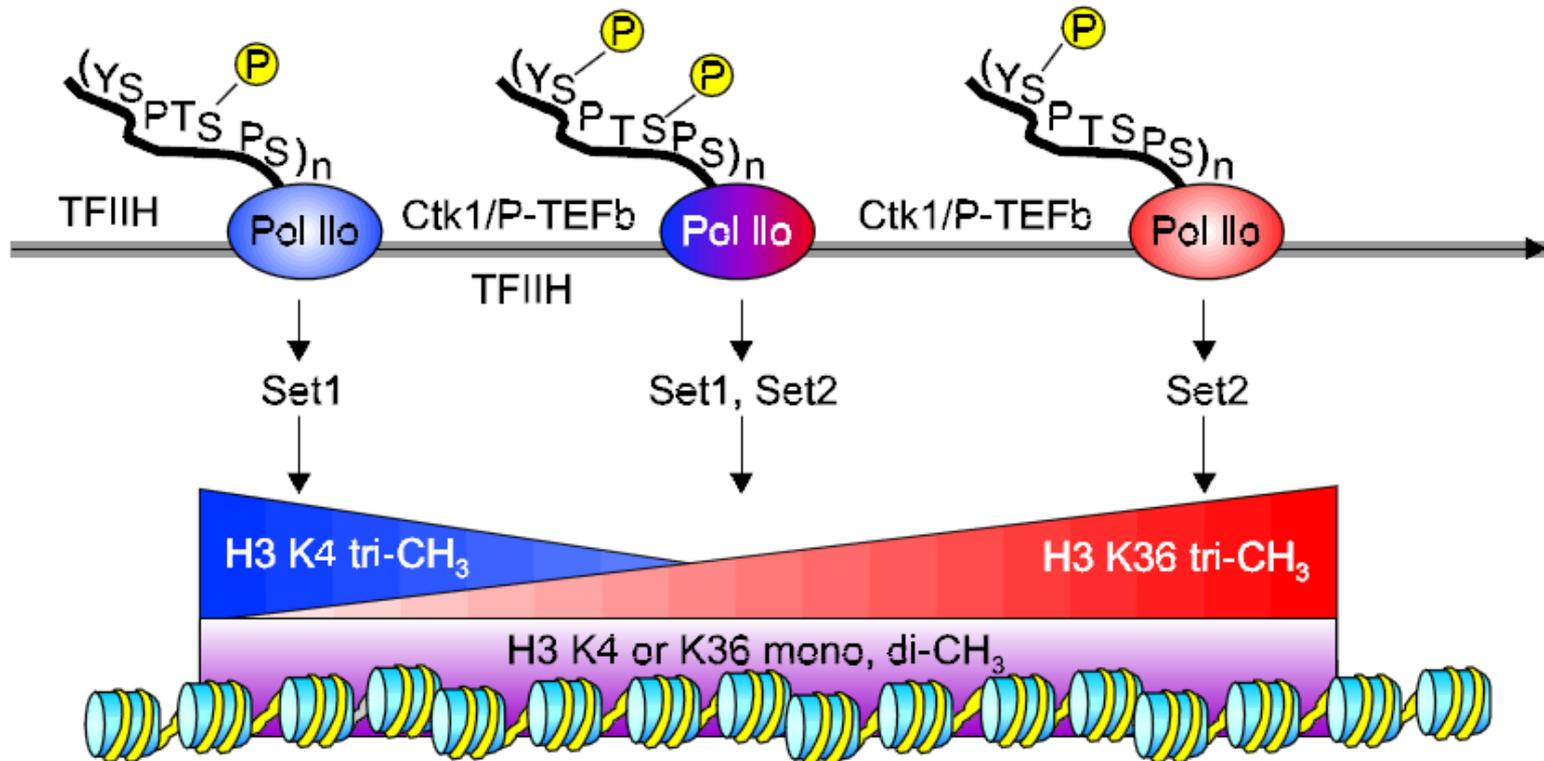
- H3K4me1
- H3K9ac
- H3K27ac

Сайты связывания транскрипционных факторов

ПИК Прединициационный комплекс

# МОДИФИКАЦИИ ХРОМАТИНА НА РАЗЛИЧНЫХ ЭТАПАХ ТРАНСКРИПЦИИ

Ранняя элонгация → Поздняя элонгация

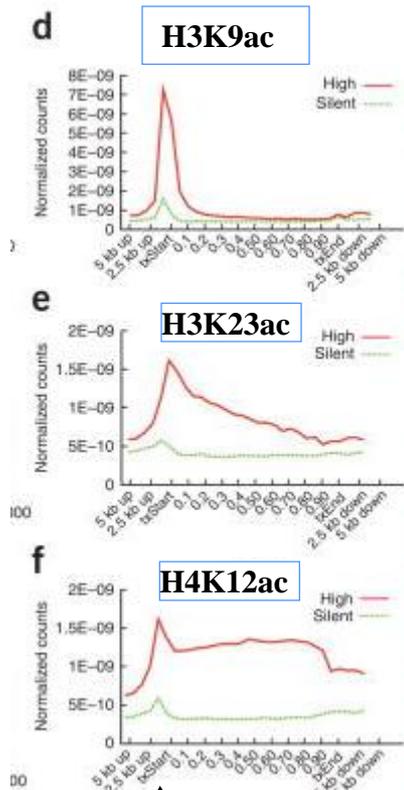


5'-район гена обогащен модификацией H3K4-triCH<sub>3</sub>, а 3'-район гена имеет маркер H3K36-triCH<sub>3</sub>. Метилирование лизина в позиции H3K4 осуществляется белками семейства Set1, а в позиции H3K36 - белками семейства Set2. Комплекс белков Set1 взаимодействует с транскрипционной машиной через S5 фосфорилированный CTD. Белки Set2 привлекаются по мере появления S2 фосфорилирования CTD.

