



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΜΑΚΡΟΜΟΡΙΩΝ

2. Μεταγραφή ή Η σύνθεση του RNA

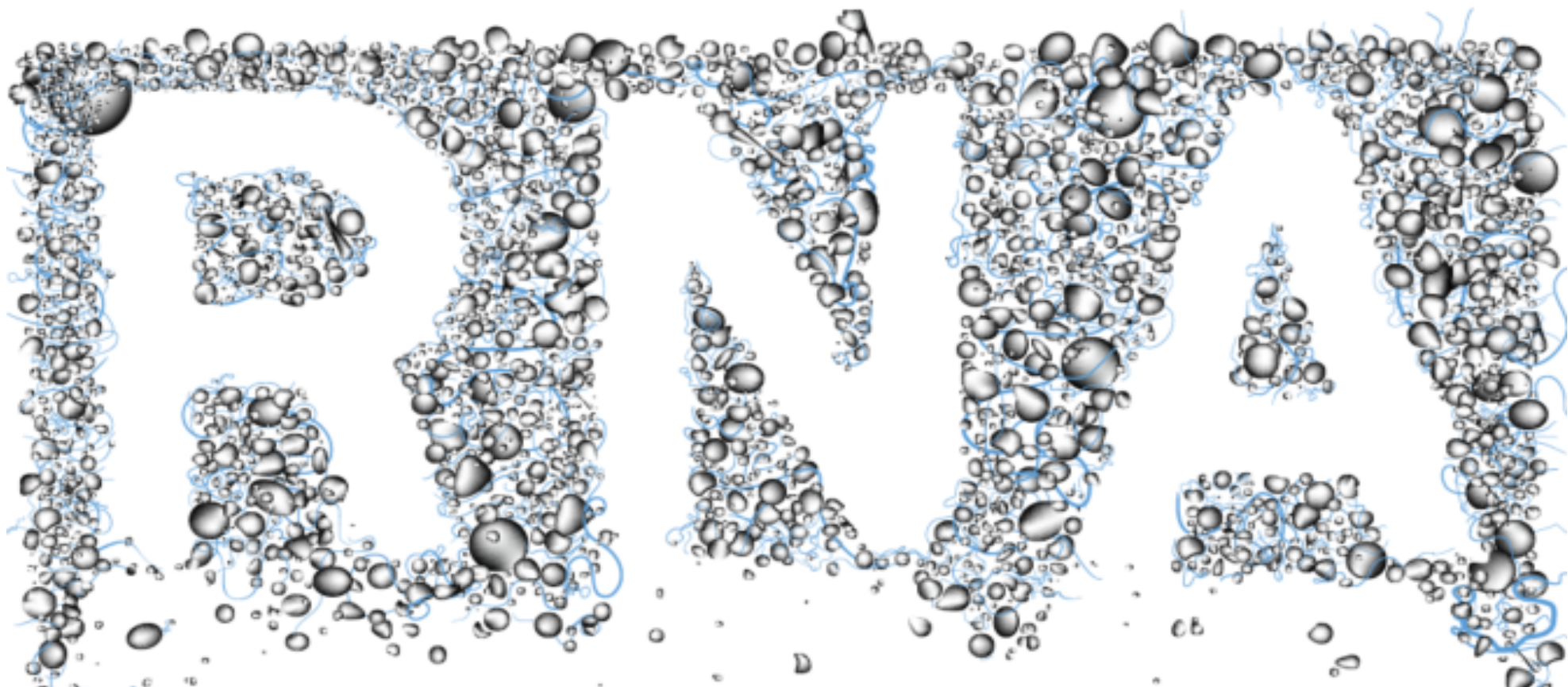
Νικόλαος Μπαλατσός



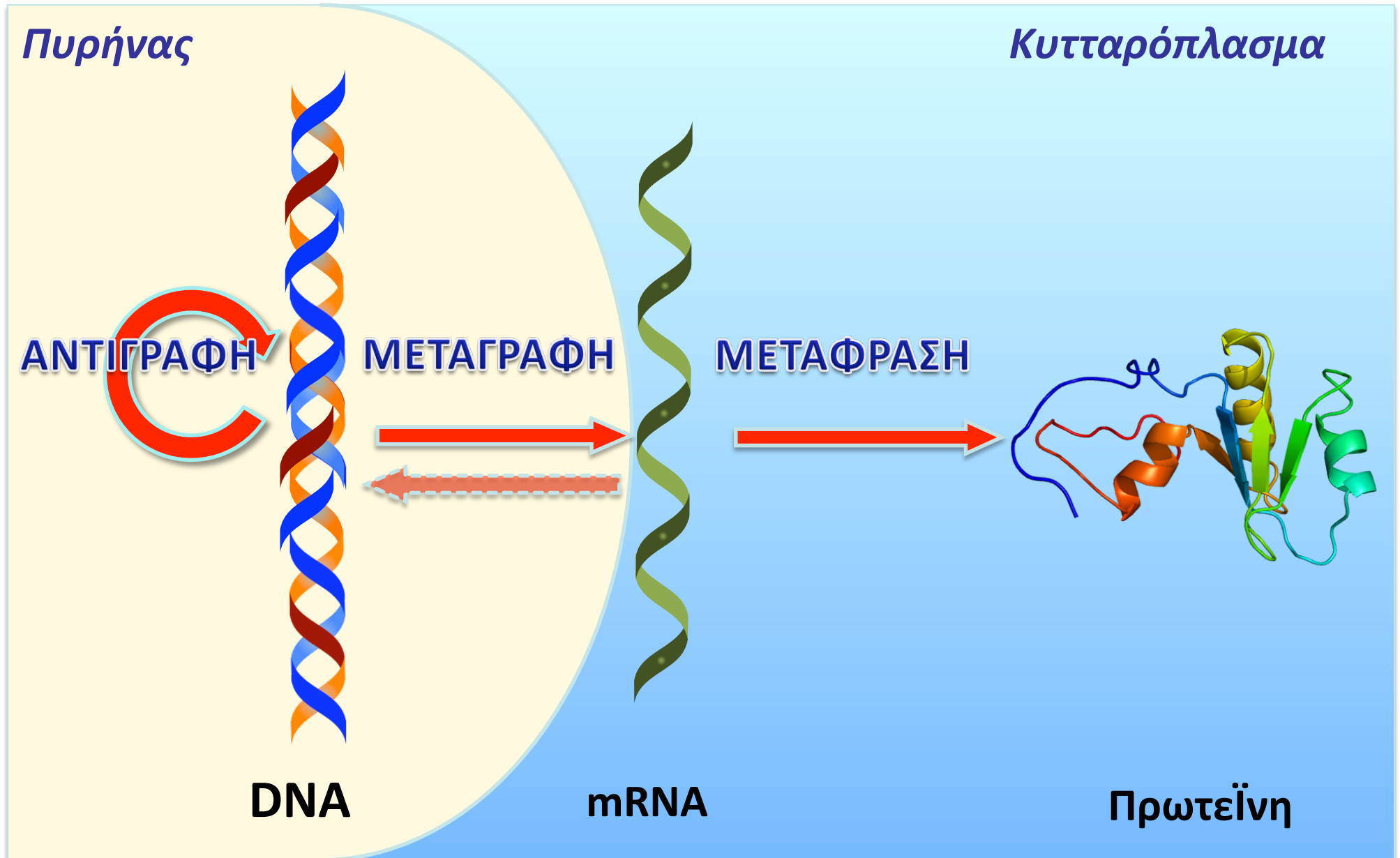
ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΜΑΚΡΟΜΟΡΙΩΝ

2. Μεταγραφή ή

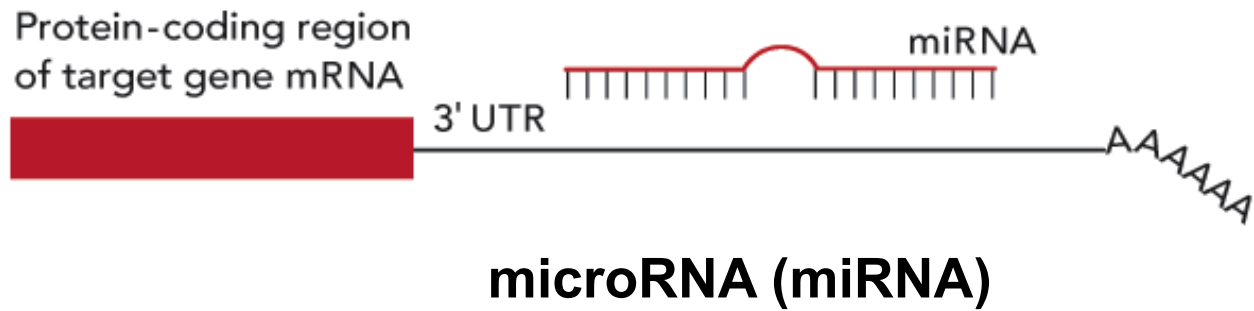
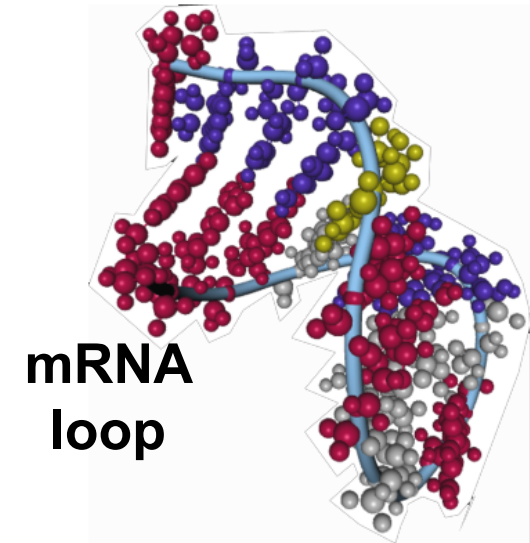
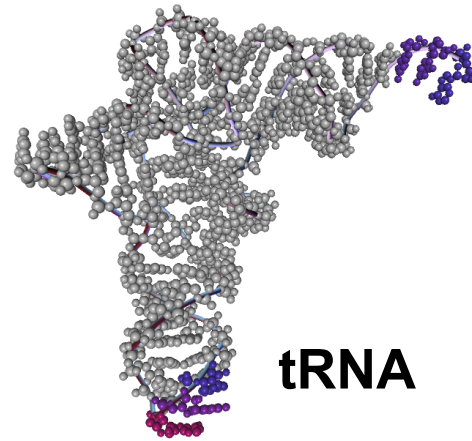
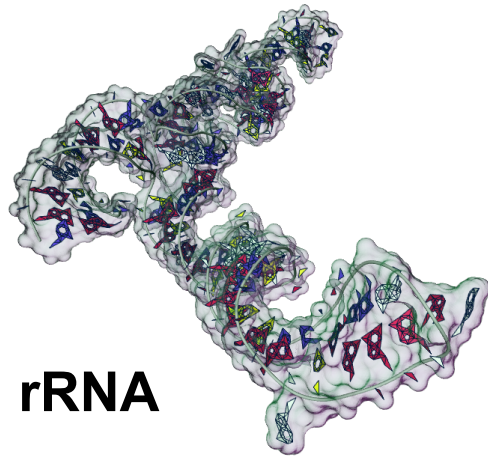
Η βιοσύνθεση του RNA



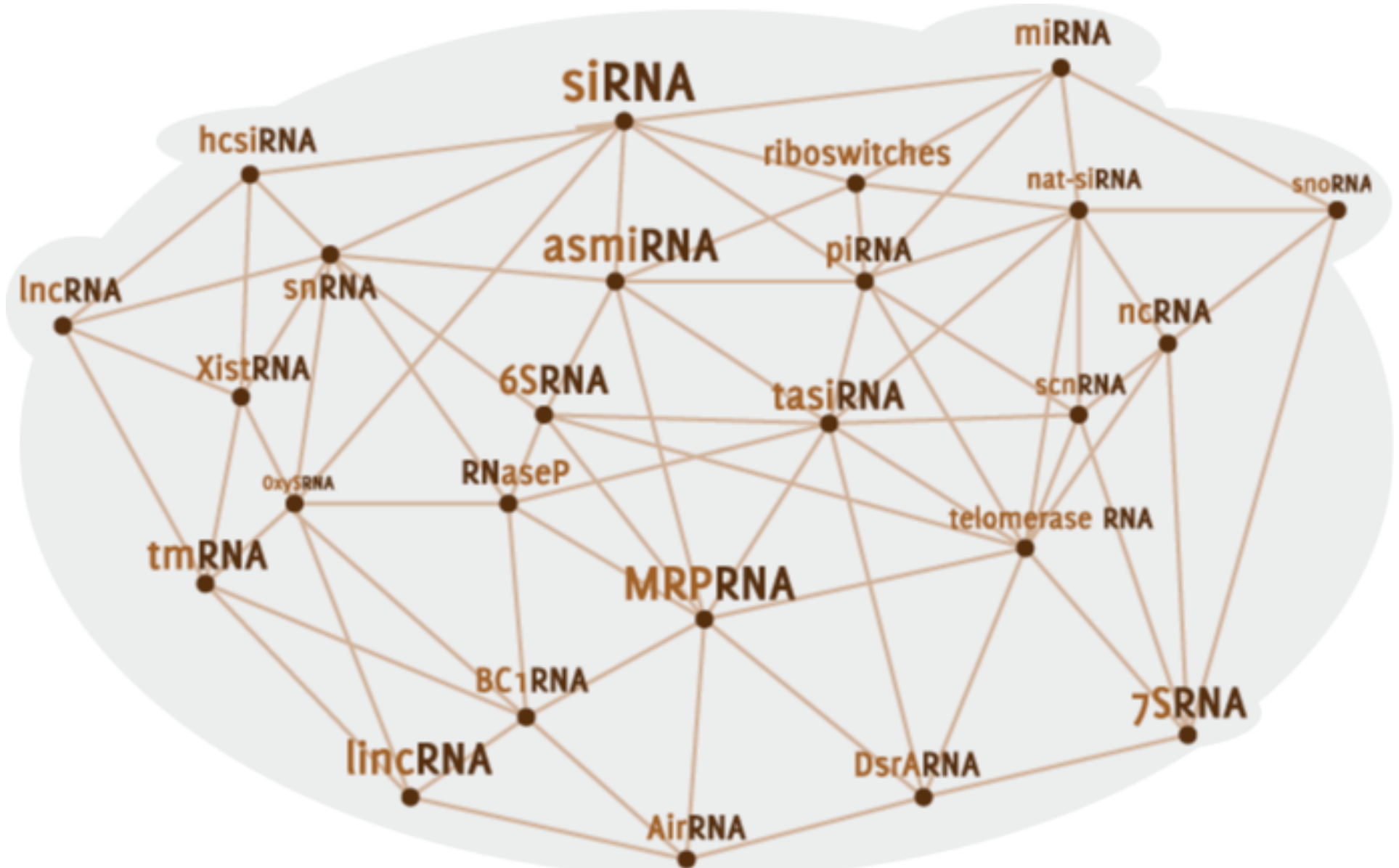
Το κεντρικό δόγμα



RNA



Ρυθμιστικά RNAs



Γονίδιο

Η φυσική και λειτουργική μονάδα της γενετικής πληροφορίας που μπορεί να εκφραστεί

ή

Μια περιοχή του DNA που λειτουργεί ως μήτρα ή εκμαγείο για παραγωγή ενός ή περισσότερων προϊόντων (που μπορεί να είναι RNA είτε πεπτίδια)

Στους περισσότερους οργανισμούς το μεγαλύτερο ποσοστό του DNA δεν αποτελείται από γονίδια

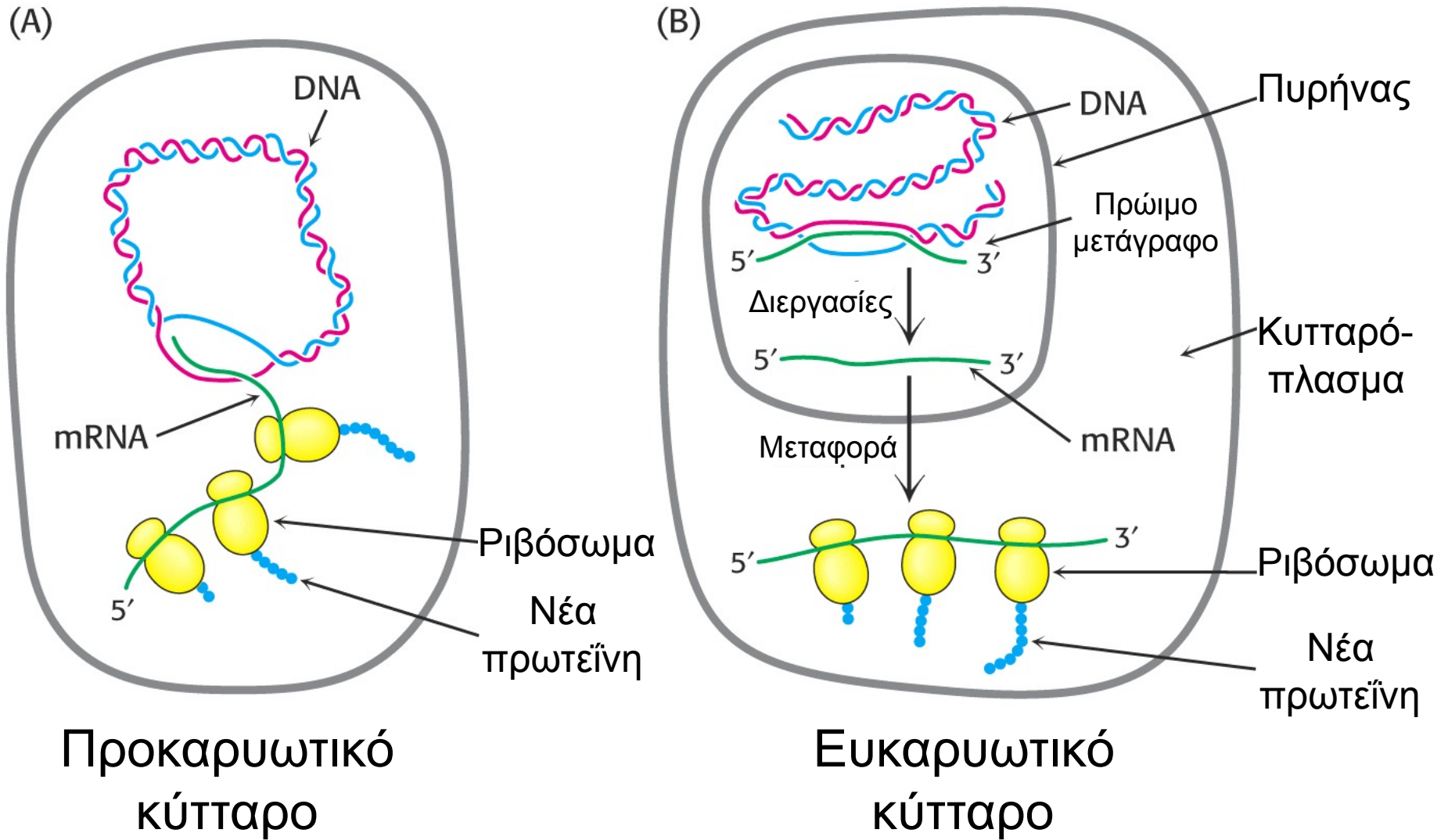
Η γονιδιακή έκφραση γίνεται σε διάφορα στάδια ή επίπεδα

- Προετοιμασία του γονιδίου
- Μεταγραφή του γονιδίου
- Επεξεργασία μορίων RNA
- Έξοδος μορίων RNA στο κυτταρόπλασμα
- Ανακύκλωση (turnover) μορίων mRNA
- Σύνθεση πρωτεϊνών
- Ολοκλήρωση δομής πρωτεϊνών,
μετακίνησή τους στο κατάλληλο κυτταρικό
διαμέρισμα και
ανακύκλωση των πρωτεϊνών

Μονάδα μεταγραφής (transcription unit)

- **Μονάδα μεταγραφής:**
Η περιοχή του DNA που μεταγράφεται σε RNA
- **Προκαρυωτικοί οργανισμοί:**
Περιλαμβάνει περισσότερα από ένα γονίδια (οπερόνιο)
- **Ευκαρυωτικοί οργανισμοί:**
Μια μονάδα μεταγραφής περιλαμβάνει ένα μόνο γονίδιο (εκτός ορισμένων rRNA και tRNA)

Διαφορές προκαρυωτικών - ευκαρυωτικών οργανισμών



Το αγγελιαφόρο RNA (mRNA) είναι το κεντρικό μόριο της μεταγραφής

- Το DNA βρίσκεται στον πυρήνα
- Η μετάφραση (πρωτεϊνοσύνθεση) γίνεται στο κυτταρόπλασμα από τα ριβοσώματα
- Αυτό σημαίνει πως υπάρχει ενός μορίου όπου μεταφέρει την πληροφορία από το DNA στην μεταφραστική μηχανή
- Το μόριο αυτό είναι το αγγελιοφόρο RNA (messenger RNA ή mRNA)
- Γενικά ως μεταγραφή εννοείται η σύνθεση τόσο mRNA, όσο και ριβοσωμικού RNA (rRNA) και μεταφορικού RNA (tRNA)

Cis-δραστικά στοιχεία, *Trans*-δραστικοί παράγοντες

- *Cis*-δραστικά στοιχεία (*cis*-acting elements)
Αλληλουχίες νουκλεοτιδίων (είτε στο DNA είτε στο RNA)
- *Trans*-δραστικοί παράγοντες (*trans*-acting factors)
Μόρια (πρωτεΐνες αλλά και μόρια RNA) που αλληλεπιδρούν με το DNA και ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων.

Οι *trans*-δραστικοί παράγοντες που ρυθμίζουν τη μεταγραφή ονομάζονται **μεταγραφικοί παράγοντες (transcription factors)**.

