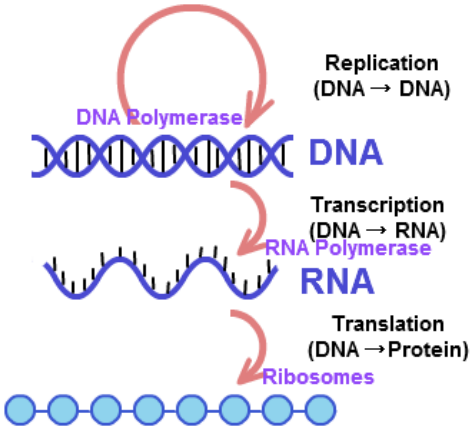
Лекция №9(7)

Регуляция экспрессии генов на уровне трансляции

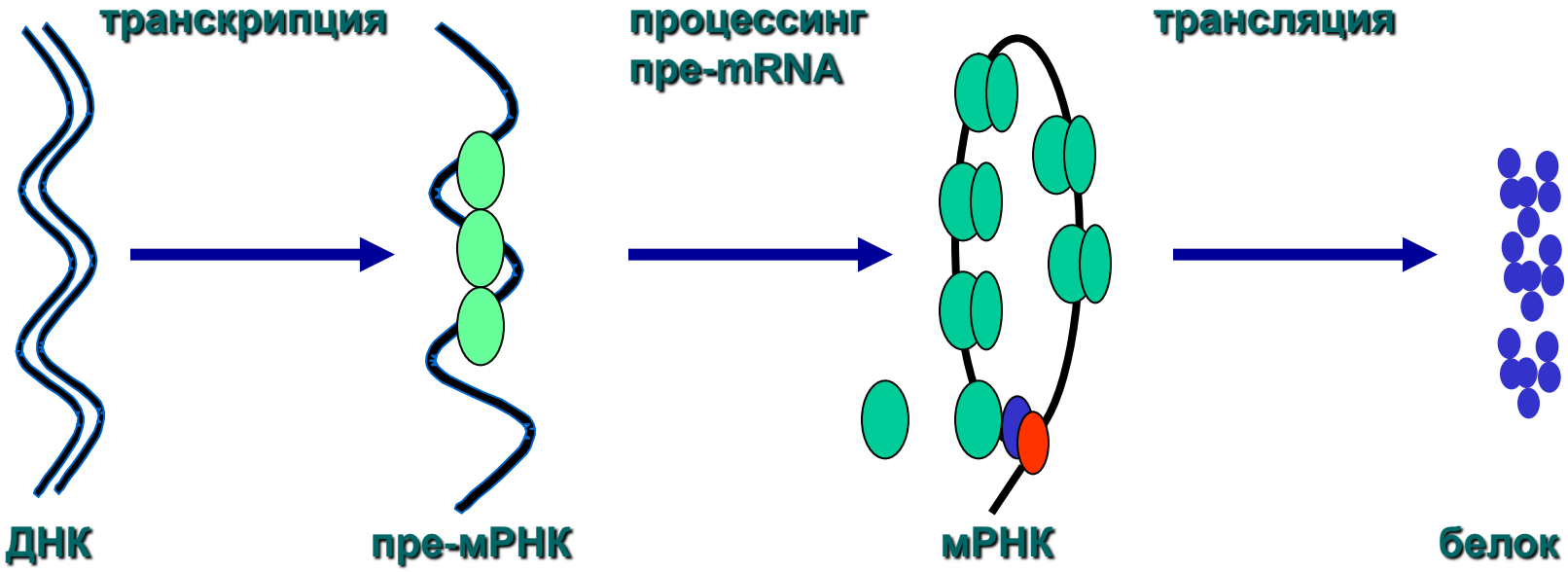
Игнатьева Е.В.
к.б.н., с.н.с. лаб. эволюционной биоинформатики и теоретической генетики

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

Трансляция – один из фундаментальных биологических процессов

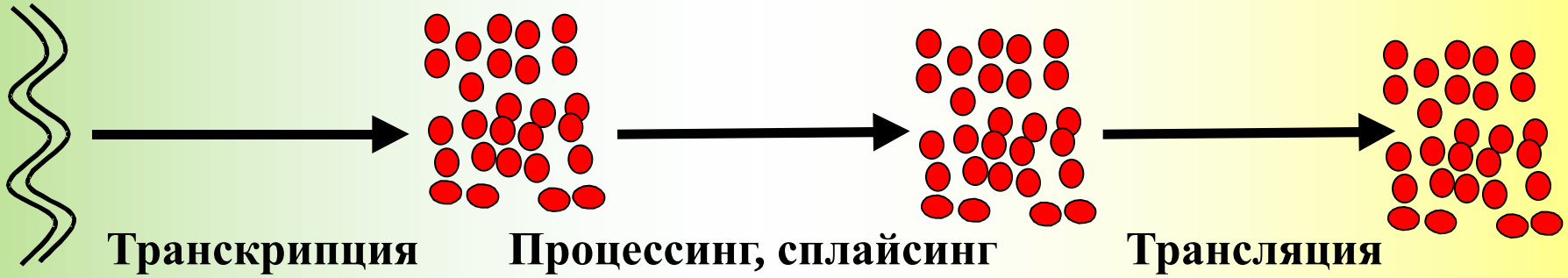


Трансляция –
это процесс перехода генетической информации от мРНК к белку
= процесс синтеза белка из аминокислот на матрице информационной (матричной) РНК, осуществляемый рибосомой.

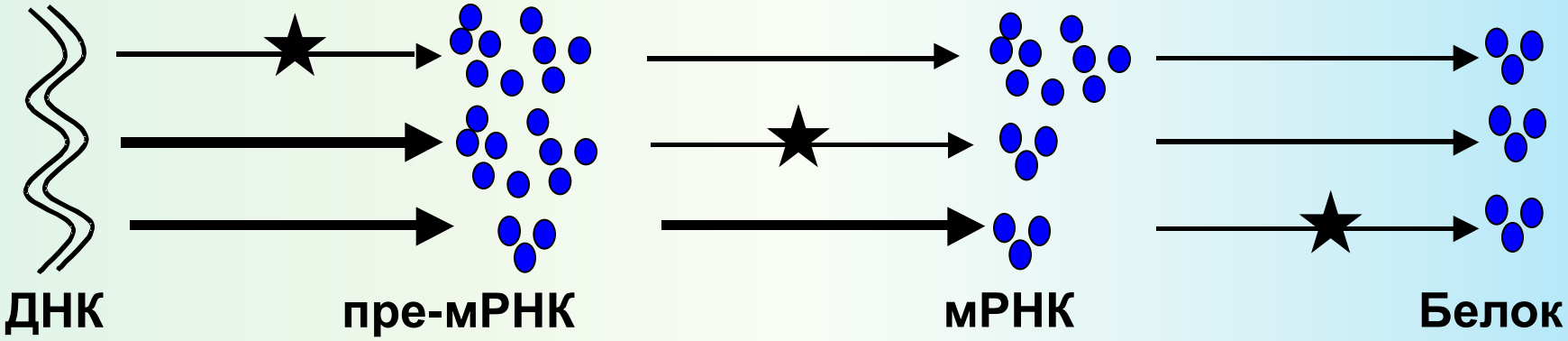


Концепция «лимитирующего звена» в приложении к процессу экспрессии

Высокий уровень экспрессии: высокоэффективны все стадии



Низкий уровень экспрессии (★- низкоэффективные стадии)



Основные участники процесса трансляции

Информация

1. **мРНК**

2. **Рибосома – сложный РНК-белковый комплекс**

3. **Транспортные РНК (тРНК) – посредники между пулом свободных аминокислот и трансляционным аппаратом**

4. **Аминоацил тРНК-синтетазы – распознают «свои» тРНК, соответствующие каждой аминокислоте, и осуществляют связывание аминокислот и тРНК,**

5. **Регуляторные белки – факторы инициации, элонгации, терминации и др.**

Аппарат, считывающий информацию

Генетический код – соответствие кодонов и аминокислот

2nd base in codon

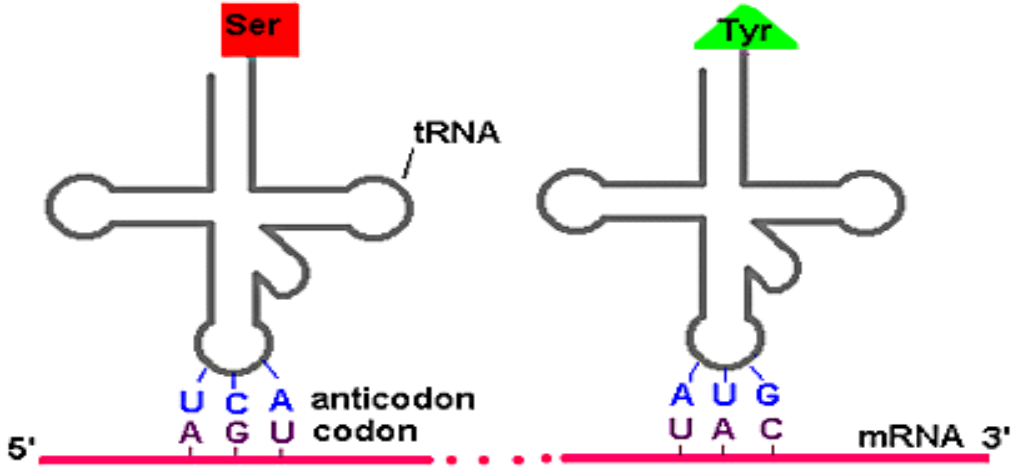
1st base in codon	U	C	A	G	3rd base in codon
U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G
C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G

- Число тринуклеотидных комбинаций из 4 нуклеотидов = равно 64 (4^3)
- Три кодона являются нонсенс-кодонами и выполняют функцию терминаторов трансляции
- Каждой из 20 аминокислот соответствует от одного до шести кодонов.
- Кодоны, кодирующие одну аминокислоту, называются синонимическими

Кодон – тринуклеотид на мРНК. Кодон может соответствовать аминокислоте либо стоп-кодону

Транспортные РНК (тРНК)

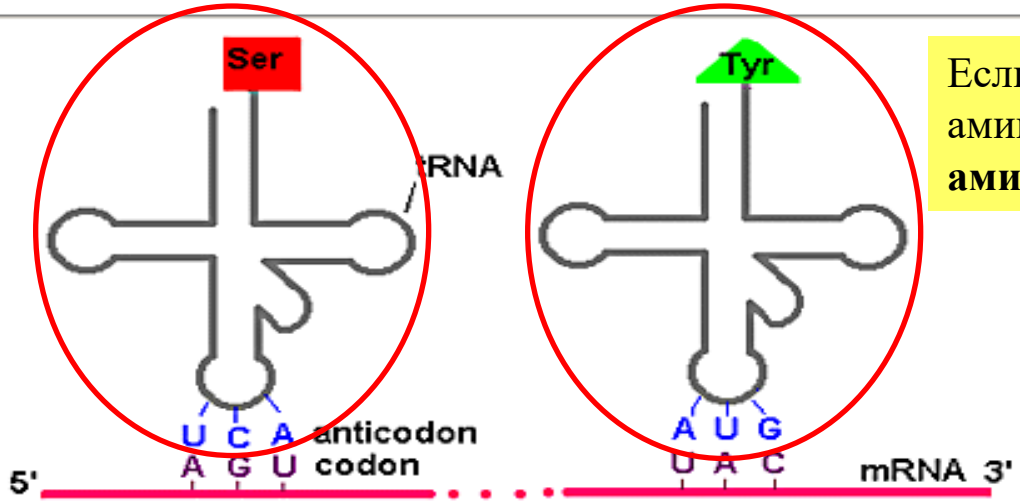
распознают кодоны в белок-кодирующих последовательностях мРНК с помощью комплементарных взаимодействий, в которых участвуют антикодоны.



Кодон – тринуклеотид на матричной РНК, соответствующий либо аминокислоте либо стоп-кодону

Транспортные РНК (тРНК)

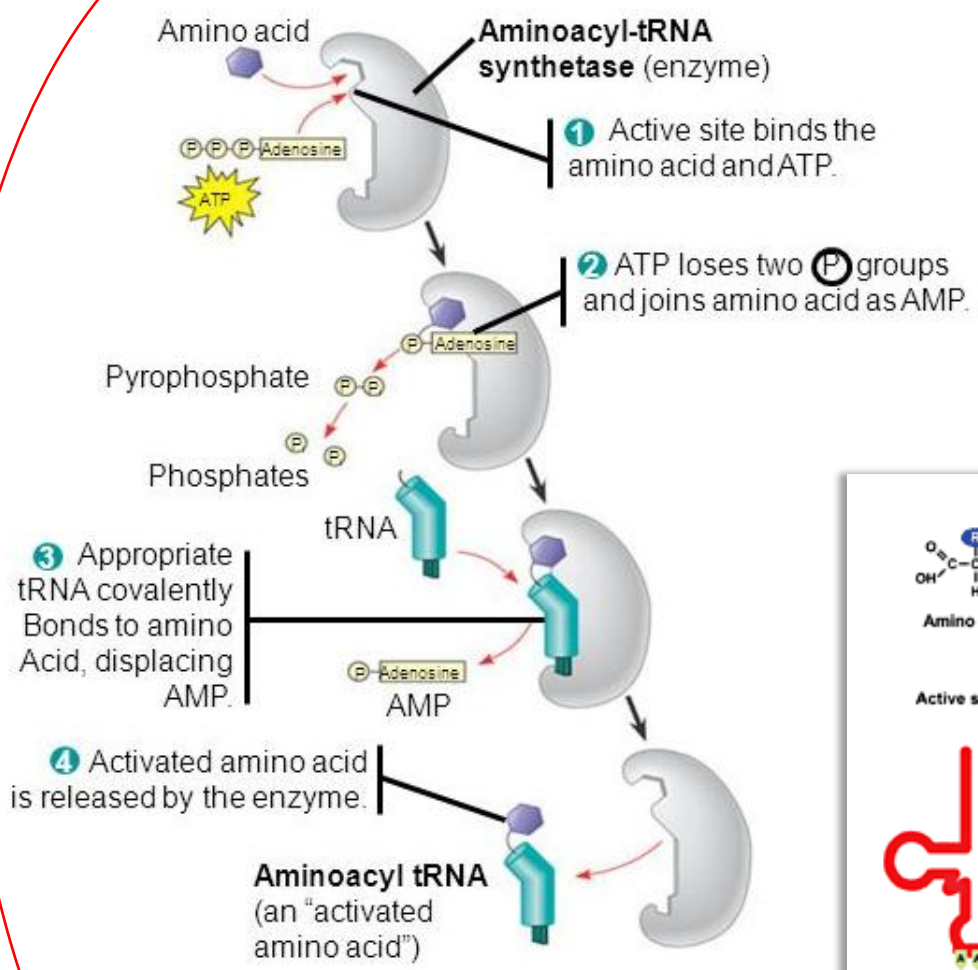
распознают кодоны в белок-кодирующих последовательностях мРНК с помощью комплементарных взаимодействий, в которых участвуют антикодоны.



Если тРНК загружена аминокислотой, ее называют **аминоацил-тРНК**.

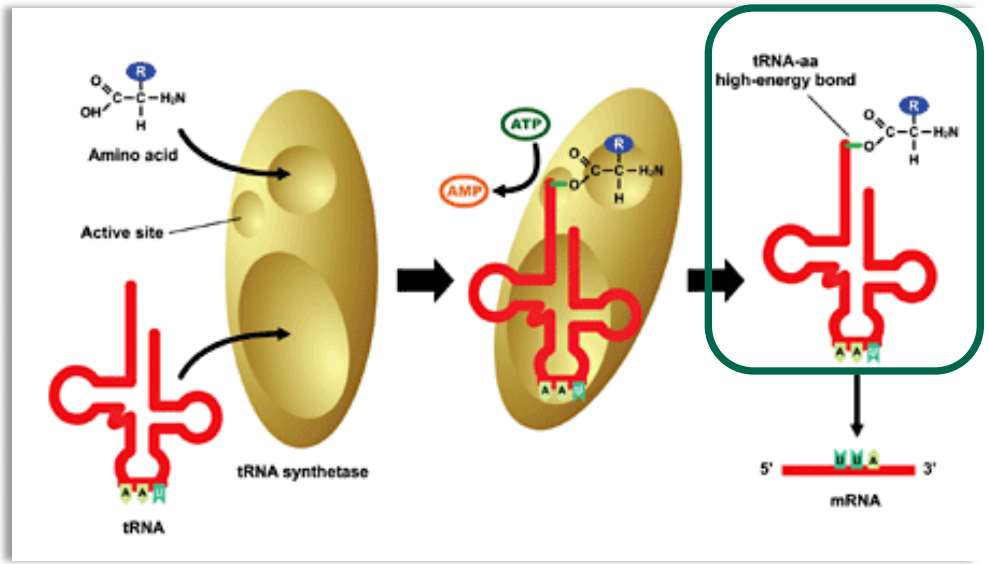
Кодон – тринуклеотид на матричной РНК, соответствующий либо аминокислоте либо стоп-кодону

Функция фермента аминоацил-тРНК-синтетазы:



Аминоацил-тРНК

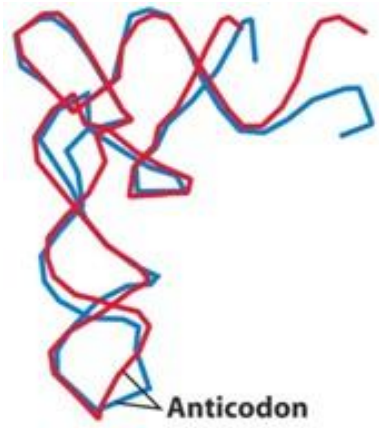
= Аминокислота прикреплена сложноэфирной связью своей карбоксильной группы к 2’ или 3’-гидроксильной группе рибозы 3’-концевого нуклеотида тРНК (это всегда аденин)



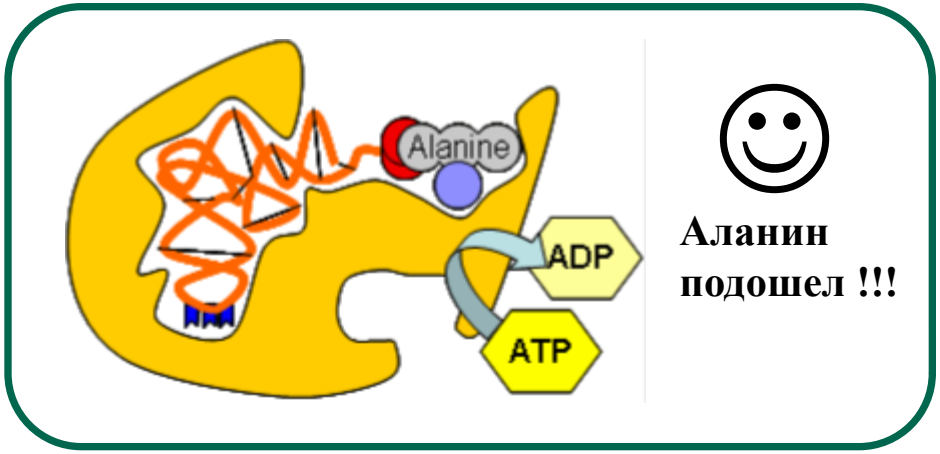
Аминокислота + тРНК + АТФ -> Аминоацил-тРНК + АМФ + 2Р

Аминоацил тРНК-синтетазы – распознают «свои» тРНК, соответствующие каждой аминокислоте, и осуществляют связывание аминокислот и тРНК, в силу чего такие аминоацилированные тРНК несут аминокислоты. **В этом заключается связь между генетическим кодом – представленным антикодоном тРНК и аминокислотой, с этой тРНК сцепленной**

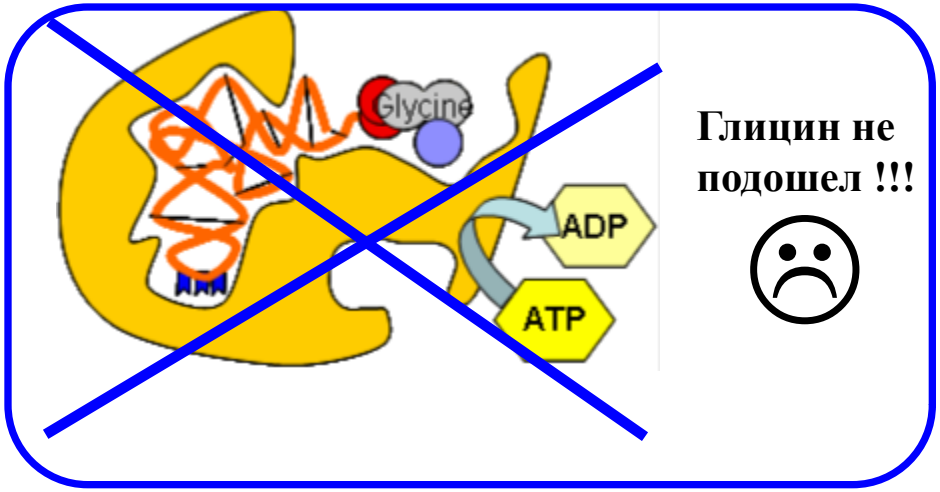
Аминоацил-тРНК-синтетаза: специфичность



Каждая тРНК имеет уникальную третичную структуру.

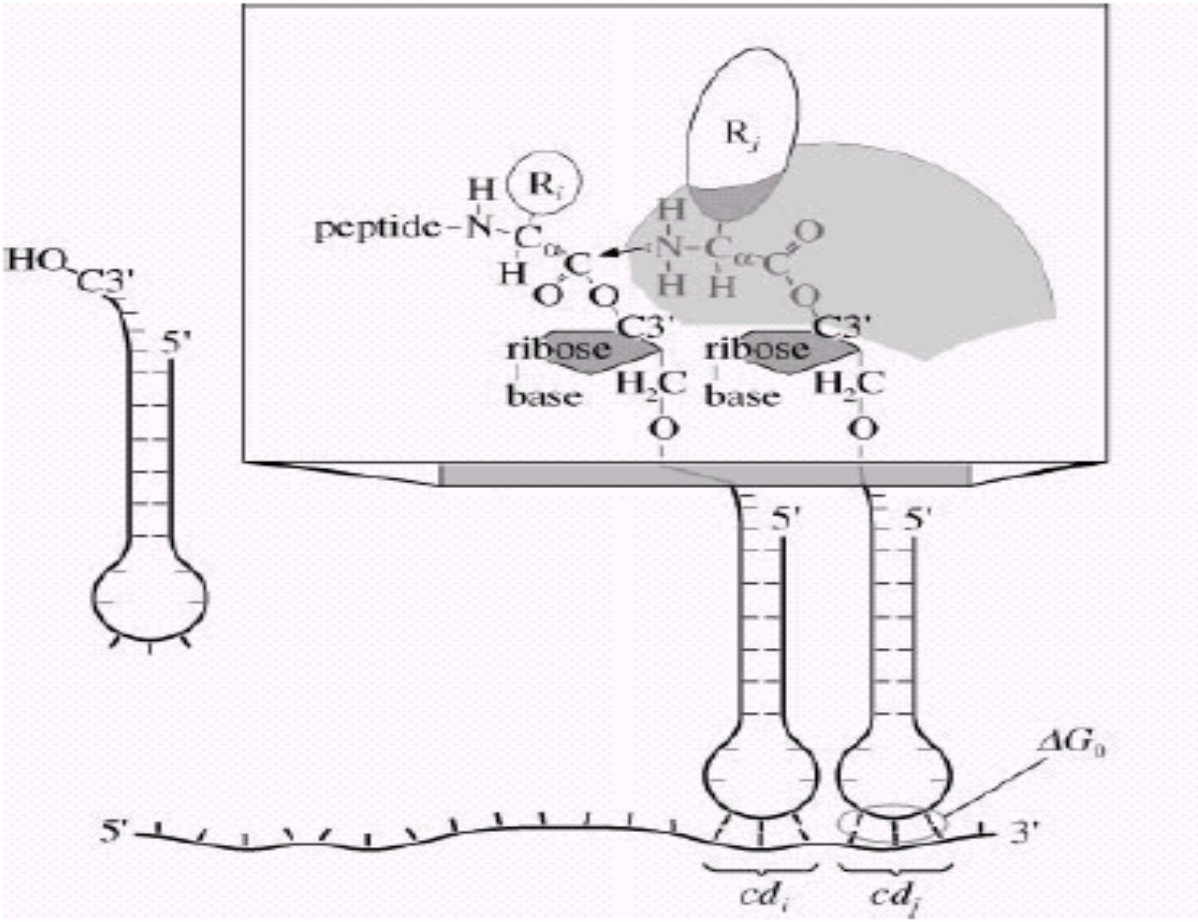


Фермент аминоацил-тРНК-синтетаза распознает определенную тРНК и специфичен к «своей» аминокислоте. Всего насчитывается (по крайней мере) 20 аминоацил-тРНК-синтетаз (по числу аминокислот). Каждый фермент распознает одну аминокислоту и все тРНК, к которым эта амнокислота может быть присоединена.