# Типичные модификации хроматина на участке ДНК перед стартом транскрипции (CD4+ Т клетки человека)

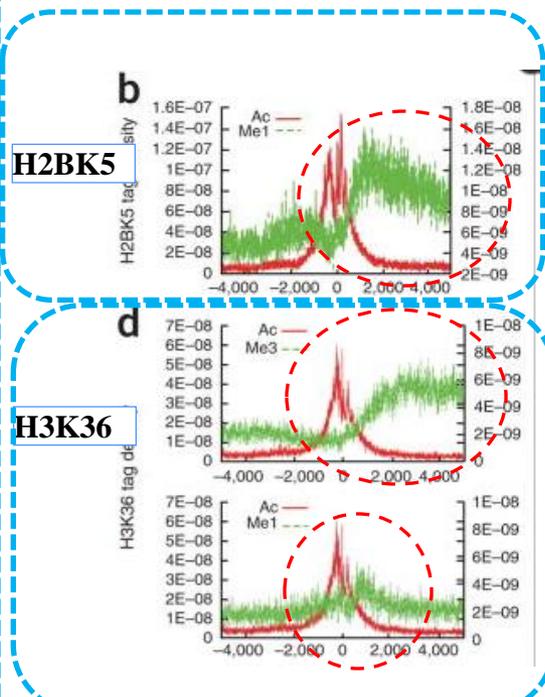
Паттерн ацетилирования гистонов перед стартом транскрипции и в теле гена

1000 высоко экспрессирующихся генов  
1000 «молчащих» генов

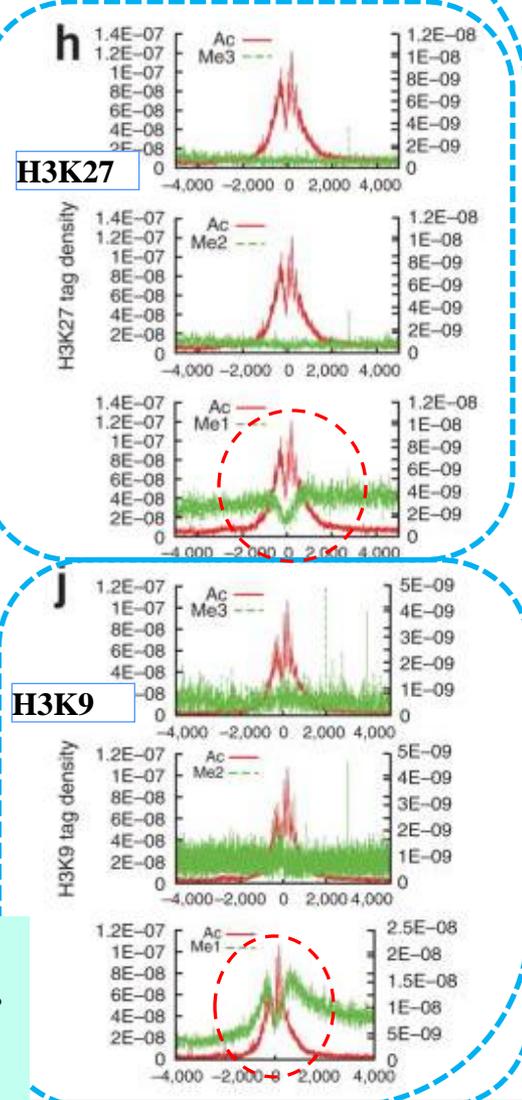


Ацетилирование гистонов положительно коррелирует с экспрессией генов

Пространственное распределение взаимно антагонистических маркеров хроматина вдоль участков активных генов (1000 генов)



Модификации H2BK5me1, H3K36me3, H3K27me1 встречались существенно чаще в центральной части транскрипта



Старт транскрипции  
Точка терминации транскрипции

# ОСНОВНЫЕ КЛАССЫ БЕЛКОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ ЭУКАРИОТ

## РНК-полимеразы

Синтез молекулы РНК, комплиментарной и антипараллельной матричной цепи ДНК.

РНК-полимеразы не могут функционировать сами по себе

## Базальные (общие) транскрипционные факторы

ДНК-связывающий домен **имеется** у белка ТВР (компонент TFIID)

Формируют ПИК, обеспечивают точную посадку РНК-полимеразы на участки ДНК, прилежащие к стартам транскрипции

## Транскрипционные факторы

**Имеют** ДНК-связывающий домен, Специфически взаимодействуют с ДНК

Регулируют интенсивность синтеза РНК каждого конкретного гена в соответствии с потребностями организма (типом ткани, стадией развития, воздействиями окружающей среды)

## Белки-медиаторы

**Не имеют** ДНК-связывающего домена, Взаимодействуют с белок-белковыми и ДНК-белковыми комплексами

## Корегуляторные белки (коактиваторы и корепрессоры)

**Определение:**

**Корегуляторные белки (коактиваторы и корепрессоры)** не имеют ДНК-связывающих доменов и участвуют в регуляции транскрипции без непосредственного специфического взаимодействия с ДНК.

Корегуляторные белки, эффект которых состоит в активации транскрипции, называются коактиваторами, а белки, ослабляющие транскрипцию, именуются корепрессорами.

## Классы корегуляторных белков (в соответствии с механизмом их действия):

I. Влияют на структуру хроматина благодаря своей способности ковалентно модифицировать **гистоны**. Наиболее известные представители белков этого класса функционируют в составе **гистон-ацетилазных** (либо **гистон-деацетилазных**) комплексов, ослабляя либо, напротив, усиливая взаимодействие гистоновых белков с ДНК в составе нуклеосом.