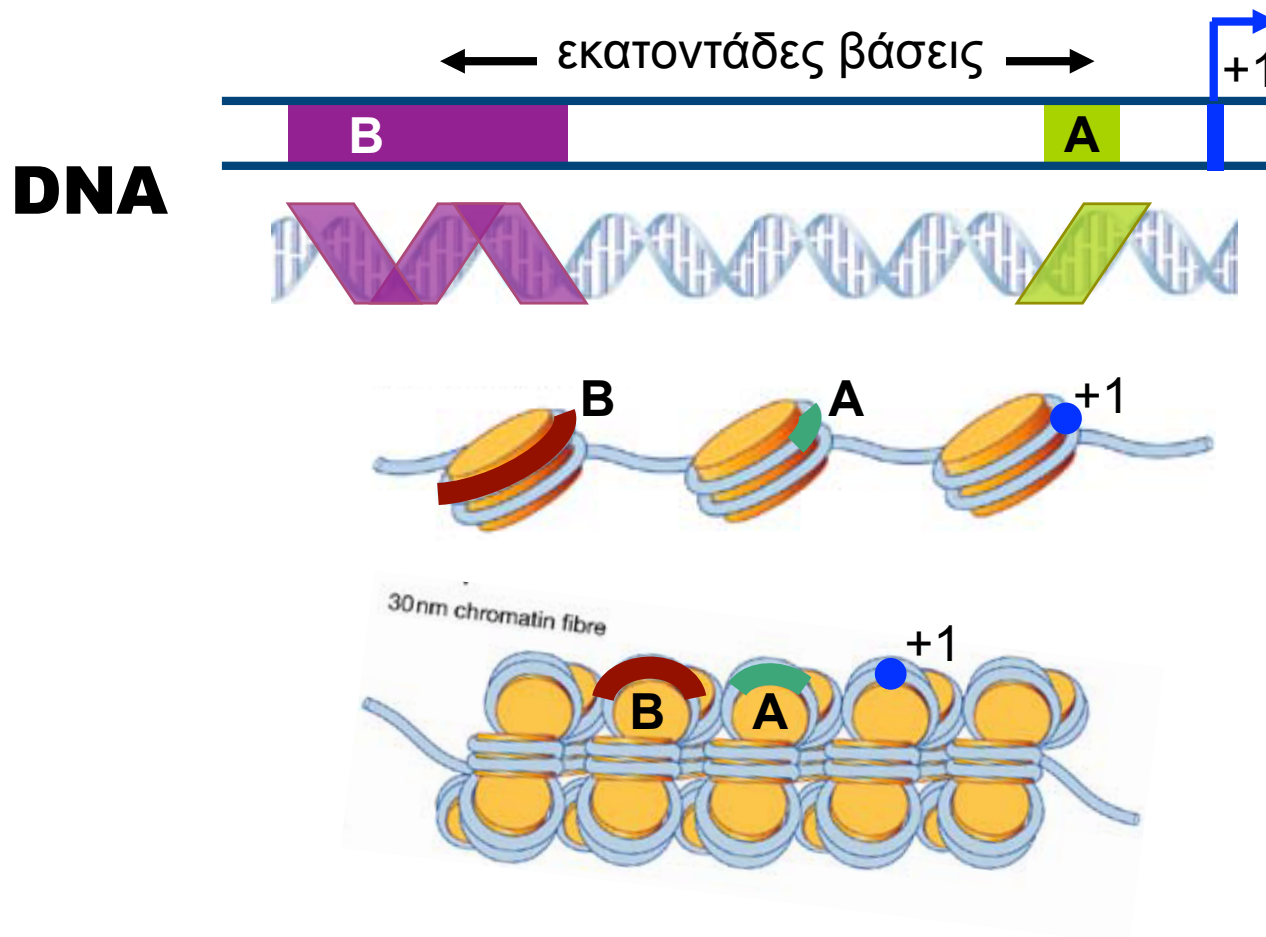
Η μεταγραφή γίνεται σε τρία στάδια

- Έναρξη της μεταγραφής
- Επιμήκυνση της αλυσίδας RNA
- Τερματισμός μεταγραφής

Η έναρξη της μεταγραφής

Η χρωματίνη κατά τη μεταγραφή

- Το σφικτό πακετάρισμα της χρωματίνης εμποδίζει την προσέγγιση *trans*-δραστικών παραγόντων
- Η δομή της χρωματίνης φέρνει κοντά *cis*-στοιχεία



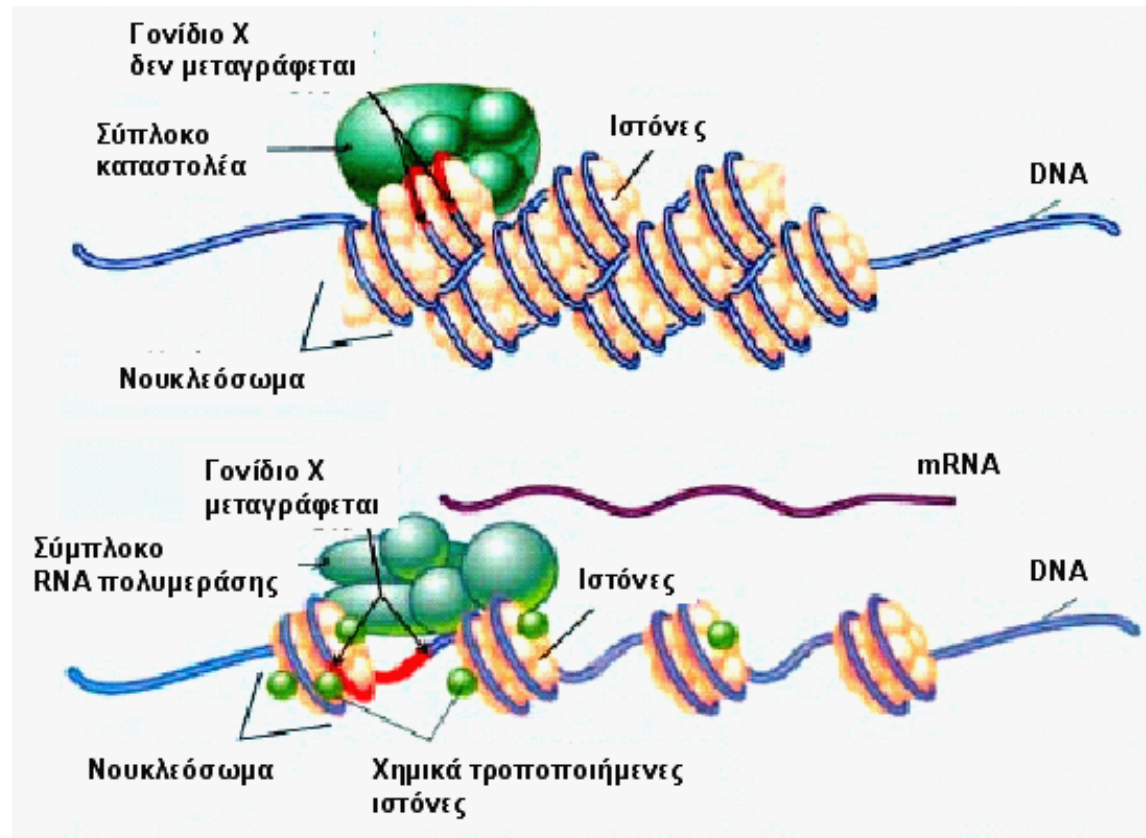
Η χρωματίνη κατά τη μεταγραφή

Χημικές τροποποιήσεις των ιστονών:

- Ακετυλίωση
- Φωσφορυλίωση
- Μεθυλίωση

Αποτέλεσμα:

Χαλαρώνει η δομή της χρωματίνης και έτσι μπορούν να προσεγγίσουν οι μεταγραφικοί παράγοντες.



Η μεταγραφή ξεκινά σε προαγωγείς στο DNA



Πλαίσιο Prinbow

Έναρξη
μεταγραφής



-10

-5

-1 +1

(A) 5'...C G T A T G T T G T G T G G A ...3'

(B) 5'...G C T A T G G T T A T T T C A ...3'

(C) 5'...G T T A A C T A G T A C G C A ...3'

(D) 5'...G T G A T A C T G A G C A C A ...3'

(E) 5'...G T T T T C A T G C C T C C A ...3'

T A T A A T

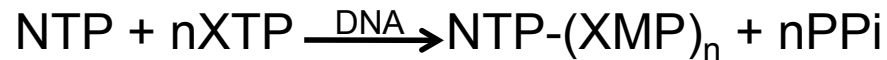
Κλώνος εκμαγείο και κωδικεύων κλώνος

...	GCATACAACACACC		AACGUAGGGUCACAUC...	Μεταγραφικό προϊόν RNA
...	CGTATGTTGTGTGG		TTGCATCCCAGTGTAG...	Κλώνος-εκμαγείο ή αντισηματικός (-) κλώνος
			AACGTAGGGTCACATC...	Κωδικεύων κλώνος ή νοηματικός (+) κλώνος

-1|+1+2

Η πολυμεράση του RNA (RNA πολυμεράση, RNAP) είναι το ένζυμο-κλειδί της μεταγραφής

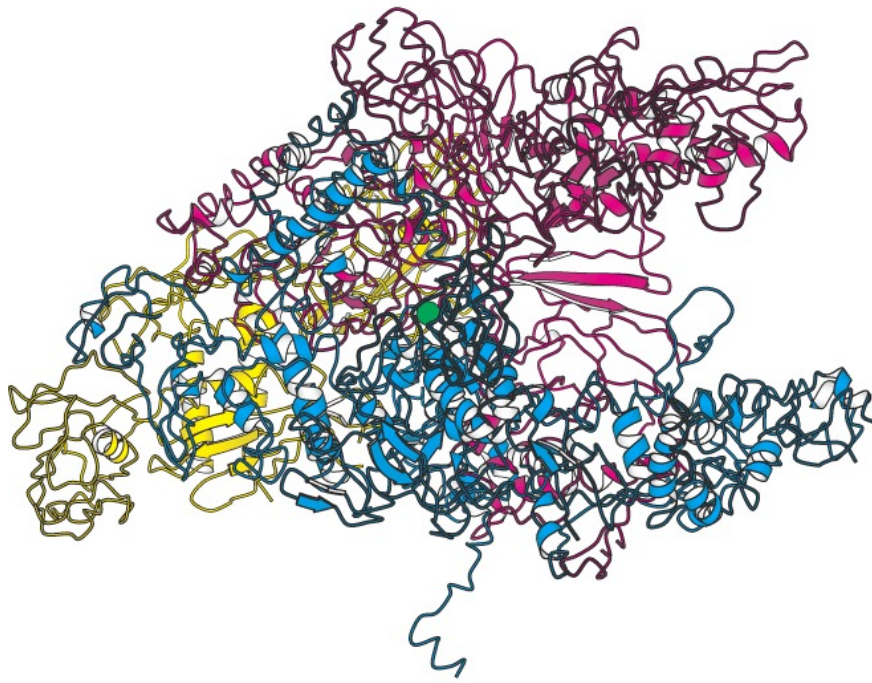
- Καταλύουν την ίδια αντίδραση



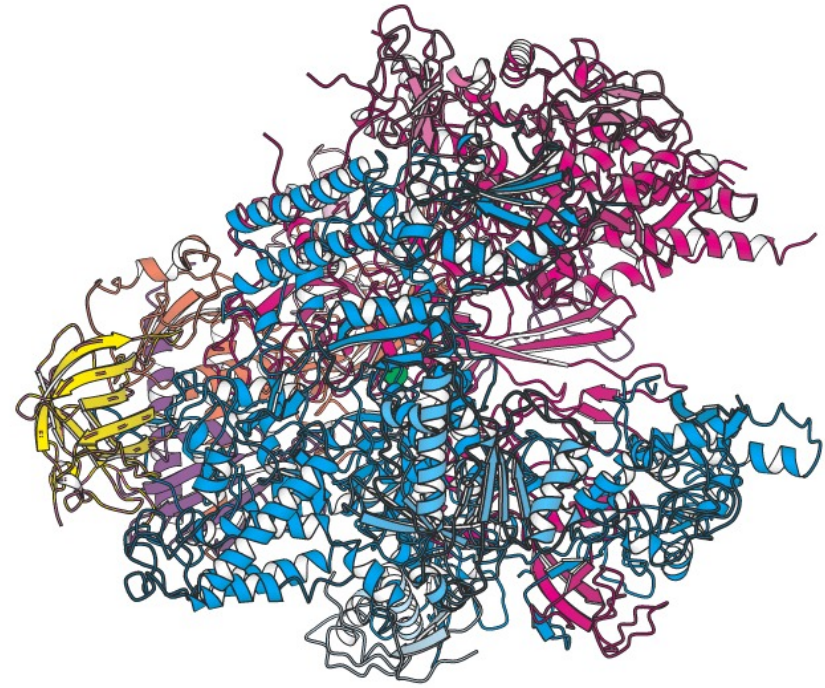
- NTP ο πρώτος τριφωσφορικός νουκλεοζίτης ενσωματώνεται ολόκληρος, XTP οποιοσδήποτε τριφωσφορικός νουκλεοζίτης
- Τα ATP, GTP, CTP, UTP είναι τα υποστρώματα των RNAP
- Συνθέτουν από την αρχή και επιμηκύνουν μια αλυσίδα RNA

Διαφορές RNA και DNA πολυμερασών

	RNAP	PοI (DNAP)
Σύνθεση νέου κλώνου από την αρχή	ΝΑΙ	ΟΧΙ (μόνο σε προϋπάρχοντα μόρια RNA ή DNA)
Επιδιορθωτική ικανότητα	ΝΑΙ, μικρή	ΝΑΙ



Prokaryotic RNA polymerase



Eukaryotic RNA polymerase

Η RNA πολυμεράση της *E.coli*

Υπομονάδα	Γονίδιο	Αριθμός	Μάζα (kDa)
α	<i>rpoA</i>	2	37
β	<i>rpoB</i>	1	151
β'	<i>rpoC</i>	1	155
σ (σ ⁷⁰)	<i>rpoD</i>	1	70

Τετραμερής πρωτεΐνη α₂ββ'

Ο παράγοντας σ αναγνωρίζει τον προαγωγό

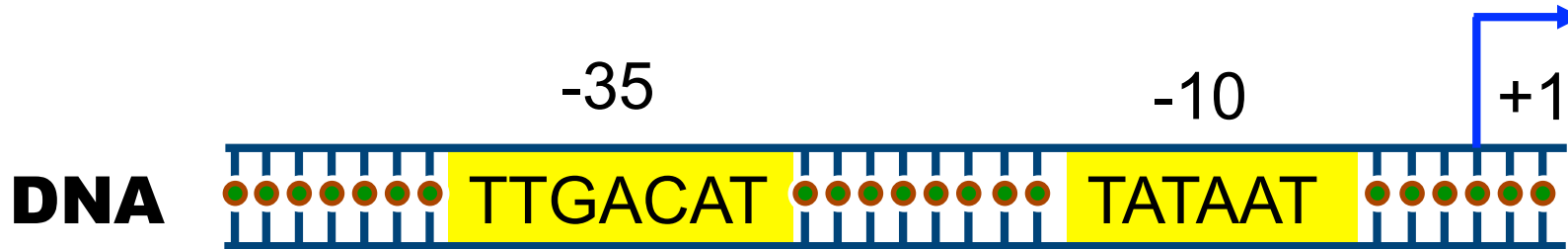
Ολοένζυμο: το σύμπλοκο α₂ββ'σ

Ο παράγοντας σ

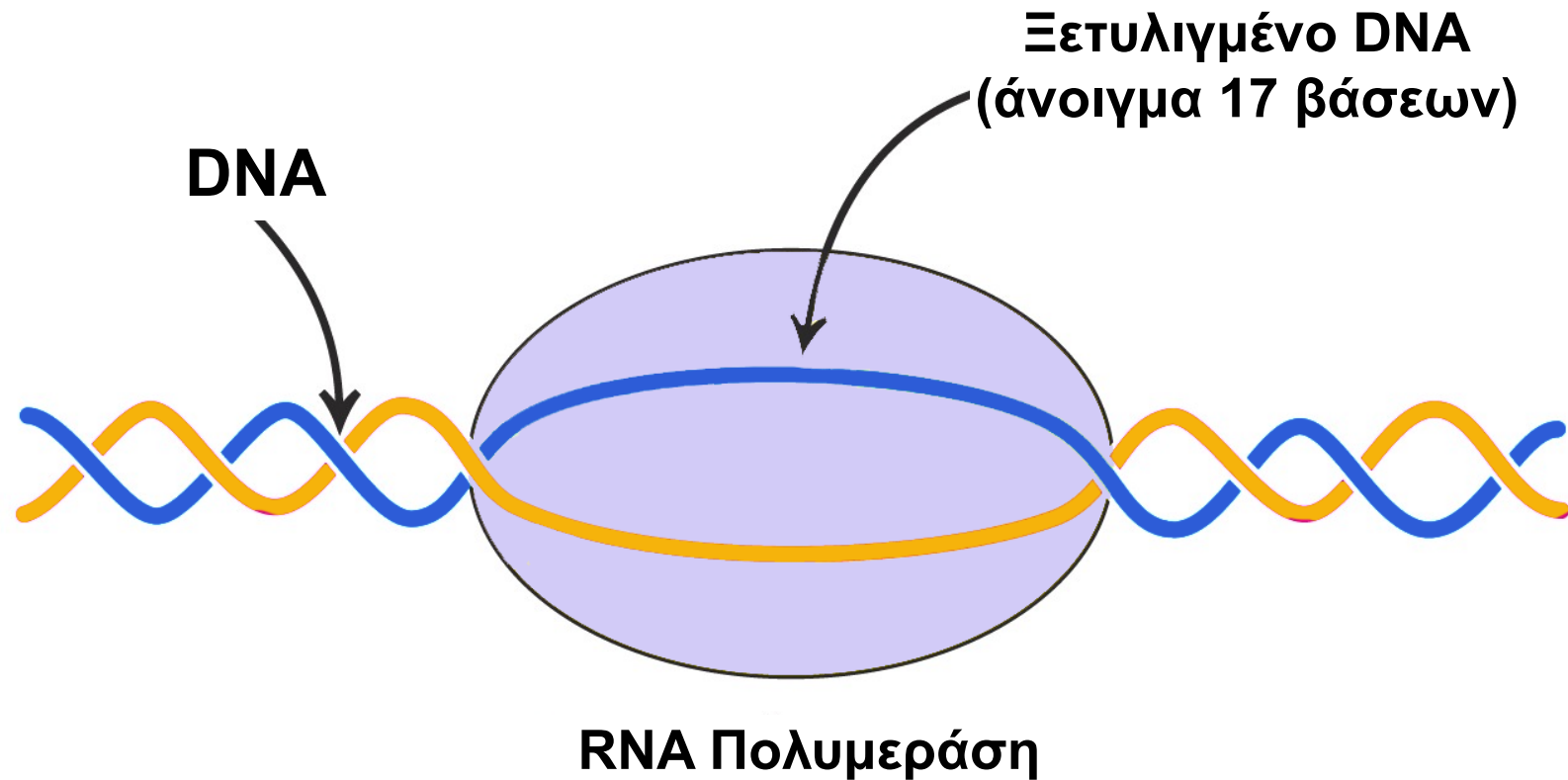


Ο παράγοντας σ αναγνωρίζει δύο περιοχές

5' ⁻³⁵ TTGACA ⁻¹⁰ TATAAT ⁺¹ Θέση έναρξης
Pribnow

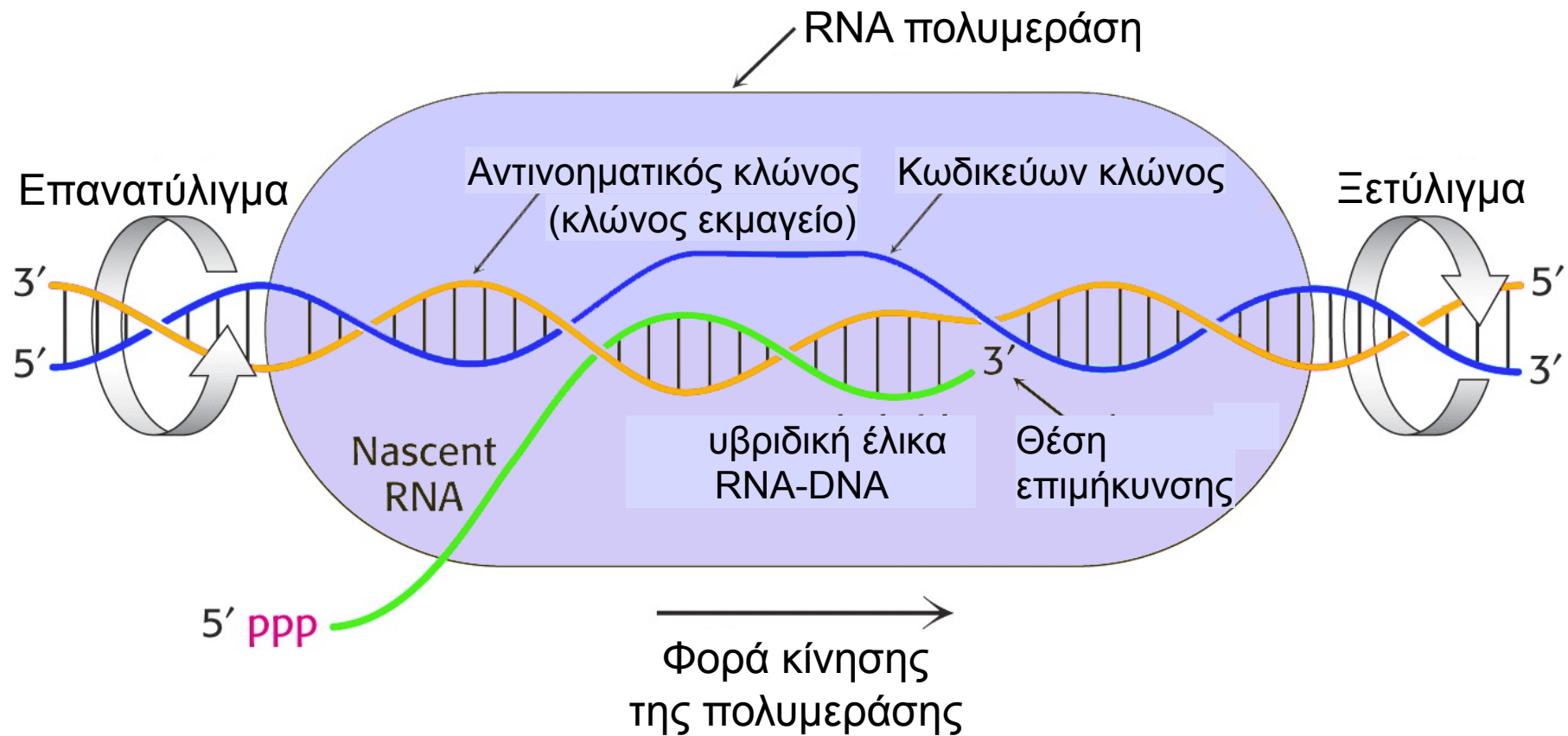


Φυσαλίδα μεταγραφής: ξετύλιγμα του DNA



Η RNA πολυμεράση ξεδιπλώνει το DNA κατά περίπου 2 στροφές πριν αρχίσει η σύνθεση του RNA