Рибосомы

Функция - обеспечение правильного контакта между кодонами на мРНК и антикодонами соответствующих тРНК, а также собственно в синтезе белка из аминокислот



Рибосома эукариот 80 S

↓↑

Большая субъединица 60 S

+

Малая субъединица 40 S

S – Сведберг единица измерения коэффициента седиментации

Lehmann et al., Physico-chemical Constraints Connected with the Coding Properties of the Genetic System *J. Theor. Biol. (2000) 202, 129-144*

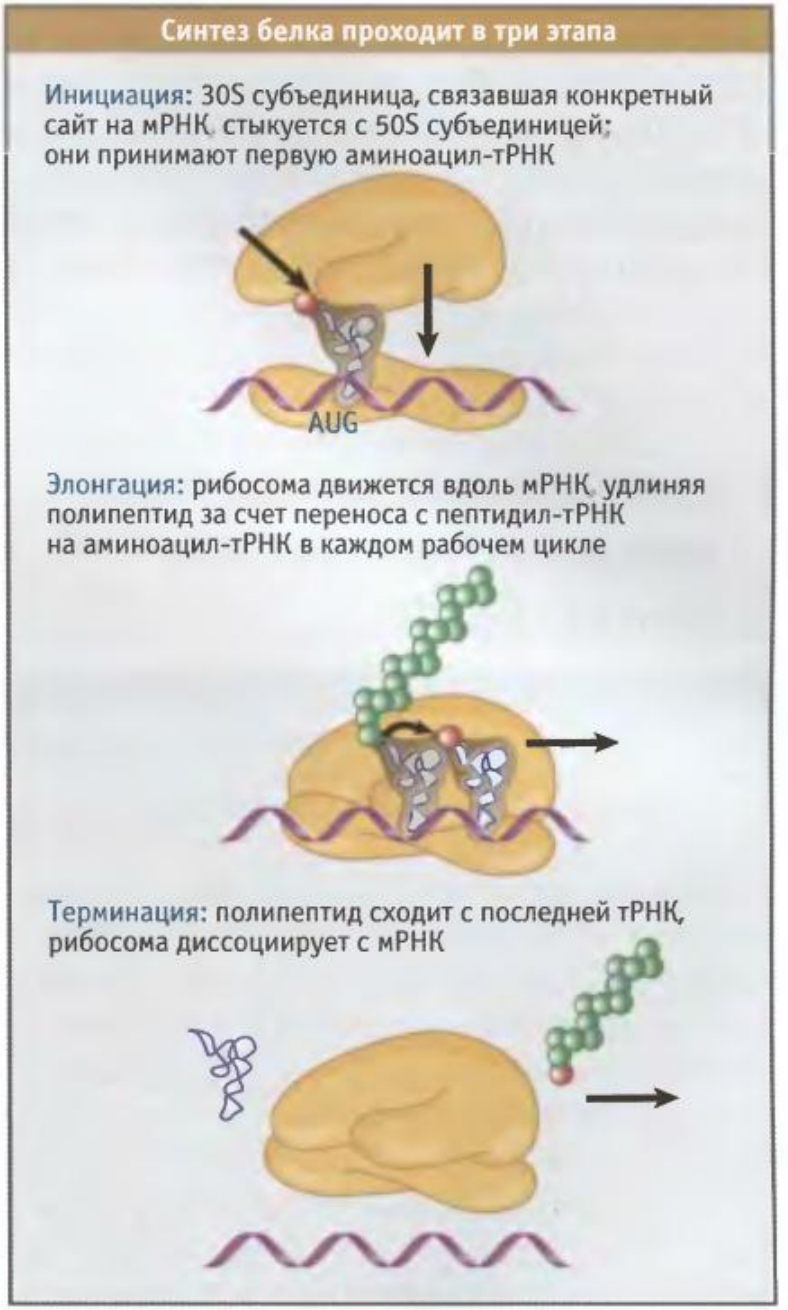
Синтез белка проходит в три этапа: схематическое представление (прокариоты)

Инициация – система реакций, ведущих к образованию пептидной связи между первыми двумя аминокислотными остатками нового полипептида

Элонгация – все, что происходит с растущим пептидом за время образования всех пептидных связей. На каждом шаге элонгации рибосома, совершая одни цикл, добавляет к растущему пептиду одно новое звено

Терминация – все реакции, направленные на освобождение синтезированного пептида и освобождению рибосомы с мРНК

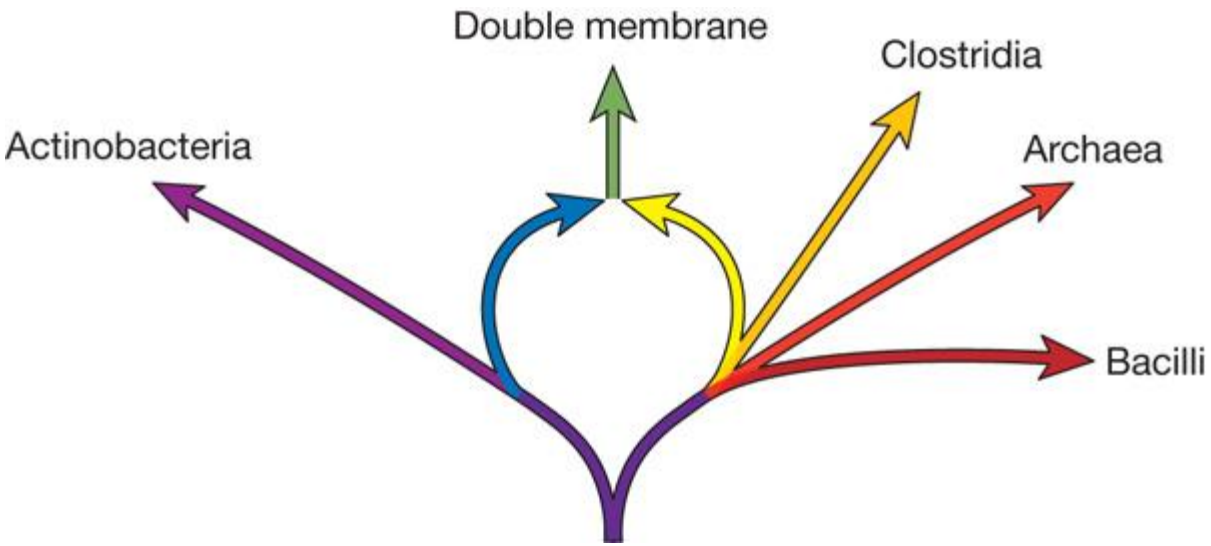
Льюин Б. Гены, 2012 г. С.163



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

Функционально наиболее сильно отличается процесс инициации трансляции

Прокариоты

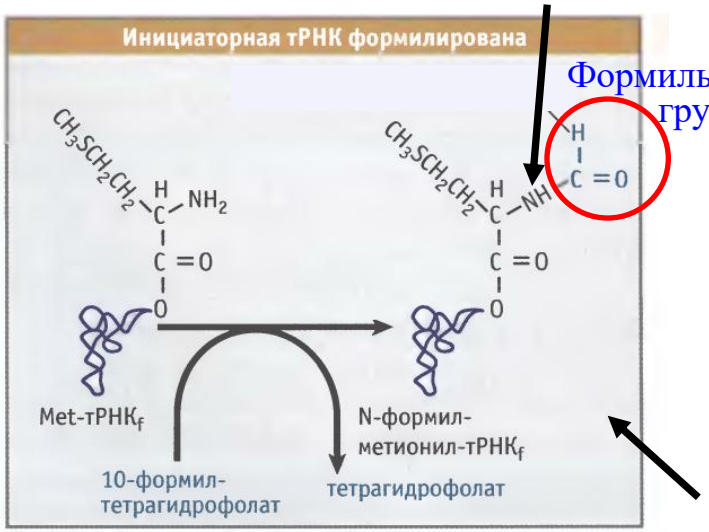

Double membrane
Clostridia
Actinobacteria
Archaea
Bacilli

Прокариоты: особая инициаторная тРНК (fMet-тРНК) закладывает первое звено полипептида

Синтез всех белков начинается с одной и той же аминокислоты – метионина. Сигналом к началу синтеза полипептидной цепи служит инициирующий кодон **AUG**, обозначающий начало открытой рамки считывания. У бактерий , помимо **AUG**, используются также триплеты **GUG** и **UUG**

Блокированная аминогруппа

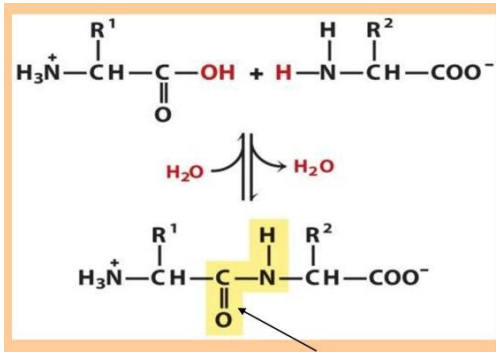
Формильная группа



Льюин Б. Гены, 2012 г. С.167, 168

В инициации и элонгации участвуют разные метиониновые тРНК.

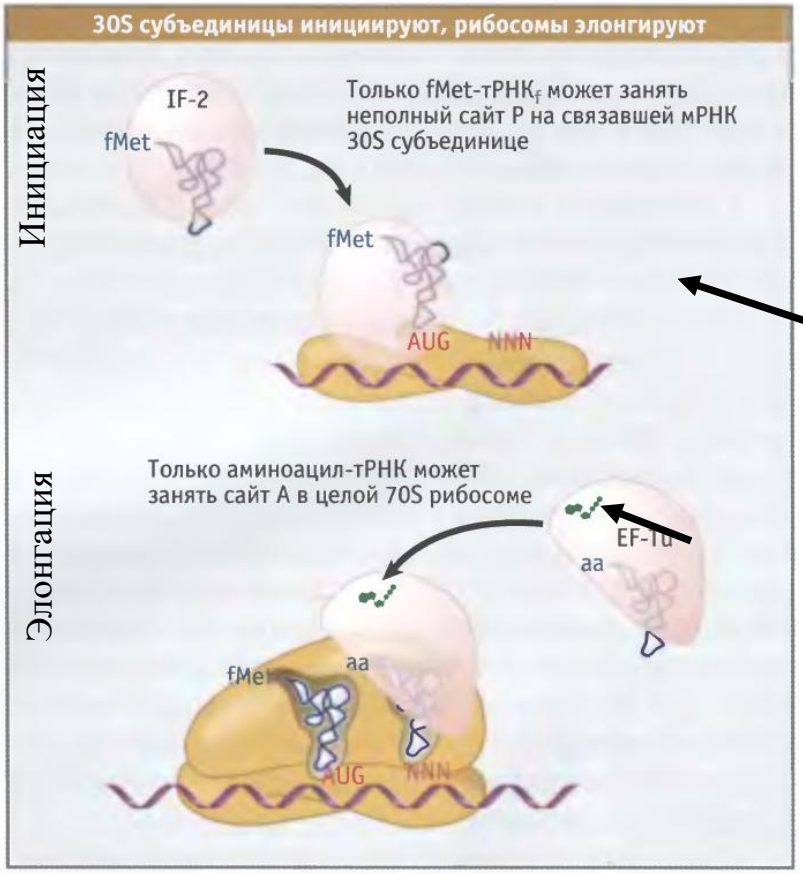
У бактерий, а также в органеллах эукариот метионин инициаторной тРНК имеет формилированную аминогруппу. Этот комплекс обозначается как **fMet-тРНК**



<u>Как у прокариот, так и у эукариот:</u>
пептидная связь – ковалентная связь, которая образуется между азотом аминогруппы одной аминокислоты и углеродом карбоксильной группы другой аминокислоты.

Прокариоты: факторы инициации

У бактерий есть три фактора инициации: **IF-1, IF-2, IF-3**. Без этих факторов ни мРНК, ни тРНК, не могут вступить в комплекс инициации.



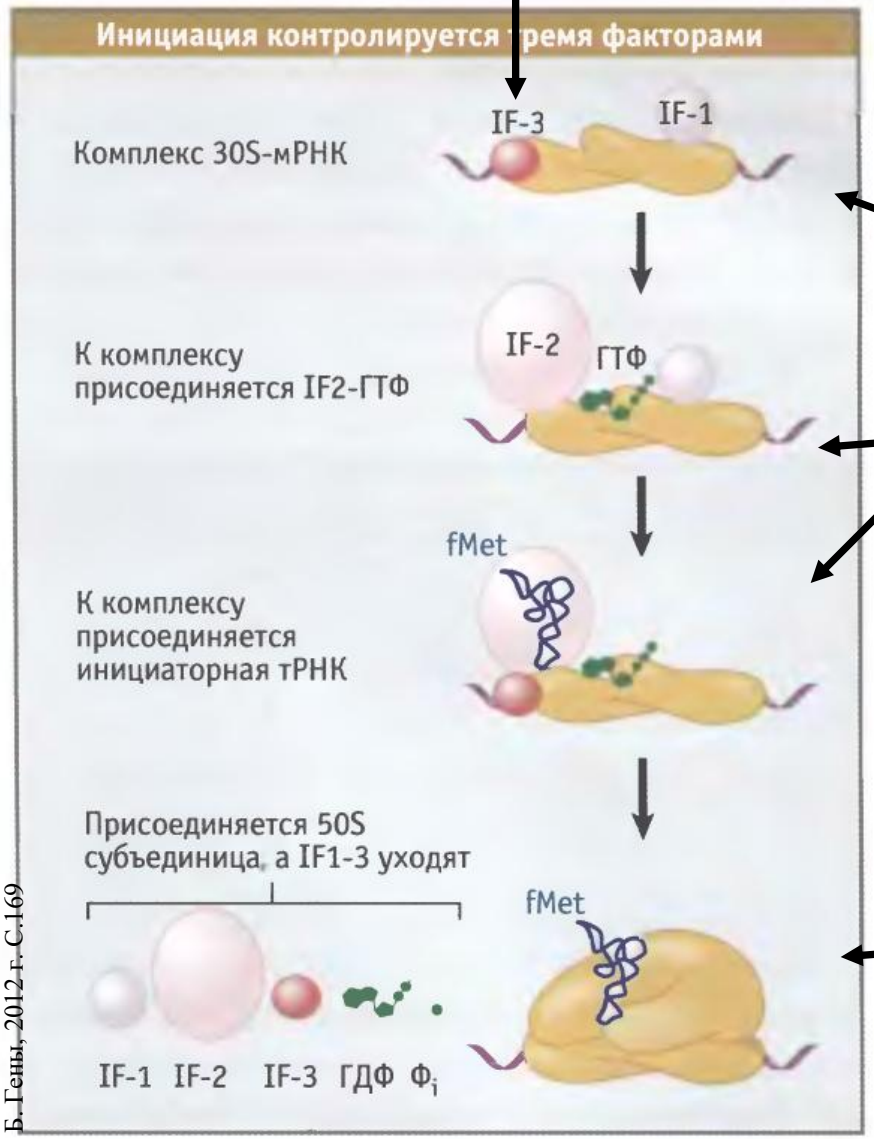
Льюин Б. Гены, 2012 г. С.167, 168

IF-2 связывает инициаторную fMet-тРНК и позволяет ей занять неполный сайт P на малой субъединице рибосомы.

Напротив, в ходе элонгации

EF-Tu, который помещает аминоацил-тРНК в сайт A, совсем не умеет связывать fMet-тРНК , что исключает ее использование.

Прокариоты: роль факторов инициации (IF-1, IF-2, IF-3)



IF-3 связывается с поверхностью 30S субъединицы неподалеку от сайта А. <u>Он необходим для связывания 30S субъединицы с мРНК</u> и противодействует ассоциации 30S и 50S субъединиц рибосом.

IF-1 связывается с 30S субъединицами в уже сформированном комплексе 30S-мРНК. **IF-1** связывается с сайтом А, <u>не позволяя аминоацил-тРНК занять этот сайт.</u>

IF-2 приносит особую инициаторную тРНК (fMet-тРНК) и контролирует ее вхождение в рибосому.
IF-2 обладает ГТФазной активностью (но только в комплексе с рибосомой).

ГТФ гидролизуется в тот момент, когда 50S субъединица присоединяется к комплексу инициации с образованием полной рибосомы, что приводит к изменению конформации субъединиц, способствуя их превращению в активную рибосому.

После того, как к комплексу присоединяется 50S субъединица, все факторы инициации уходят, а ГТФ расщепляется.

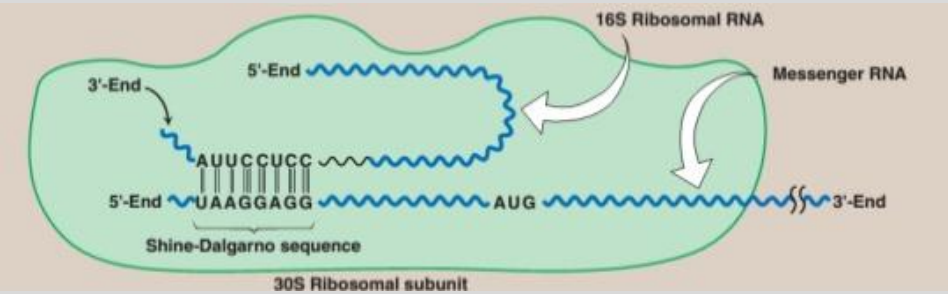
Льюин Б. Гены, 2012 г. С.169

Особенности трансляции у прокариот: сайт Шайна-Дальгарно (SD) в комбинации с AUG кодоном определяют старт трансляции

- **<u>Прокариотическая</u>** полицистронная мРНК
- Ш-Д ORF1 ORF2 ORF3

- **GGAGGA$(N)_{8\text{-}12}$AUG**
- сайт Шайна-Дальгарно (Ш-Д) в комбинации с AUG кодоном определяют старт трансляции, возможна реинициация

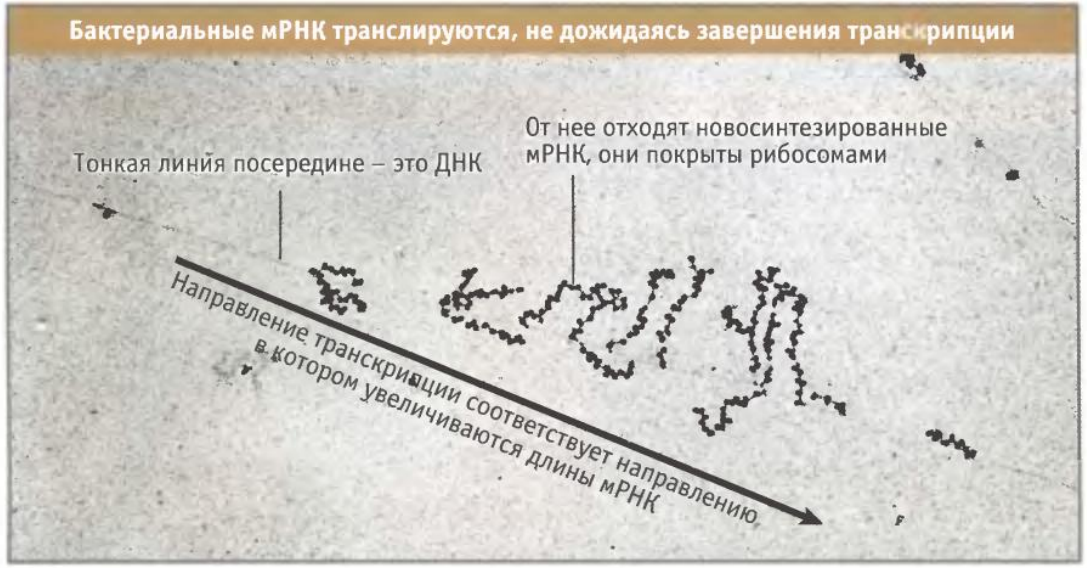
<u>У прокариот</u> в составе нуклеотидной последовательности консервативного 3’-конца 16S рибосомной РНК, входящей в состав 30S субъединицы рибосомы, есть комплементарный участок, который и выполняет роль детектора сигнала Шайна-Дальгарно. Именно комбинация AUG кодона и сайта Шайна-Дальгарно обозначает для прокариотической рибосомы начало трансляции. Старт трансляции распознается комплексом 30S субъединицы рибосомы и метиониновой тРНК, антикодон которой является в данном случае детектором кодона AUG.



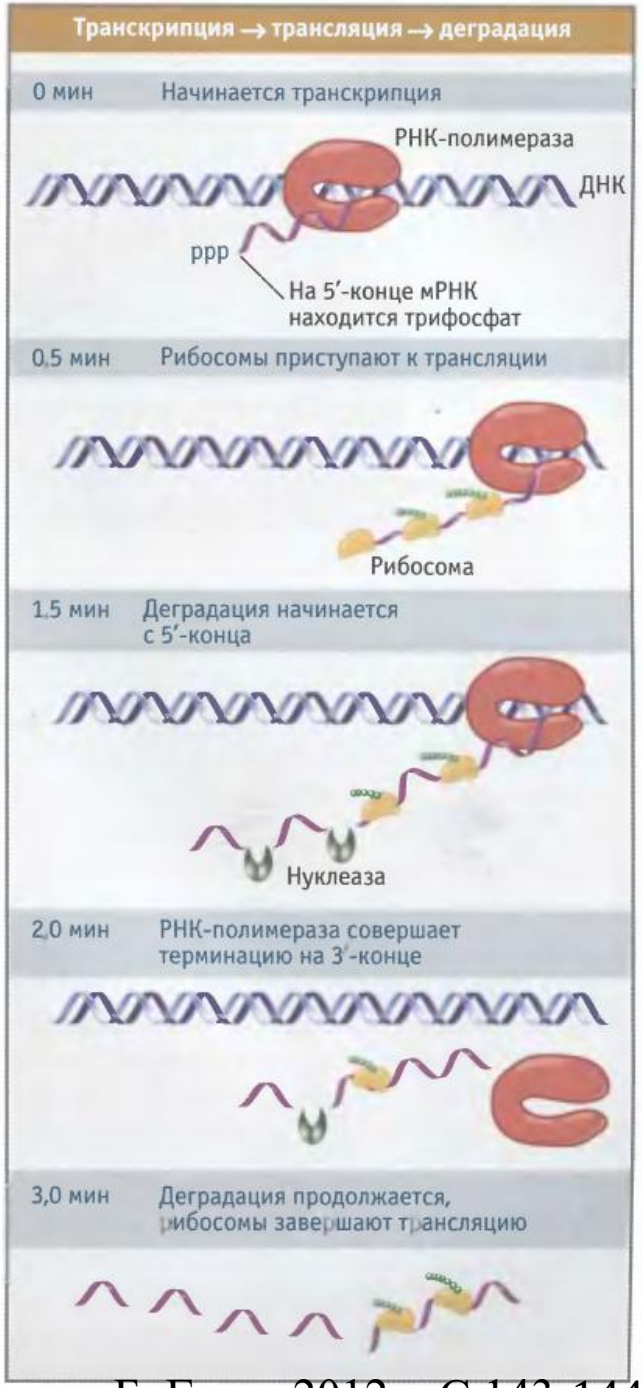
<u>У эукариот</u> нет сайта Ш-Д. У эукариот 40S субъединица рибосомы связывается с 5’-кэпированным концом мРНК, который находится в комплексе с eIF-4 и начинает передвигаться вдоль мРНК до тех пор, пока не встретит AUG кодон.

Особенности трансляции у прокариот: транскрипция и трансляция сопряжены

Как только появляется мРНК, рибосома прикрепляется к 5’-концу и начинает трансляцию еще до того, как заканчивается синтез оставшейся части РНК. Рибосомы продолжают транслировать мРНК, пока она сохраняет свою целостность.
Деградация мРНК начинается сразу же после трансляции и, скорее всего, начинается в течение минуты после начала транскрипции. 5-конец мРНК начинает деградировать еще до того, как 3-конец был синтезирован, либо транслирован. Скорость деградации примерно в два раза ниже скорости транскрипции или трансляции



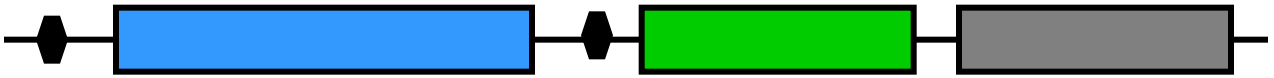
Единицы транскрипции у бактерий можно увидеть



Льюин Б. Гены, 2012 г. С.143-144.

Особенности трансляции у прокариот: оперонная структура мРНК

- Прокариотическая полицистронная мРНК
- Ш-Д ORF1 Ш-Д ORF2 ORF3



- в составе многих мРНК находятся две и более открытые рамки считывания, кодирующие аминокислотные последовательности разных белков. Рибосома распознает сайт инициации трансляции в начале матрицы (комбинацию сайта Ш-Д и AUG кодона) и транслирует проксимальную белок-кодирующую последовательность, затем часть рибосом диссоциирует с матрицы, а некоторая часть может реинициировать трансляцию на следующей кодирующей последовательности.

Альтернативно, в межцистронном промежутке может располагаться независимый сайт инициации трансляции – то есть выше стартового кодона AUG второй белок-кодирующей последовательности расположен сайт Шайна-Дальгарно. Тогда часть рибосом будут садиться во внутреннем участке (межцистронном промежутке) и транслировать второй кодирующий участок.

мРНК, в составе которых содержатся несколько белок-кодирующих последовательностей, называются **полицистронной**.