II. Влияют на структуру хроматина, осуществляя модификации **цитозина в составе ДНК** (**DNMT-ДНК метилтрансферазы, белки семейства TET, etc.**)

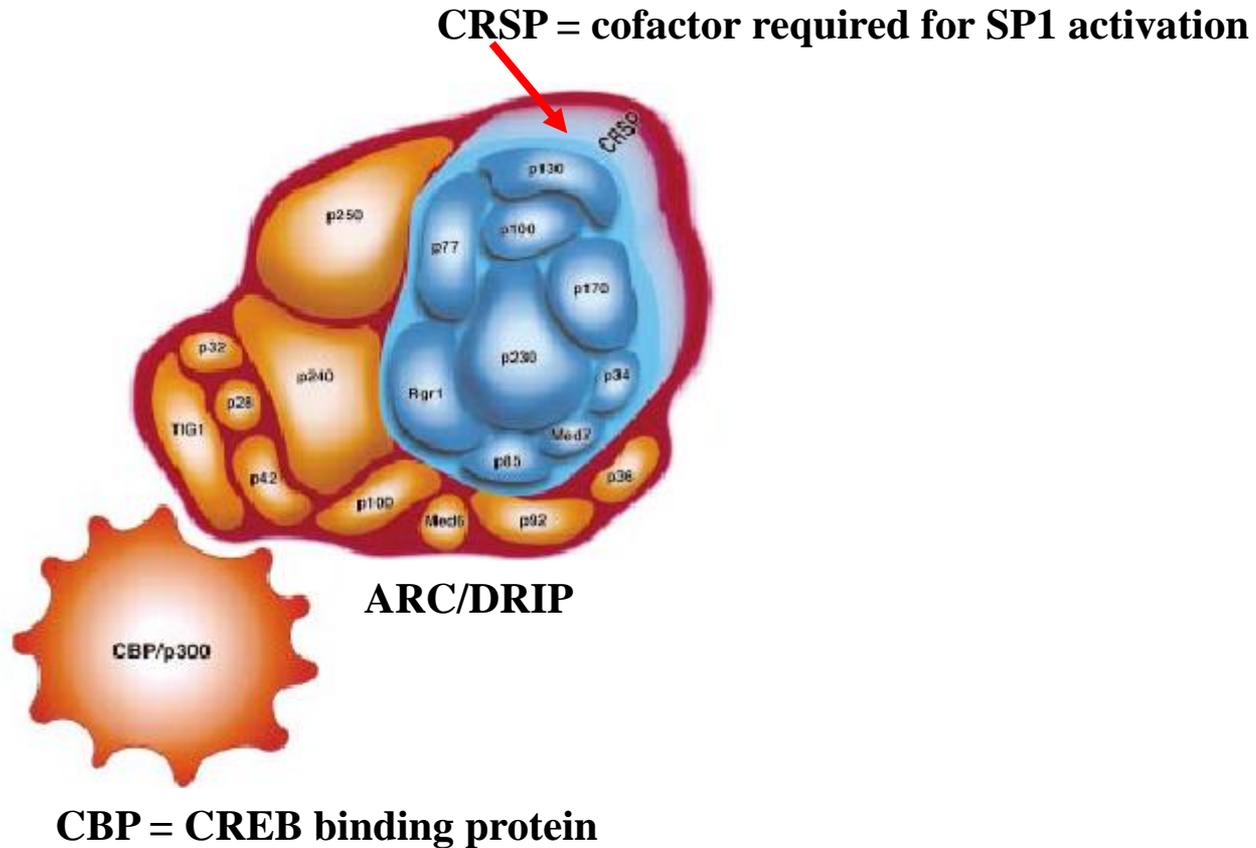
- **Райтеры** – записывающие белки, осуществляют ацетилирование, метилирование и т.д.

- **Ридеры** - белки, имеющие в своем составе домены, способные опознавать определенные модификации хроматина.

- **Эрайзеры** – белки, стирающие метки хроматина

III. Осуществляют АТФ-зависимую реорганизацию (ремоделинг) хроматина, включая ослабление связи ДНК с гистоновыми белками (разрыхление нуклеосомной укладки), а также перемещение нуклеосомы вдоль ДНК (**SWI/SNF комплекс**).

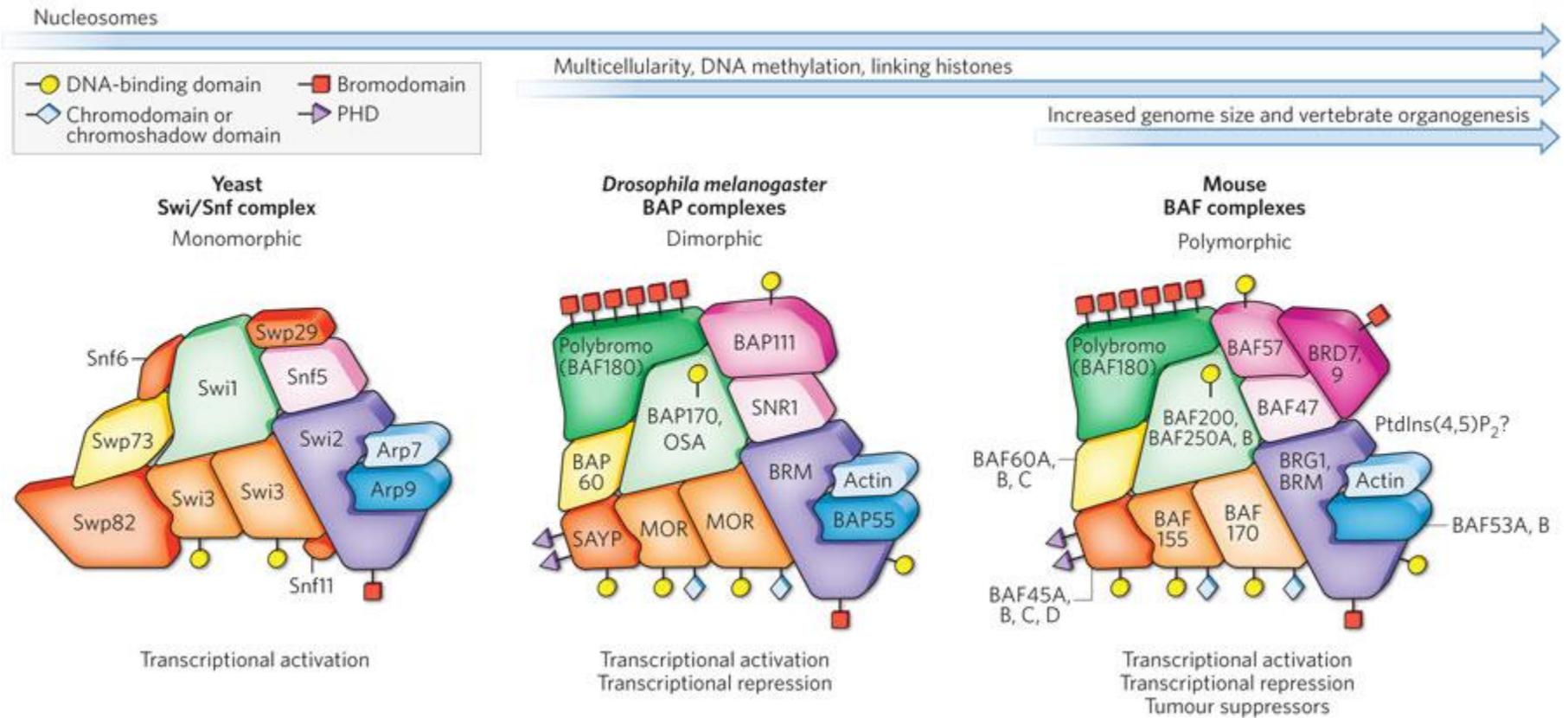
# ПРИМЕР: структура коактиваторного комплекса ARC/DRIP МЛЕКОПИТАЮЩИХ