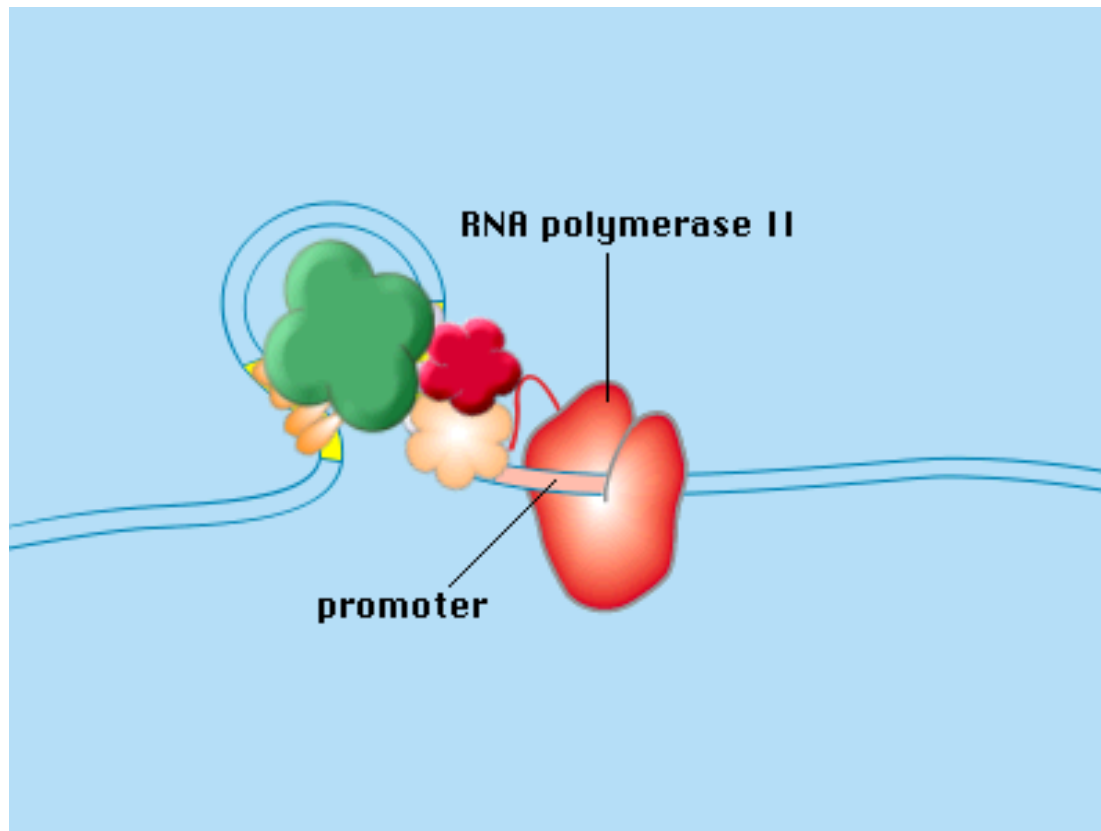
Φυσαλίδα μεταγραφής (Transcription bubble): Η RNA πολυμεράση συνθέτει RNA με φορά 5'→3'



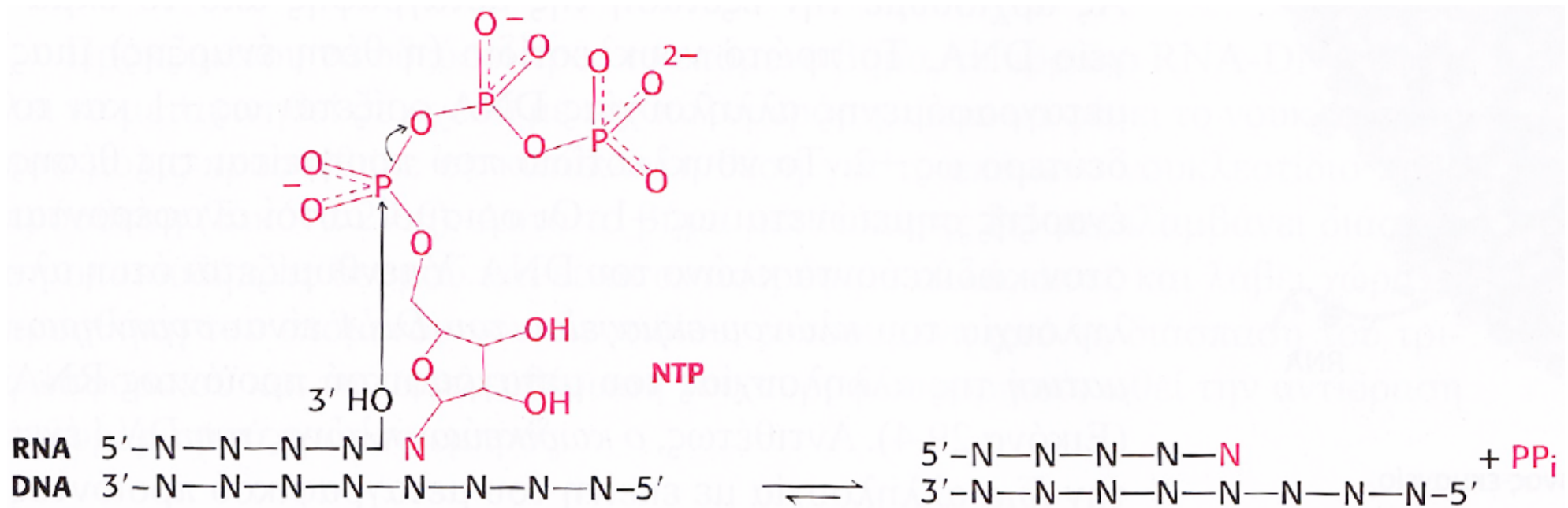
Οι αλυσίδες του RNA αρχίζουν με pppG ή pppA

Διεργασίες κατά την επιμήκυνση του RNA

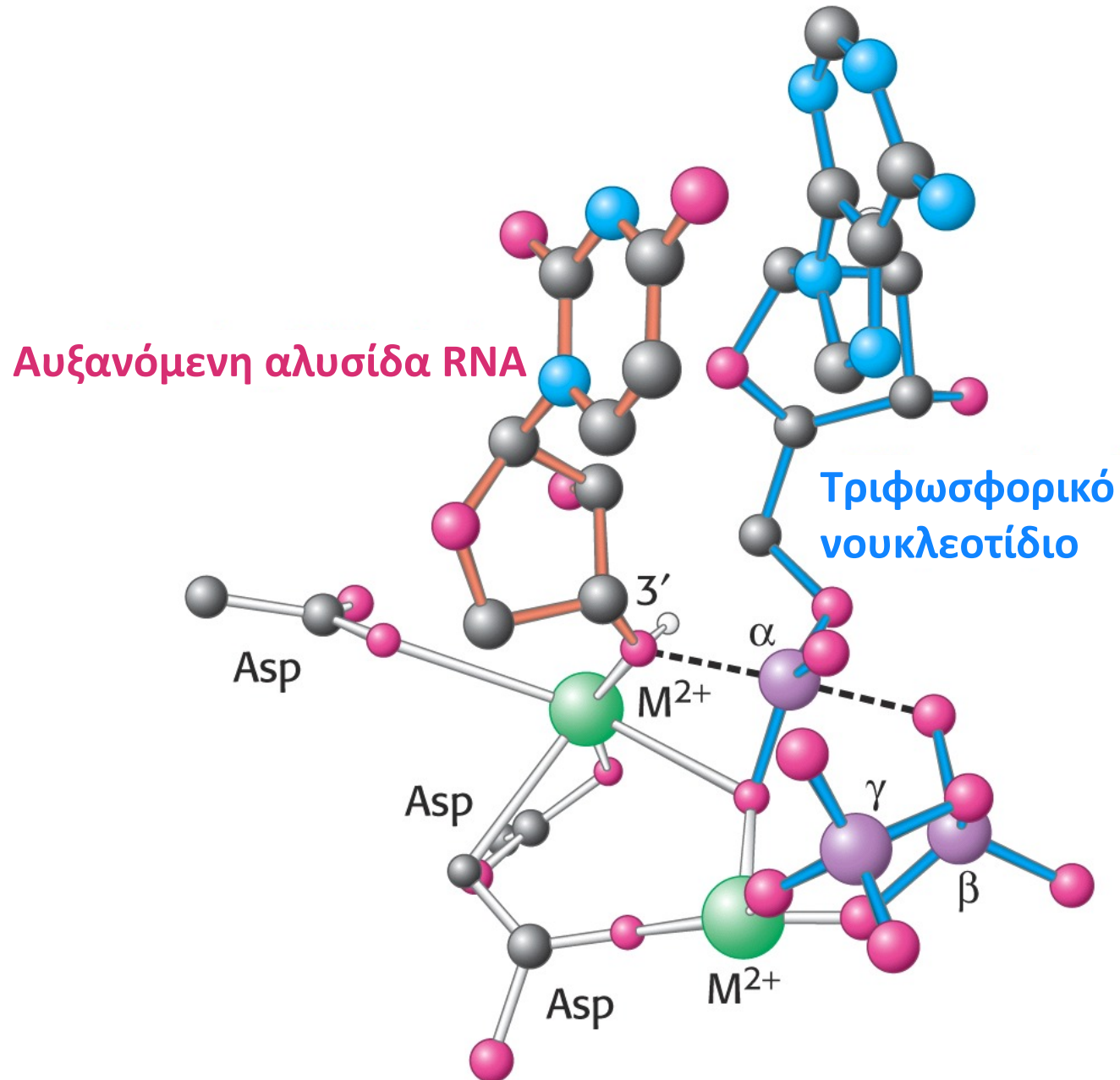
- Επιλογή από την RNAP του κατάλληλου (συμπληρωματικού) τριφωσφορικού ριβονουκλεοτιδίου βάσει της αλληλουχίας του αντινοσηματικού κλώνου.
- Ενσωμάτωση του επιλεγμένου ριβονουκλεοτιδίου στην υπό σύνθεση αλυσίδα
- Μετακίνηση της RNAP στο επόμενο ζεύγος βάσεων του εκμαγείου
- αποκατάσταση των δεσμών Η των βάσεων DNA που πλέον βρίσκονται έξω (πίσω) από τη φουσαλίδα μεταγραφής λόγω μετακίνησης της RNAP