Элемент генома, в составе которого несколько белок-кодирующих последовательностей расположены под транскрипционным контролем одного промотора, называется **опероном.**

Особенности процесса трансляции у прокариот

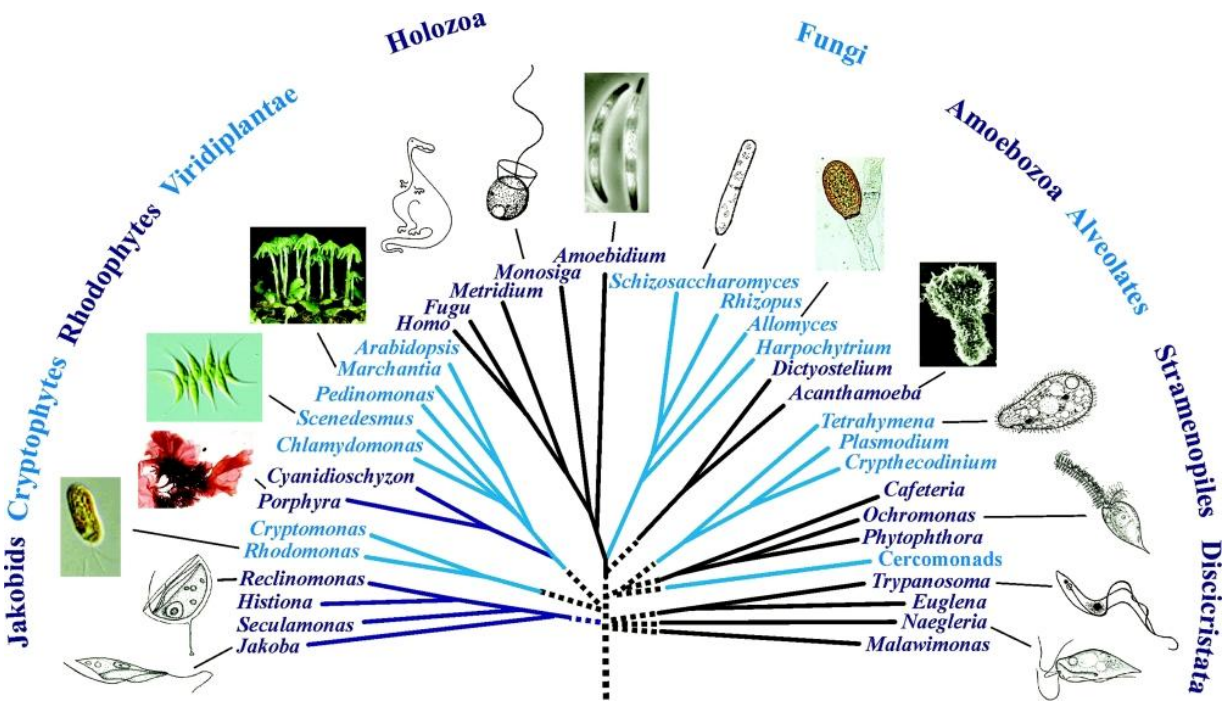
1. **Особая инициаторная тРНК (**fMet-тРНК) **закладывает первое звено полипептида**
2. **Участие факторов инициации (**IF-1, IF-2, IF-3**)**
3. **Сайт Шайна-Дальгарно (SD) в комбинации с AUG кодоном определяют старт трансляции**
4. **Транскрипция и трансляция сопряжены**
5. **мРНК имеет оперонную структуру**

Повторение

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

Функционально наиболее сильно отличается процесс инициации трансляции

Эукариоты


Holozoa
Fungi
Amoebozoa
Alveolates
Stramenopiles
Discicristata
Jakobids
Cryptophytes
Rhodophytes
Viridiplantae
Amoebidium
Monosiga
Metridium
Fugu
Homo
Schizosaccharomyces
Rhizopus
Allomyces
Harpochytrium
Dictyostelium
Acanthamoeba
Arabidopsis
Marchantia
Pedinomonas
Scenedesmus
Chlamydomonas
Cyanidioschyzon
Porphyra
Cryptomonas
Rhodomonas
Reclinomonas
Histiona
Seculamonas
Jakoba
Tetrahymena
Plasmodium
Crypthecodinium
Cafeteria
Ochromonas
Phytophthora
Cercomonads
Trypanosoma
Euglena
Naegleria
Malawimonas

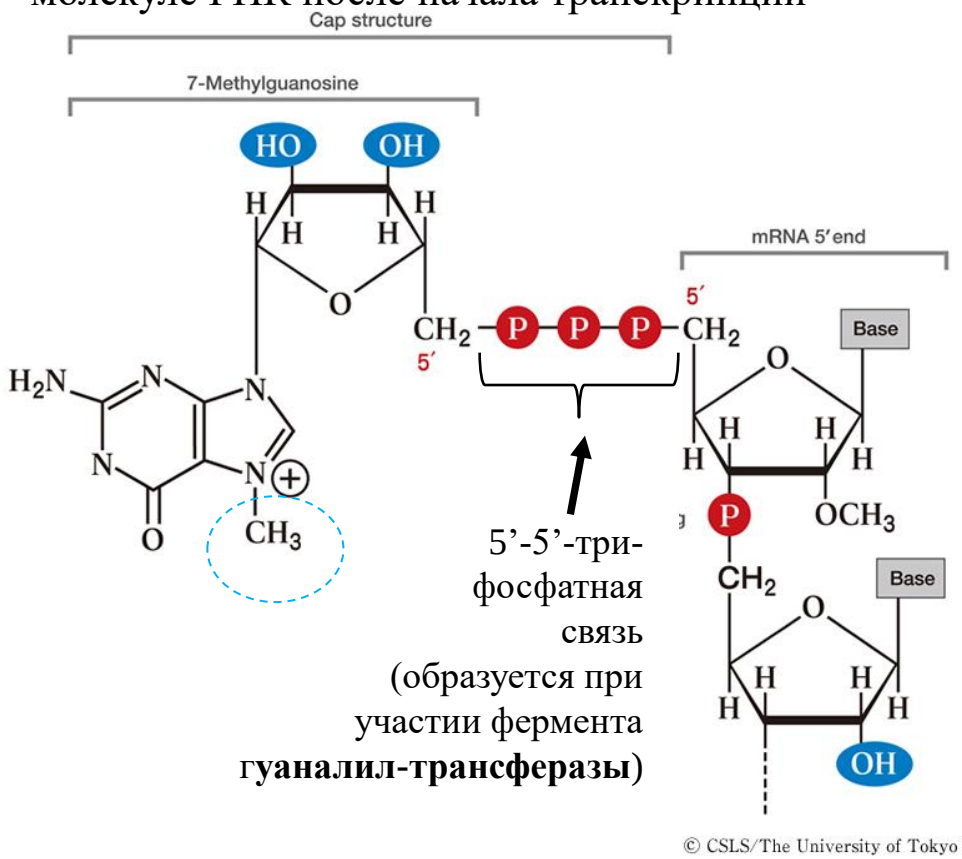
Особенности трансляции у эукариот

- Эукариотическая моноцистронная мРНК

- 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 малой субъединицы рибосомы с сайтом связывания в мРНК: рибосомы связываются с 5’-концом мРНК и движутся вдоль 5’-НТП в поиске подходящего стартового кодона трансляции

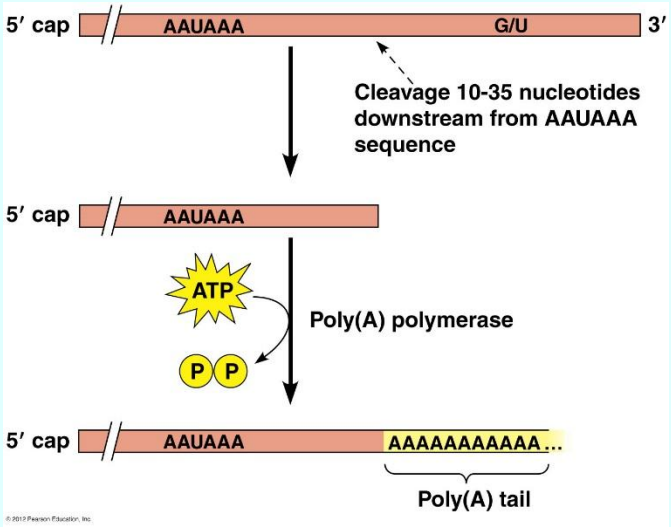
Особенности трансляции у эукариот: 5’-кэп и поли(А)

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 концевого гуанина (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 (**PABP**, poly(A)-binding protein)

Функции 5’-кэпа:
1) Защищает от деградации
2) Опознается факторами инициации

Эукариоты: особая инициаторная тРНК (Met-тРНК$_i$) закладывает первое звено полипептида

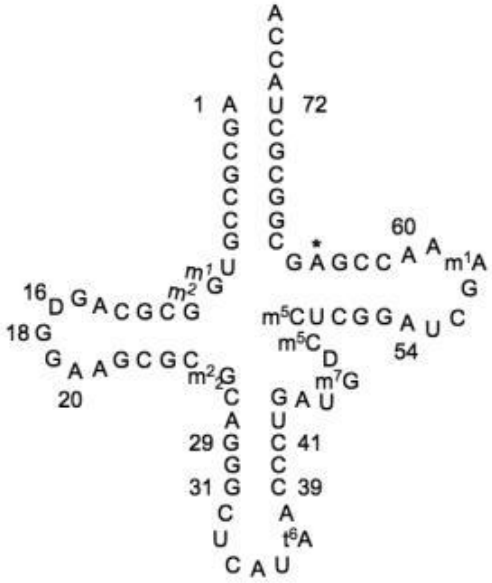
В эукариотической инициации всегда используется инициаторный кодон **AUG, он соответствует аминокислоте метионину.**

Инициаторная тРНК (Met-тРНК$_i$) отличается от регулярных аминоацил-тРНК, а ее метионин не подлежит формилированию.

Элонгаторная тРНК, несущая метионин, обозначается как Met-тРНК$_m$

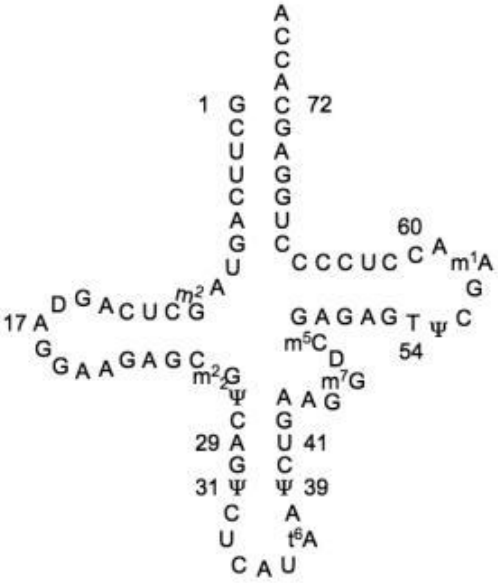
FEBS Lett. 2010 Jan 21; 584(2): 396–404.

Met-тРНК$_i$



S. cerevisiae initiator tRNA^{Met}

Met-тРНК$_m$



S. cerevisiae elongator tRNA^{Met}

The position 64 Oribosylphosphate 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

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:

Ternary complex
(= eIF2 + GTP + Met–$tRNA_i^{Met}$)

+

40S субъединица рибосомы

+

eIF3, eIF1A

= **43S преинициаторный комплекс** +

Cap-binding complex eIF4F
(включает eIF4E + eIF4G +eIF4A)

+

m^7GTP-кэпированная мРНК

+

PABP (poly(A)-binding protein)

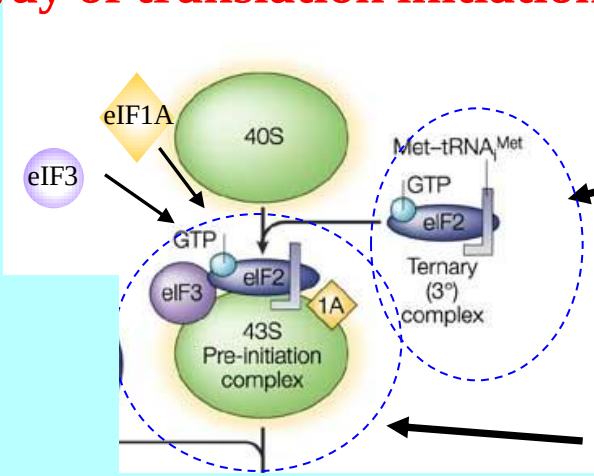
48S преинициаторный комплекс

+ eIF5B и др.

80S initiation complex

См. схему на след. слайде

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



Тройной комплекс

43S комплекс
Контактирует с 5'участком мРНК и кэп-связывающим комплексом

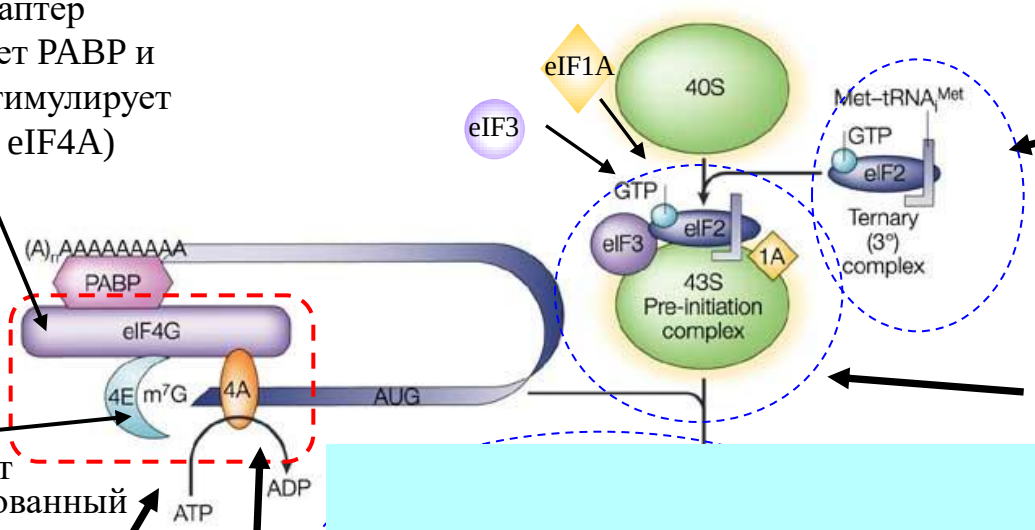
Инициация

Nature Reviews Neuroscience 2004, 5, 931-942

Схематическое изображение этапов формирования инициаторного комплекса трансляции у эукариот.

(Pathway of translation initiation in eukaryotes).

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



Тройной комплекс

43S комплекс
Контактирует с 5'участком мРНК и кэп-связывающим комплексом

Инициация

eIF4E - связывает метилированный кэп

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

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

Nature Reviews Neuroscience 2004, 5, 931-942

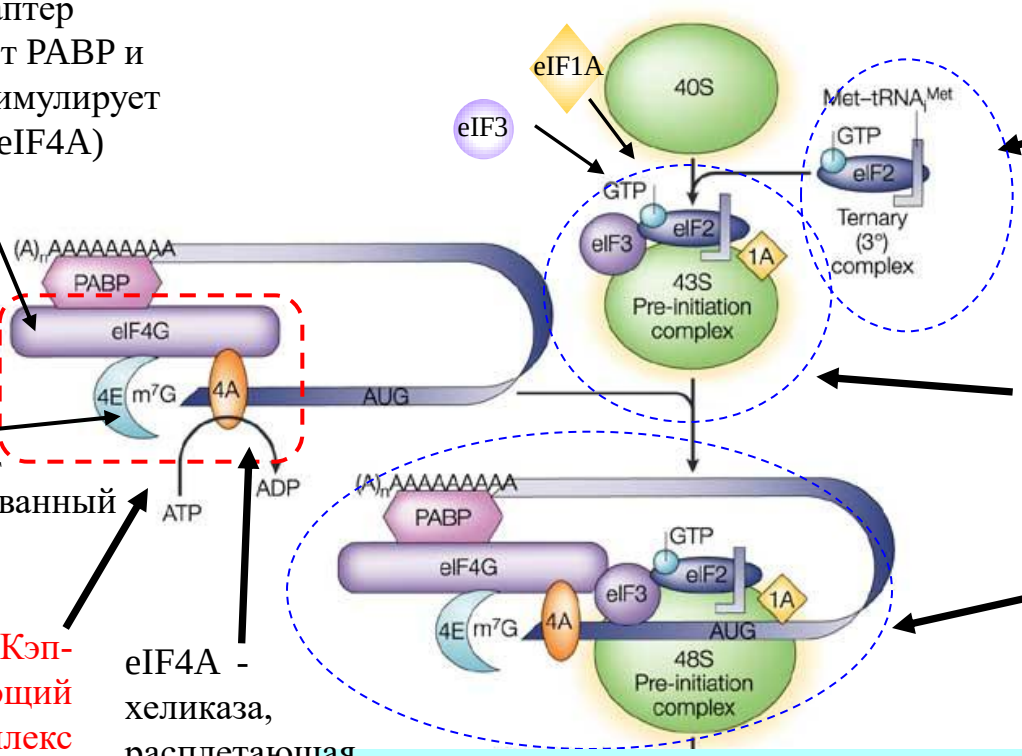
Схематическое изображение этапов формирования инициаторного комплекса у эукариот.
(Pathway of translation initiation in eukaryotes).

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)



Тройной комплекс

43S комплекс Контактирует с 5'участком мРНК и кэп-связывающим комплексом **Начинается скольжение…**

48S комплекс (формируется на стартовом кодоне комплексом 43S и кэп-связывающим комплексом после **сканирования** лидерного участка мРНК)

Инициация

Nature Reviews Neuroscience 2004, 5, 931-942

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

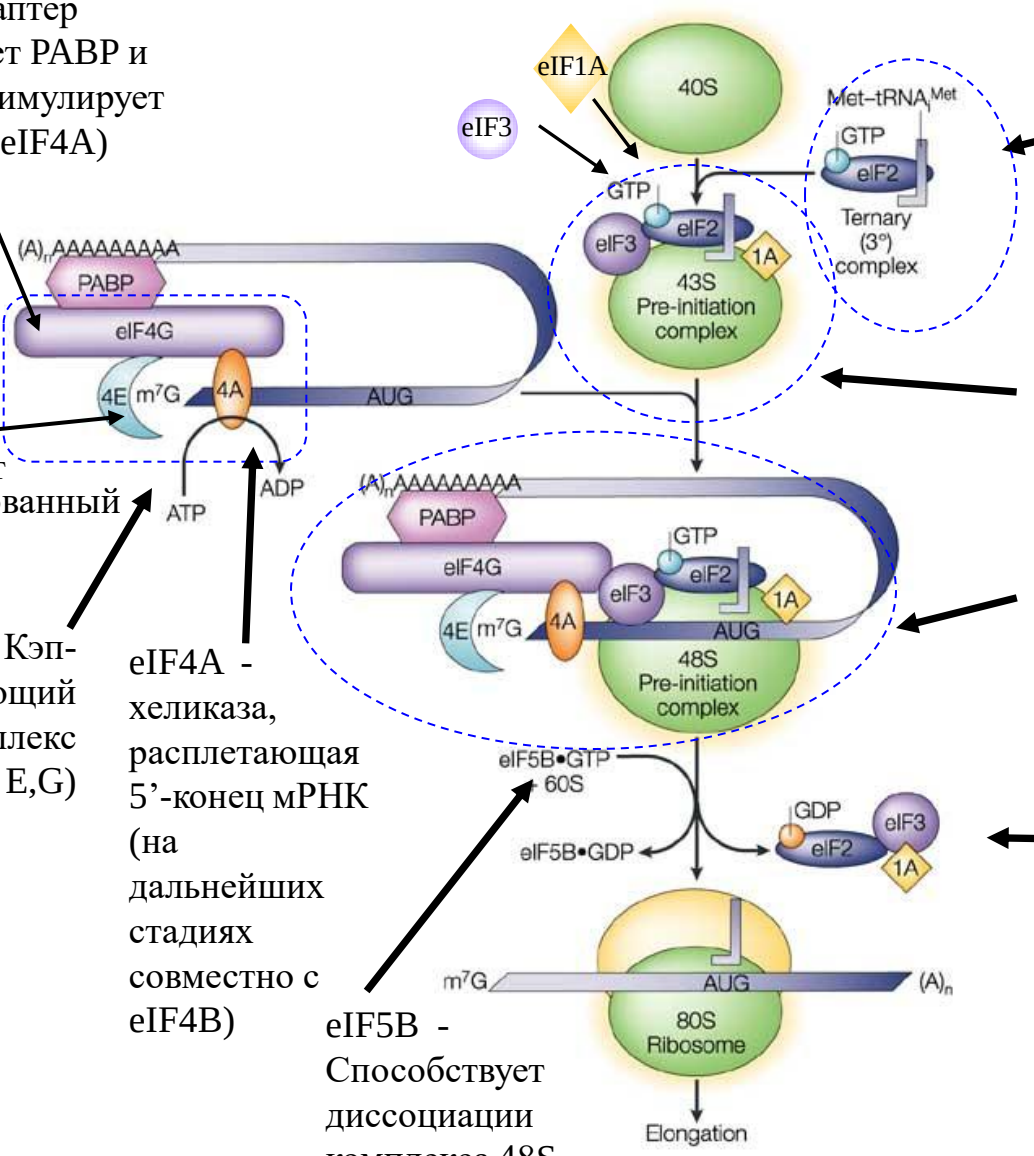
eIF4G - белок-адаптер (связывает PABP и eIF4E) стимулирует хеликазу eIF4A)

eIF4E - связывает метилированный кэп

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

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

eIF5B - Способствует диссоциации комплекса 48S



Тройной комплекс

Инициация

43S комплекс Контактирует с 5'участком мРНК и кэп-связывающим комплексом

48S комплекс (формируется на стартовом кодоне комплексом 43S и кэп-связывающим комплексом после **сканирования** лидерного участка мРНК)

eIF2 осуществляет гидролиз GTP за счет чего идет диссоциация 48S комплекса и присоединение 60S субъединицы рибосомы

Элонгация

Nature Reviews Neuroscience 2004, 5, 931-942

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

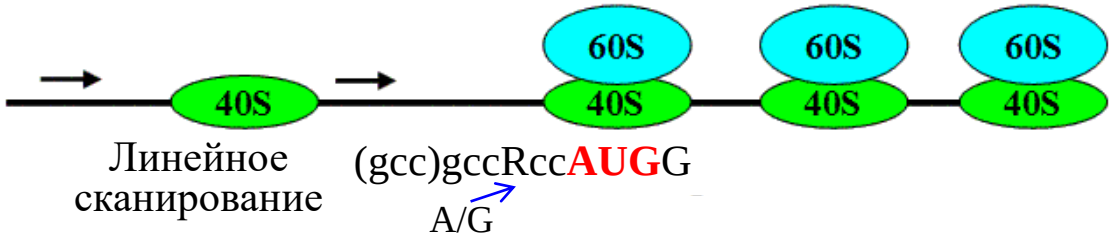
В эукариотических клетках выделяют два механизма инициации трансляции:

- линейное сканирование

- внутренняя инициация трансляция (при участии IRES)

Линейное сканирование

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

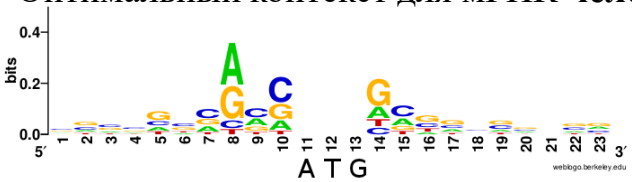
---

* Мэрилин Козак (род.1943), профессор биохимиии университета штата Нью-Джéрси.

Оптимальный контекст стартового кодона мРНК у разных эукариотических таксонов различен:

<u>Оптимальным</u> для инициации трансляции контекстом стартового кодона у **млекопитающих** является NNNPuNNAUGG
(Pu = A либо G)

Оптимальный контекст для мРНК **человека**



10 000 последовательностей мРНК человека

Kozak M. An analysis of 5'-noncoding sequences from 699 vertebrate messenger RNAs. **Nucleic Acids Res. 1987** Oct 26;15(20):8125-48.

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

Млекопитающие: NNN**Pu**NN**AUG**G

-3 +1 +4

Consensus and anticonsensus sequences of start codon contexts of eukaryotic mRNAs

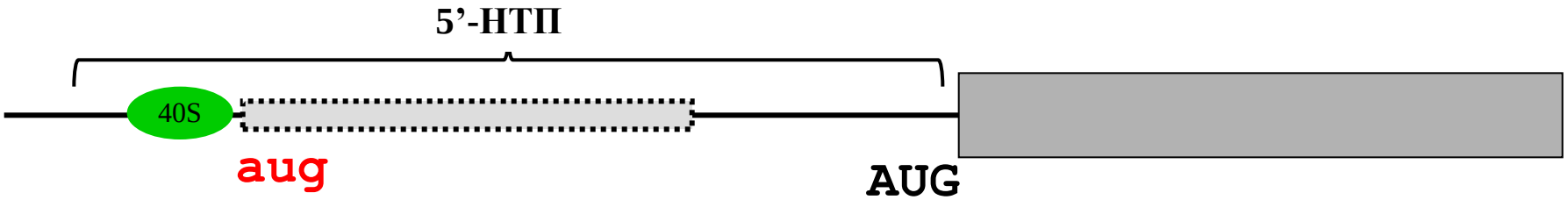
	Организм/Таксон															
	A.thaliana				***Liliopsida (Однодольные растения)***				***Arthropoda (Членистоногие)***				***H.sapiens***			
Позиция	**−3**	**−2**	**−1**	**+4**	**−3**	**−2**	**−1**	**+4**	**−3**	**−2**	**−1**	**+4**	**−3**	**−2**	**−1**	**+4**
Консенсус	Pu	A	A	G	Pu	C	C	G	Pu	A	A	—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

Pu, purine (A либо G); Py, pyrimidine (C либо T).

Kochetov A.V. AUG codons at the beginning of protein coding sequences are frequent in eukaryotic mRNAs with a suboptimal start codon context. Bioinformatics. 2005 Apr 1;21(7):837-40.