**Комплекс CRSP опосредует активацию транскрипционным фактором SP1 не зависимо от ARC/DRIP**

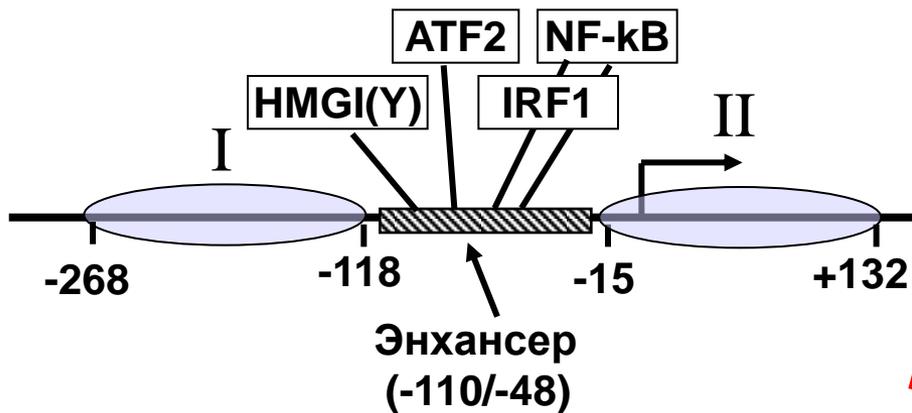
**Hampsey M, Reinberg D.** RNA polymerase II as a control panel for multiple coactivator complexes. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1999, 9, 2, 132-139

# Комплекс, осуществляющий АТФ-зависимую реорганизацию (ремоделлинг) хроматина



BAF complexes, brahma-associated factor complexes; BAP complex, BRM-associated proteins; BRD, bromodomain-containing protein; BRG1, brahma-related gene 1; MOR, Moira; PHD, plant homeodomain; PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>, phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate; SAYP, supporter of activation of yellow protein; SNR1, Snf5-related protein 1; **SWI/SNF, SWItch/Sucrose Non-Fermentable**

# Модель сборки комплекса хроматин-модифицирующих и базальных факторов на промоторе гена интерферона- бета человека

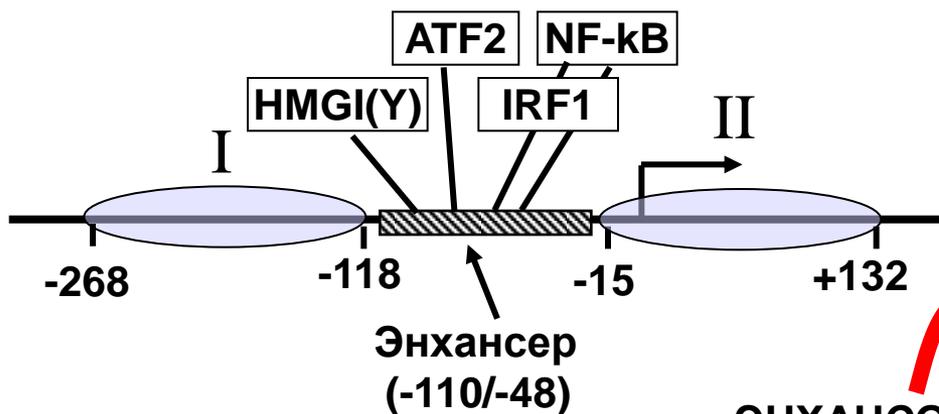


Вирусная инфекция активирует транскрипционные факторы ATF2, NF-KB, IRF1, которые вместе с HMGI(Y) формируют комплекс в районе энхансера – энхансосому. На ее поверхности происходит дальнейшая сборка активаторного комплекса, включающего хроматин-модифицирующие активности