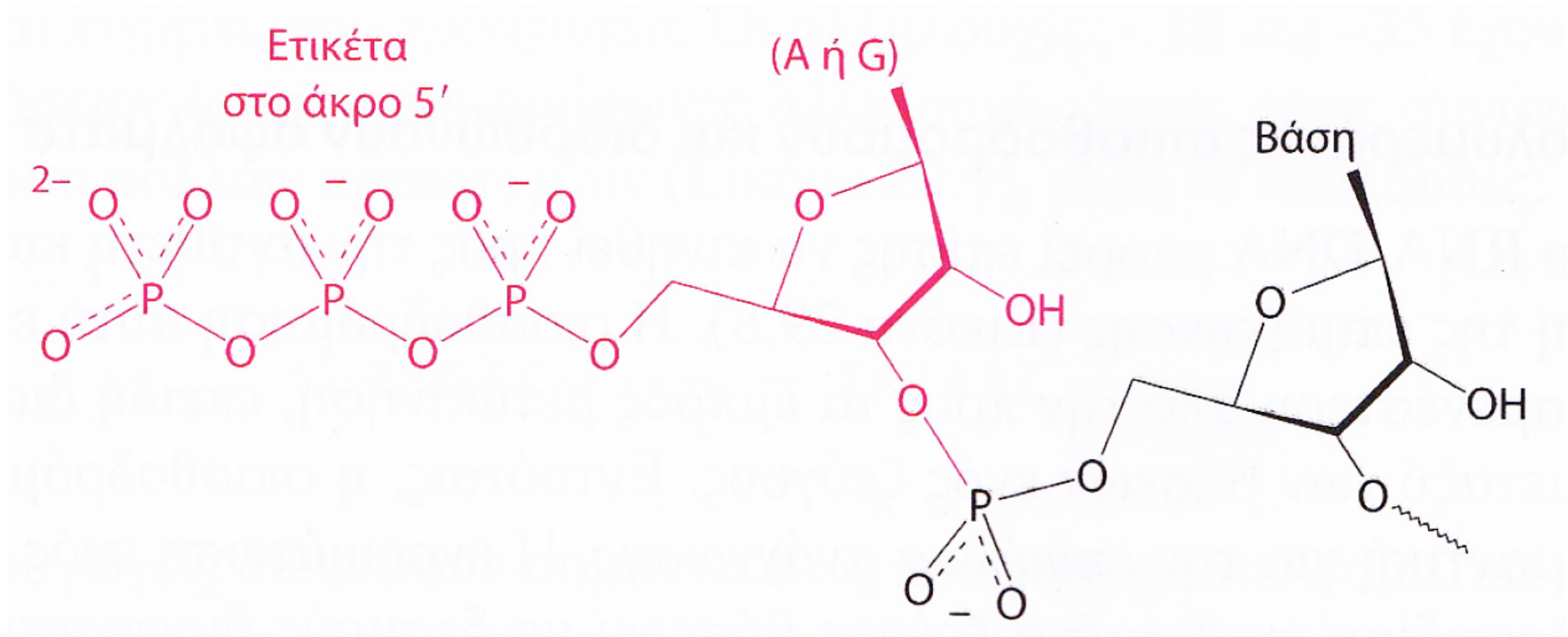
Η αντίδραση σύνθεσης του RNA



Το ενεργό κέντρο της πολυμεράσης του RNA



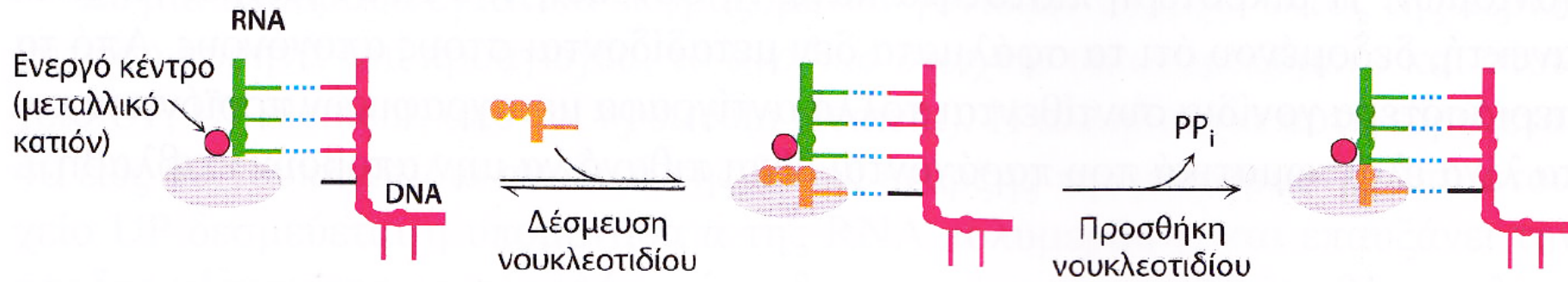
Η πρώτη βάση στο 5' άκρο



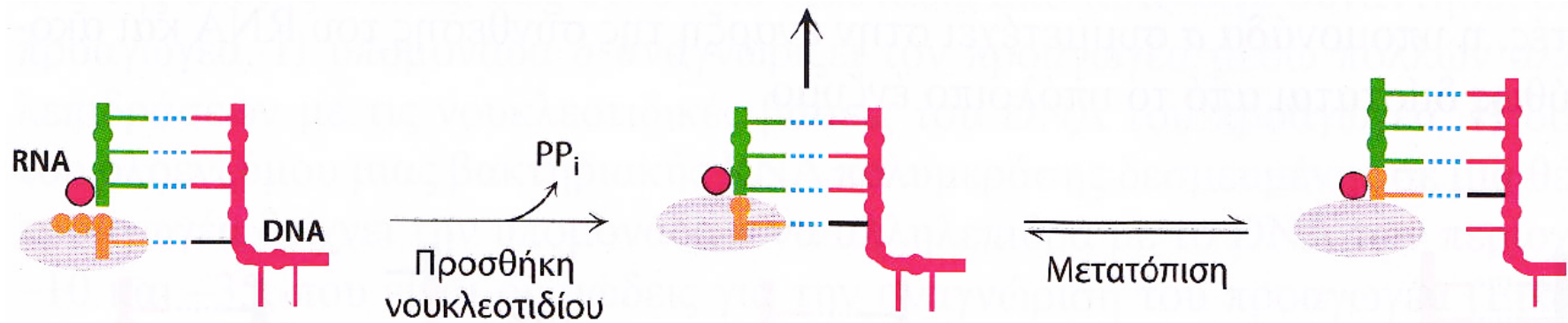
Επιμήκυνση μεταγραφής



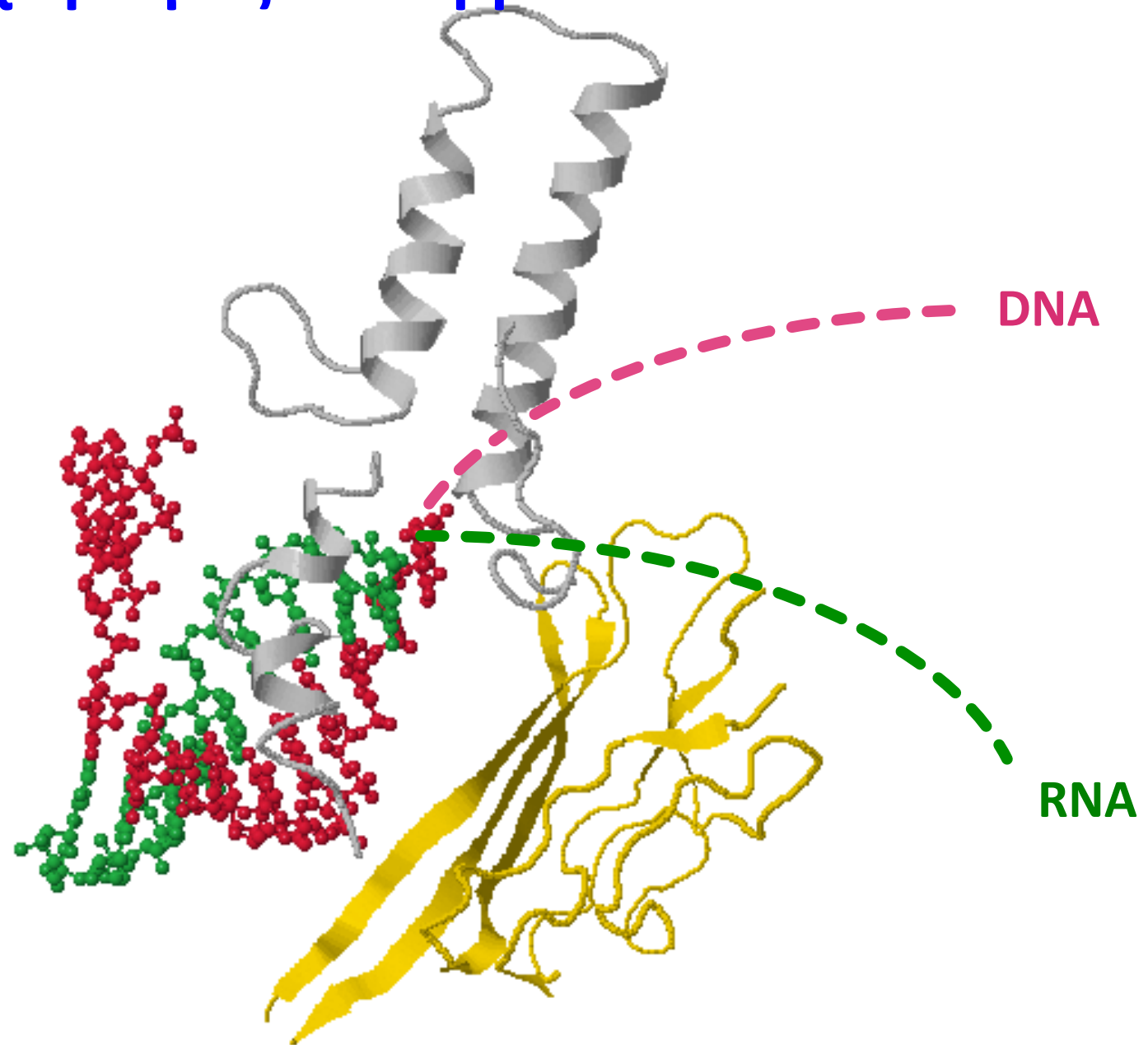
Ο μηχανισμός επιμήκυνσης του RNA



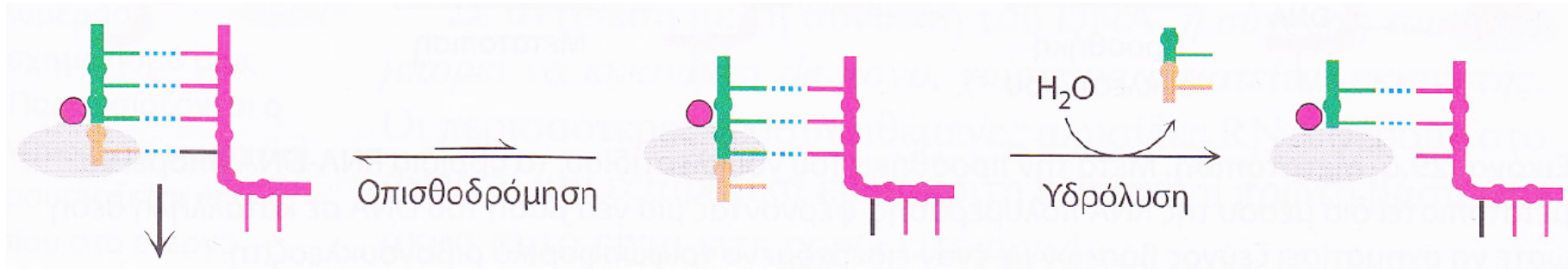
Η μετατόπιση του υβριδίου RNA - DNA



Ο διαχωρισμός του υβριδίου RNA - DNA

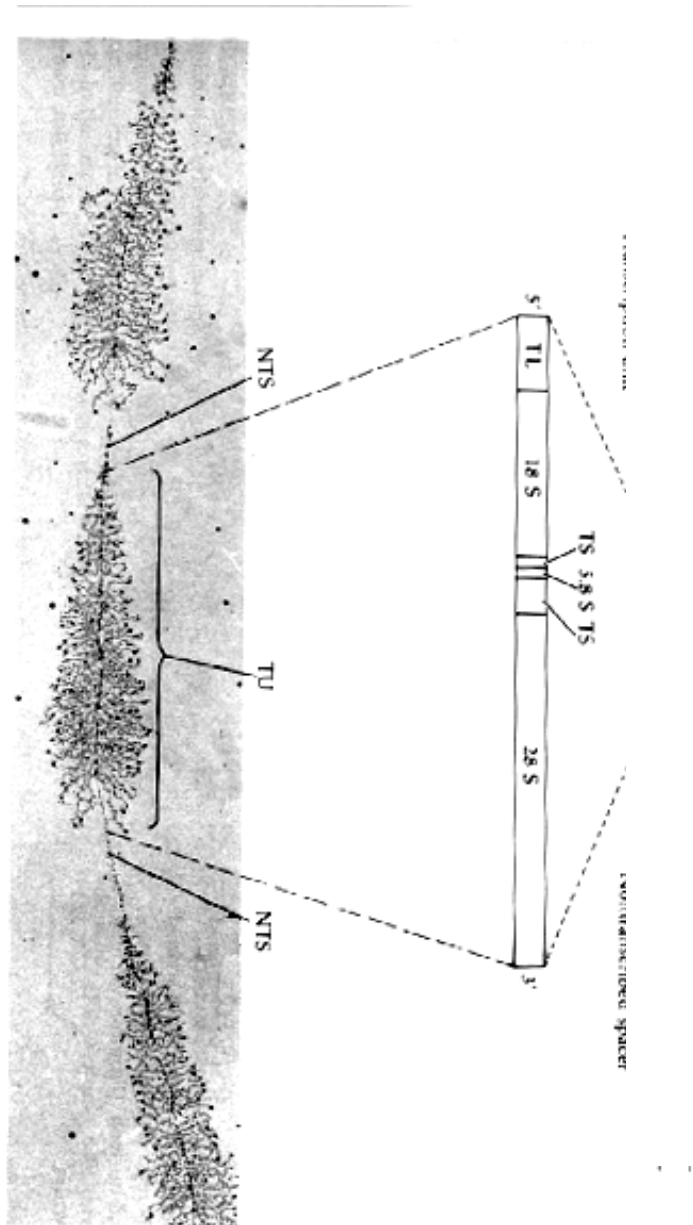


Οπισθοδρόμηση

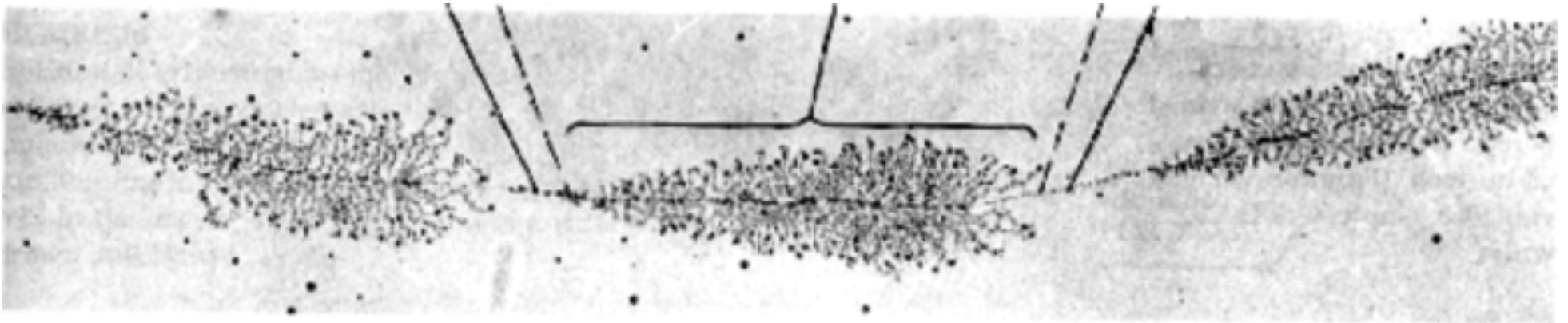


1 σφάλμα ανά $\sim 10^4 - 10^5$ νουκλεοτίδια

Η σύνθεση του RNA, *live*

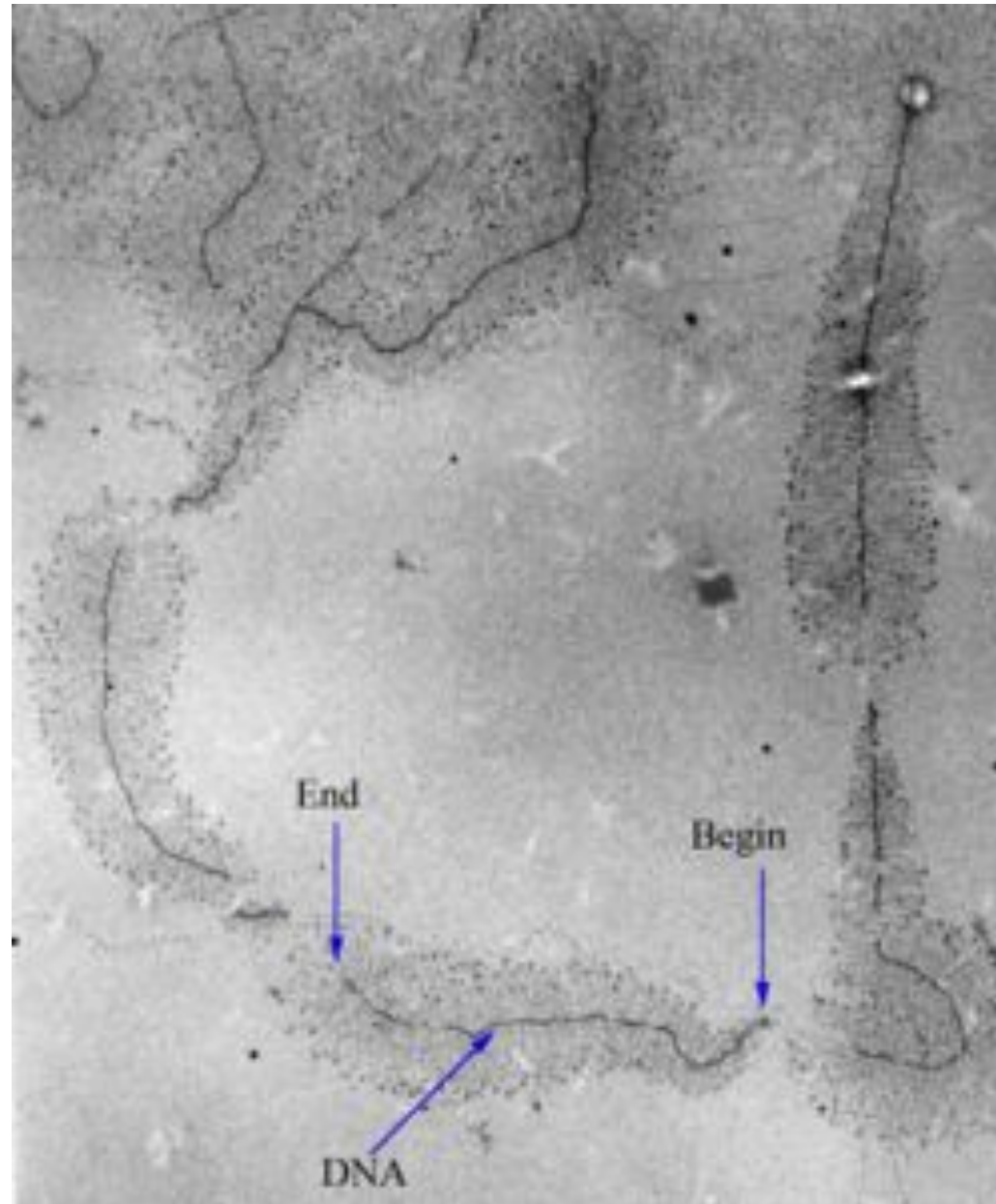


Η σύνθεση του RNA, *live*



- DNA;
- Φορά σύνθεσης;
- Αρχή, τέλος;
- Κλαδία;
- Αριθμός ενζύμων;

Η σύνθεση του RNA, *live*



Ο τερματισμός της μεταγραφής

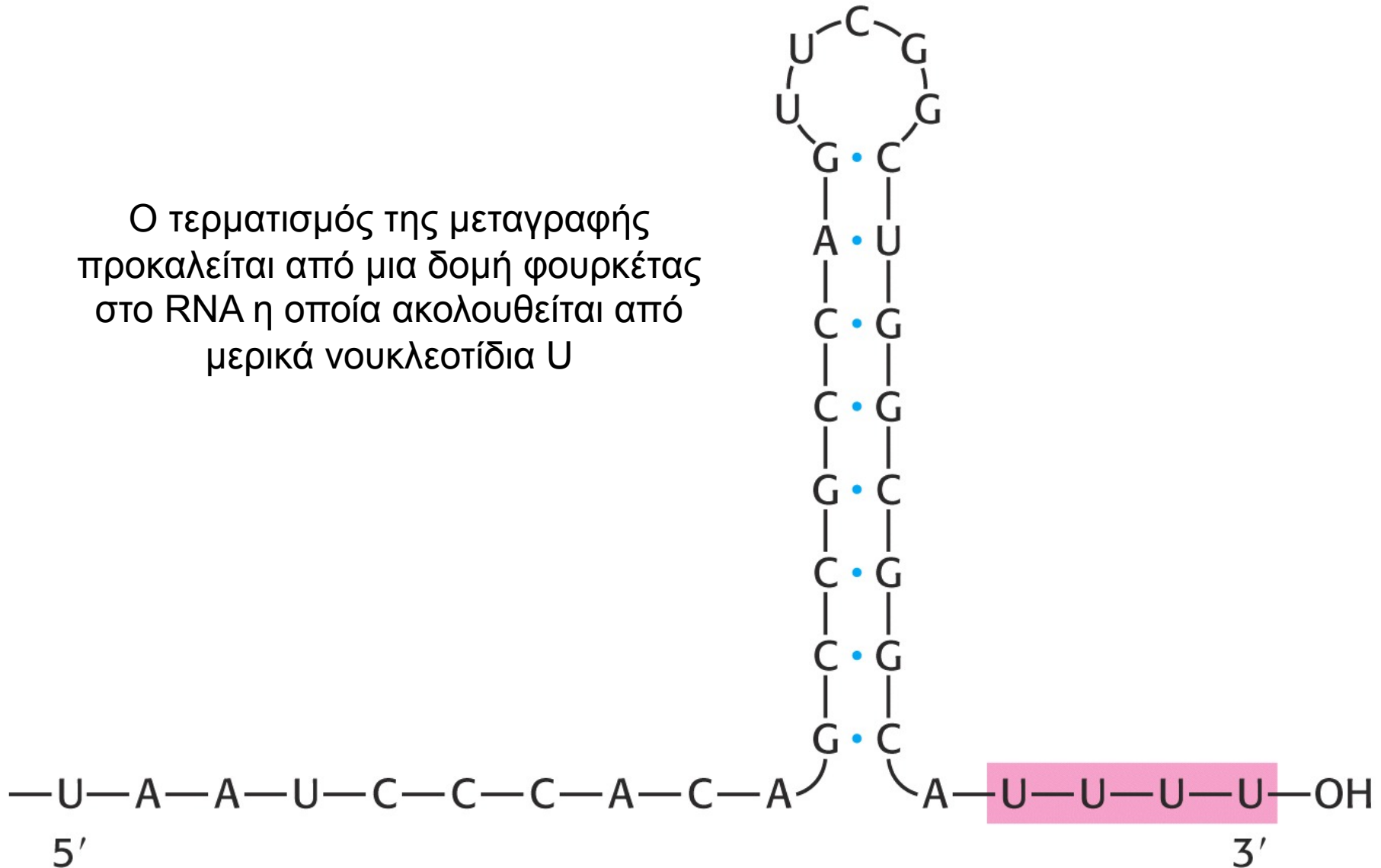
- Αναστολή λόγω δευτεροταγών διαμορφώσεων
- Παρουσία σημάτων τερματισμού στο εκμαγείο
- Αποκοπή μεταγραφήματος

Ο τερματισμός της μεταγραφής στους προκαρυωτικούς μηχανισμούς

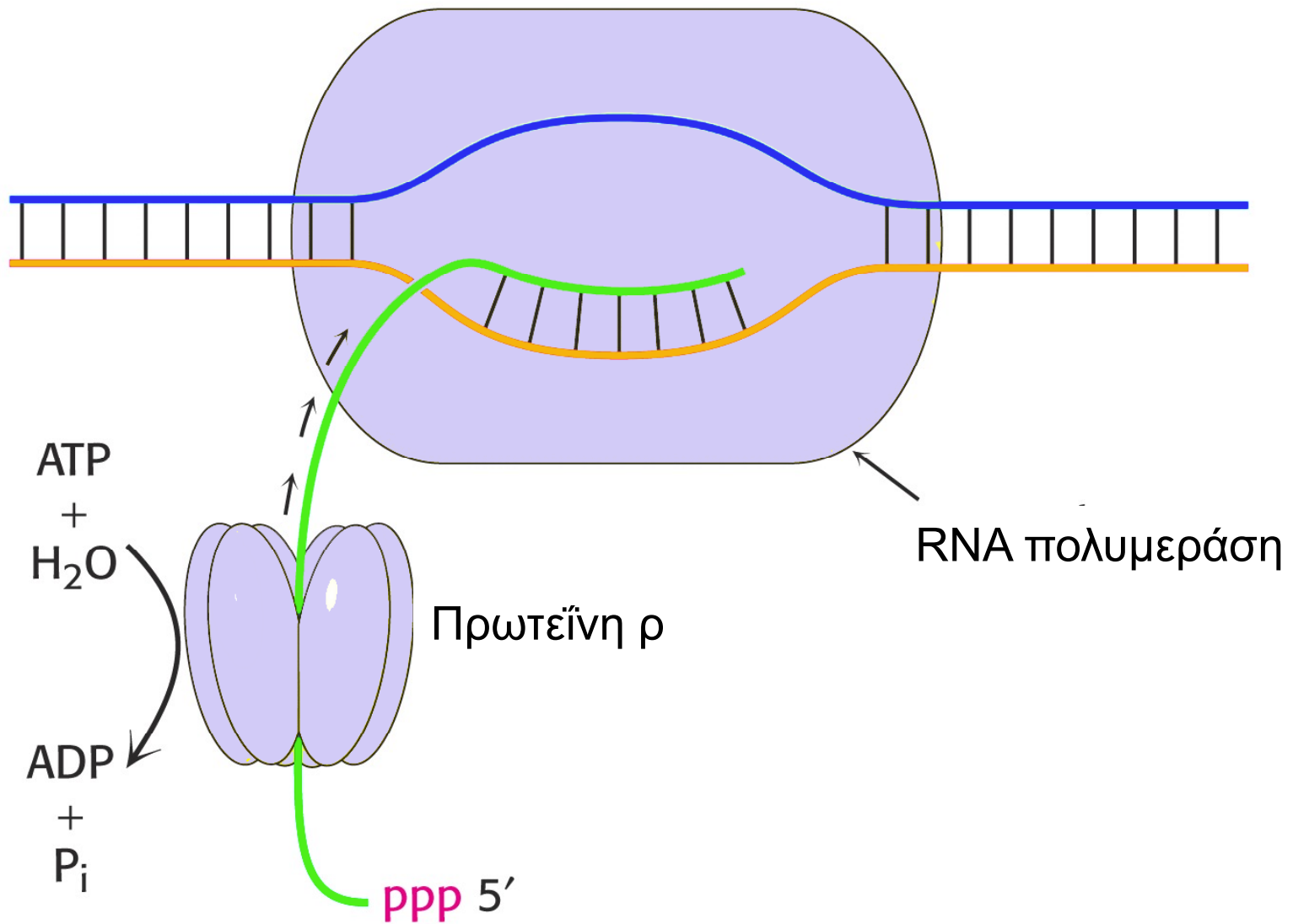
- Αναστολή λόγω δευτεροταγών διαμορφώσεων
- Παρουσία σημάτων τερματισμού στο εκμαγείο

Ο τερματισμός της μεταγραφής

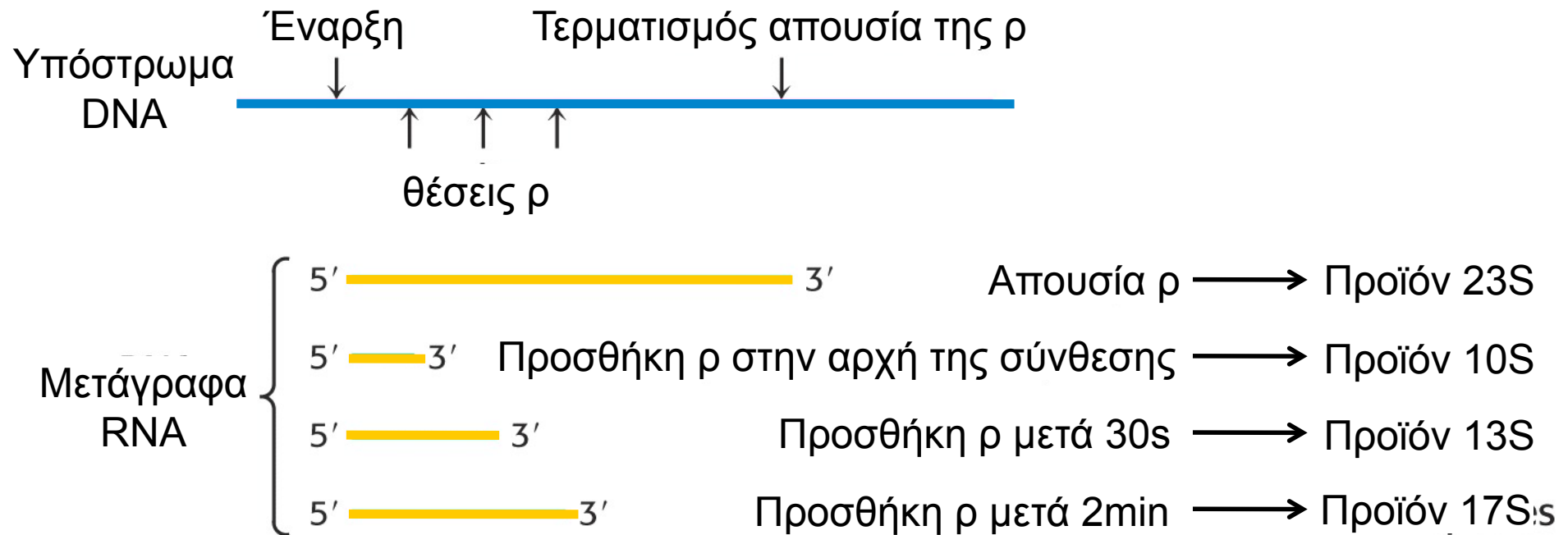
Ο τερματισμός της μεταγραφής προκαλείται από μια δομή φουρκέτας στο RNA η οποία ακολουθείται από μερικά νουκλεοτίδια U



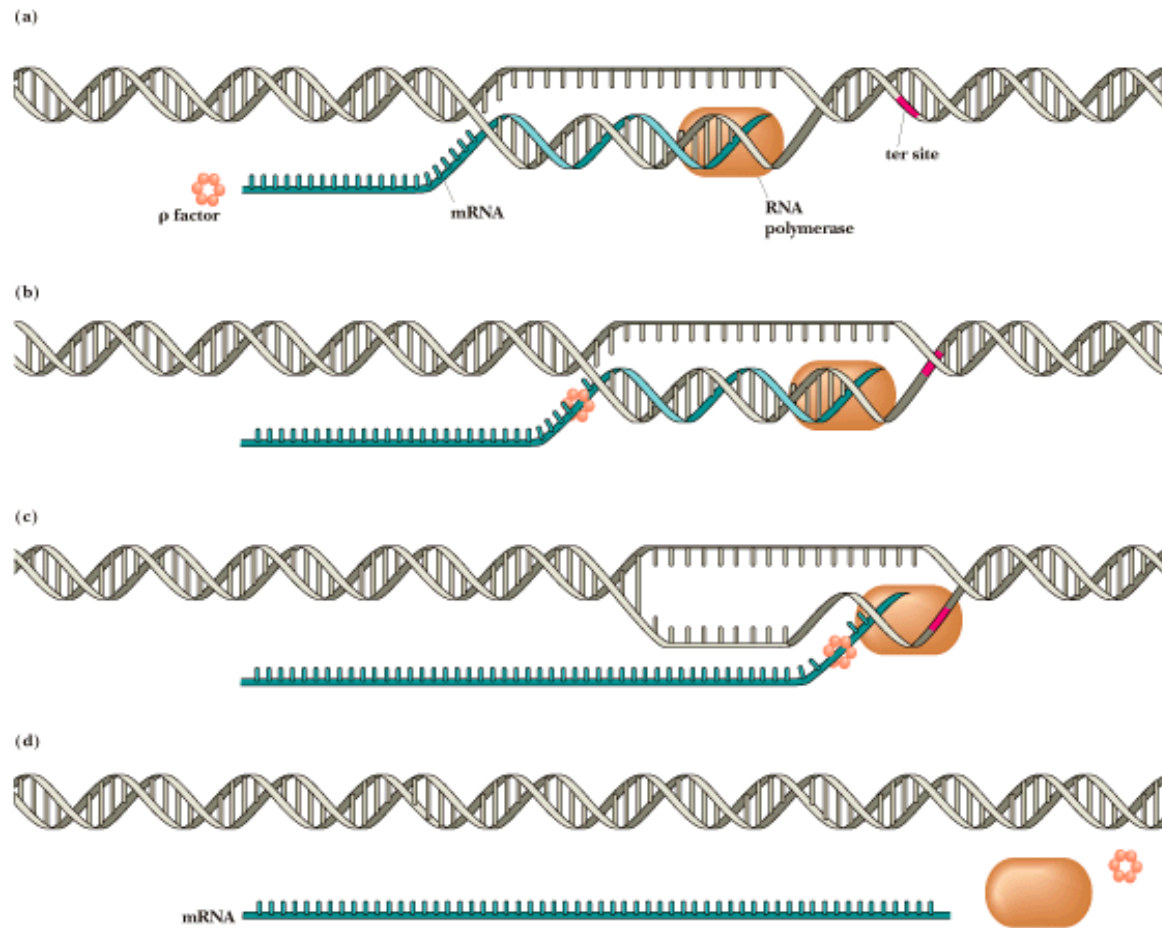
Ο τερματισμός της μεταγραφής από την πρωτεΐνη ρ



Η πρωτεΐνη ρ (RHO) βοηθά στον τερματισμό της μεταγραφής ορισμένων γονιδίων



Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 31.8



Η μεταγραφή στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς

Ευκαρυωτικές RNA πολυμεράσες

- Σύνθετα ένζυμα (αποτελούνται από πολλές υπομονάδες)
- Καταλύουν την ίδια αντίδραση
$$\text{NTP} + n\text{XTP} \xrightarrow{\text{DNA}} \text{NTP}-(\text{XMP})_n + n\text{PPi}$$
- Όλα τα προϊόντα του συντίθενται ως πρόδρομα μόρια που κατόπιν ωριμάζουν και δίνουν το τελικό προϊόν
- Δεν περιέχουν υπομονάδα ανάλογη του παράγοντα σ. Άρα χρειάζονται βοηθητικούς παράγοντες, οι οποίοι αναγνωρίζουν τον κατάλληλο προαγωγό
- Τα πρόδρομα RNA υφίστανται τροποποιήσεις τόσο κατά όσο και μετά τη μεταγραφή και έτσι **ωριμάζουν** δίνοντας το τελικό προϊόν