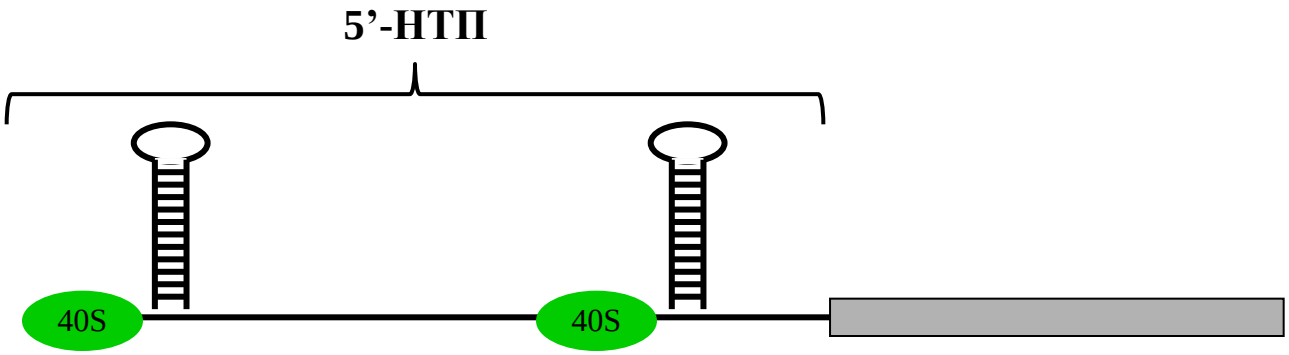
Контекстные характеристики лидерной последовательности мРНК (5’-НТП), влияющие на эффективность трансляции

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



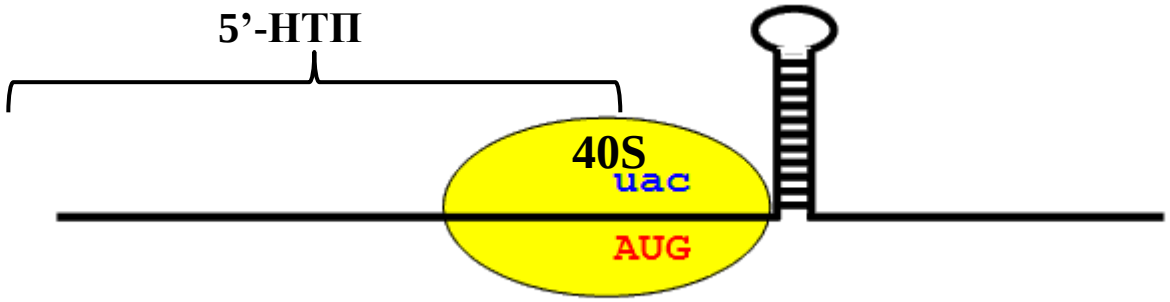
Механизм - добавочные AUG-кодоны в составе 5’-НТП могут распознаваться как альтернативные сайты инициации трансляции, что снижает трансляцию основной рамки считывания

<u>Не оптимальная ситуация</u>: 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

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



<u>!!!! Возможно</u> 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/

Результат работы программы AUG_hairpin: предсказание шпилечной структуры ниже AUG кодона

http://wwwmgs.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)

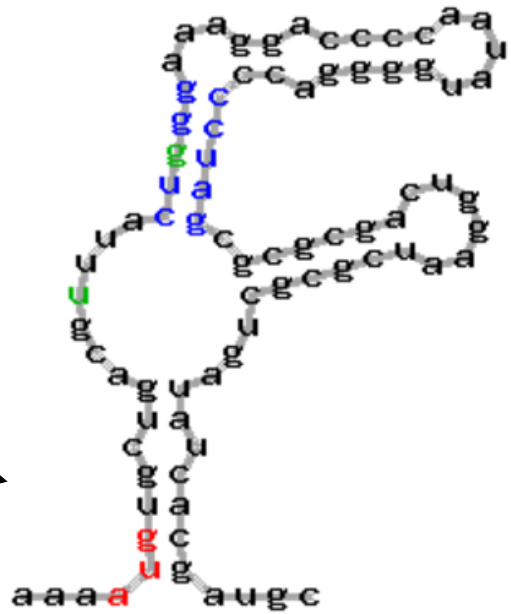
augugcugacguuuacugggaaaggaccccaauaugggaccccuagcgcgcgacuggaau
cgcgcugauaucacgaugc

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

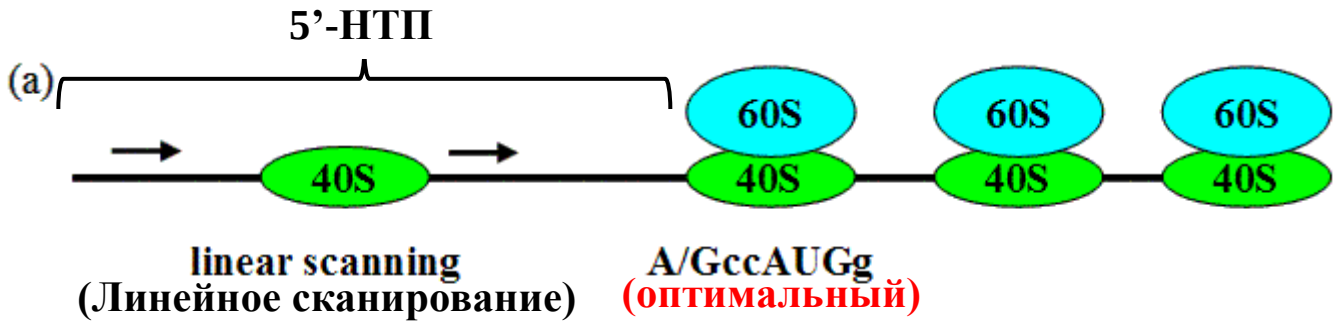
ENTER Clear

Energy of secondary structure = -26.8 kcal/mol
Position of Hairpin start: 16
Energy of double strands in Hairpin: -6.8 kcal/mol

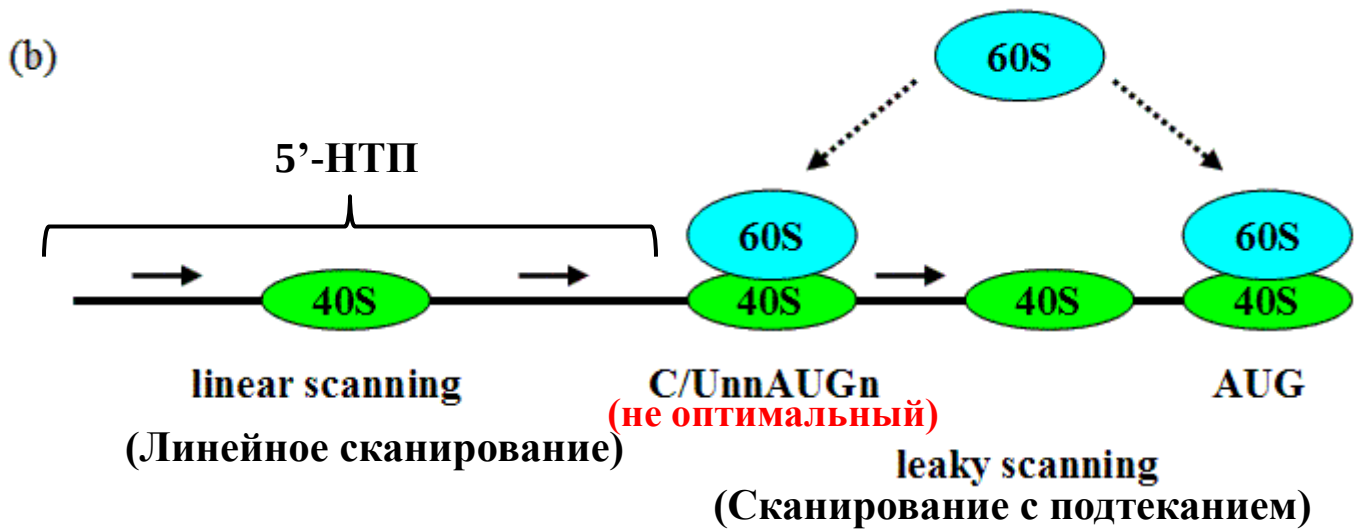


Линейное сканирование и линейное сканирование с подтеканием

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



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



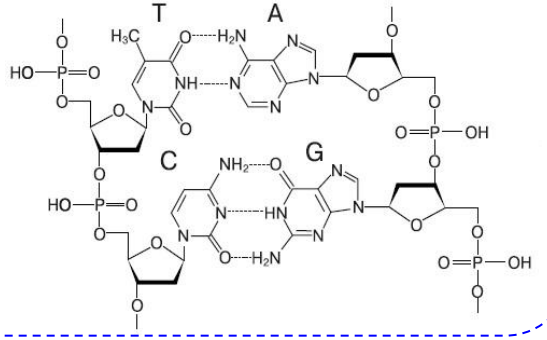
<u>Если контекст первого кодона AUG не оптимален</u>, часть 40S субъединиц рибосом его распознает и инициирует на нем трансляцию. Однако, некоторые рибосомы его пропускают (не распознают в качестве сайта инициации), продолжают сканирование мРНК далее в 3'-направлении могут и инициировать трансляцию на следующем кодоне AUG. Этот механизм получил название leaky scanning (что можно перевести как «**<u>сканирование с подтеканием</u>**» (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]

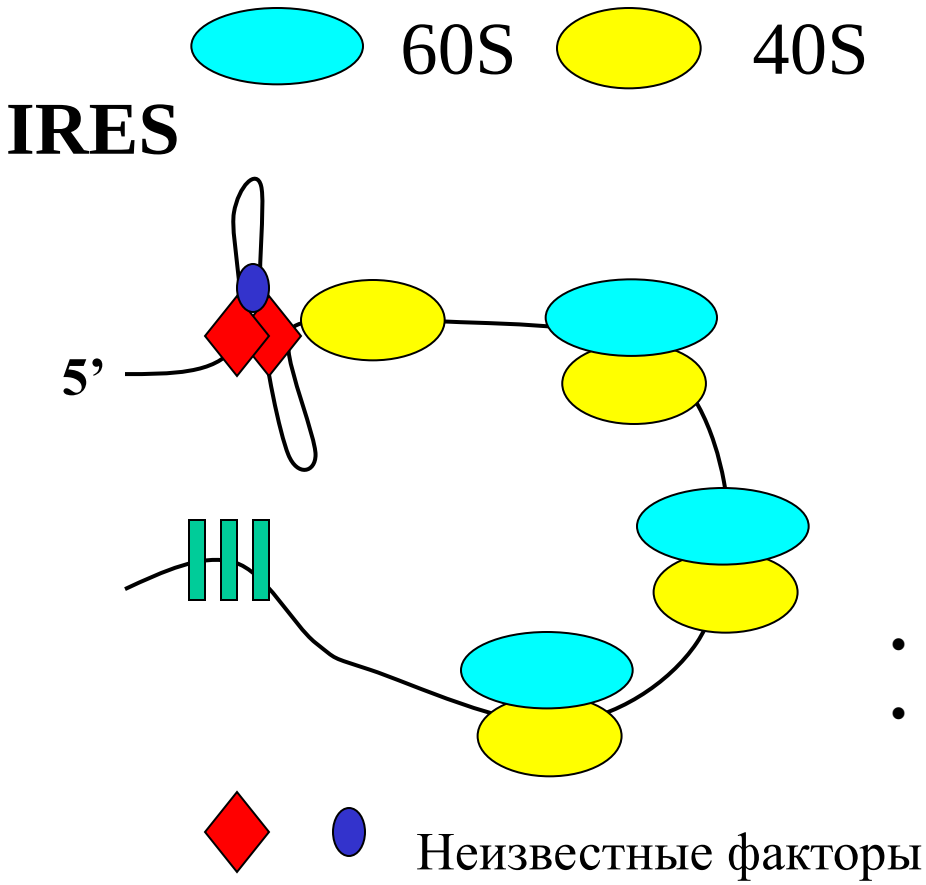


- Наличие internal ribosome entry sites (IRES)

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.

LEADER_WHY (http://srs6.bionet.nsc.ru/srs6bin/cgi-bin/wgetz?-page+LibInfo+-newId+-lib+LEADER_WHY)
http://wwwmgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/leader/

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



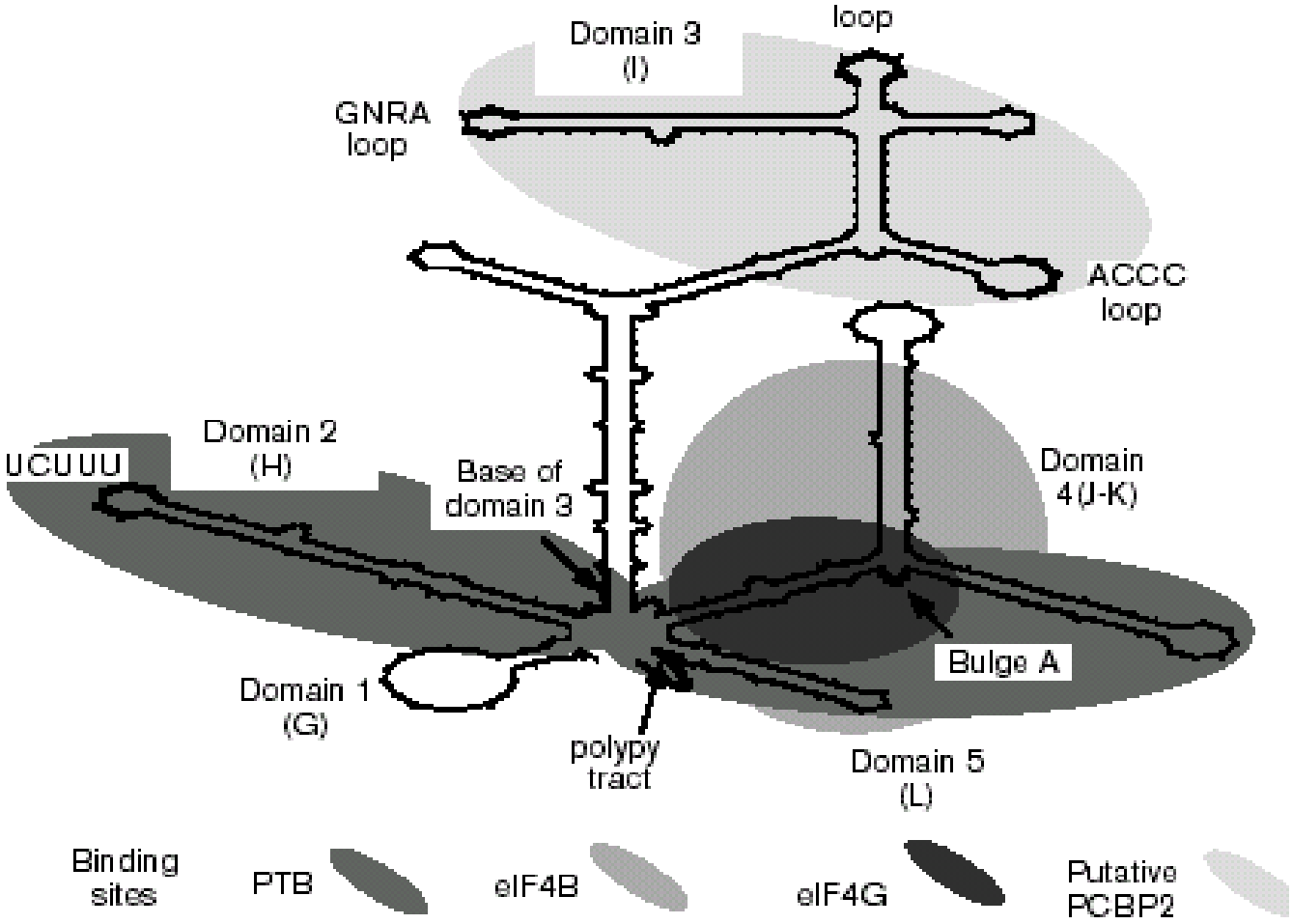
IRES - регуляторные мотивы мРНК, задействованные в кэп-независимом механизме инициации трансляции, при котором рибосома связывается с мРНК в области этих мотивов в5'-нетранслируемой области недалеко от сайта инициации трансляции

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.

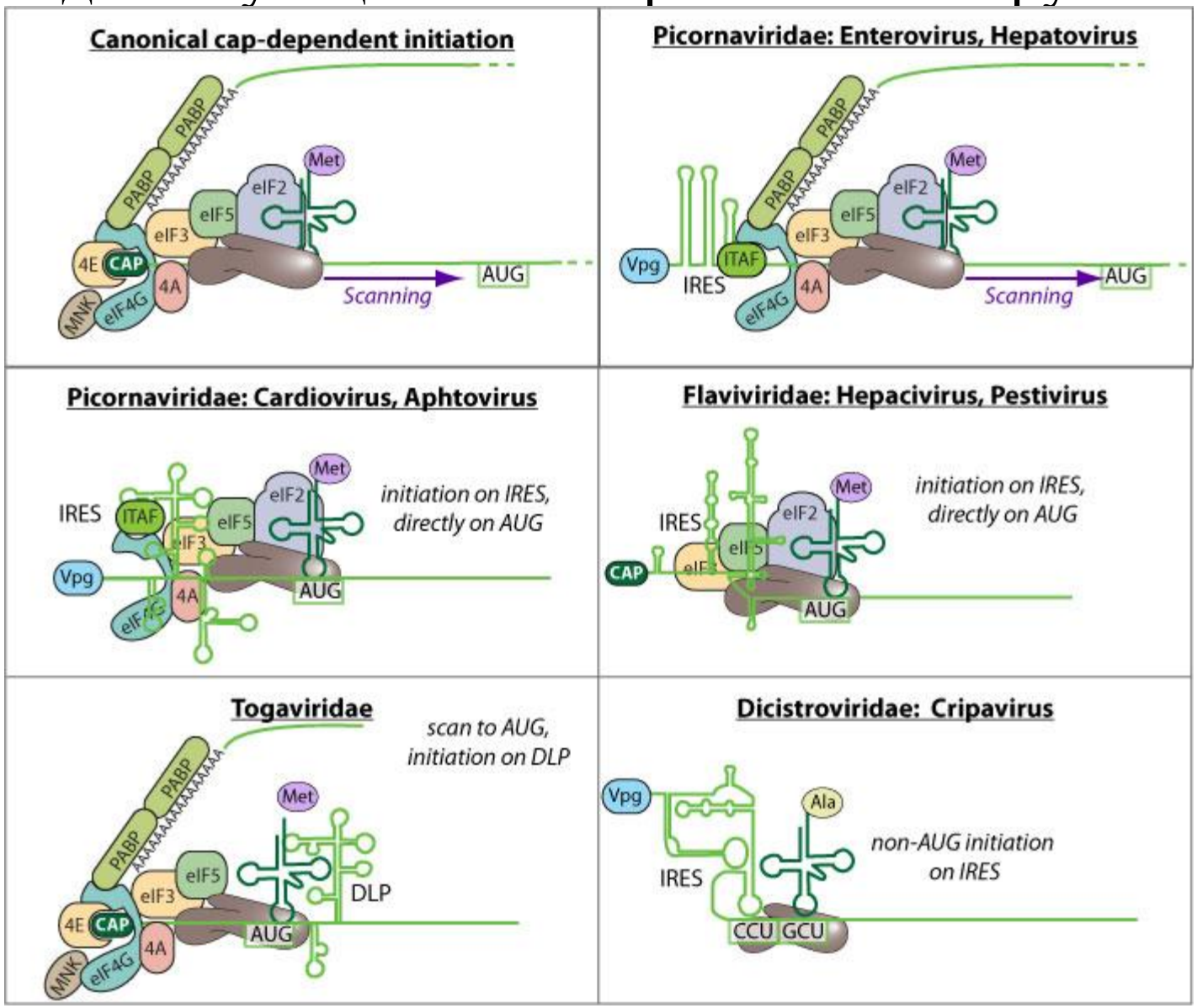
- мРНК не содержит кепа
- 40S связывается не с 5’-концом мРНК

- Модель IRES EMCV (вирус энцефаломиокардита = encephalomyocarditis virus)



Martínez-Salas E. Curr Opin Biotechnol 1999, 10:458–464

Состав и структура белковых комплексов, взаимодействующих с IRES различных вирусов

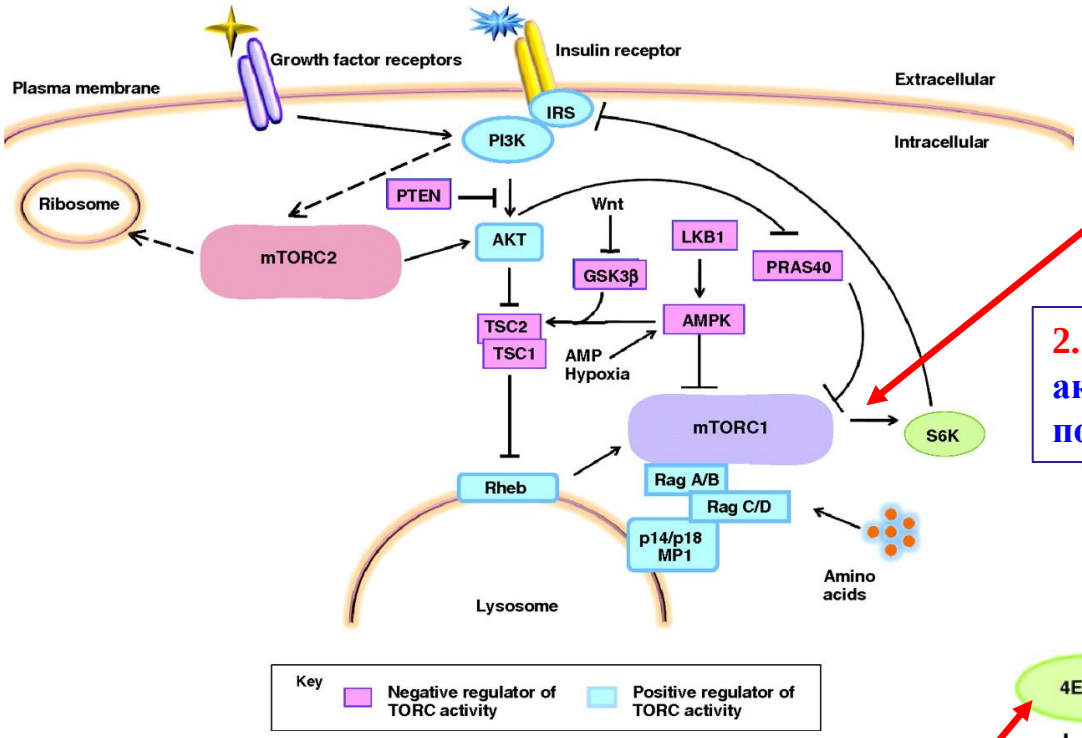


http://viralzone.expasy.org/all_by_species/867.html

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

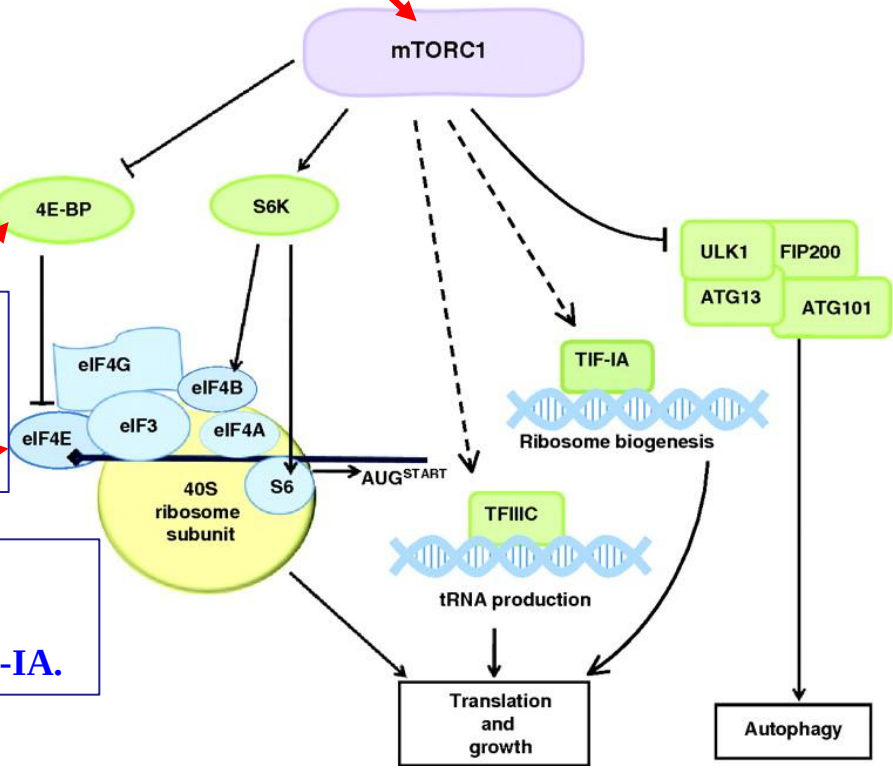
- Экспрессия белка с мРНК при участии IRES не подвержена общим регуляторным механизмам, управляющим трансляцией большинства мРНК

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 <u>ингибиторный</u> 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.