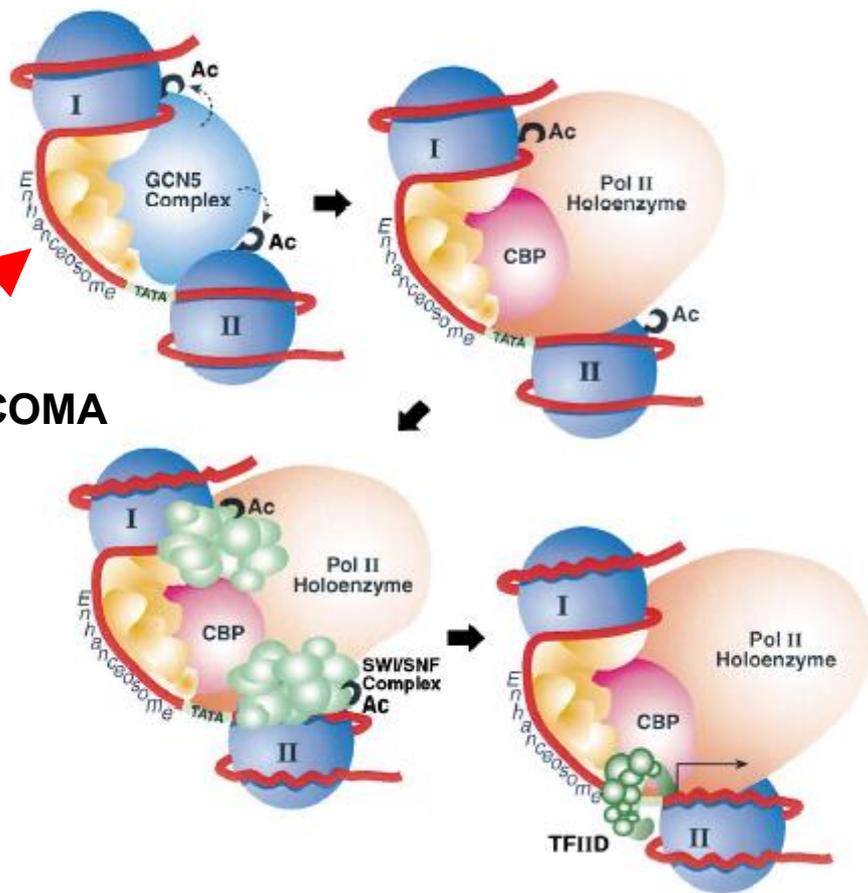
Agalioti T., Lomvardas S., Parekh B., Yie J., Maniatis T., Thanos D. Ordered Recruitment of Chromatin Modifying and General Transcription Factors to the IFN- $\beta$  Promoter. Cell, 2000, Vol. 103, 667–678

# Модель сборки комплекса хроматин-модифицирующих и базальных факторов на промоторе гена интерферона- бета человека



ЭНХАНСОСОМА

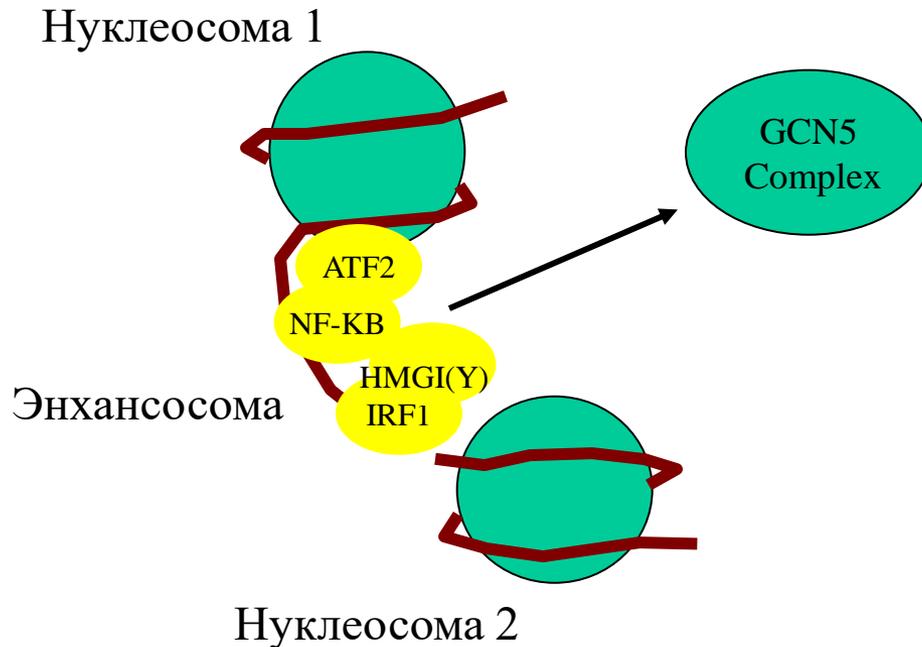
Вирусная инфекция активирует транскрипционные факторы ATF2, NF-KB, IRF1, которые вместе с HMGI(Y) формируют комплекс в районе энхансера – энхансосому. На ее поверхности происходит дальнейшая сборка активаторного комплекса, включающего хроматин-модифицирующие активности



Agalioti T., Lomvardas S., Parekh B., Yie J., Maniatis T., Thanos D. Ordered Recruitment of Chromatin Modifying and General Transcription Factors to the IFN- $\beta$  Promoter. Cell, 2000, Vol. 103, 667–678

# Регуляция транскрипции гена интерферона $\beta$ человека. Подготовка корового промотора гена интерферона $\beta$ человека к контакту с компонентами ПИК

## Стадия 1: сборка энхансосомы



### Участники:

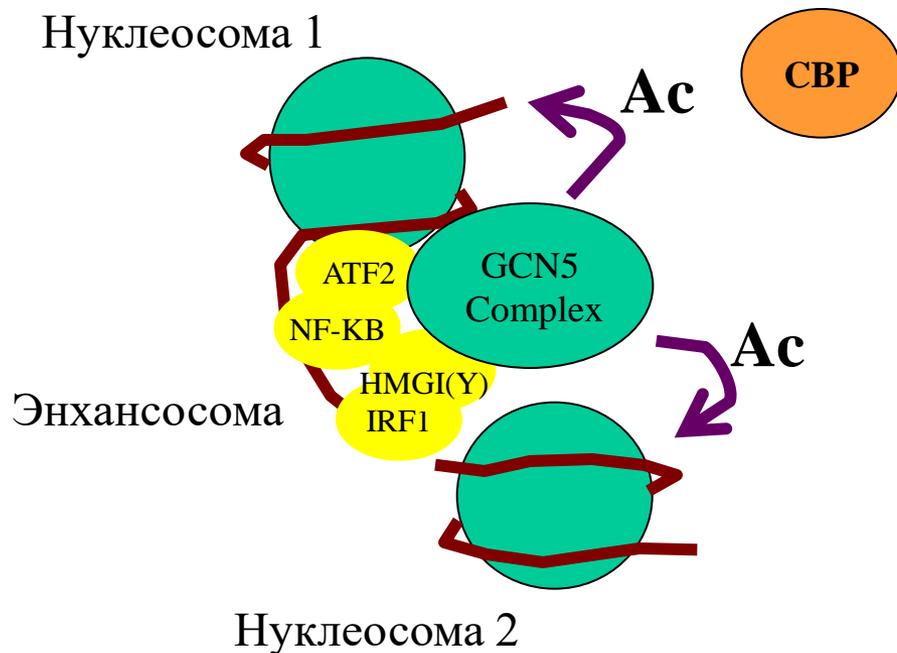
Белки (транскрипционные факторы): ATF2, NF- $\kappa$ B, IRF1, HMGI(Y)