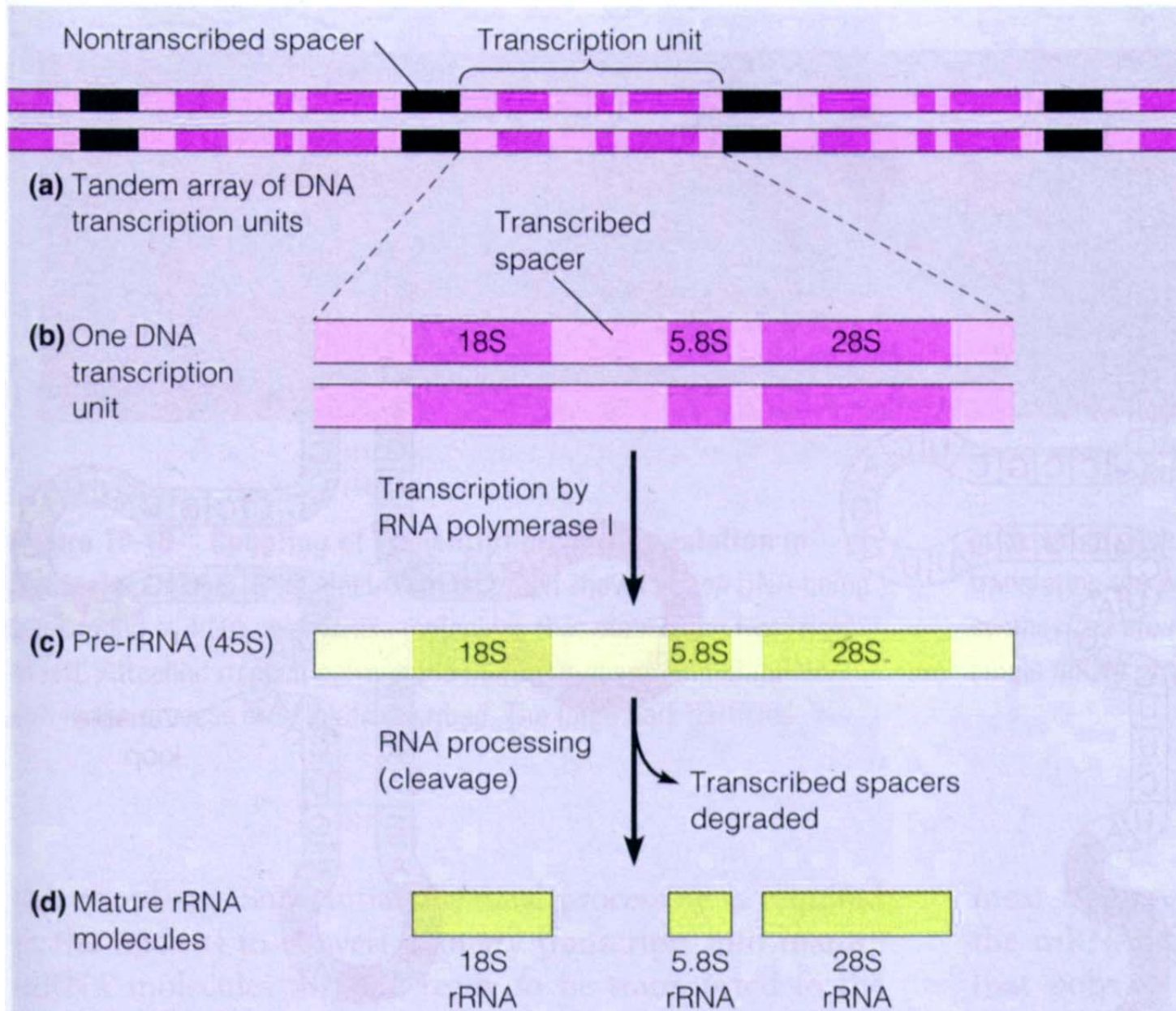
Πολυμεράσες RNA ευκαρυωτικών οργανισμών

Τύπος	Εντοπισμός	Κυτταρικά μετάγραφα
I	Πυρηνίσκος	18S, 5.8S και 28S rRNA
II	Πυρηνόπλασμα	πρόδρομα mRNA και snRNA
III	Πυρηνόπλασμα	tRNA και 5S rRNA

Πολυμεράση I του RNA (RNA πολυμεράση I)

- Ριβοσωμικό RNA (rRNA) ~ 80% συνολικού RNA
- Η μεταγραφή του γίνεται στον πυρηνίσκο
- Η RNAP I συνθέτει τα:
 - 5,8S και 28S rRNA (μεγάλη ριβοσωμική υπομονάδα)
 - 18S rRNA (μικρή ριβοσωμική υπομονάδα)

Πολυμεράση I του RNA (RNA πολυμεράση I)



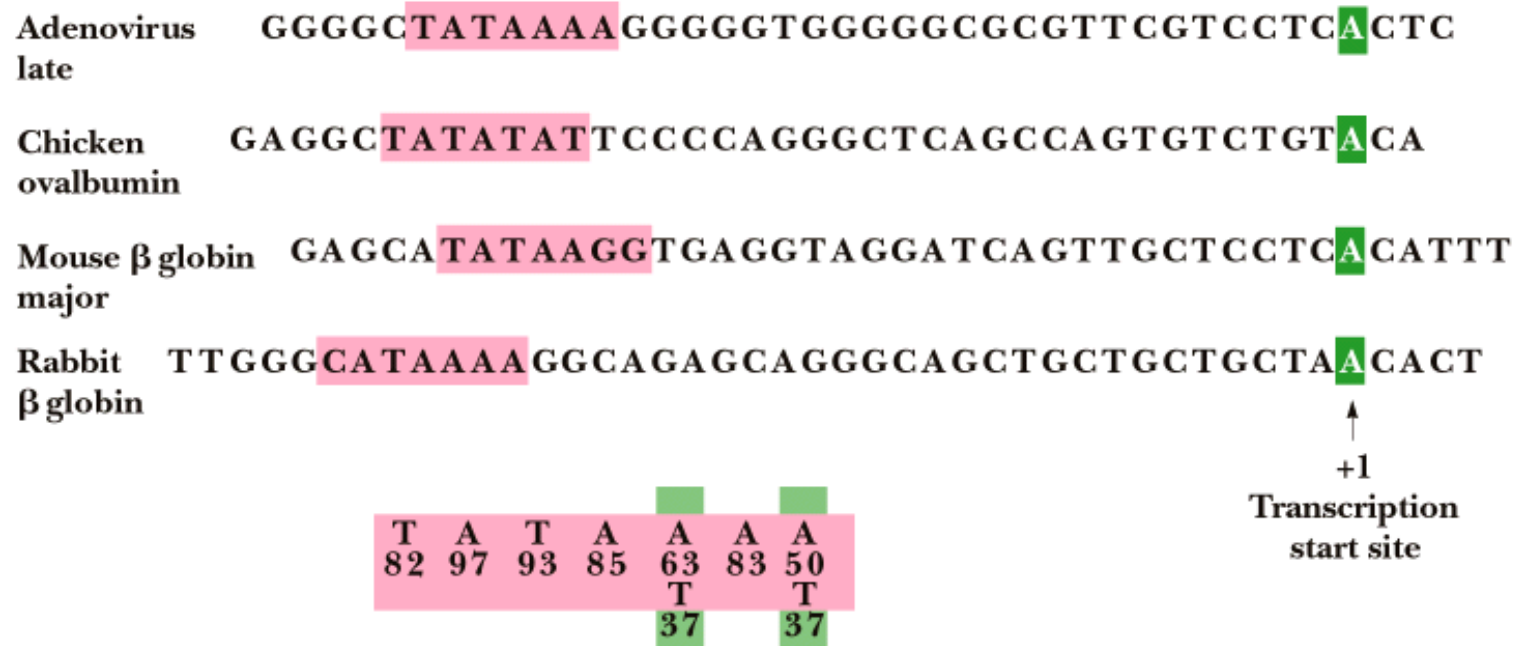
Πολυμεράση II του RNA

RNA πολυμεράση II, RNAP II

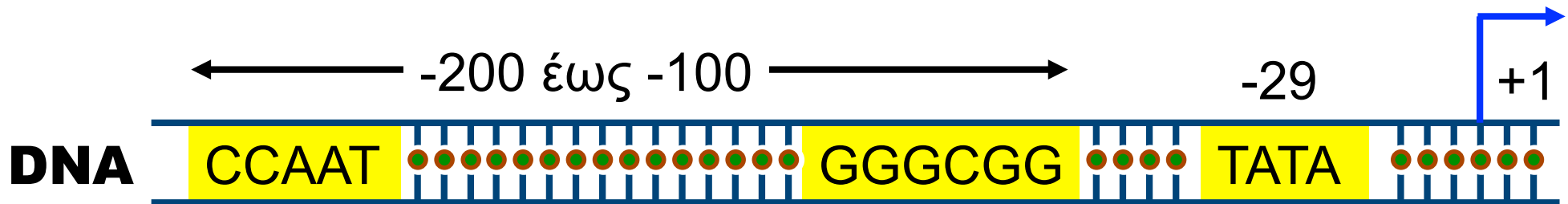
- Συνθέτει (μεταγράφει) τα πρόδρομα μόρια mRNA (pre-mRNA)
- Μεταγράφει μεγάλη ποικιλία γονιδίων, άρα
- Η δέσμευσή της στο εκμαγείο ελέγχεται:
 - από μεγάλο αριθμό *cis*-δραστικών στοιχείων (εκτός του βασικού προαγωγού)
 - από σημαντικό αριθμό *trans*-παραγόντων μεταγραφής)

Στοιχεία προαγωγού ευκαρυωτικής RNAP II

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 31.10



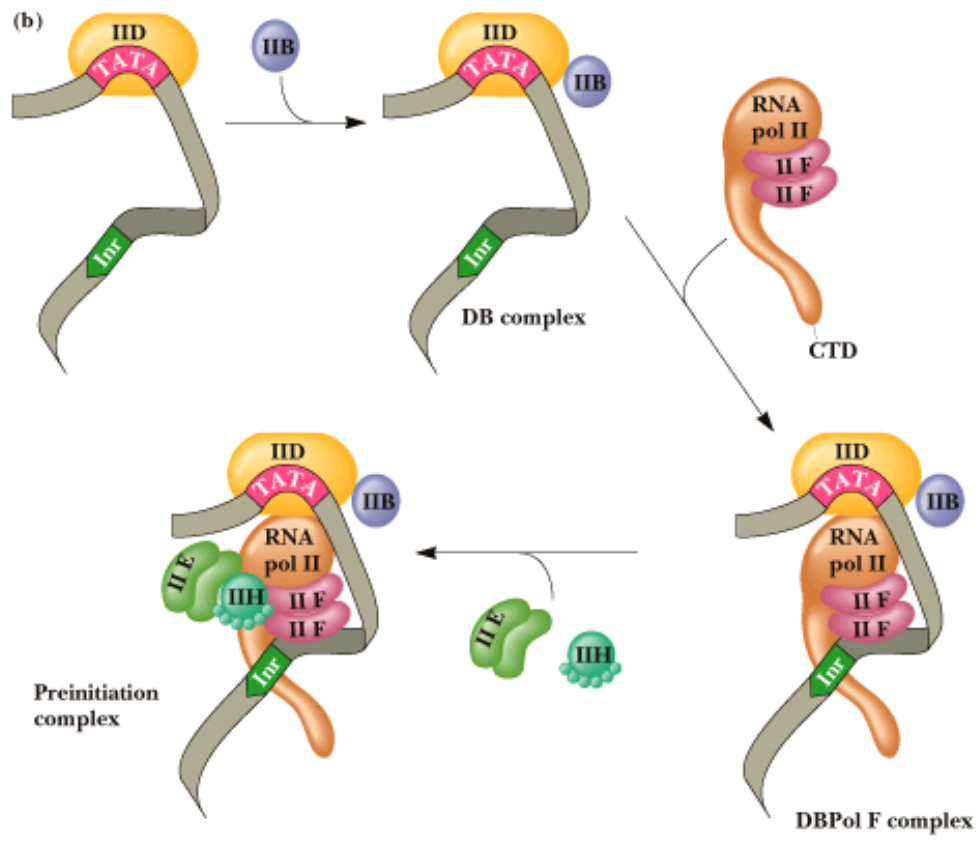
Στοιχεία προαγωγού ευκαρυωτικής RNAP II



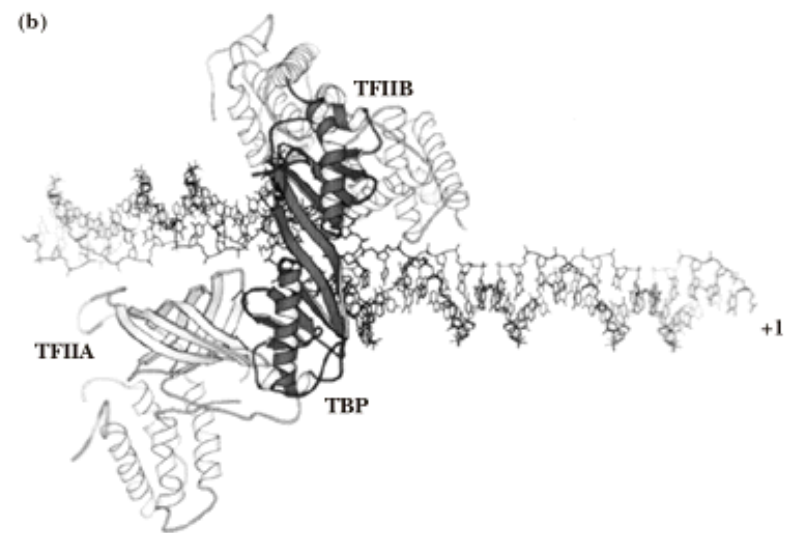
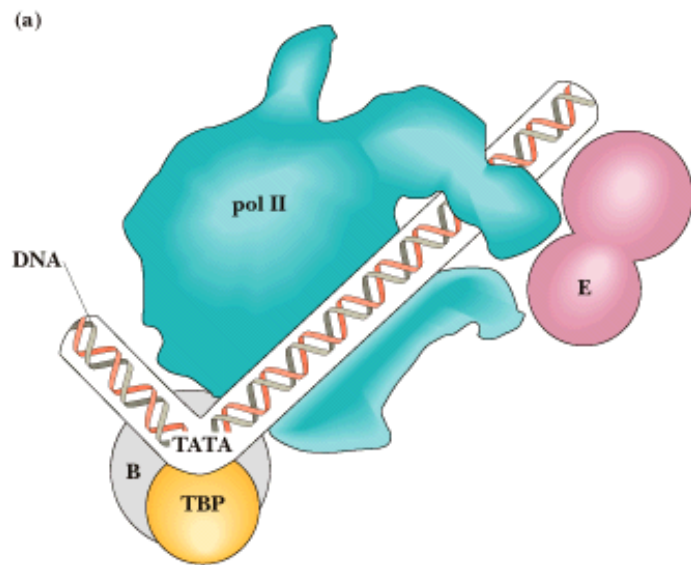
5' TATA 3'
TATA box