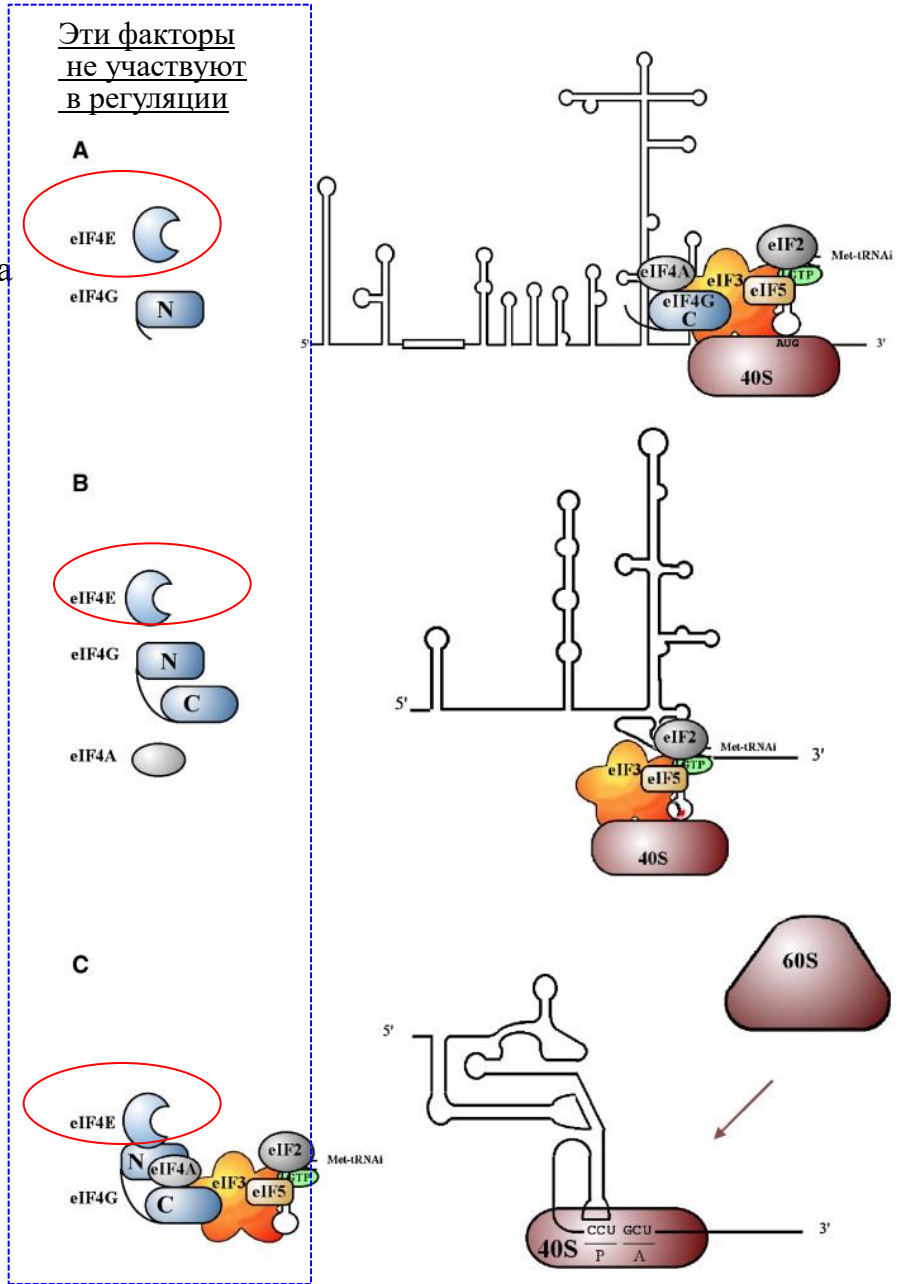
Ryan C. Russell et al. An emerging role for TOR signaling in mammalian tissue and st
physiologyDevelopment 2011;138:3343-3356

Состав и структура белковых комплексов, взаимодействующих с IRES различных вирусов

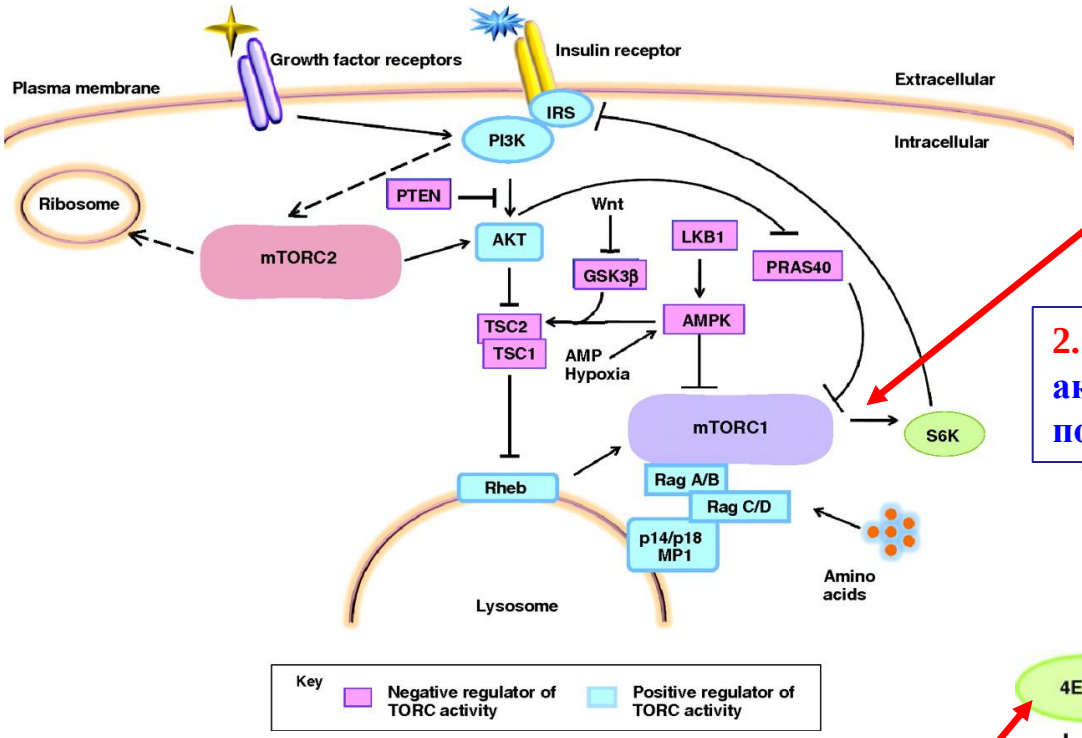
(A) Most viral IRESes including Picornaviruses and Lentiviruses. Участвуют почти все канонические факторы инициации (за исключением eIF4E и белка Nt из eIF4G).

(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

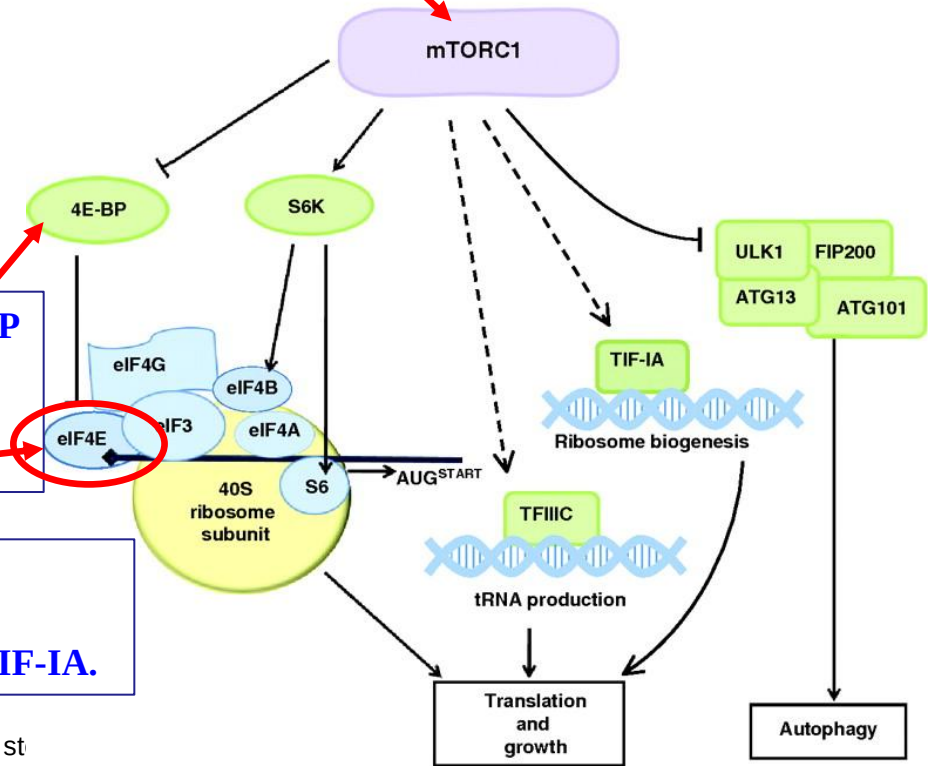


Общий контроль интенсивности трансляции при участии mTOR сигнального пути



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 <u>ингибиторный</u> 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.

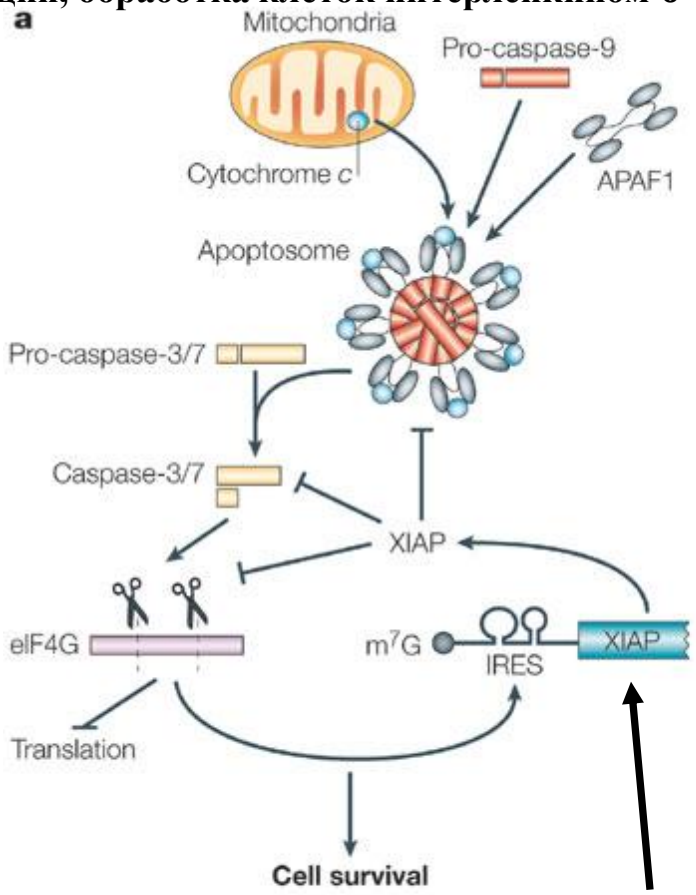
Ryan C. Russell et al. An emerging role for TOR signaling in mammalian tissue and st
physiologyDevelopment 2011;138:3343-3356

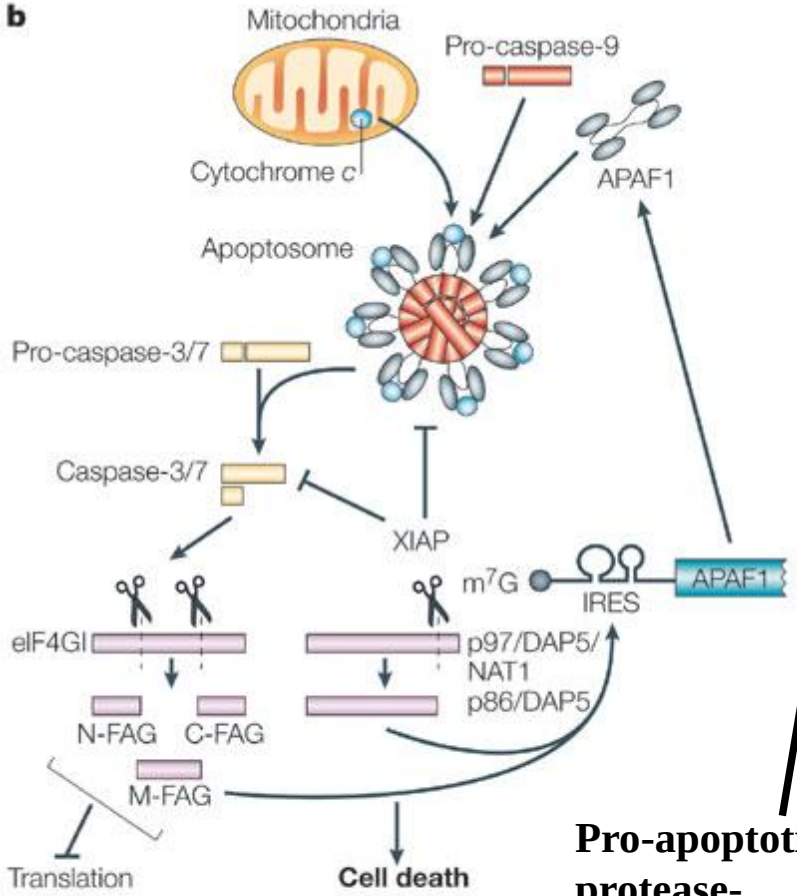
Трансляция при участии IRES и регуляция апоптоза.

Translational control in stress and apoptosis Nature Reviews Molecular Cell Biology 6, 318-327

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

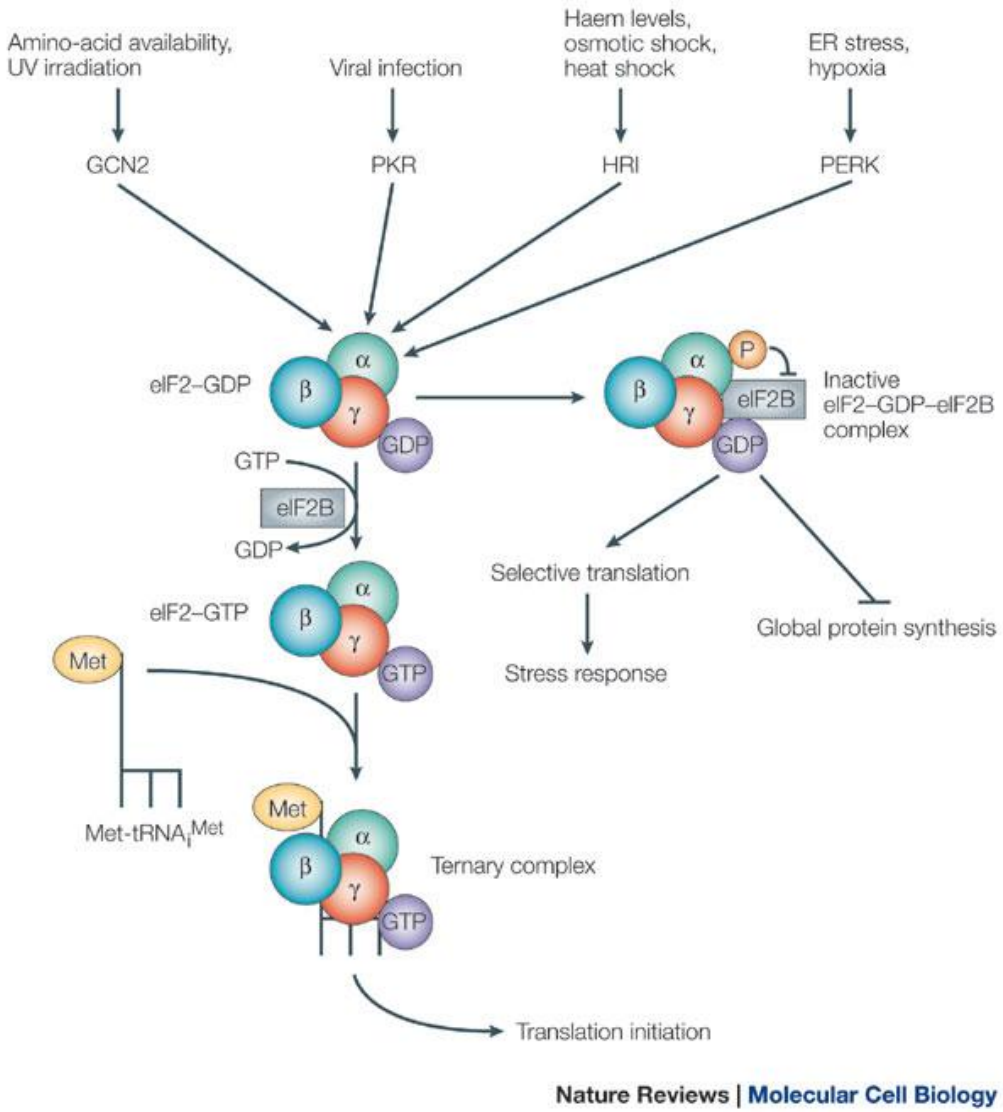
Pro-apoptotic protease-activating factor-1

Nature Reviews | Molecular Cell Biology

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

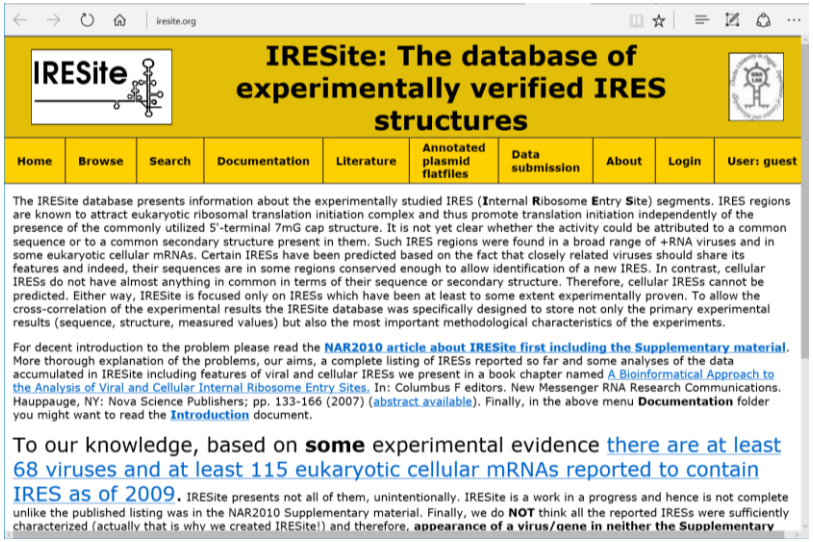
- Инициация трансляции со слабых (нестандартных) AUG кодонов
- Экспрессия генов в условиях, когда кэп-зависимая инициация трансляции подавляется стрессом, определённой стадией клеточного цикла или апоптоза. (Гены, чьи мРНК содержат IRES — c-Myc, APAF1, Bcl-2)



Translational control in stress and apoptosis
Nature Reviews Molecular Cell Biology 6, 318-327 , 2005

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

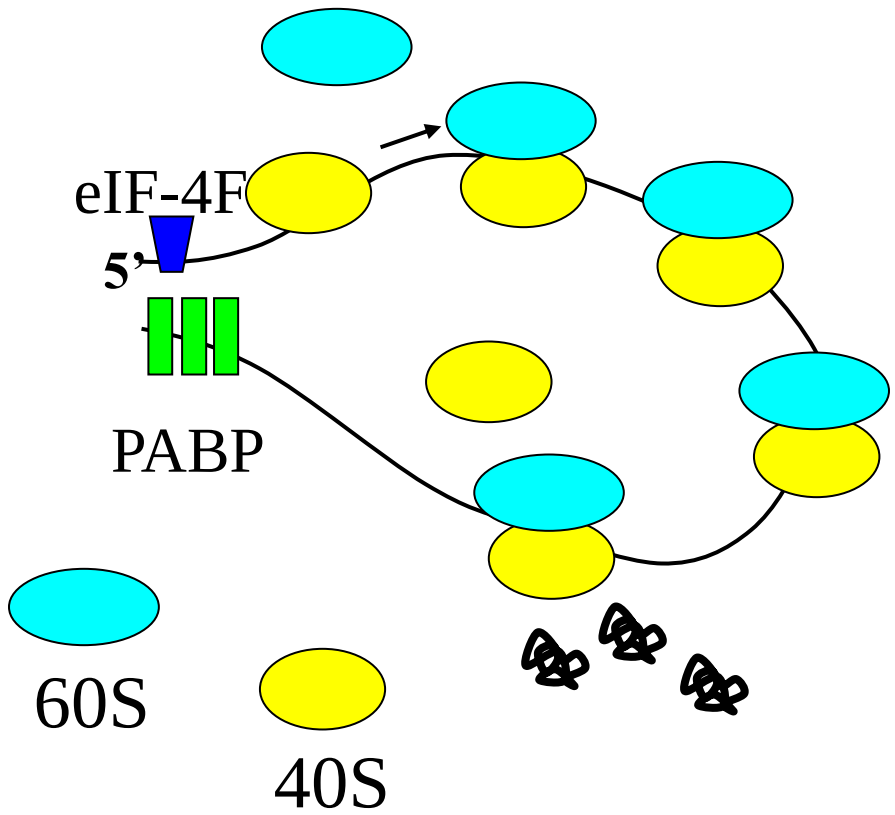
- IRESdb (http://ifr31w3.toulouse.inserm.fr/IRESdatabase/, в настоящее время недоступна) и
- IRESite (http://www.iresite.org)



Итоговый слайд:

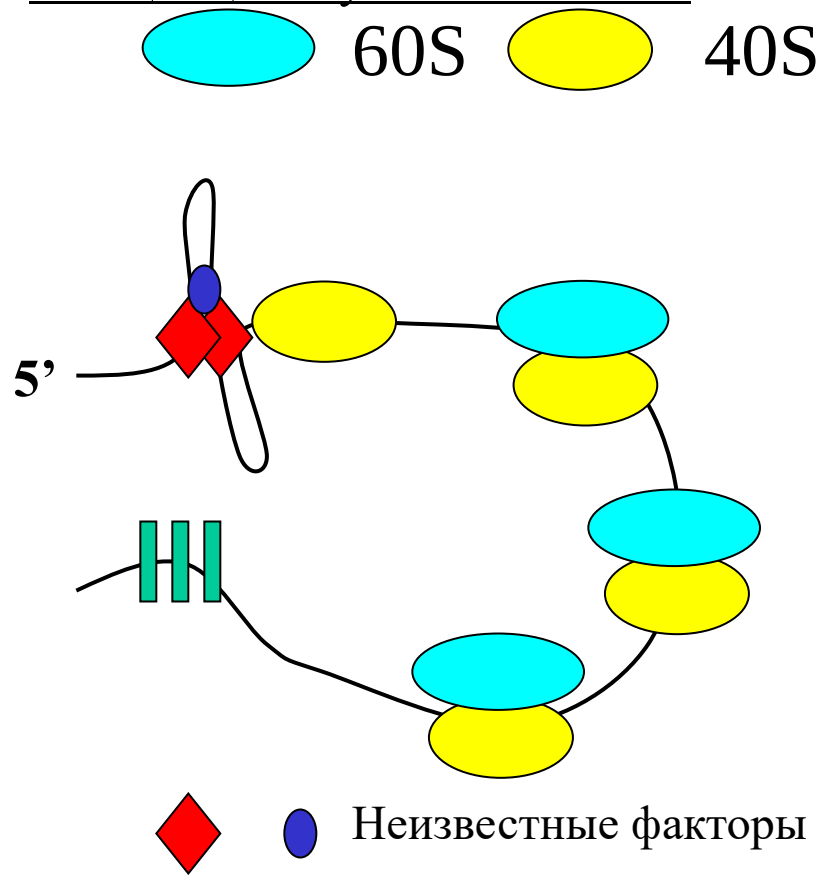
Основные механизмы инициации трансляции эукариотических мРНК

Модель“линейного сканирования”



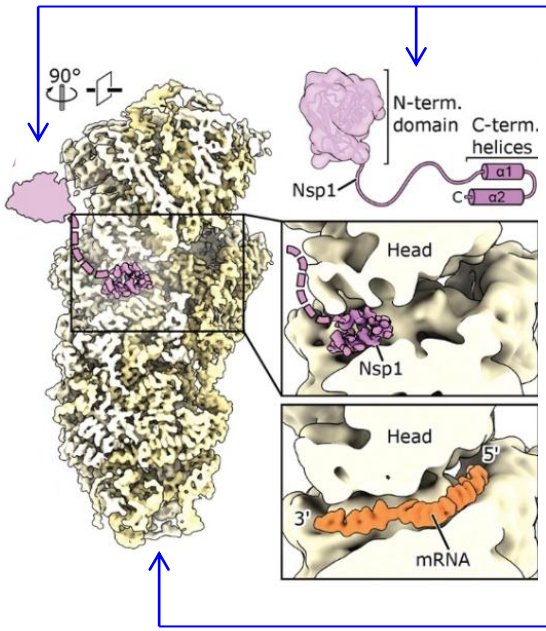
- Участие кепа и поли(А)-хвоста
- Расплетенный 5’UTR
- Роль контекста AUG кодона (-3,+4 позиции)

Инициация с участием IRES



- мРНК не содержит кепа
- 40S связывается не с 5’-концом мРНК

Белок короновируса SARS-CoV-2 взаимодействует с малой субъединицей рибосомы и подавляет трансляцию мРНК в клетке хозяина



Белок Nsp1 вируса SARS-CoV-2

40S субъединица рибосомы

Thoms M. et al., Structural basis for translational shutdown and immune evasion by the Nsp1 protein of SARS-CoV-2 Science . 2020;369(6508):1249-1255.

Результат - блокируется синтез белков в клетке хозяина. В частности, блокируется образование белков противовирусного ответа.

Ингибирование зависит от структуры мРНК. Не подвержены ингибированию мРНК вирусных белков и белков клетки-хозяина, участвующих в базовых клеточных процессах (белки, обеспечивающие трансляцию, РНК-связывающие белки и ряд других белков, обеспечивающих жизненный цикл вируса). Показано, что избирательная трансляция мРНК этих белков происходит благодаря особой структуре их 5‘- участков (олигопиримидиновые тракты)

Shilpa Rao S. et al., Genes with 5' terminal oligopyrimidine tracts preferentially escape global suppression of translation by the SARS-CoV-2 NSP1 proteinbioRxiv . 2020;2020.09.13.295493.