Участок ДНК (энхансер), свободный от нуклеосомной укладки

Результат: образуется энхансосома - ДНК-белковый комплекс, способный притягивать мультибелковый комплекс GCN5

# Подготовка корового промотора гена интерферона $\beta$ человека к контакту с компонентами ПИК

## Стадия 2: Ацетилирование гистонов с участием комплекса GCN5



### Участники:

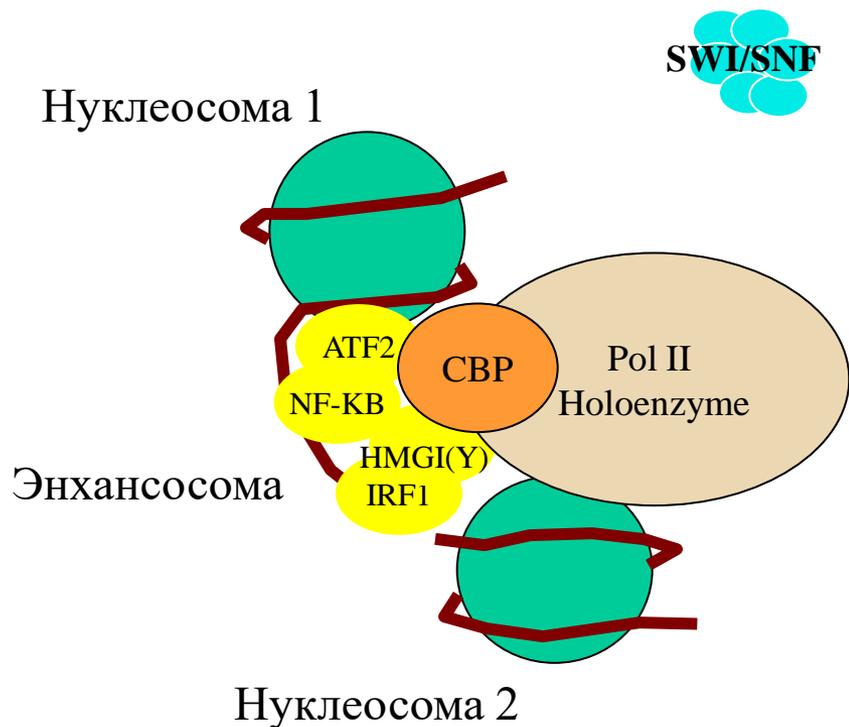
Гистон-ацетилазный комплекс: GCN5

N - концевые участки гистоновых белков

Результат: ДНК-белковый комплекс приобретает конформацию, оптимальную для привлечения белка-коактиватора **CBP** (CREB binding protein)

# Подготовка корового промотора гена интерферона $\beta$ человека к контакту с компонентами ПИК

## Стадия 3: Привлечение комплекса СВР/ Pol II



### Участники:

Комплекс: ДНК / энхансосома

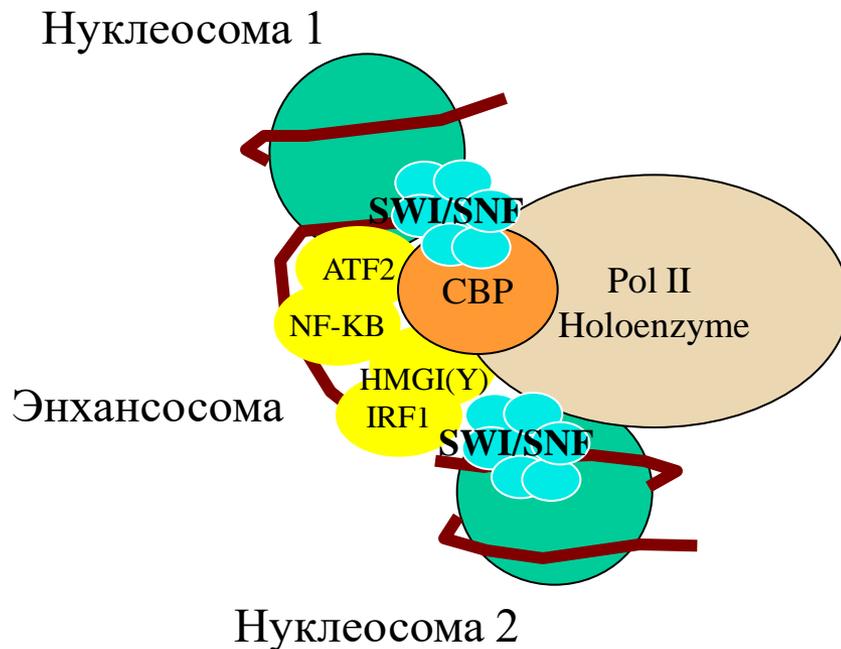
Белок-коактиватор: СВР (CREB binding protein)

Белковая машина: холоэнзим, включающая белок Pol II

Результат: Создается возможность для привлечения SWI/SNF комплекса (хроматин-ремоделирующий комплекс)

# Подготовка корового промотора гена интерферона $\beta$ человека к контакту с компонентами ПИК

## Стадия 4: Привлечение комплекса SWI/SNF



### Участники:

Хроматин-реemodelирующая белковая машина SWI/SNF.