5' GGNCAATCT 3'
CAAT box

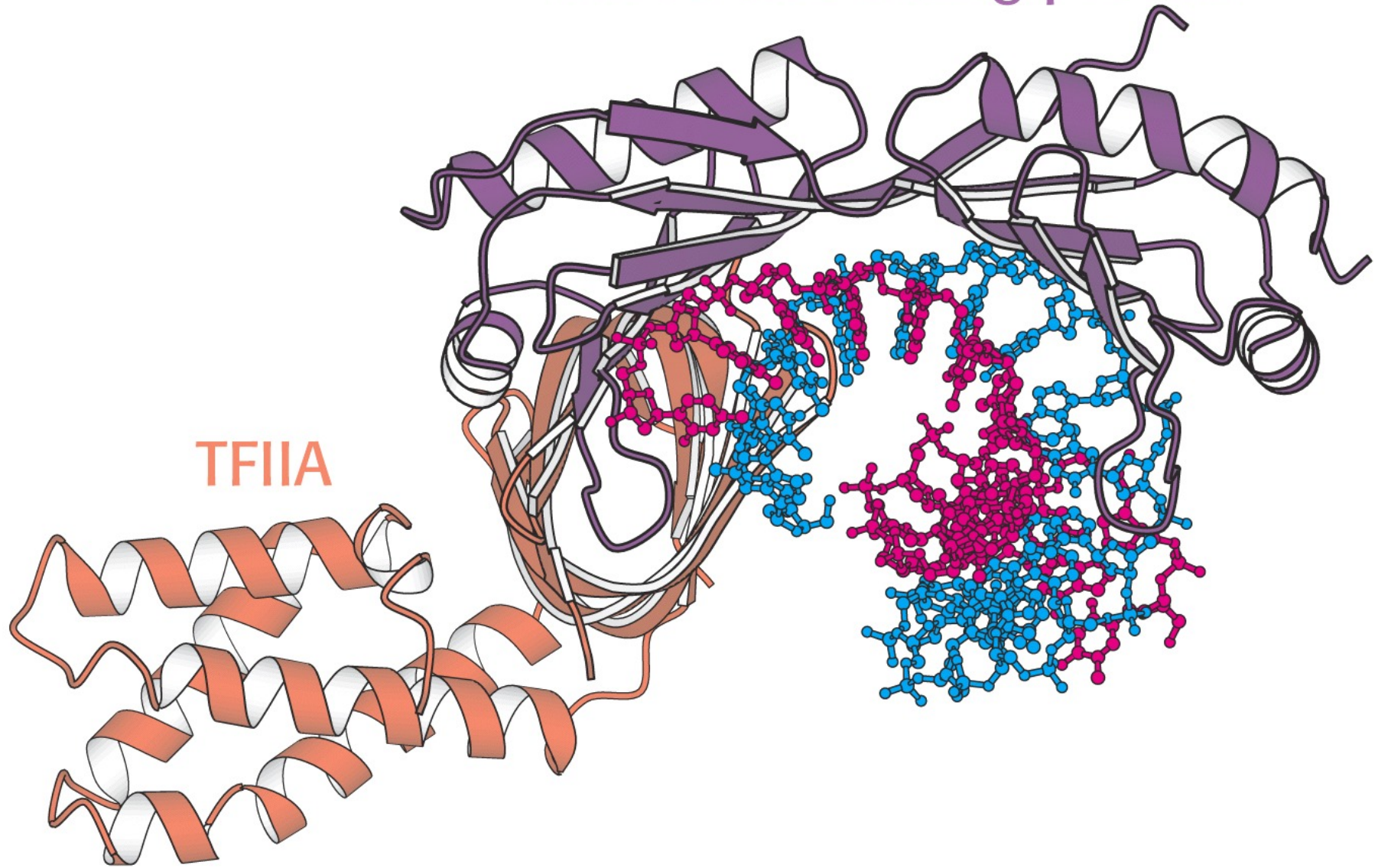
5' GGCGGG 3'
GC box



Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 31.12

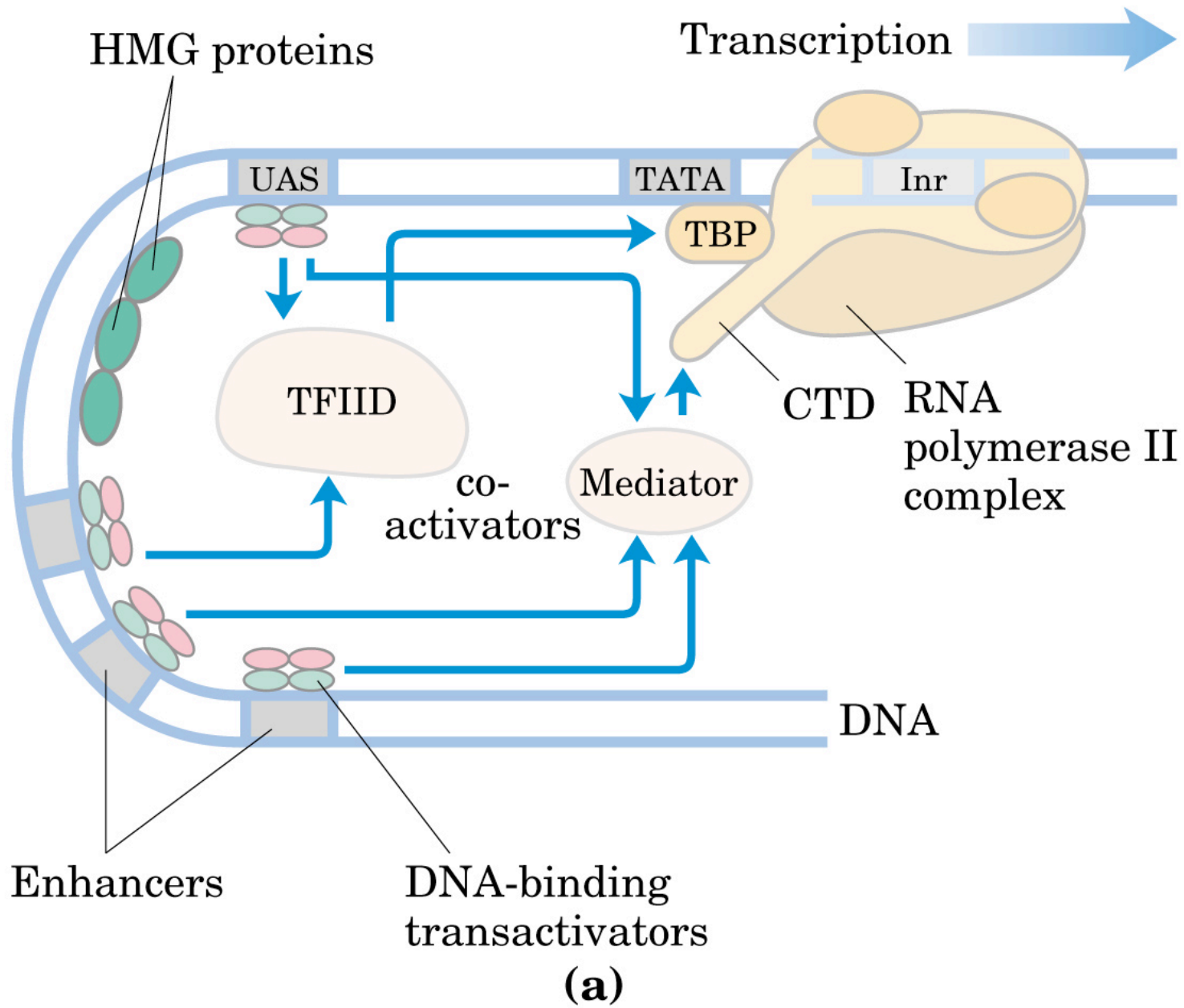


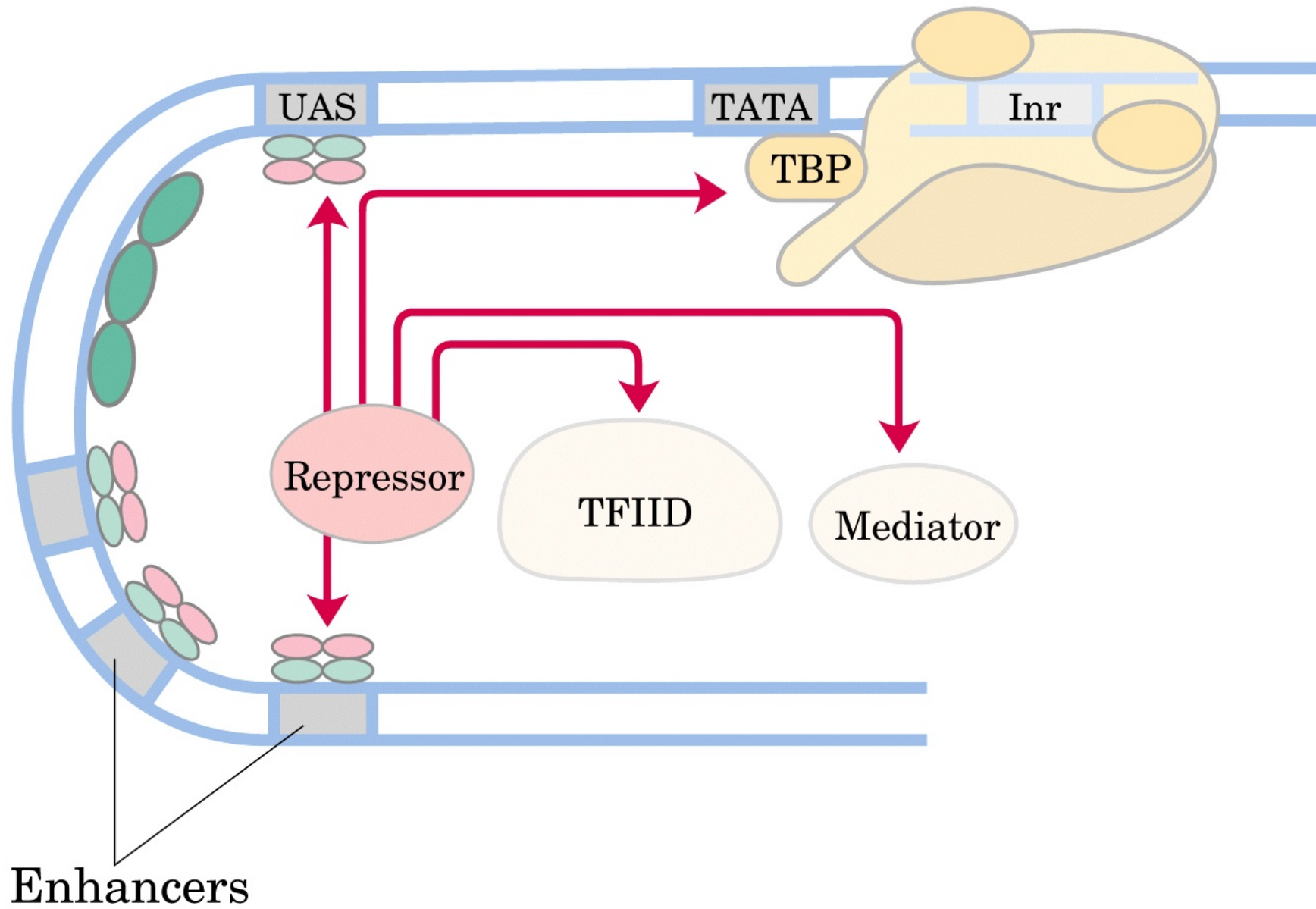
TATA-box-binding protein



Ρόλος *cis*-δραστικών στοιχείων

- Βρίσκονται (σχεδόν) πάντα ανοδικά (upstream) κατά εκατοντάδες ή και χιλιάδες βάσεις μακριά από τη θέση έναρξης
- Ενισχυτές (enhancers): ενεργοποιούν τη μεταγραφή
- Σιγαστήρες (αποσιωποητές, silencers): παρεμποδίζουν τη μεταγραφή
- Υπάρχουν προαγωγοί και **μέσα** (downstream) στο γονίδιο (RNAP III)

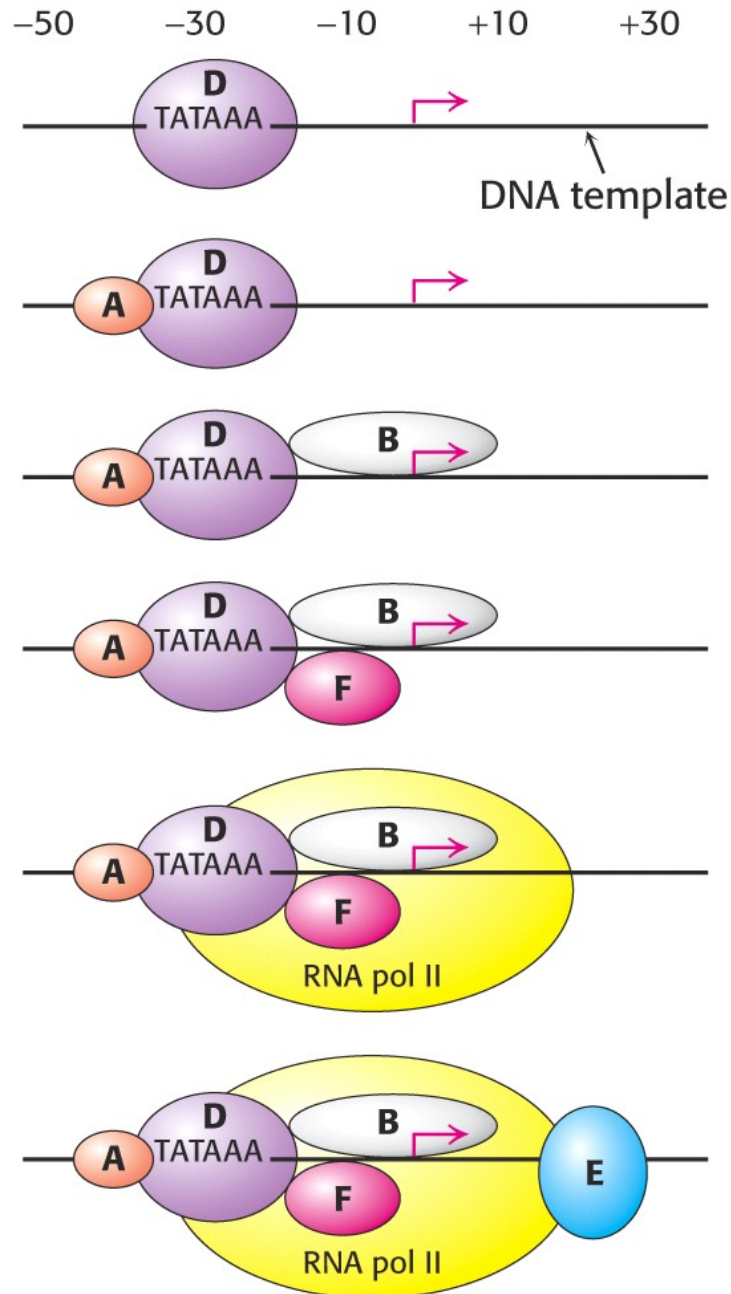




(b)

TBP	TATA box binding protein
SRB	supressor of RNA polymerase II
CTD	C-terminal domain of RNA polymerase II
PC	Positive cofactor
NC	Negative cofactor
HM	High mobility group proteins
UAS	upstream activating sequence

Μεταγραφικοί παράγοντες



Πάνω σε αυτές τις αλληλουχίες δεσμεύονται πολλοί πρωτεϊνικοί παράγοντες οι οποίοι καλούνται **παράγοντες μεταγραφής (transcription factors)**

Οι παράγοντες αυτοί διευκολύνουν την δέσμευση της RNA πολυμεράσης και την αναγνώριση των προαγωγέων για την έναρξη της μεταγραφής

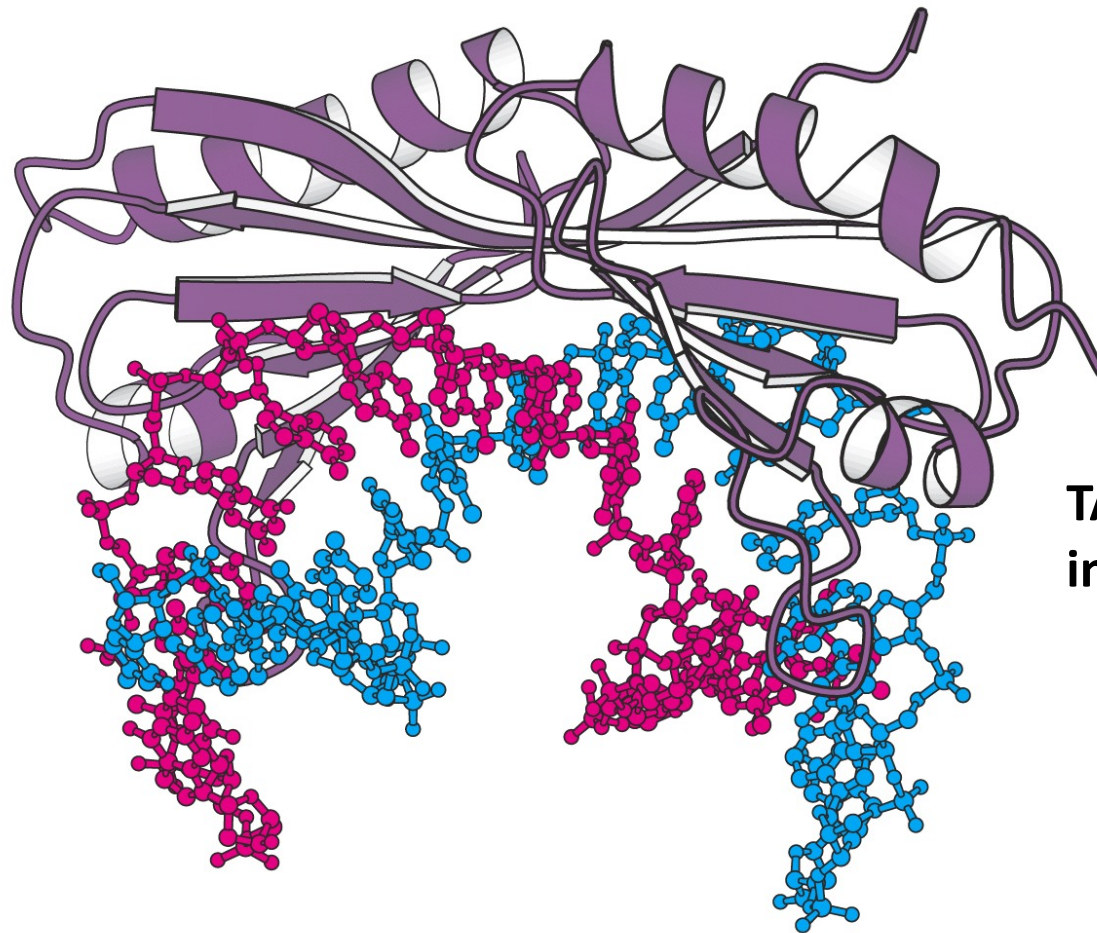
Αλληλεπίδραση DNA-πρωτεϊνών

3 κύρια δομικά μοτίβα:

- έλικά-στροφή-έλικά
- δάκτυλα ψευδαργύρου (Zinc fingers)
- φερμουάρ λευκίνης (Leucine zippers)

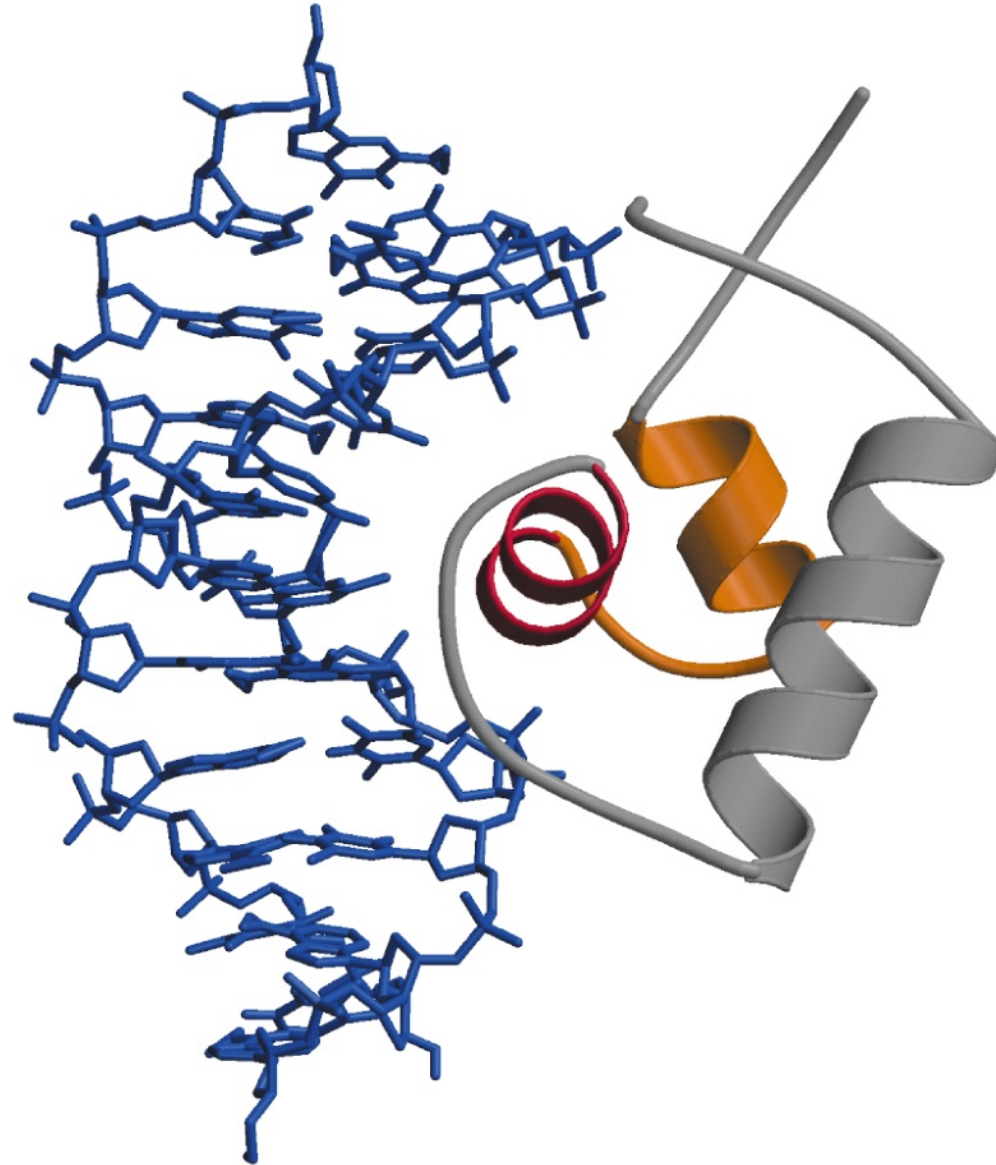
Το DNA πρέπει να λυγίζει για να δίνεται η ευκαιρία σε διάφορους πρωτεϊνικούς παράγοντες που δεσμεύονται στο DNA να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους

Η κάμψη του DNA είναι βασικό χαρακτηριστικό της έναρξης της μεταγραφής και της δέσμευσης των πολυμερασών τόσο στους προκαρυωτικούς αλλά κυρίως στους ευκαρυωτικούς μηχανισμούς



**TATA box Binding Protein
in yeast**

έλικα-στροφή-έλικα (Helix-Turn-Helix, HTH Motif)

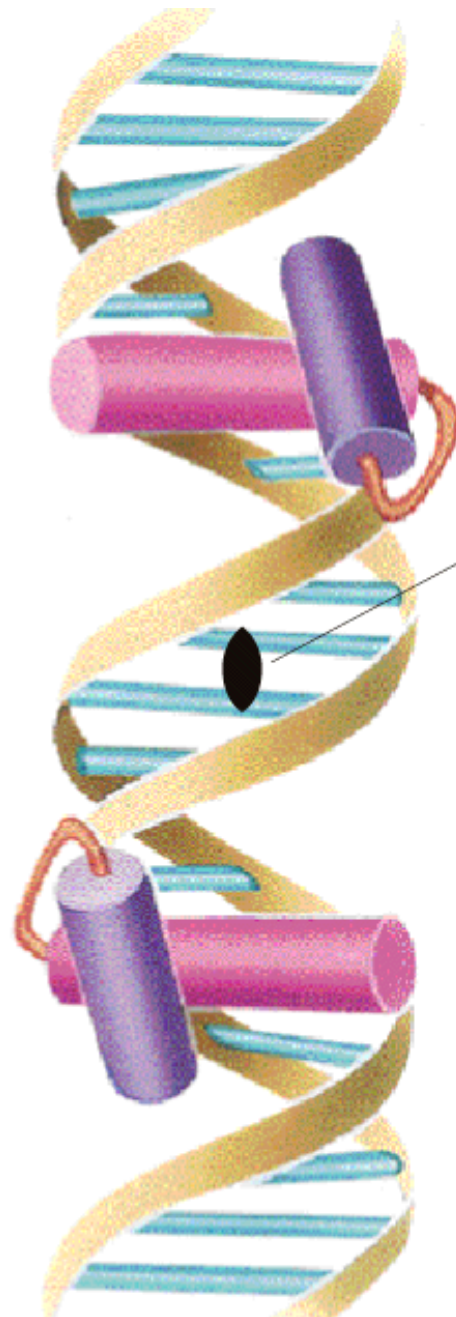


(a)

Το μοτίβο *Ελικά – στροφή – Ελικά* Helix-Turn-Helix Motif

Βρέθηκε σε τρεις πρωτεΐνες προκαρυωτικών

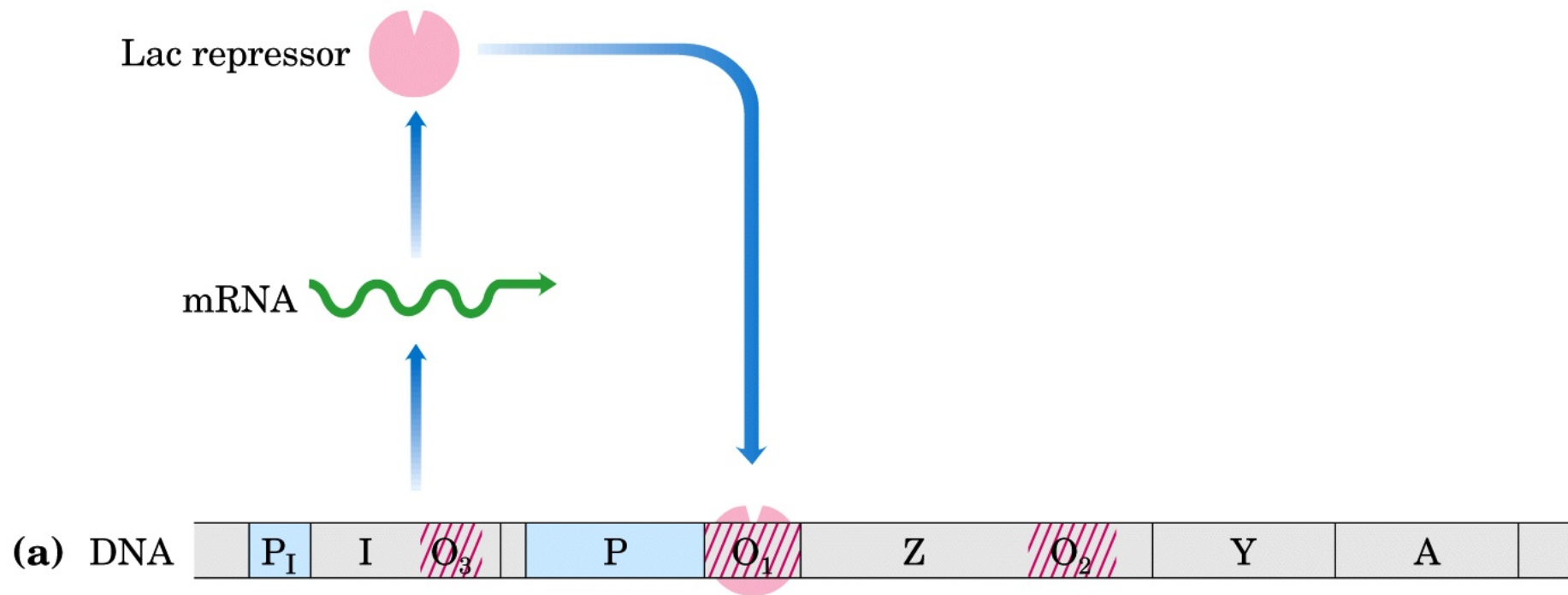
- **Cro** και **ci** πρωτεΐνες-καταστολείς (repressor proteins), **CAP** (catabolite activator protein)
πρωτεΐνη-ενεργοποιητής καταβολισμού, από την *E. Coli*.
- Προσδένονται ως διμερή σε συμμετρικές θέσεις στο DNA (επόμενη εικόνα)
- Δύο αλφα-έλικες που συνδέονται με βρόχο β-στροφή
- Η καρβόξυ – τελική έλικα προσδένεται στη μεγάλη αύλακα του DNA. Η αμινο τελική έλικα σταθεροποιεί μέσω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων με την καρβόξυ – τελική έλικα.