Контроль экспрессии генов в клетках эукариот

Ядро

- Транскрипция
- Процессинг пре-мРНК, сплайсинг
- Транспорт мРНК в цитоплазму

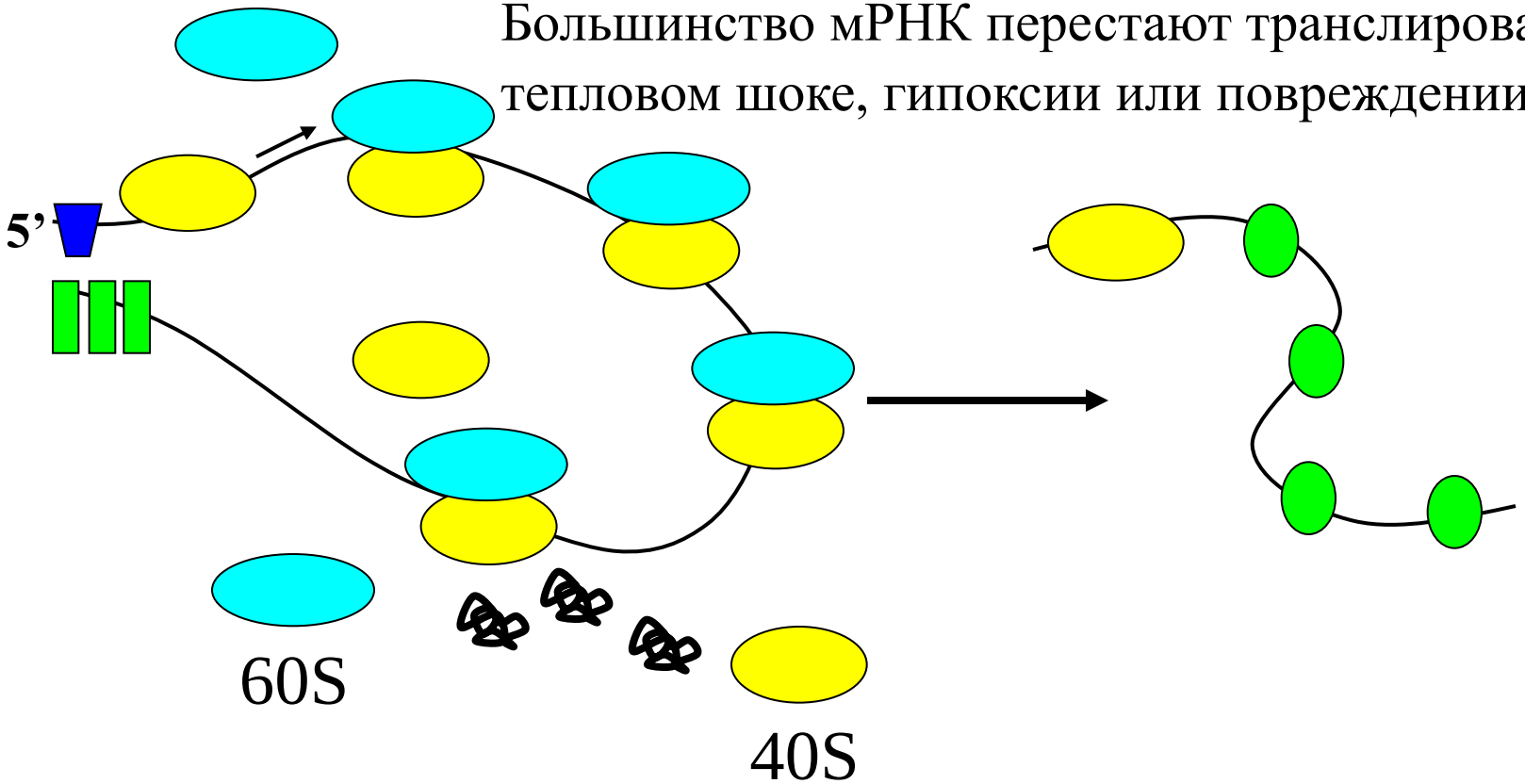
Цитоплазма

- **Трансляция**
- Стабильность мРНК
- Стабильность белка

СИГНАЛЫ

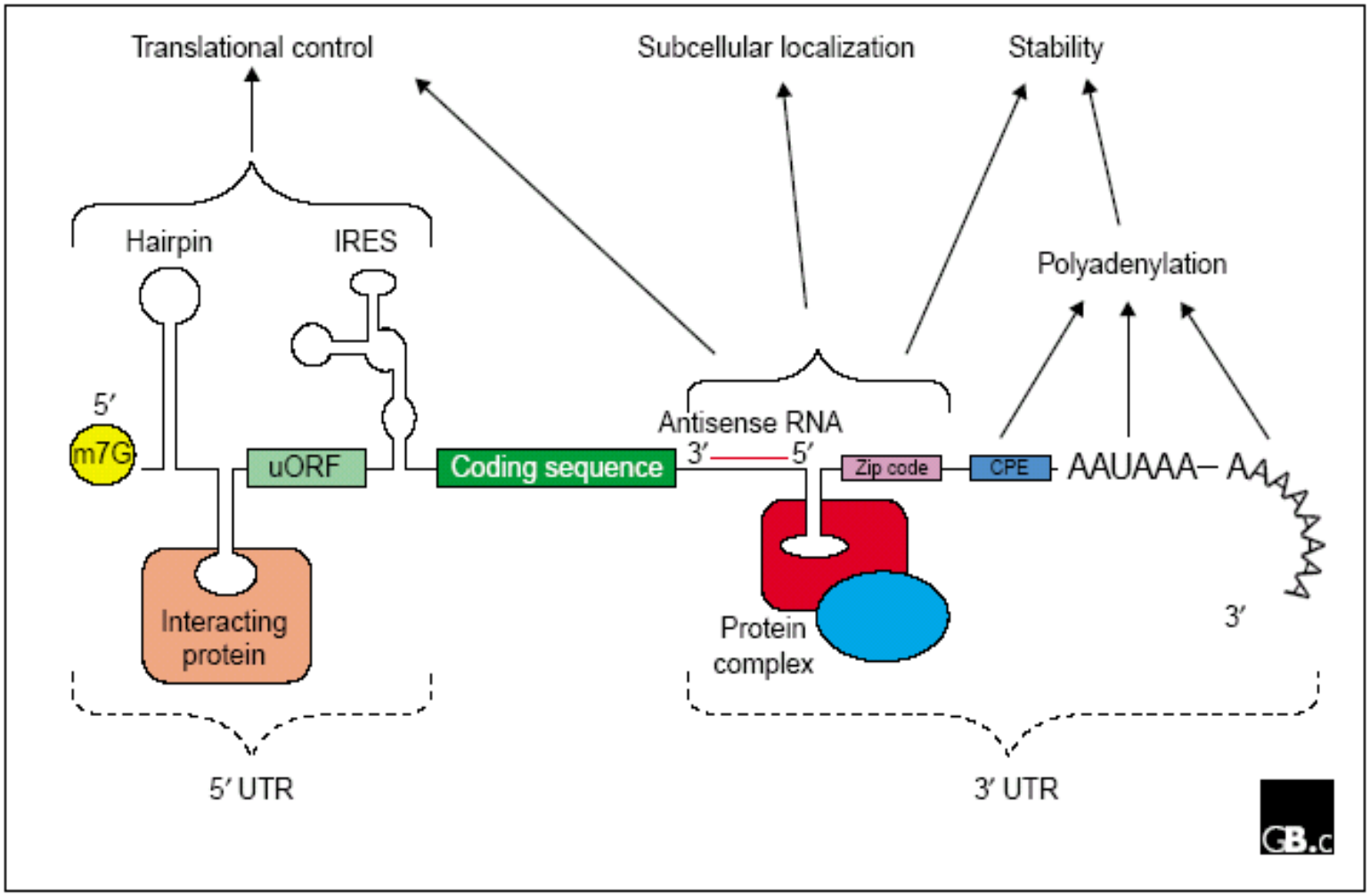
Существуют стресс-, стадие- и ткане-специфические регуляторы трансляции и цитоплазматической стабильности мРНК

Большинство мРНК перестают транслироваться при тепловом шоке, гипоксии или повреждении тканей



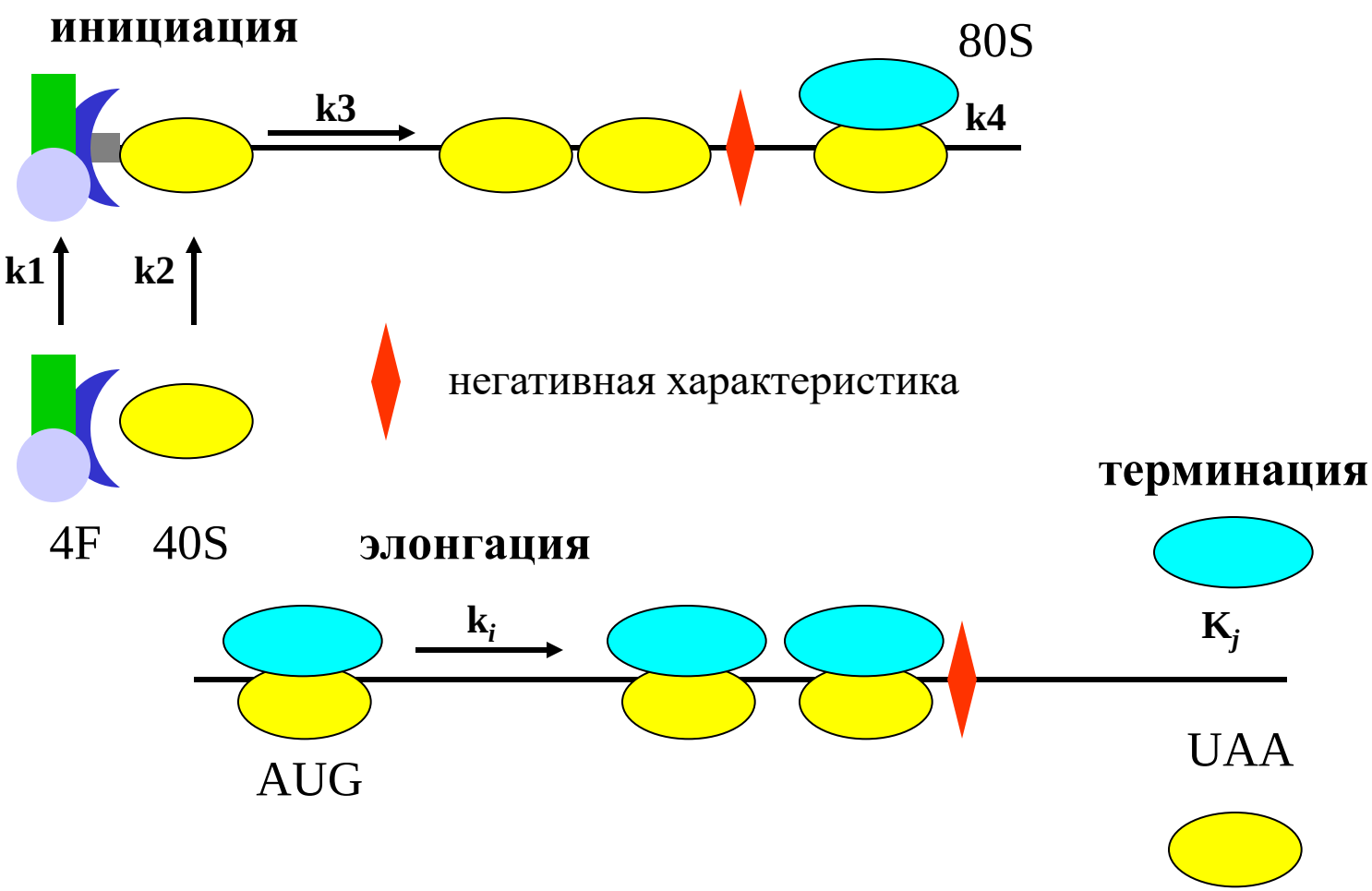
Интенсивная трансляция мРНК некоторых генов продолжается и при стрессе

мРНК эукариот часто содержат специфические сигналы экспрессии



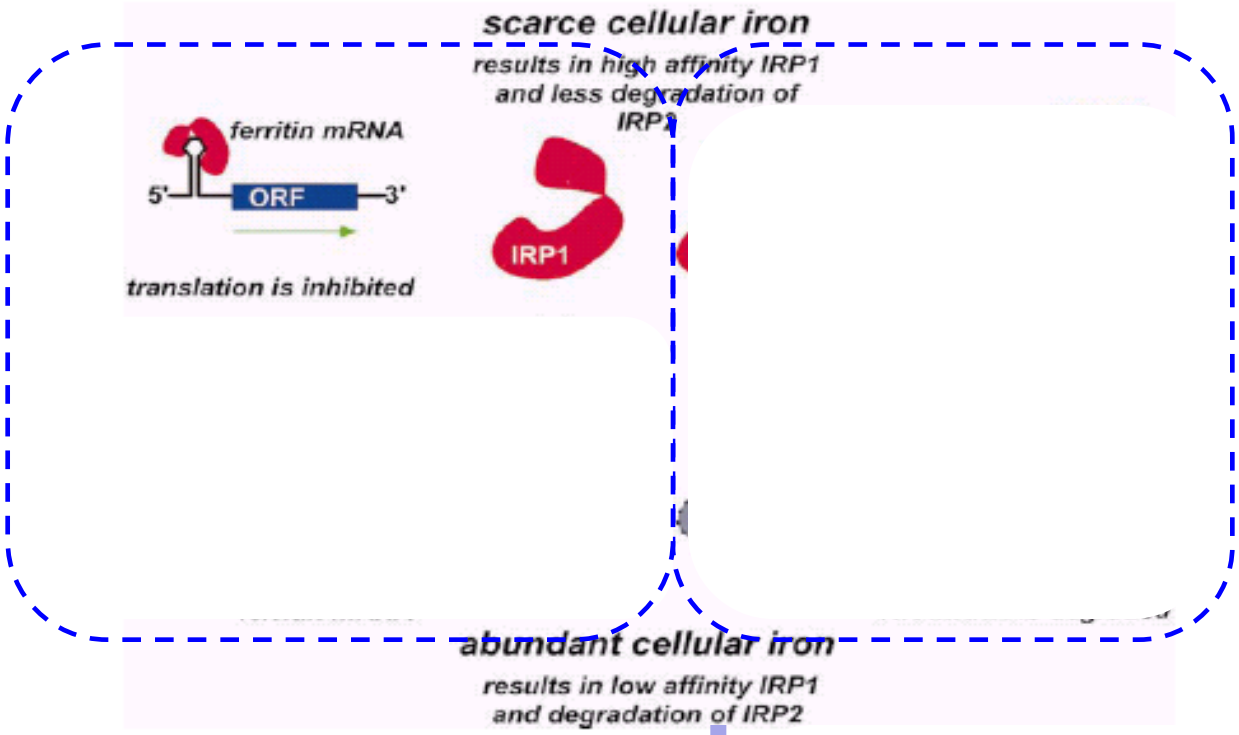
Mignone et al., Genome Biol., 2002, 3: 3

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.



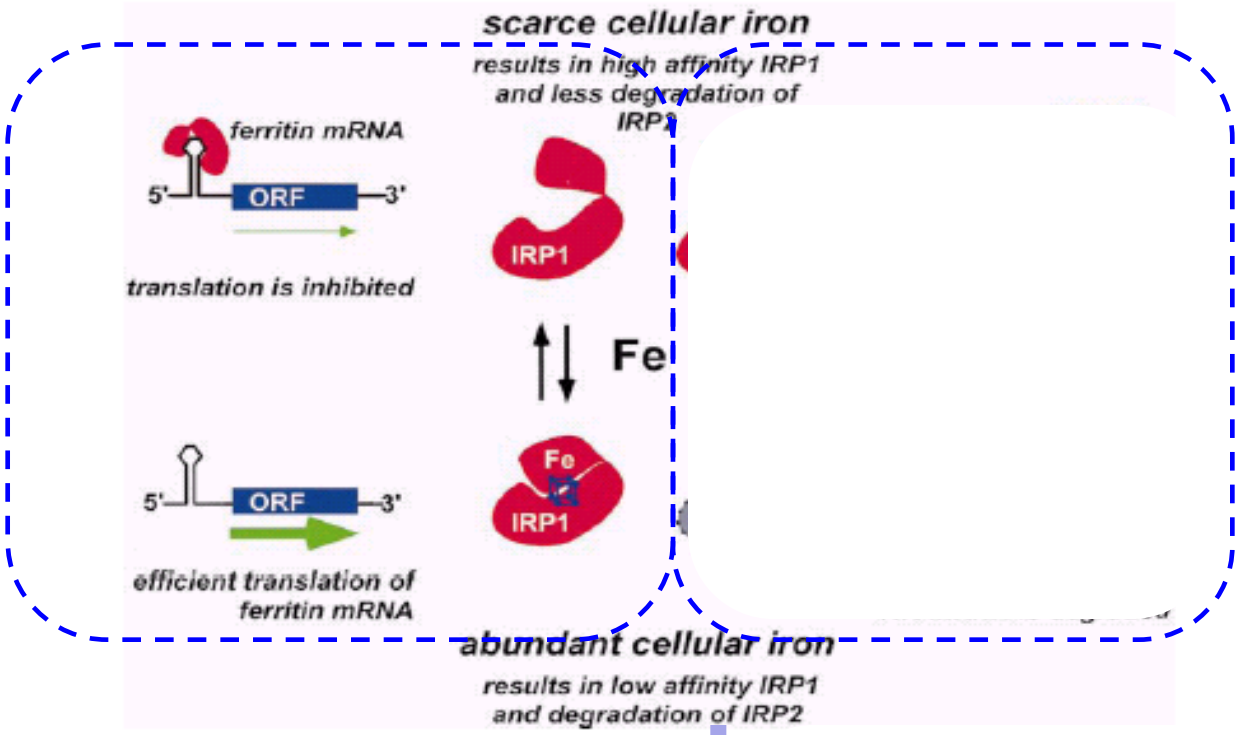
Cazzola and Skoda, Translational pathophysiology: a novel molecular mechanism of human disease ***Blood, 2000, 95: 3280-3288***

5′-НТП мРНК **ферритин**а 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

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 **ферритин**а 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.

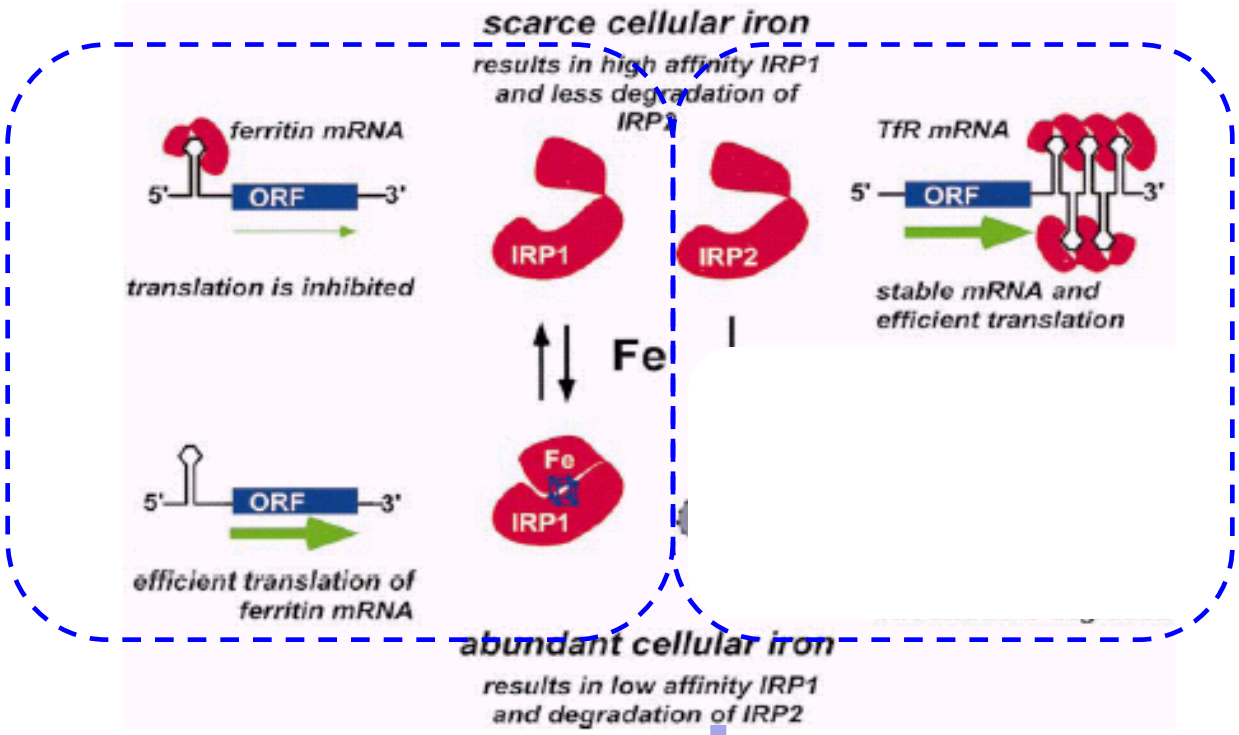
При высоком уровне железа белок IRP1 взаимодействует с ионами железа и поэтому не может взаимодействовать с 5′ IRE в мРНК ферритина. Трансляция ферритина активируется

?

Cazzola and Skoda, Translational pathophysiology: a novel molecular mechanism of human disease ***Blood, 2000, 95: 3280-3288***

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.



Cazzola and Skoda, Translational pathophysiology: a novel molecular mechanism of human disease ***Blood, 2000, 95: 3280-3288***

5′-НТП мРНК **ферритин**а 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.

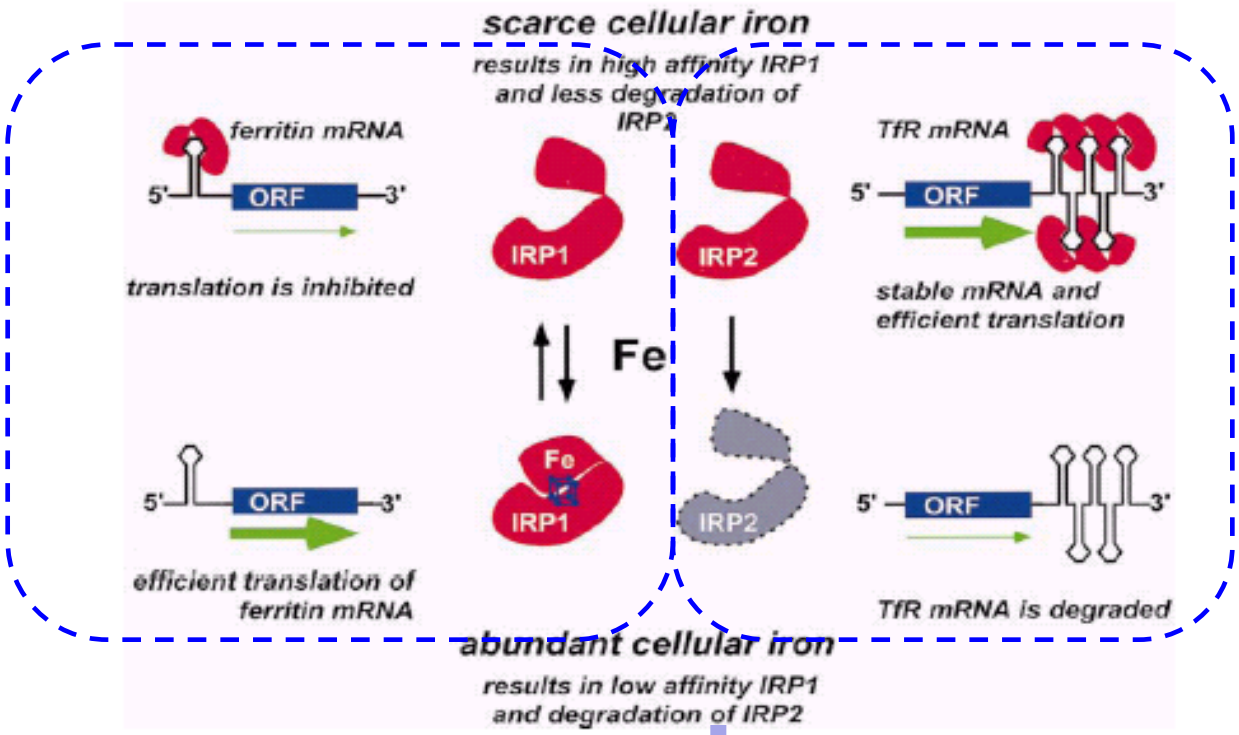
При высоком уровне железа белок IRP1 взаимодействует с ионами железа и поэтому не может взаимодействовать с 5′ IRE в мРНК ферритина. Трансляция ферритина активируется

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.

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.



Cazzola and Skoda, Translational pathophysiology: a novel molecular mechanism of human disease ***Blood, 2000, 95: 3280-3288***

5′-НТП мРНК **ферритин**а 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.

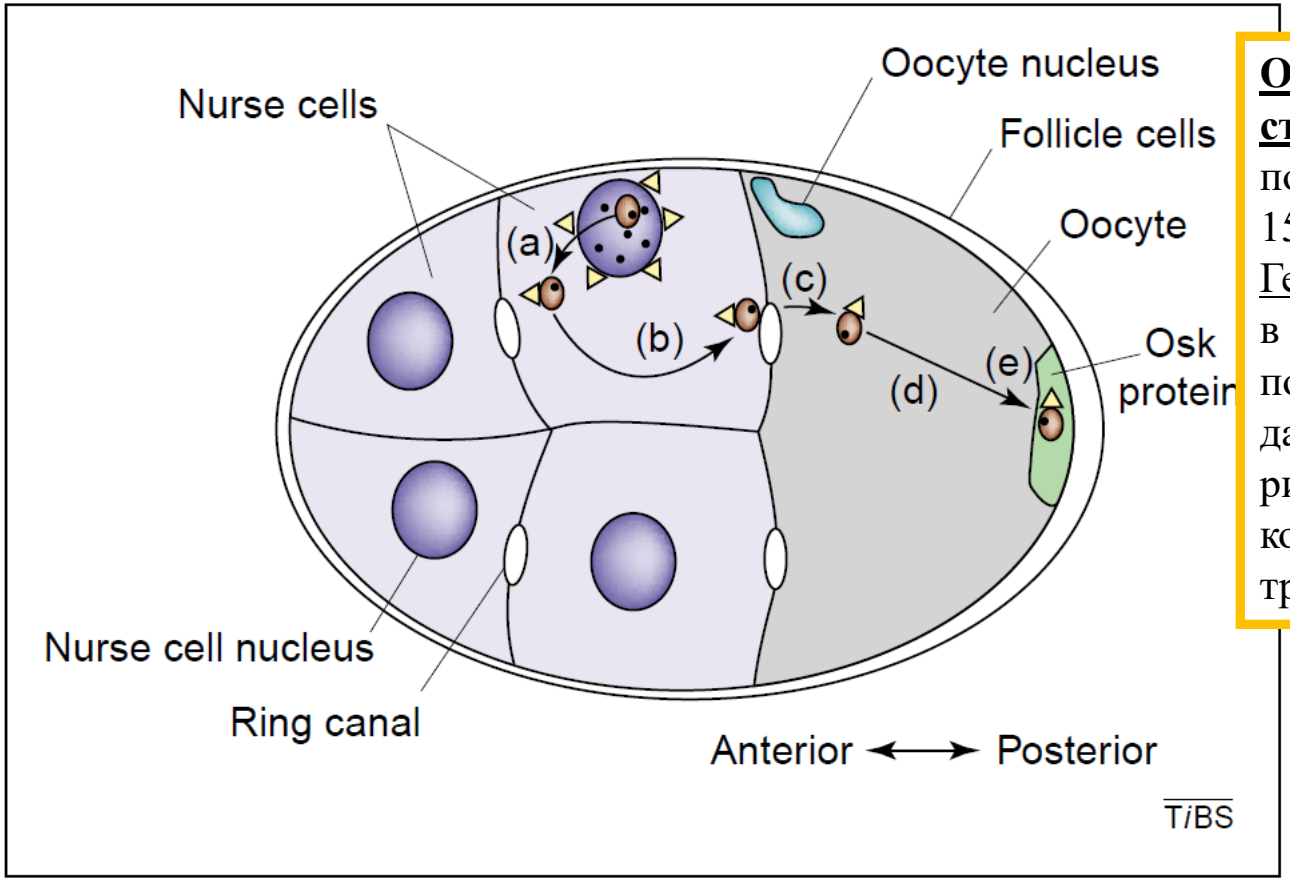
При высоком уровне железа белок IRP1 взаимодействует с ионами железа и поэтому не может взаимодействовать с 5′ IRE в мРНК ферритина. Трансляция ферритина активируется

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



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

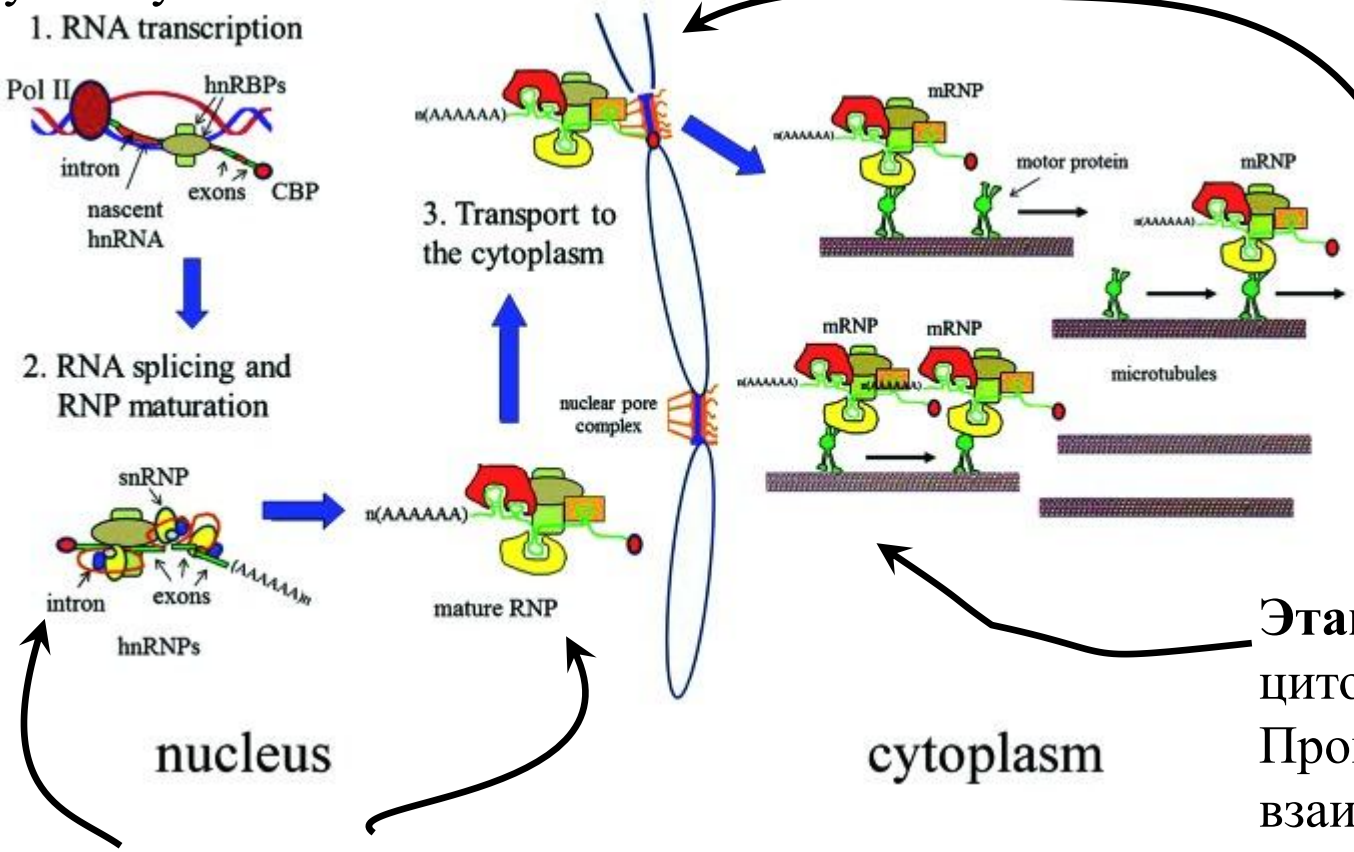
Примеры ситуаций, когда транспорт мРНК хорошо изучен и очень важен:

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.