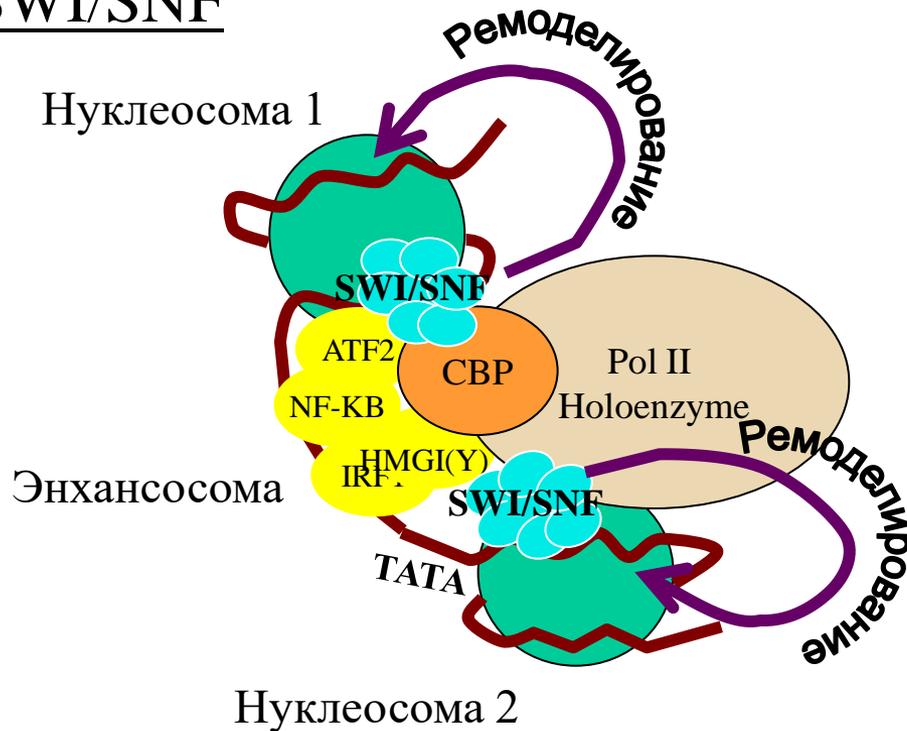
Комплекс ДНК/энхансосома/ CBP

Результат: Создается возможность для функционирования белковой машины SWI/SNF

# Подготовка корового промотора гена интерферона $\beta$ человека к контакту с компонентами ПИК

Стадия 5: Ремоделирование хроматина (нуклеосомной укладки) с участием хроматин-ремоделирующей белковой машины

## SWI/SNF



Участники:

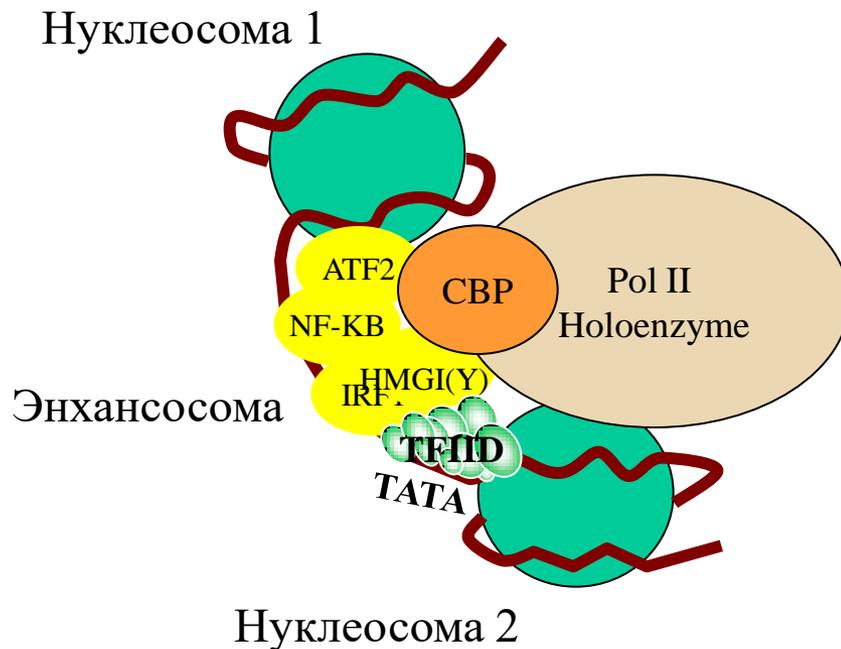
Хроматин-ремоделирующая белковая машина SWI/SNF.

Нуклеосомы

Результат: Нуклеосомы разрыхляются, ТАТА бокс становится доступным для взаимодействия с TFIID.

# Подготовка корового промотора гена интерферона $\beta$ человека к контакту с компонентами ПИК

## Стадия 6: Привлечение белка TFIID



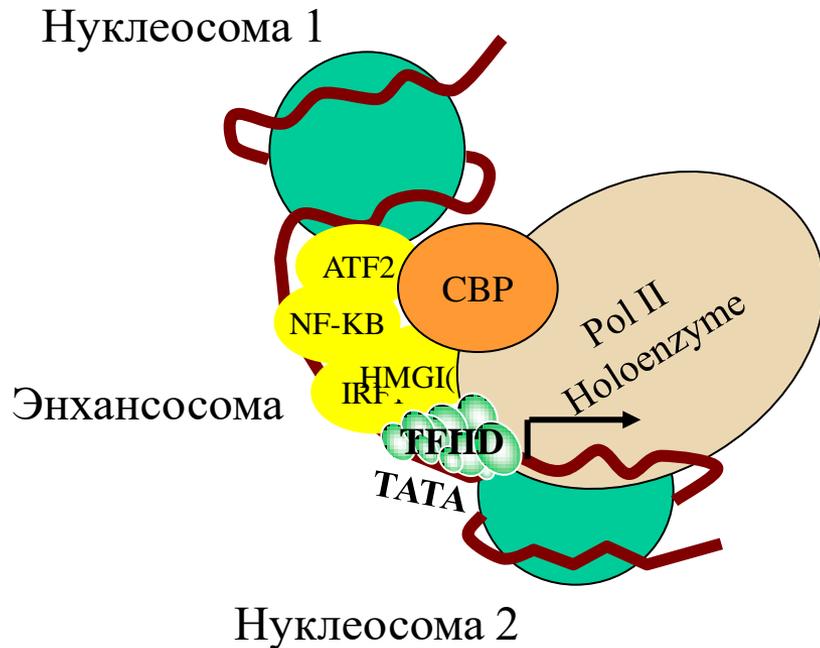
### Участники:

Промотор гена, включающий ТАТА бокс  
Базальный транскрипционный фактор TFIID.