Αξονας συμμετρίας δυάδας
(Dyad axis of symmetry)

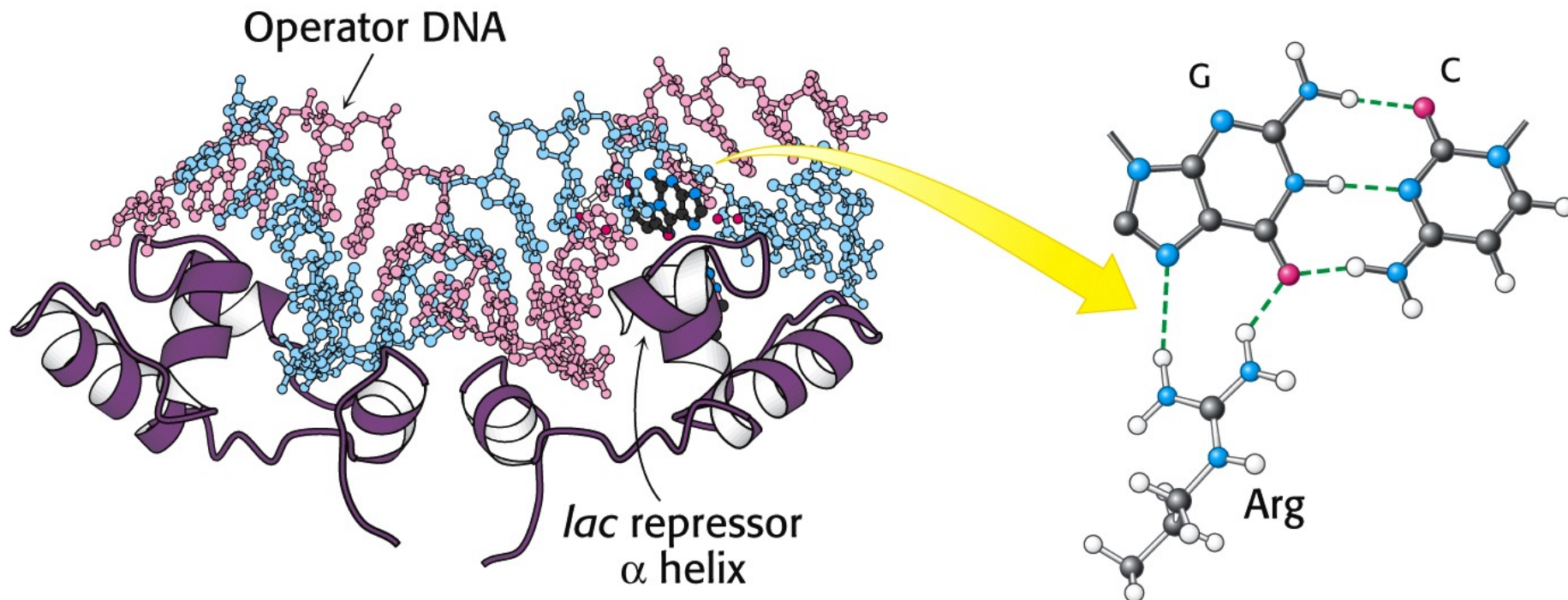
Το HTH motif είναι το πρώτο δομικό μοτίβο που έχει περιγραφεί ιστορικά και του οποίου η κρυσταλλική δομή σε σύμπλεγμα με το DNA είναι γνωστή

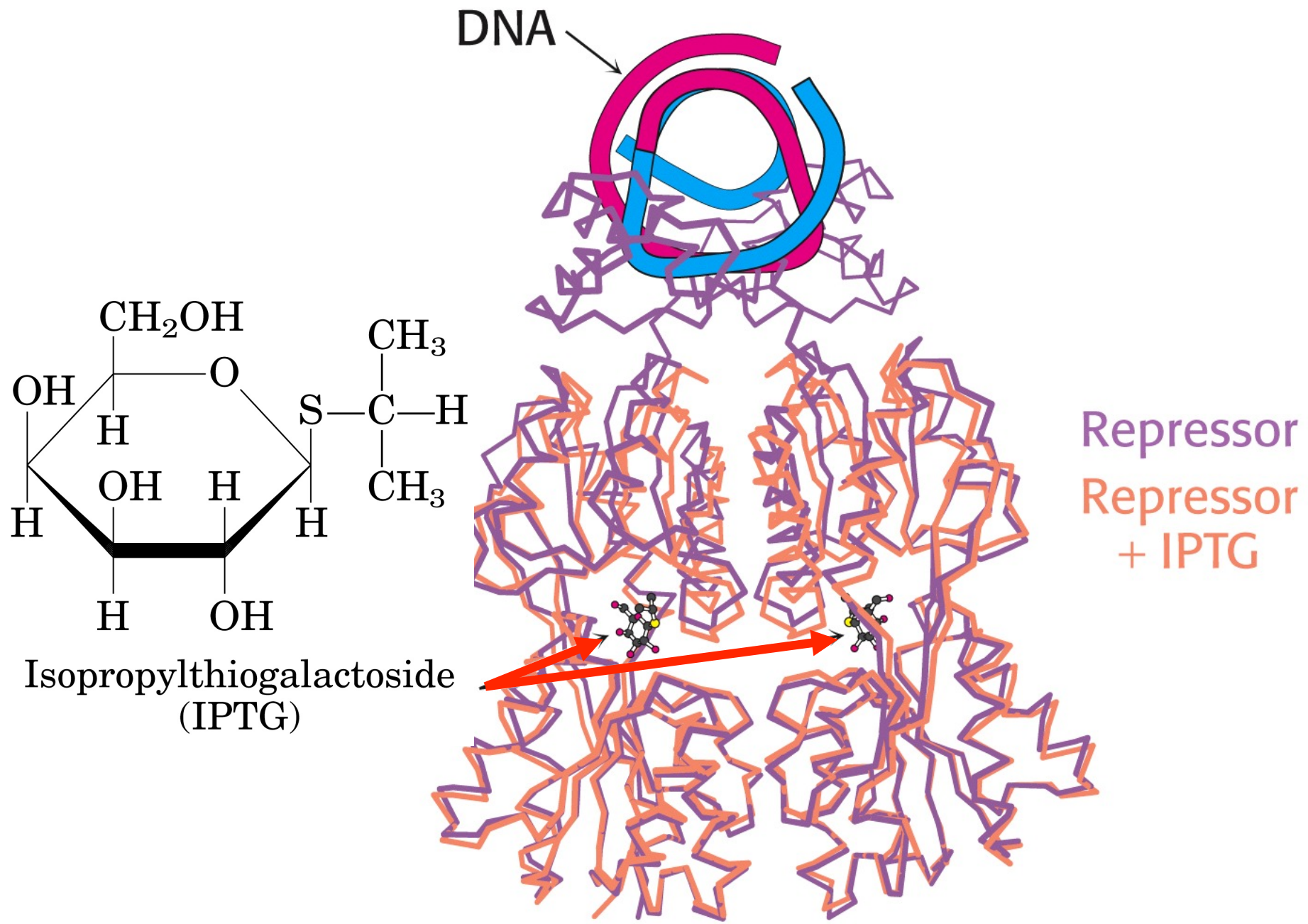
Χαρακτηριστικό του μοτίβου αυτού είναι ο προσανατολισμός μιας α -έλικας στην μεγάλη αύλακα του DNA



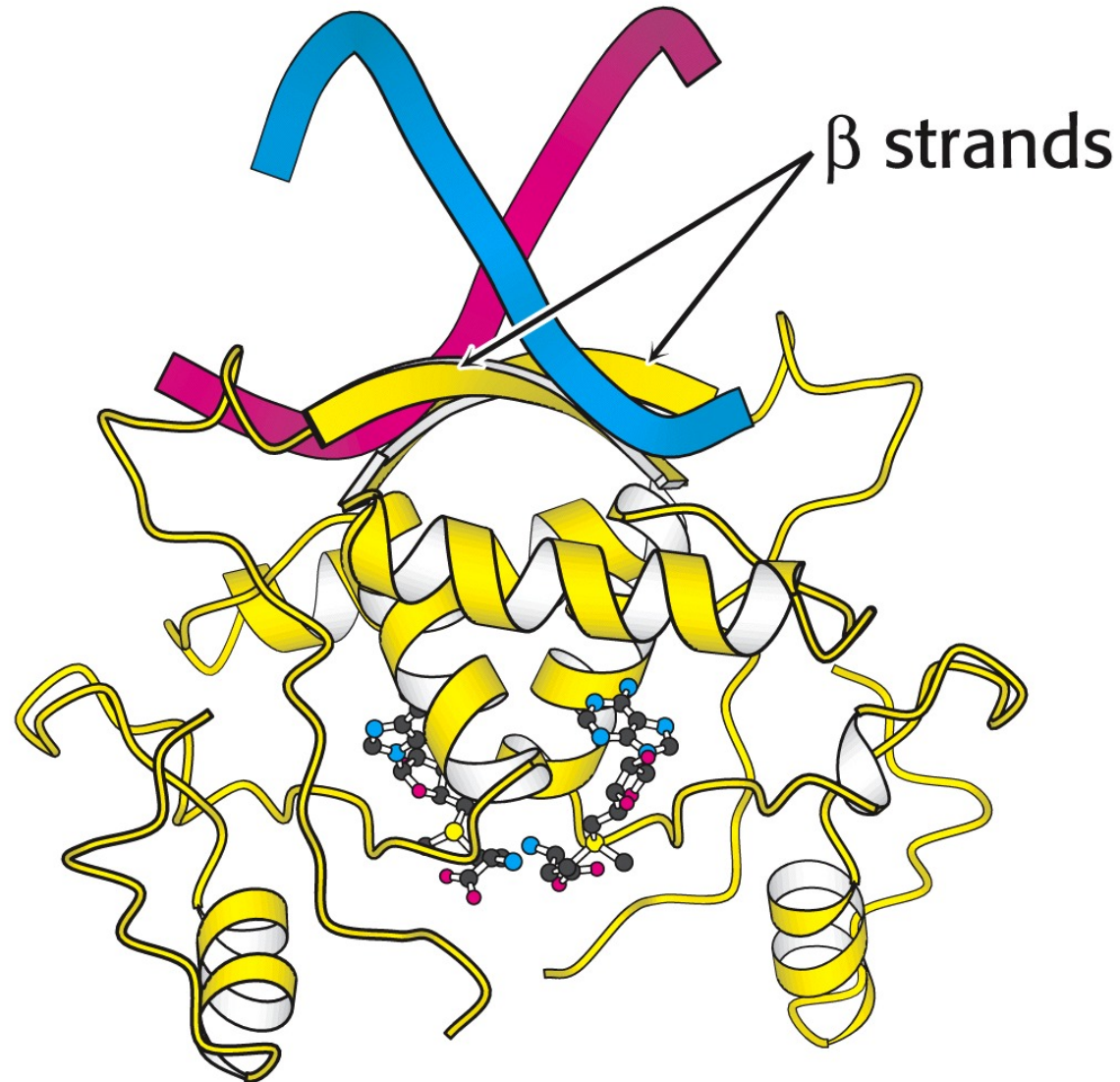
Η περιοχή του καταστολέα *lac* που αλληλεπιδρά με το DNA εισχωρεί με μια α-έλικα στη μεγάλη αύλακα του DNA. Μια εξειδικευμένη επαφή μεταξύ ενός καταλοίπου Arg και ενός ζεύγους G-C είναι υπεύθυνη για την καταστολή της μεταγραφής στο οπερόνιο της λακτόζης όταν δεσμεύεται στο χειριστή.

Υπάρχει ΚΑΙ κινητικός διαχωρισμός: Ο καταστολέας *lac* δεσμεύεται 4×10^6 φορές πιο ισχυρά στην θέση του χειριστή απ'ότι σε άλλες ανταγωνιστικές θέσεις πάνω στο DNA





**Αλληλεπίδραση μέσω β -πτυχωτών επιφανειών
(E.coli MetJ repressor, eukaryotic NF κ B transcription factor)**



Zinc fingers (δάκτυλα ψευδαργύρου)

Τα συγκεκριμένα δομικά μοτίβα περιλαμβάνουν περιοχές πρωτεϊνών οι οποίες αλληλεπιδρούν με DNA (αλλά και με άλλα νουκλεϊκά οξέα), οι οποίες μπορούν και δεσμεύουν ψευδάργυρο με την βοήθεια καταλοίπων Cys και His

Zinc-Cys2-His2

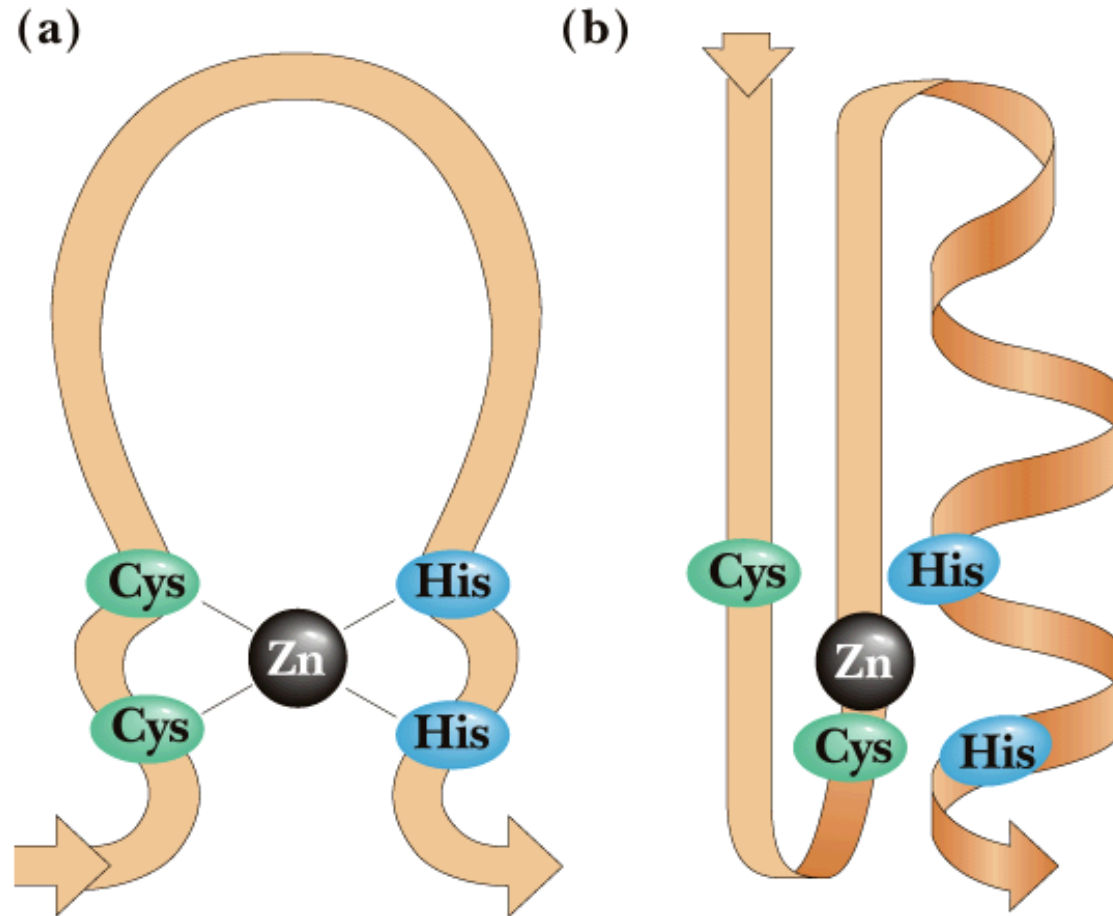
Zinc-Cys4

Zinc2-Cys6

Ο ψευδάργυρος παίζει ρόλο στην σταθεροποίηση των συγκεκριμένων δομών οι οποίες βρίσκονται μέσα σε α-έλικες.

Οι α-έλικες των πρωτεϊνών αλληλεπιδρούν με το DNA, ενώ ο ψευδάργυρος δεν έχει καμμία επαφή

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 31.37



Zinc fingers (δάκτυλα ψευδαργύρου)

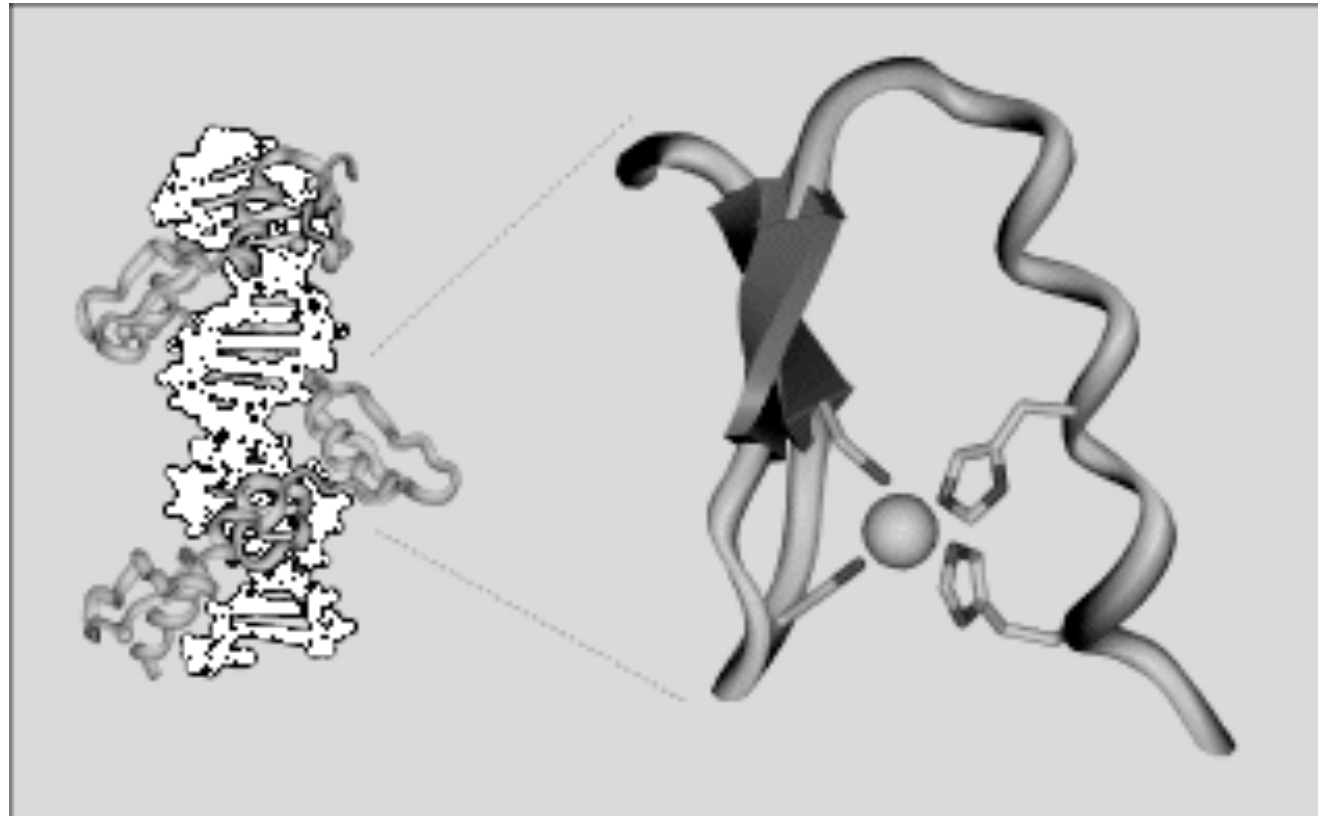
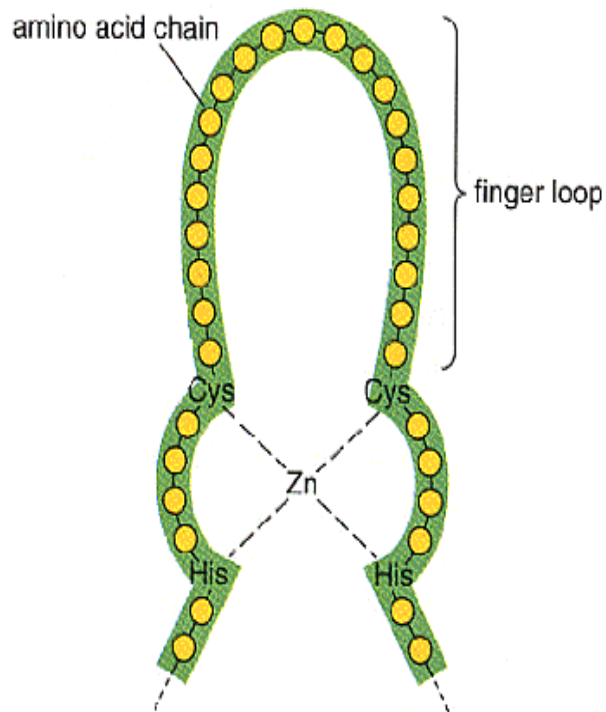
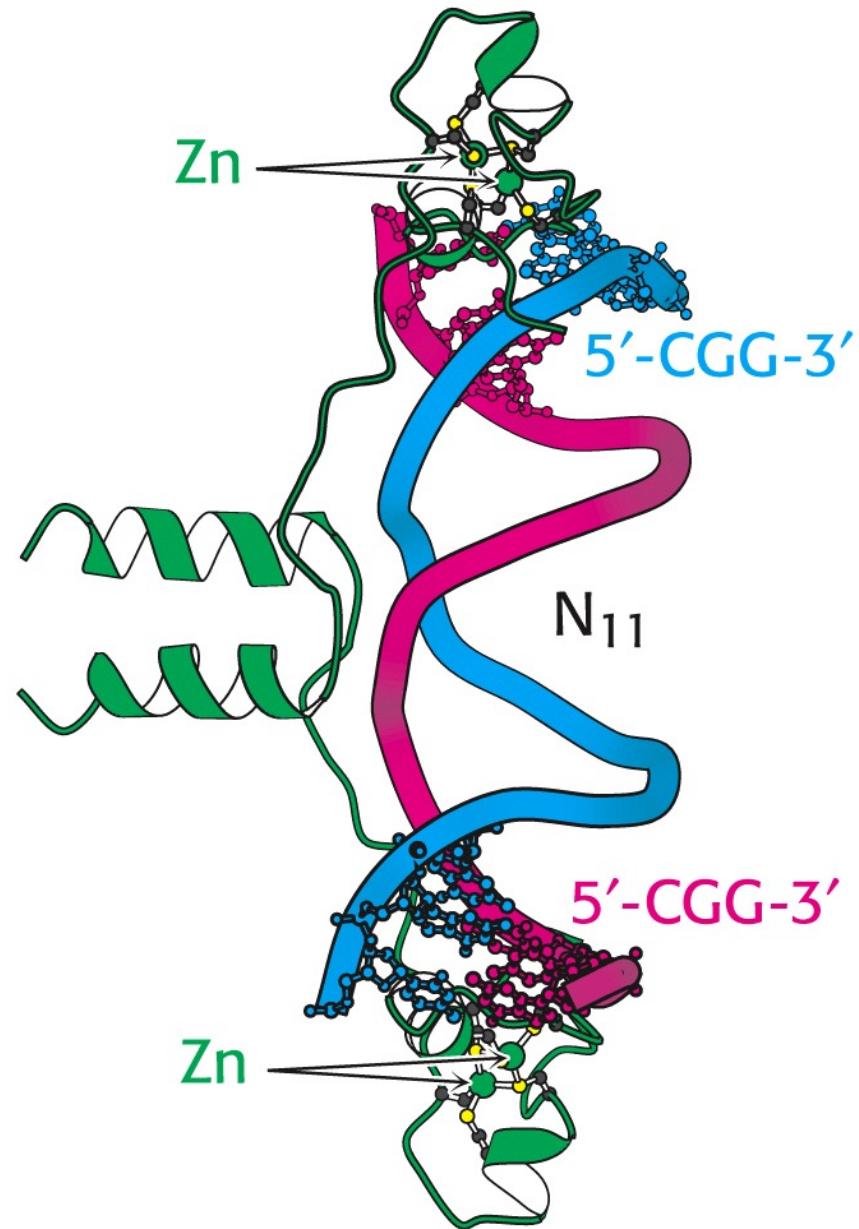
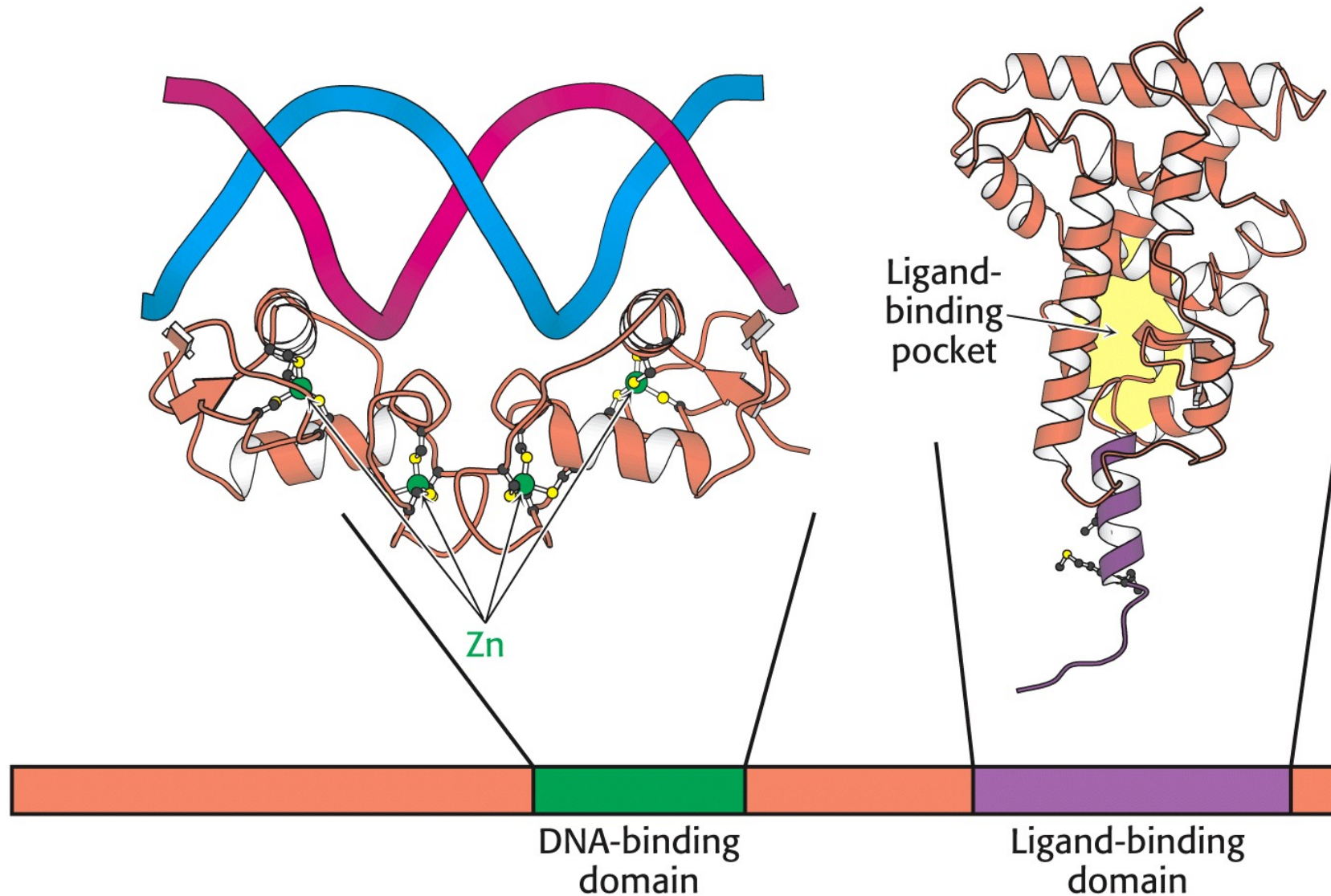