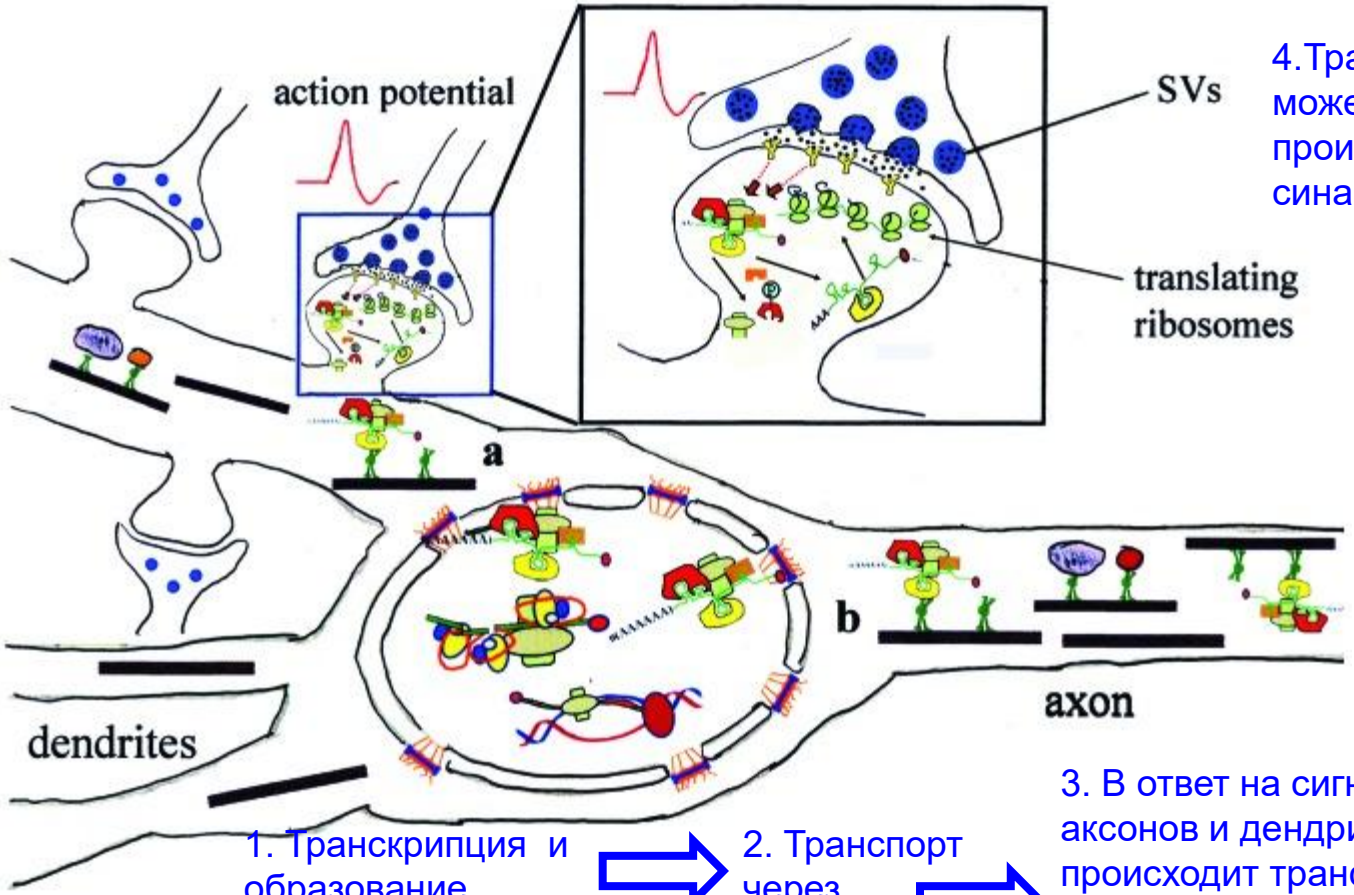
Этап 3. Транспорт в цитоплазму при участии белков ядерных пор.

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.

Int J Mol Med. 2014 Apr; 33(4): 747–762.

Транспорт мРНК в нейроне



4.Трансляция может происходить в синапсах

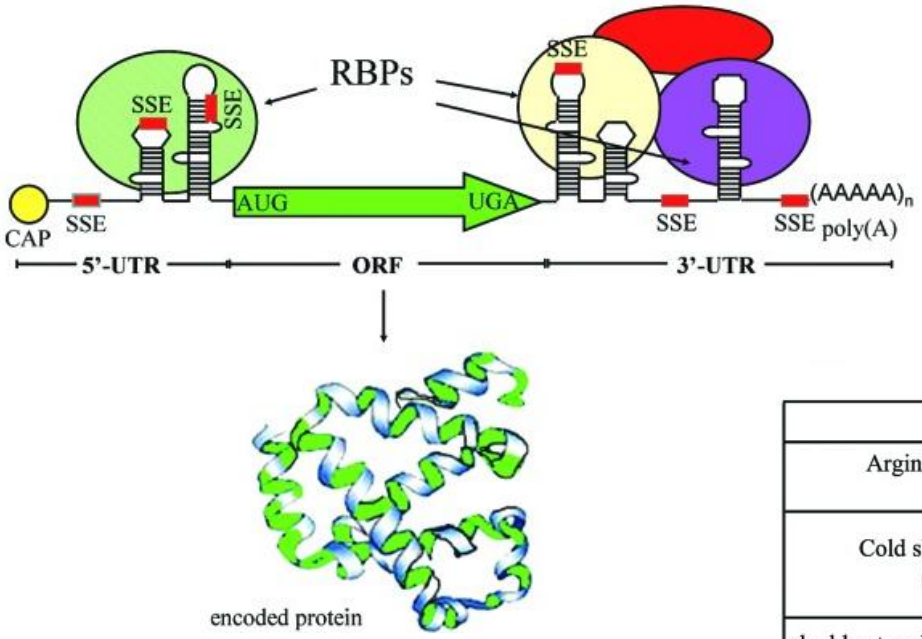
1. Транскрипция и образование рибонклеопротеиновых комплексов происходит в ядре

2. Транспорт через ядернуую мембрану

3. В ответ на сигналы из аксонов и дендритов происходит транспорт нуклеопротеиновых комплексов к синапсам при участии белков цитоскелета

Di Liegro CM, Schiera G, Di Liegro I. Regulation of mRNA transport, localization and translation in the nervous system of mammals (Review). Int J Mol Med. 2014 Apr;33(4):747-62.

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

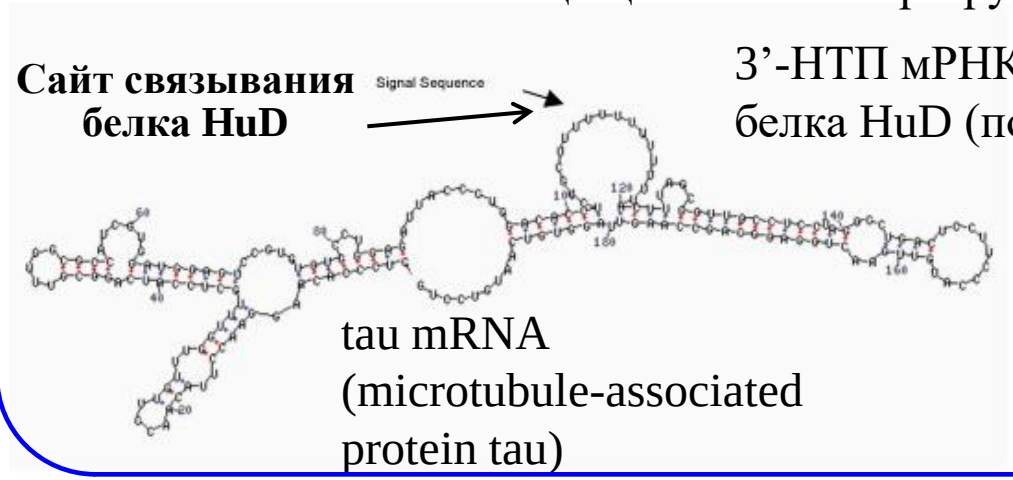
Name	Secondary structure	Examples
Arginine-Rich Motif (ARM)	Three kinds of structures: β-hairpin, α-helix, helix bend helix	hnRNP K hnRNP U
Cold shock domain (CSD)	five-stranded anti-parallel β-barrel with an oligonucleotide/oligosaccharide-binding fold	YB-1, CRHSP-24, CSDC2 (PIPPin)
double-stranded RNA binding motif (dsRBM)	αβββα topology	Staufen Drosha
hnRNP K homology (KH) domain	type I, eukaryotic: βααββα topology type II, prokaryotic: αββααβ topology	hnRNP K FMRP Nova1
RNA Recognition Motif (RRM) or RNA binding domain (RBD) or Ribonucleoprotein domain (RNP)	$\beta_1\alpha_1\beta_2\beta_3\alpha_2\beta_4$: 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	Hzfp100 (CCHH) TTP (CCCH) MKRN1 (CCCH)

Int J Mol Med. 2014 Apr; 33(4): 747–762.

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).

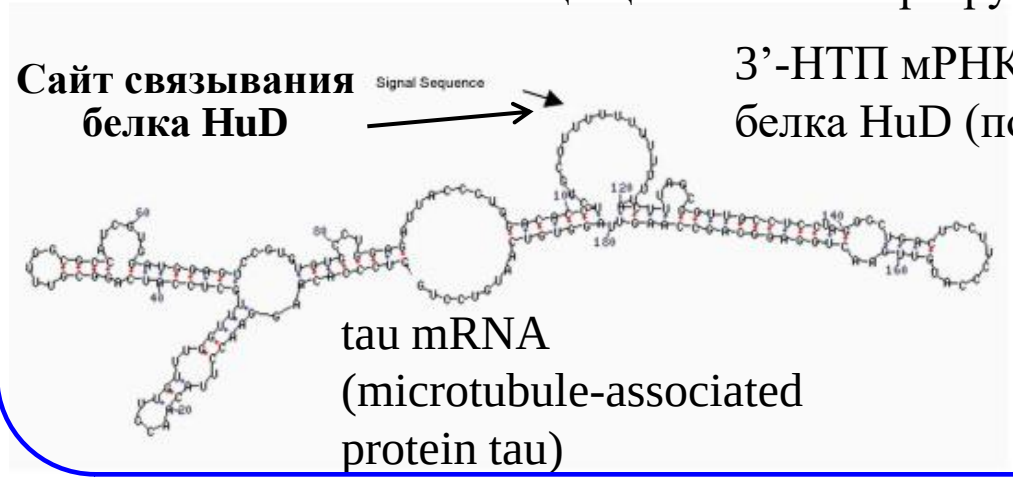
tau mRNA (microtubule-associated protein tau)

Aranda-Abreu GE et al., Possible Cis-acting signal that could be involved in the localization of different mRNAs in neuronal axons. Theor Biol Med Model. 2005 Aug 24;2:33.

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

Известно:

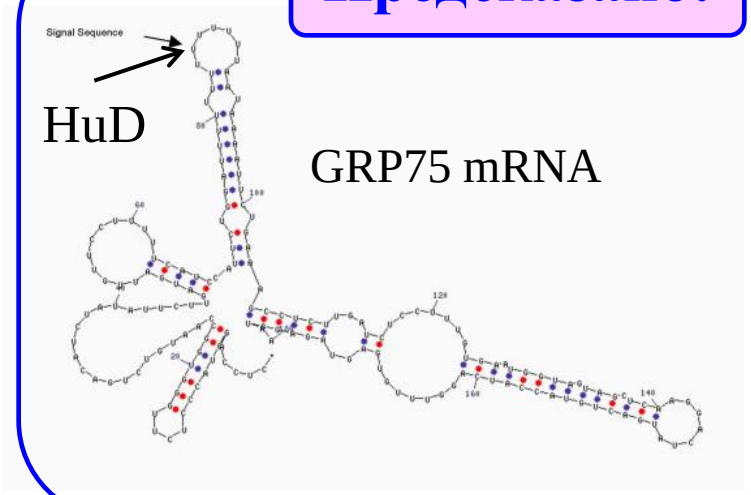
Белок HuD содержится в составе транспортных РНП частиц и защищает мРНК от разрушения.

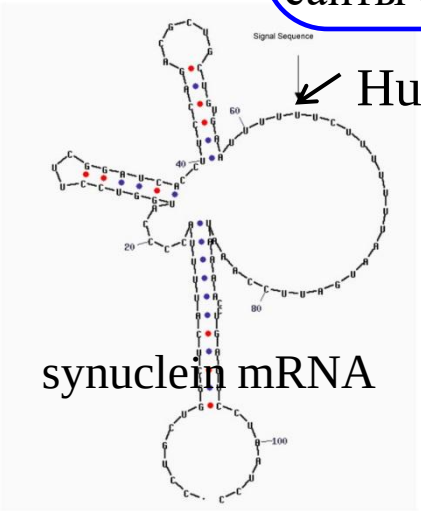


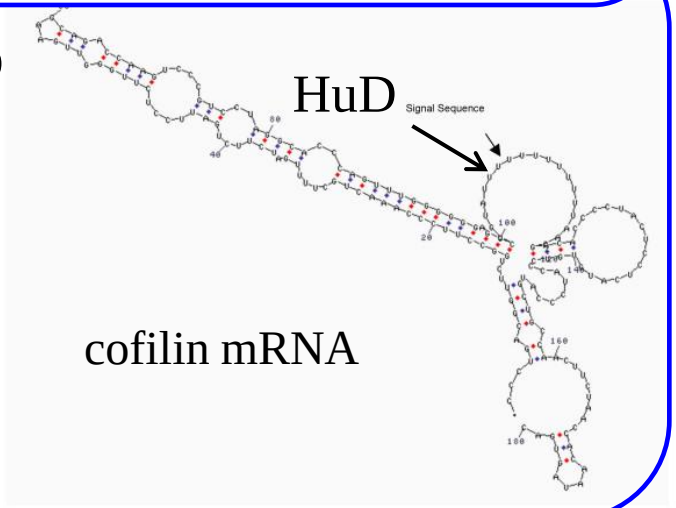
3’-НТП мРНК белка tau содержит сайт связывания белка HuD (последовательность, богатая уридинами).

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

Предсказано:



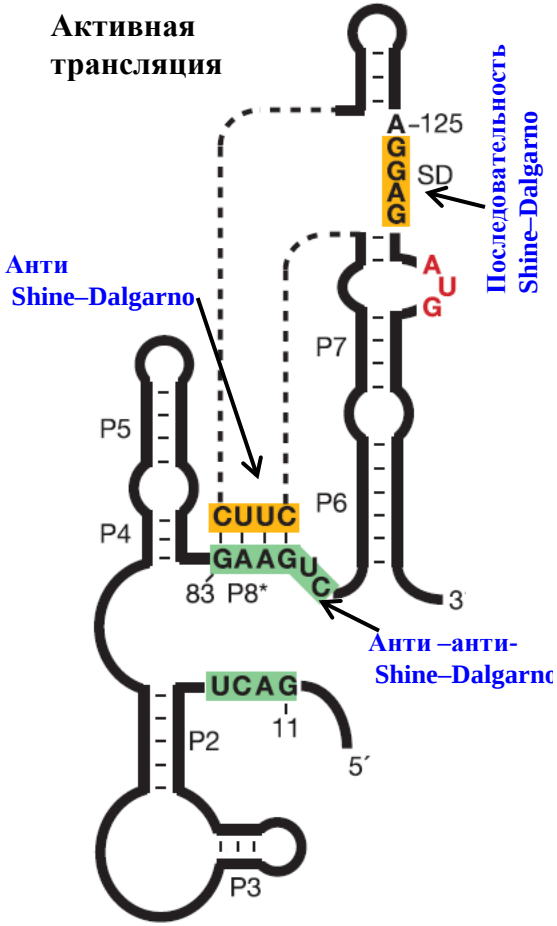


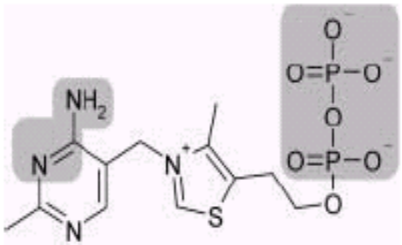


Aranda-Abreu GE et al., Possible Cis-acting signal that could be involved in the localization of different mRNAs in neuronal axons. Theor Biol Med Model. 2005 Aug 24;2:33.

Рибопереключатель (“RiboSwitch”): сенсорная структура в составе РНК, взаимодействующая с метаболитами, и регулирующая трансляционную активность

Пример: тиаминпирофосфатный (TPP) рибопереключатель в 5’-нетранслируемой последовательности мРНК гена ***thiM*** (Hydroxyethylthiazole kinase) у ***E. coli***.
Ген ***thiM*** кодирует фермент, участвующий в синтезе TPP



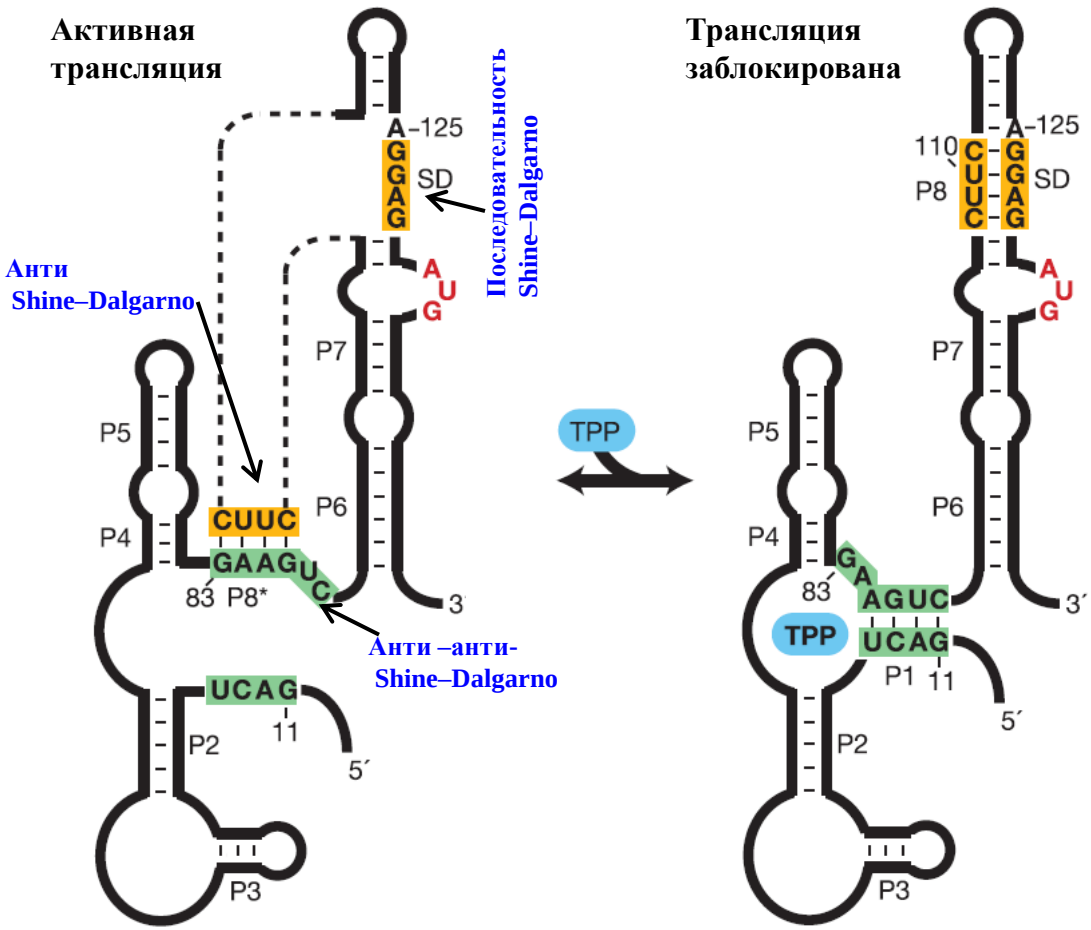


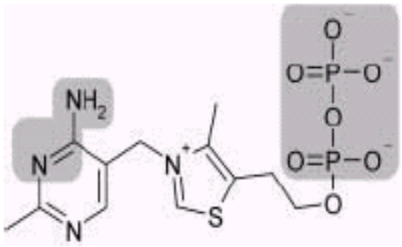
TPP (thiamine pyrophosphate)
= vitamin B1

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. .

Рибопереключатель (“RiboSwitch”): сенсорная структура в составе РНК, взаимодействующая с метаболитами, и регулирующая трансляционную активность

Пример: тиаминпирофосфатный (TPP) рибопереключатель в 5’-нетранслируемой последовательности мРНК гена ***thiM*** (Hydroxyethylthiazole kinase) у ***E. coli***.
Ген ***thiM*** кодирует фермент, участвующий в синтезе TPP



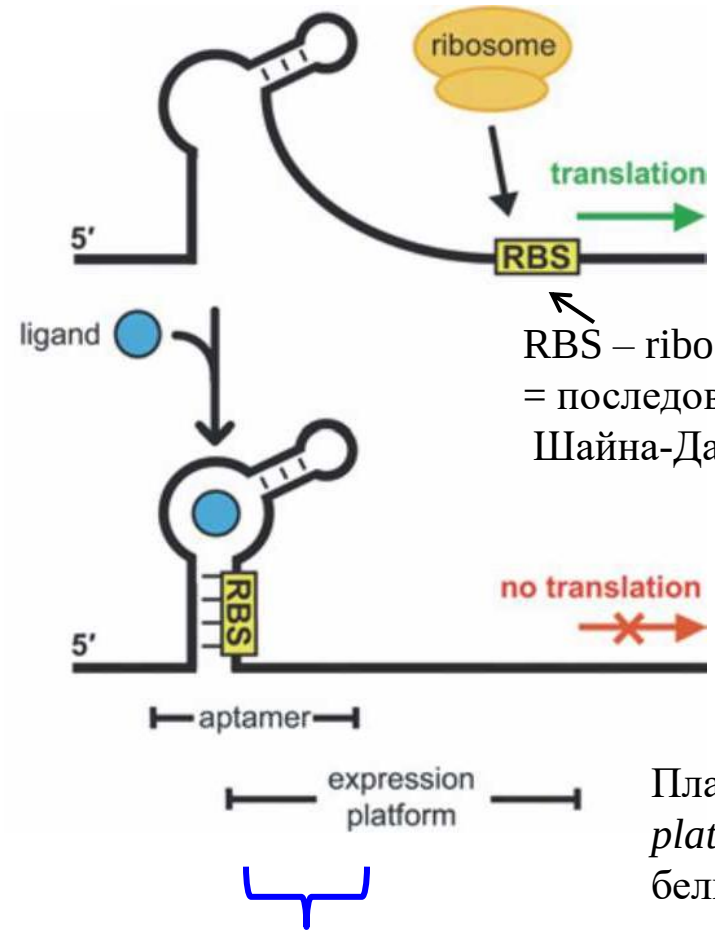


TPP (thiamine pyrophosphate)
= vitamin B1

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.