Результат: Становится возможным формирование прединициаторного комплекса

# Формирование прединициаторного комплекса (ПИК) на промоторе гена интерферона $\beta$ человека

## Стадия 1: Закрытый комплекс



Участники:

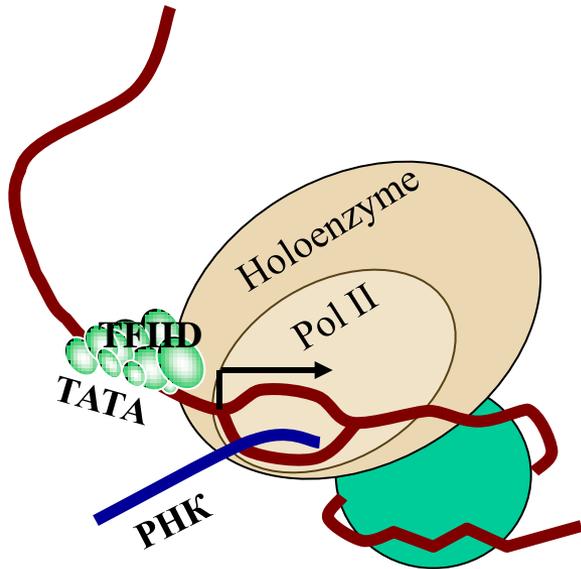
Комплекс ДНК/белок: ТАТА бокс/  
TFIID

Белковая машина: холоэнзим

Результат: Холоэнзим плотнее контактирует с ДНК. РНК-полимераза связывается с промотором. Образуется «закрытый комплекс»

# Инициация транскрипции гена интерферона $\beta$ человека

## Стадия 2: Открытый комплекс -> инициация транскрипции



### Участники:

РНК полимераза Pol II

Матричная цепь ДНК

Результат: Инициация транскрипции проходит стадию открытого комплекса. Синтезируются первые 2-9 нуклеотидов РНК

# ЭТАПЫ ТРАНСКРИПЦИИ

Эукариоты

-Подготовка корового промотора к контакту с компонентами ПИК

-Посадка РНК-полимераз в комплексе со вспомогательными белками на ДНК в районе старта транскрипции, что у эукариот означает формирование прединициаторного комплекса (ПИК)

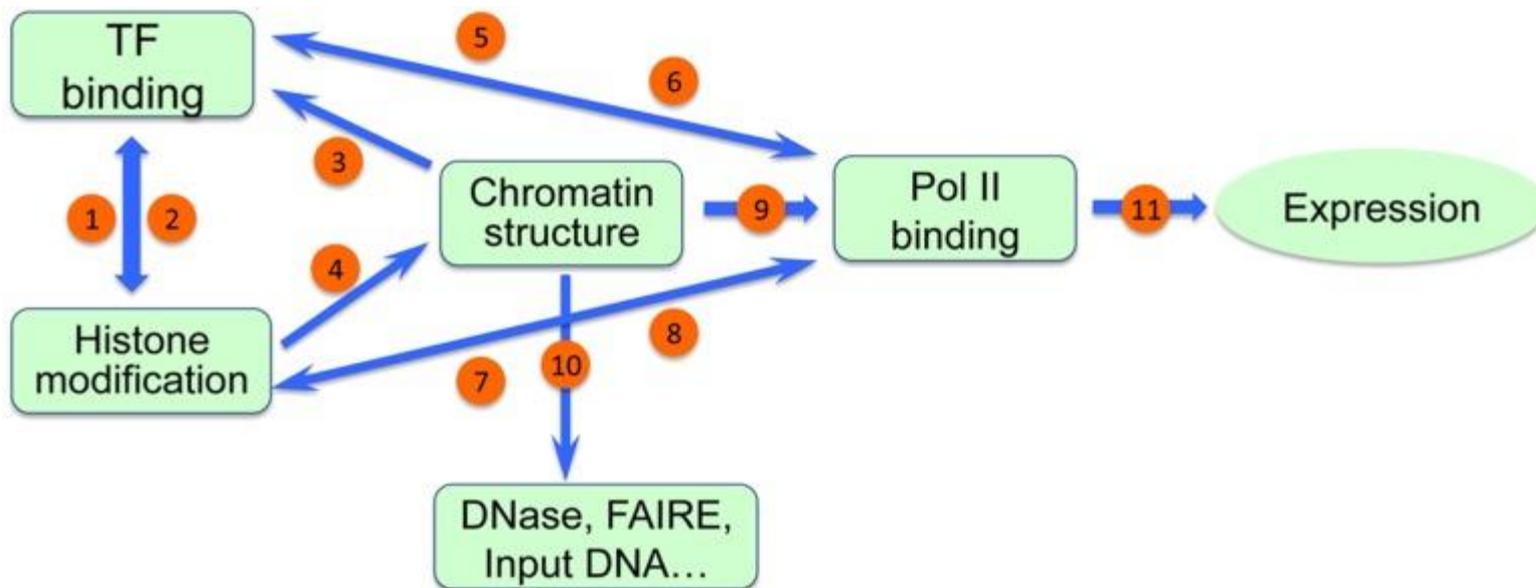
-Инициация транскрипции

-Элонгация РНК

-Терминация транскрипции

Прокариоты, Эукариоты

# Дополнительный слайд для самостоятельного ознакомления



- (1) Recruiting histone modifiers
- (2) Recruiting TFs
- (3) Accessibility
- (4) Remodeling
- (5) Recruiting general TFs
- (6) Interacting with TFs

- (7) Recruit general TFs
- (8) Interacting with histone modifiers
- (9) Accessibility
- (10) Accessibility
- (11) Transcription

Cheng C. et al., Understanding transcriptional regulation by integrative analysis of transcription factor binding data. *Genome Res.* 2012 Sep;22(9):1658-67.

Конец 3-ей лекции