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. .

Общая схема строения рибопереключателя в 5’-НТП



RBS – ribosome binding site
= последовательность
Шайна-Дальгарно

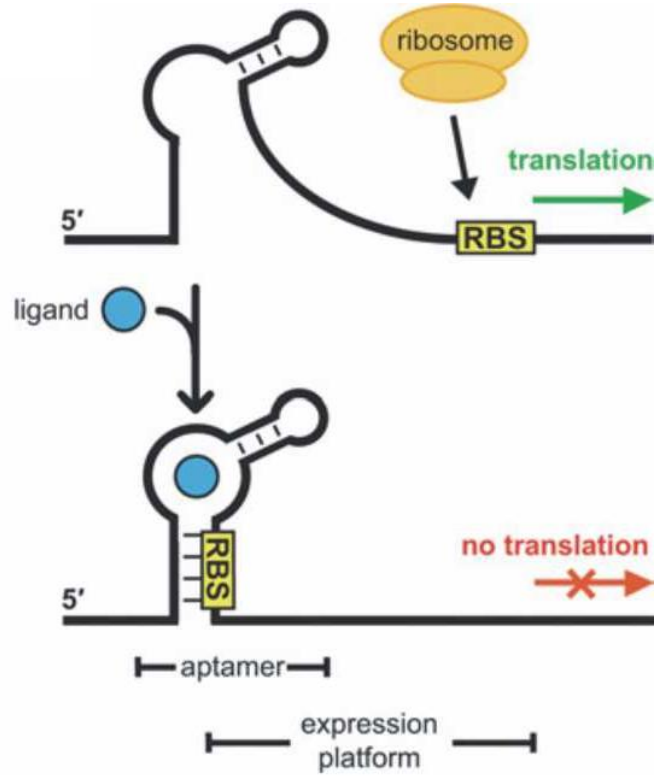
Аптамерный домен,
осуществляет распознавание
лиганда и связывание с ним

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

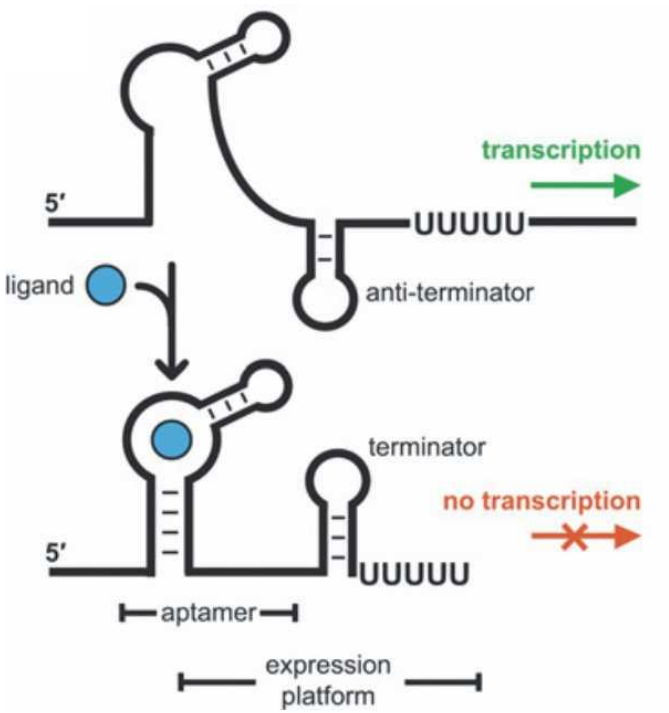
Переключающая последовательность
– участок перекрывания аптамерного домена и платформы экспрессии. Отвечает за сворачивание РНК в две взаимноисключающие вторичные структуры, за счёт чего и осуществляется регуляция.

Две модели функционирования рибопереключателя

Локализация в 5’-НТП: ингибирование инициации трансляции

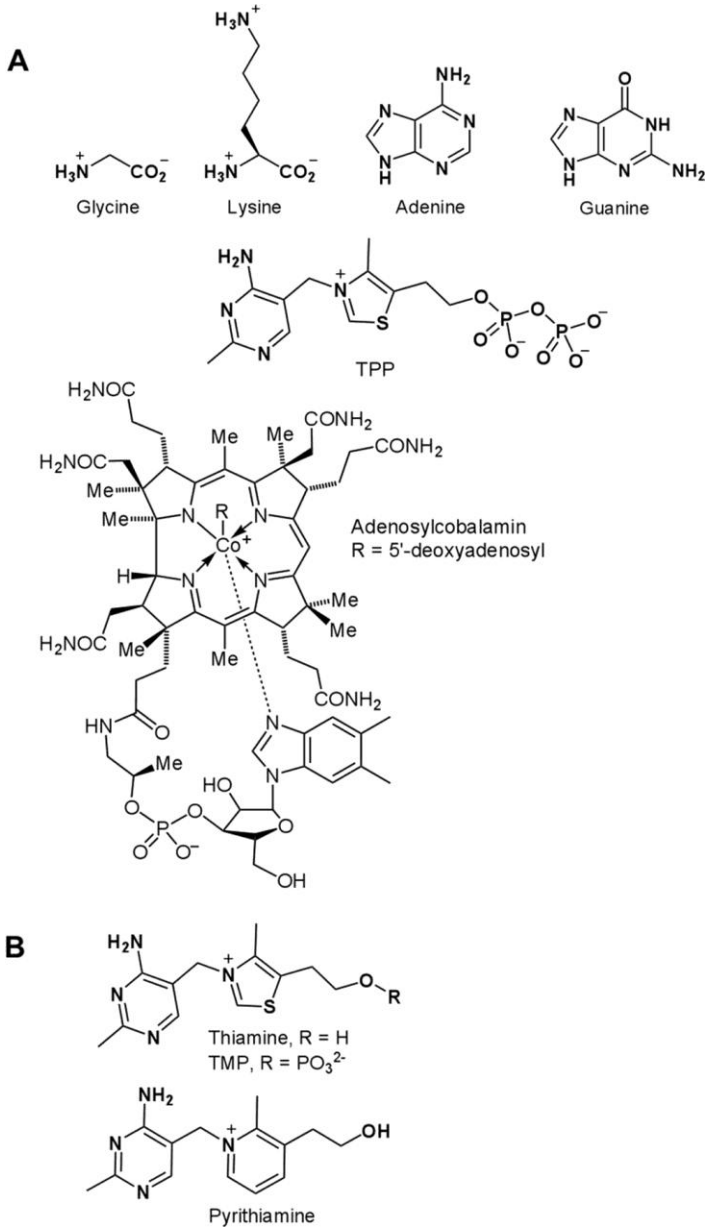


Локализация ниже старта траскрипции: преждевременная терминация транскрипции



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.



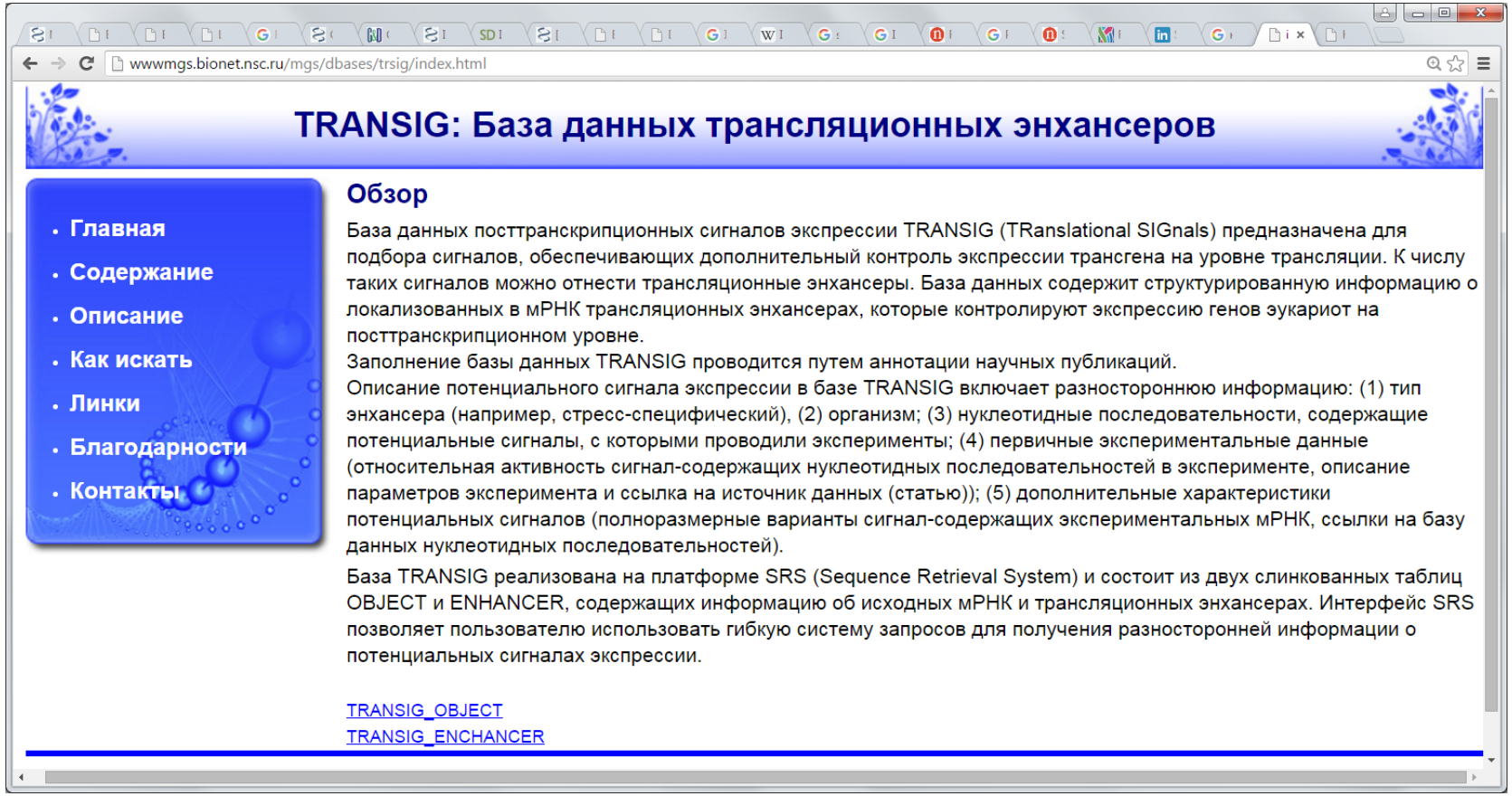
Пурины и их производные,
коферменты белков и родственные соединения,
аминокислоты и фосфорилированные сахара
металлы (ионы Mg2+), которые притягиваются к
отрицательно заряженному сахарофосфатному остову
РНК и к отрицательно заряженным анионам фтора

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).

Elena Cressina, Liuhong Chen, Michael Moulin, Finian J. Leeper, Chris Abell, Alison G. Smith Identification of novel ligands for thiamine pyrophosphate (TPP) riboswitches Biochemical Society TransactionsApr 01, 2011,39(2)652-657

TRANSIG - БАЗА ДАННЫХ трансляционных сигналов

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



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

Status

The current release has 58 entries and was indexed 03-Nov-2015.

Data-fields in SRS

Name	Short Name	Type	No of Keys	No of Entry References	Indexing Date	Status
Id	id	id	58	58	03-Nov-2015	ok
Location	loc	index	5	59	03-Nov-2015	ok
Type	typ	index	12	61	03-Nov-2015	ok
OC	oc	index	80	676	03-Nov-2015	ok
OS	os	index	23	59	03-Nov-2015	ok
Gene	gene	index	36	64	03-Nov-2015	ok
Cap	cap	index	3	57	03-Nov-2015	ok
PolyA	pla	index	4	56	03-Nov-2015	ok
Sequence	sq	show	0	0		not indexed
CommentSeq	csq	index	157	602	03-Nov-2015	ok
Keywords	key	index	37	186	03-Nov-2015	ok
Comment	cc	index	753	4235	03-Nov-2015	ok
Link_enh	lnk_enh	index	68	68	03-Nov-2015	ok
Link	lnk	index	32	37	03-Nov-2015	ok

Links

From Databank	Entries Linked	To Databank	Entries Linked	Links Total	Indexing Date
TRANSIG_OBJ	58	TRANSIG_ENH	68	68	03-Nov-2015
TRANSIG_ENH	68	TRANSIG_OBJ	58	68	03-Nov-2015

SRS Description

Structure (srsgen.i , srsdb.i , href.i)
Syntax

Name

TRANSIG_ENH

Search

Status

The current release has 68 entries and was indexed 03-Nov-2015.

Data-fields in SRS

Name	Short Name	Type	No of Keys	No of Entry References	Indexing Date	Status
Id	id	id	68	68	03-Nov-2015	ok
ObjID	oi	index	58	68	03-Nov-2015	ok
Sequence	sq	show	0	0		not indexed
CommentSeq	csq	index	343	1590	03-Nov-2015	ok
OS	os	index	33	118	03-Nov-2015	ok
Keywords	key	index	31	101	03-Nov-2015	ok
Comment	cc	index	554	3224	03-Nov-2015	ok
Reference	ref	index	518	1596	03-Nov-2015	ok

Links

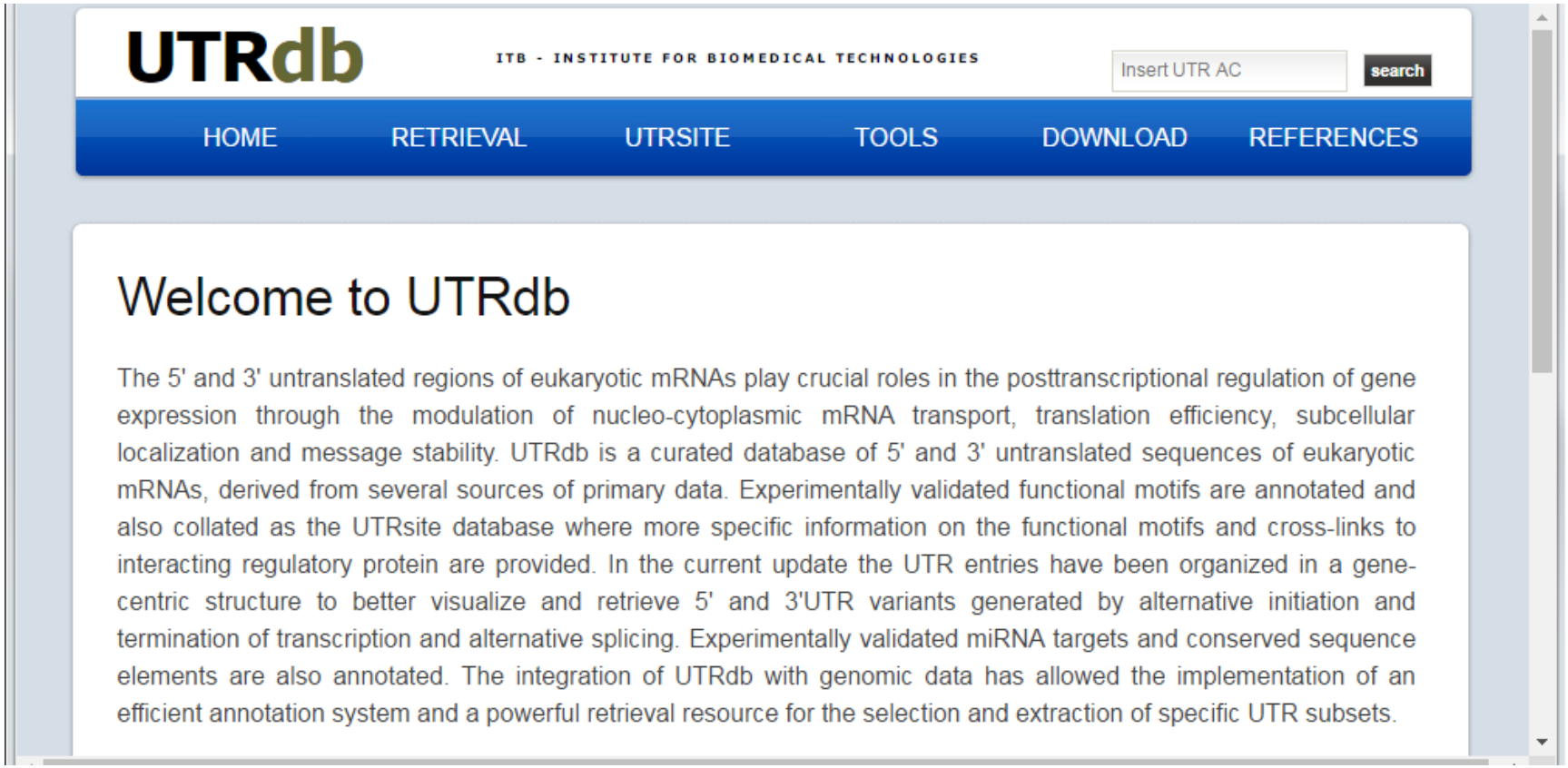
From Databank	Entries Linked	To Databank	Entries Linked	Links Total	Indexing Date
TRANSIG_OBJ	58	TRANSIG_ENH	68	68	03-Nov-2015
TRANSIG_ENH	68	TRANSIG_OBJ	58	68	03-Nov-2015

SRS Description

Structure (srsgen.i , srsdb.i , href.i)
Syntax

Insert UTR

UTRdb
(http://utrdb.ba.itb.cnr.it/)



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

			5' UTREF		5' UTREF (HUMAN)		5' UTRFULL	
UTRSITE ID	FEATURE KEY	STANDARD NAME	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

			3' UTREF		3' UTREF (HUMAN)		3' UTRFULL	
UTRSITE ID	FEATURE KEY	STANDARD NAME	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)

UTRSite – коллекция функциональный сайтов в 5’ и 3’ нетранслируемых последовательностях

http://utrsite.ba.itb.cnr.it/index.php/default/

UTRSite

user: guest login

Home | Signal Manager

References

UTRdb and UTRsite (RELEASE 2010): a collection of sequences and regulatory motifs of the untranslated regions of eukaryotic mRNAs.
Nucleic Acids Res. 2010; 38 (Database issue): D75-D80.

UTRdb and UTRsite: a collection of sequences and regulatory motifs of the untranslated regions of eukaryotic mRNAs.
Nucleic Acids Res. 2005 Jan 1; 33 (Database issue): D141-6.

UTRdb and UTRsite: specialized databases of sequences and functional elements of 5' and 3' untranslated regions of eukaryotic mRNAs. Update 2002.
Nucleic Acids Res. 2002 Jan 1; 30 (1): 335-40.

UTRdb and UTRsite: specialized databases of sequences and functional elements of 5' and 3' untranslated regions of eukaryotic mRNAs.
Nucleic Acids Res. 2000 Jan 1; 28 (1): 193-6

Welcome to UTRSite

UTRSite is a collection of functional sequence patterns located in 5' or 3' UTR sequences.

Understanding the basic mechanisms of cell growth, differentiation and response to environmental stimuli, i.e. the program controlling the temporal and spatial order of molecular events, is becoming a real challenge in molecular biology. Indeed, although most of the regulatory elements are thought to be embedded in the non-coding part of the genomes, nucleotide databases are biased by the presence of expressed sequences mostly corresponding to the protein coding portion of the genes.

Among non-coding regions, the 5' and 3' untranslated regions (5'-UTR and 3'-UTR) of eukaryotic mRNAs have often been experimentally demonstrated to contain sequence elements crucial for many aspects of gene regulation and expression.

Powered by **Seagull Framework** v 0.4.1

Links

- UTRdb
- UTRscan
- UTRblast

Пример запроса по базе UTRSite

UTRSite

user: guest login

Home | Signal Manager

Signal Manager :: Browse

1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 »

search signal

ID	Standard Name	View
U0001	Histone 3'UTR stem-loop structure (HSL3)	
U0002	Iron Responsive Element (IRE)	
U0003	Selenocysteine Insertion Sequence - type 1 (SECIS1)	
U0004	Selenocysteine Insertion Sequence - type 2 (SECIS2)	
U0005	Amyloid precursor protein mRNA stability control element (APP_SCE)	
U0006	Cytoplasmic polyadenylation element (CPE)	
U0007	TGE translational regulation element (TGE)	
U0008	Nanos translation control element (NANOS_TCE)	
U0009	15-Lipoxygenase Differentiation Control Element (15-LOX-DICE)	
U0010	AU-rich class-2 Element (ARE2)	

Total: 58 (1-10)

UTRSite

user: guest login

Home | Signal Manager

Signal Manager :: View

:: General Information

ID	U0002
Creation Date	30 July 1997
Updating Date	28 September 2009
Standard Name	Iron Responsive Element (IRE)
UTRSite Pattern	r1={au,ua,gc,cg,gu,ug} (p1=2...8 c p2=5...5 CAGNGH r1~p2 r1~p1 | p3=2...8 nnc p4=5...5 CAGNGH r1~p4 n r1~p3 | p5=6...8 c p6=2...2 p7=3...3 CAGNGH r1~p7 u r1~p6 r1~p5)
Random Expectation	0.0005537610 hits/kb

:: Taxonomy

UTR Region	All
Taxon Range	Metazoa

:: Description

Description	The "iron-responsive element" (IRE) is a particular hairpin structure located in the 5'-untranslated region (5'-UTR) or in the 3'-untranslated region (3'-UTR) of various mRNAs coding for proteins involved in cellular iron metabolism. The IREs are recognized by trans-acting proteins known as Iron Regulatory Proteins (IRPs) that control mRNA translation rate and stability. Two closely related IRPs, denoted as IRP-1 and IRP-2, have been identified so far which bind IREs and become inactiv..... more ...
Image	

:: Features

Feature Key	IRE

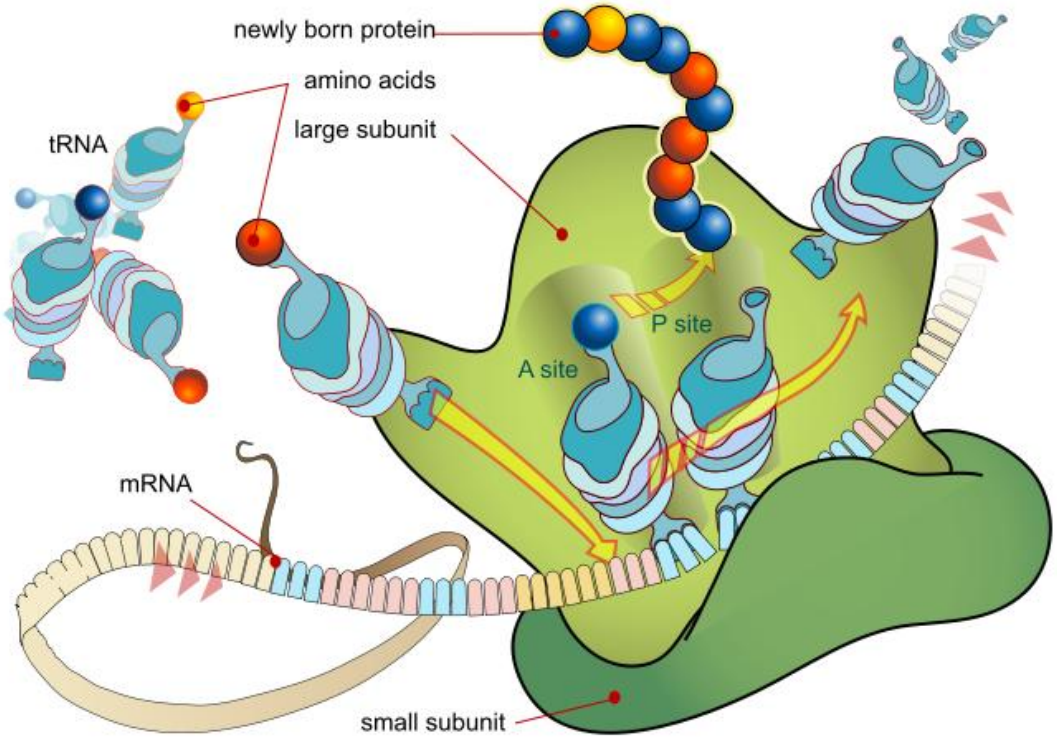
:: Database Cross-references

Link	RFAM: RF00037

:: Transcript(s) / Gene(s)

	Description	Species	Link	Ref.
UTR(s)	5'UTR in Homo sapiens ferritin, heavy polypeptide 1 (FTH1), mRNA.	Homo sapiens	UTRef: 5HSAR020849	[U1][U2]
	3'UTR in Homo sapiens transferrin receptor (p90, CD71) (TFRC), mRNA.	Homo sapiens	UTRef: 3HSAR032186	[U3][U4]
Transcript(s)	Homo sapiens ferritin, heavy polypeptide 1 (FTH1), mRNA.	Homo sapiens	RefSeq: NM_002032	
	Homo sapiens transferrin receptor (p90, CD71) (TFRC), mRNA	Homo sapiens	RefSeq: NM_003234	
Gene(s)	Ferritin H subunit (FTH1)	Homo sapiens	ENSEMBL: ENSG00000167996	
	Transferrin receptor protein 1 (TfR1, TR, TfR, Trfr, CD71 antigen, T9, p90)	Homo sapiens	ENSEMBL: ENSG00000072274	

Конец лекции!!!



Основная идея нашего курса лекций

Экспрессия генов на уровне, необходимом для конкретной клеточной ситуации, в каждом типе клеток на определенной стадии развития организма

Внеклеточные сигналы

Регуляторные механизмы

Регуляторные механизмы

Внутриклеточные сигналы

Регуляторные белки

Регуляторные белки

Районы гена, регулирующие транскрипцию

5’- и 3’-нетранслируемые участки РНК (регуляторные)

Регуляторные геномные последовательности

Конец всех лекций!!!

1. **Практическое занятие: «**Базы данных по регуляции транскрипции и программы распознавания сайтов связывания транскрипционных факторов»

2. **Практическое занятие: «**Компьютерные ресурсы, позволяющие предсказывать трансляционную активность мРНК и сигналы экспрессии, локализованные в мРНК»