Fig. 3. A designed polydactyl zinc finger binds 18 bp of DNA. A single zinc finger domain is highlighted. With this design approach, we can construct more than a billion gene switches and use them to specifically turn genes on or off in multiple organisms.

GAL4 (*S. cerevisiae*)



Πολλοί πυρηνικοί ορμονικοί υποδοχείς περιέχουν δάκτυλα Zn που βοηθούν στην αλληλεπίδρασή τους με το DNA

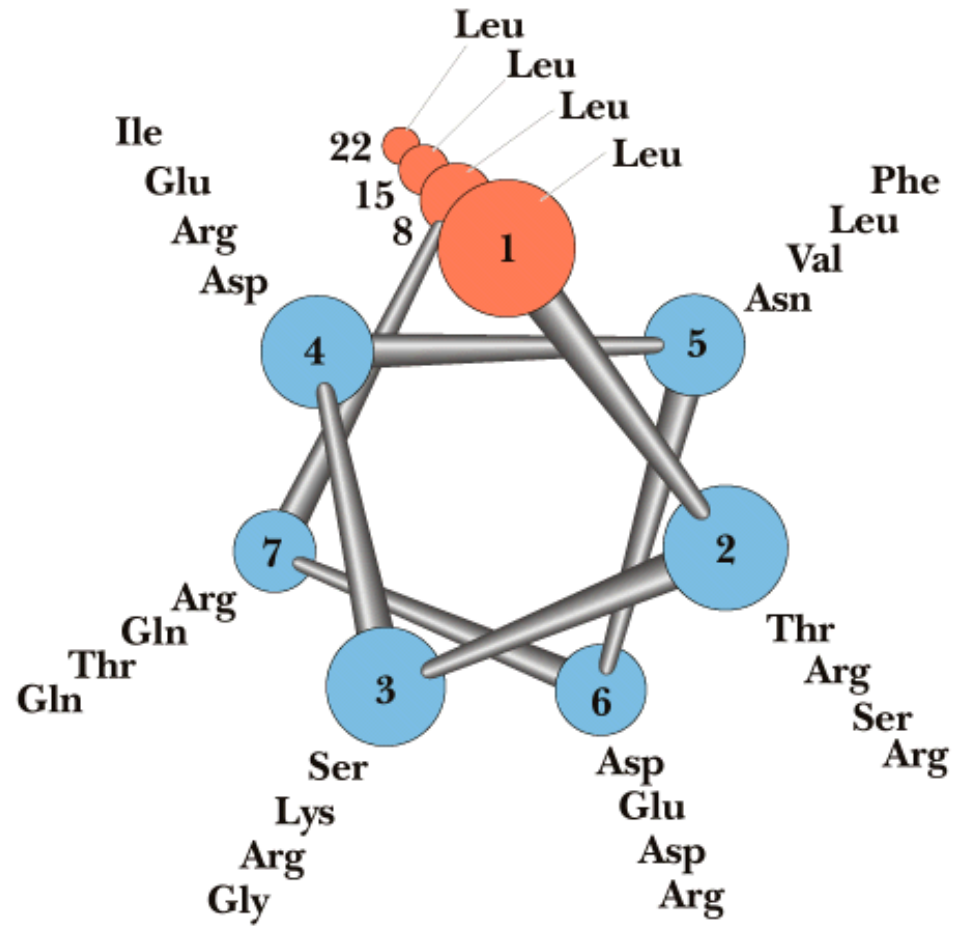


Το μοτίβο «φερμουάρ» λευκίνης Leucine Zipper Motif

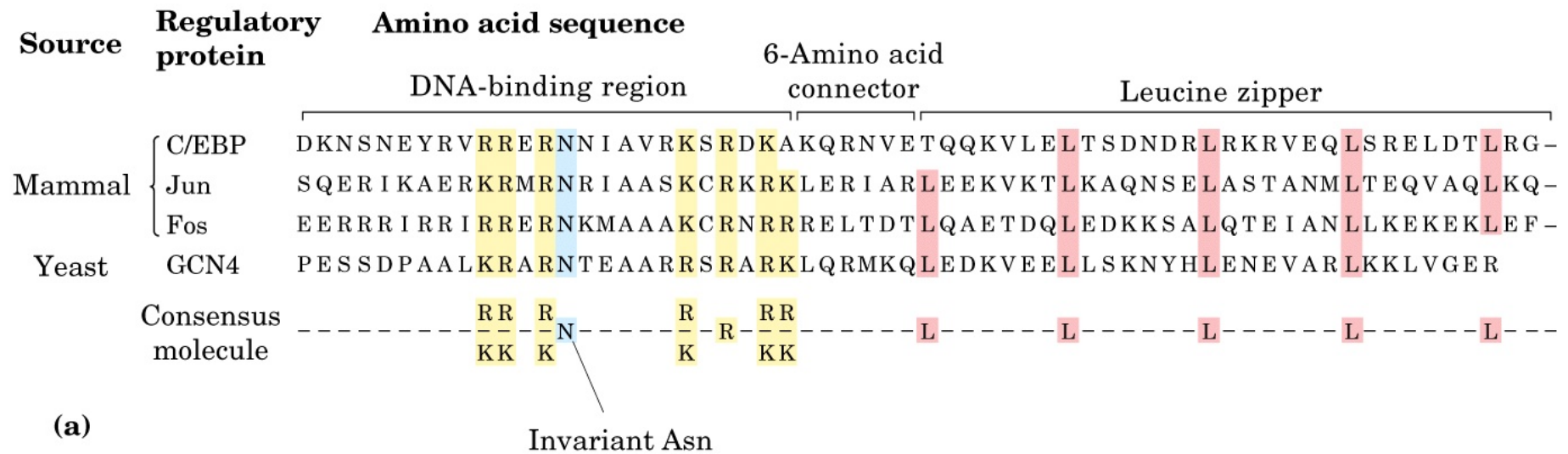
Βρέθηκε για πρώτη φορά στον C/EBP, μια πρωτεΐνη που προσδένεται στο DNA σε πυρήνες κυττάρων ήπατος αρουραίου

- Βρίσκεται σχεδόν σε όλους τους οργανισμούς
- Χαρακτηριστικά: Σε μια αλληλουχία 28 αμινοξέων, το 7^ο είναι Leu και μια «βασική περιοχή»
- Υπαινίσσεται αμφιπαθή α-έλικα και διμερές τύπου coiled-coil (coiled-coil dimer).

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 31.41



Leucine zippers (φερμουάρ λευκίνης)

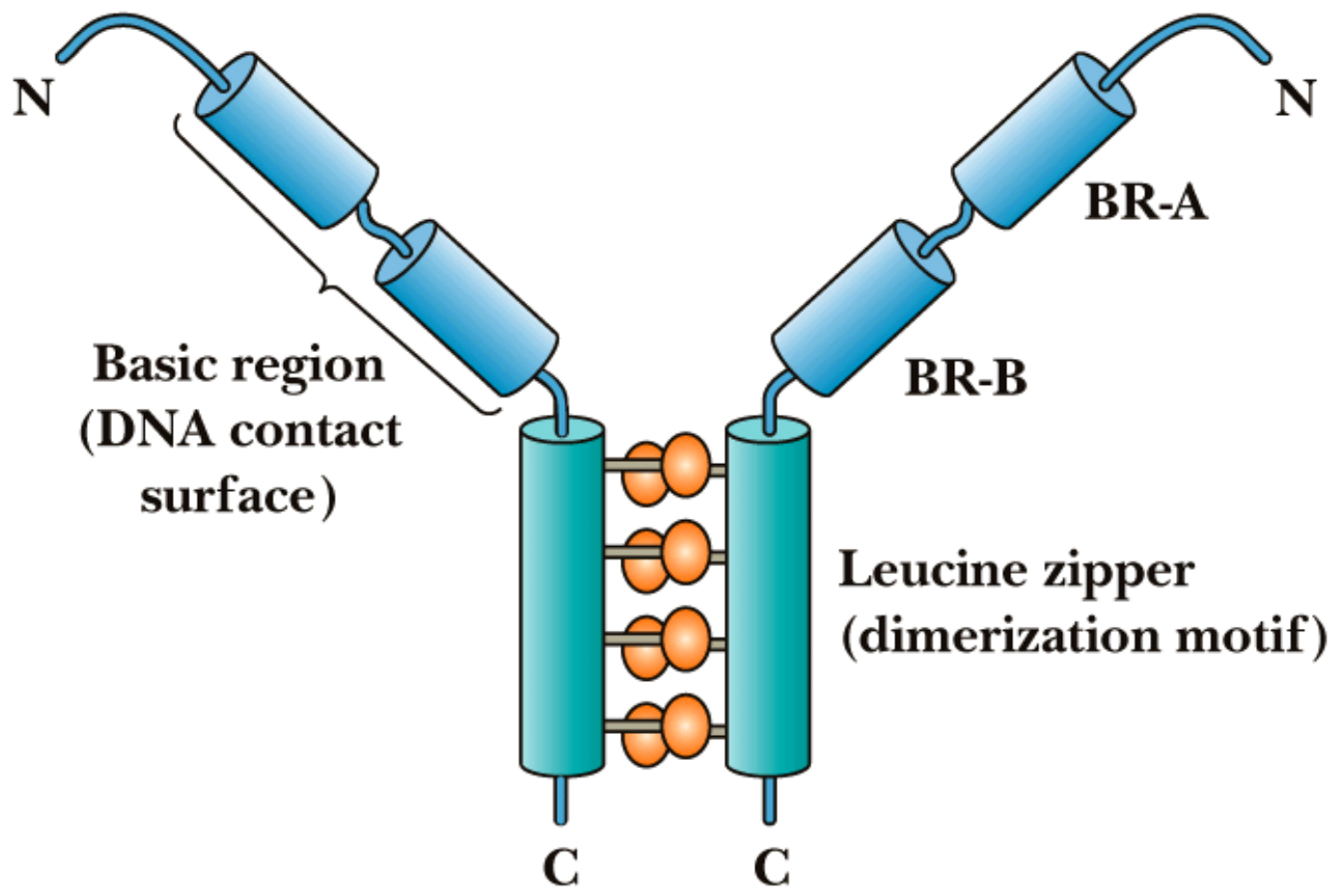


Leucine zippers (φερμουάρ λευκίνης)

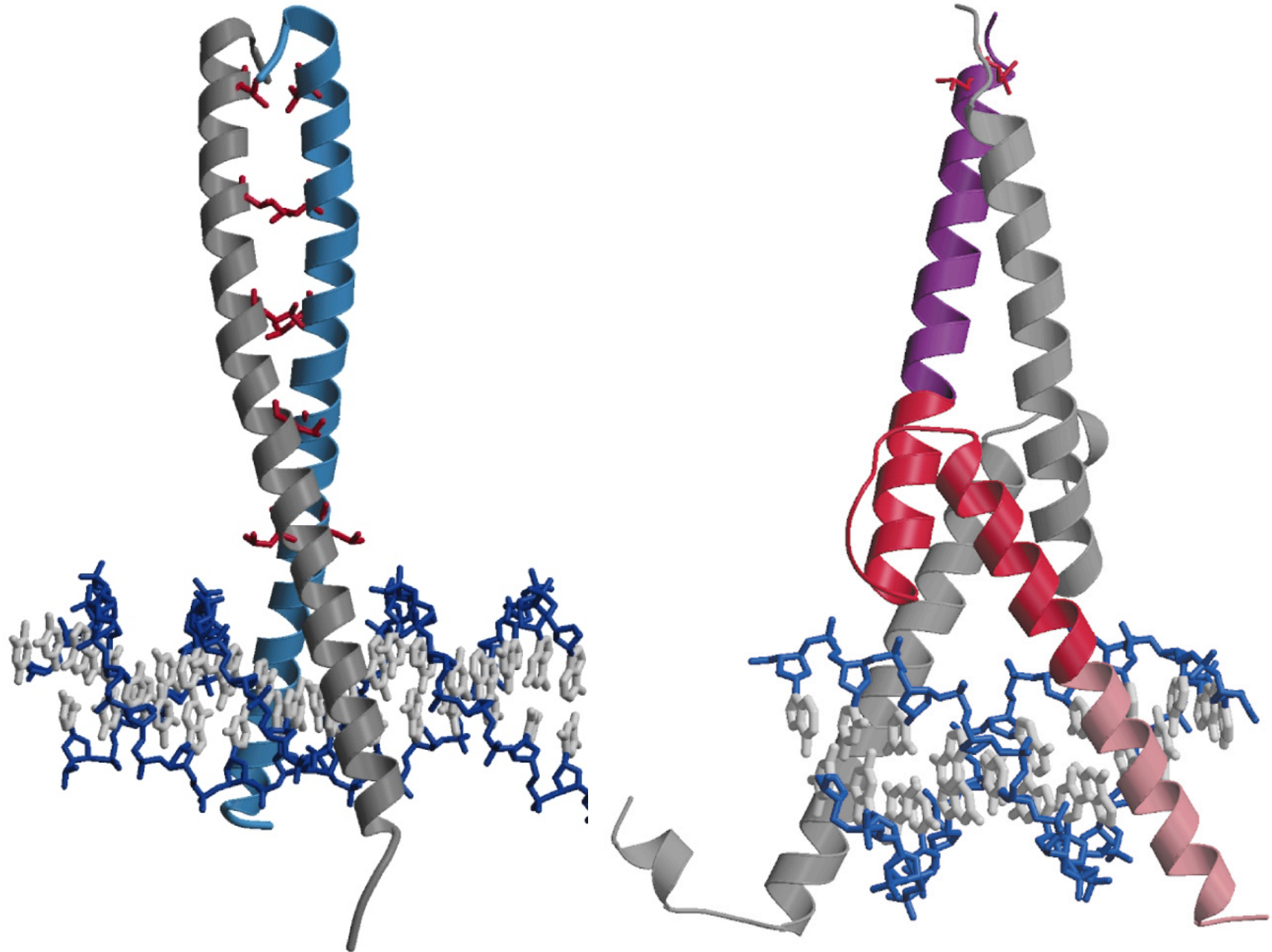
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 31.42

Protein	Basic region A	Basic region B	Leucine zipper
C/EBP	278-DKNSNEYRVRRRERN	NI AVRKSHDKAKQRNVET	QQKVLELTS DNDRLRKRVEQLSRELDTLRG-341
Jun	257-SQERIKAEKRMRNR	IAASKCHKRKLRIARLE	EKVKTLKAQNSELASTANMLTEQVAQLKO-320
Fos	233-EERRRIRRI RRRERN	KMAAAKCRNRRREL	TDTLQAETDQLEDKKSALQTEIANLLKEKEKLEF-296
GCN4	221-PESDPAALKRARNT	EAARRSRARKLQRMKOLE	DKVEELLSKNYHLENEVARLKKLVGER-COOH
YAP1	60-DLDPETKQKR	TAQNRAAQRA FHERKER	KMKELKQVQSLESIQQQNEVEATFLRDQLITLVN-123
CREB	279-EEAARKREVRLMKN	REAARECRRKKKEYVK	CLENRVAVLENQNKTLLIEELKALKDLYCHKSD-342
Cys-3	95-ASRLAAEEDKRRK	RNTAASARFR	IKKKQREQALEKSAKEMSEKVTQLEGR IQALETENKYLKG-148
CPC1	211-EDPSDVVAMKRAR	NLAARKSBERKAQRLEE	EAKIEELIAERDRYKNLALAHGASTE-COOH
HBPI	176-WDERELKKQKRL	SNRESARRSRLRKQAE	CEELGQRAEALKSENSSLRIELDR IKKEYEELLS-239
TGA1	68-SKPVEKVLRR	LAQRNEAARKSRLR	KKAYVQQL ENSKLLKLIQLEQELERARKQGMCVGGGVDA-131
Opaque2	223-MPTEERVRRKR	KESNRESARRSRYR	KAAHLKELEDQVAQLKAENSCLLRR IAALNQKYNDANV-286
Consensus	- - - - - BB - BN - - AA - B - R - BB - - - - - L ^E _Q - - - - - L - - - - - L - - - - - L - - - - - L - - -		

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 31.43

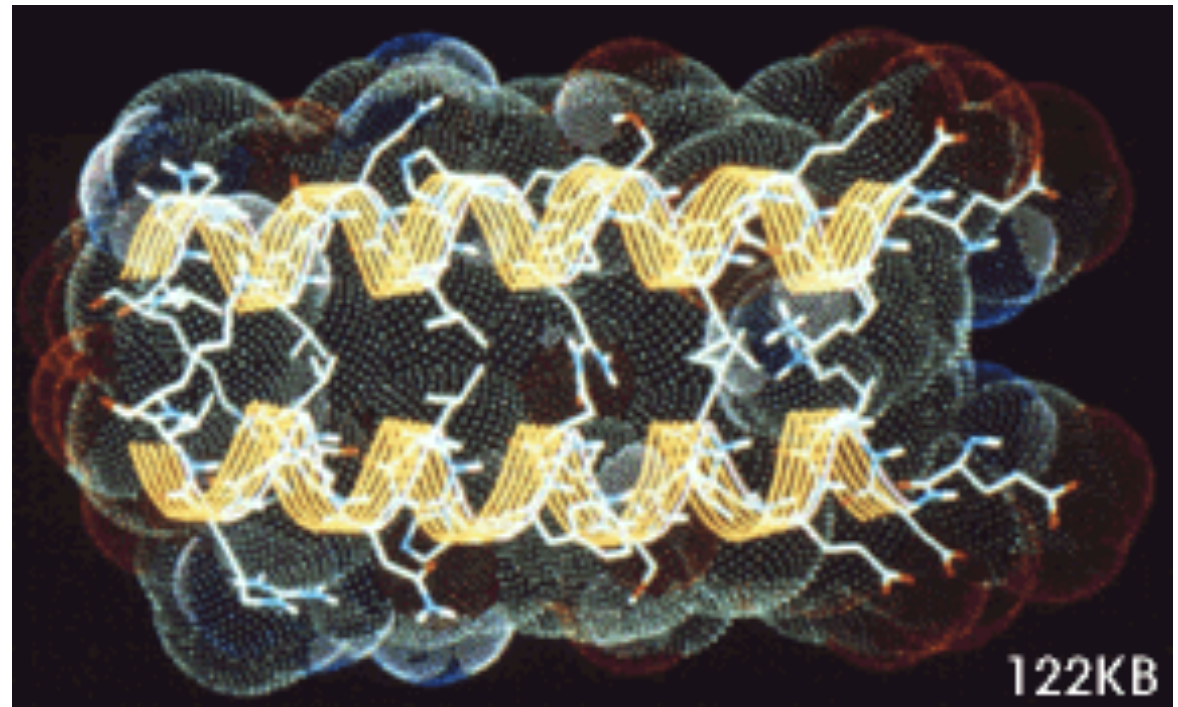
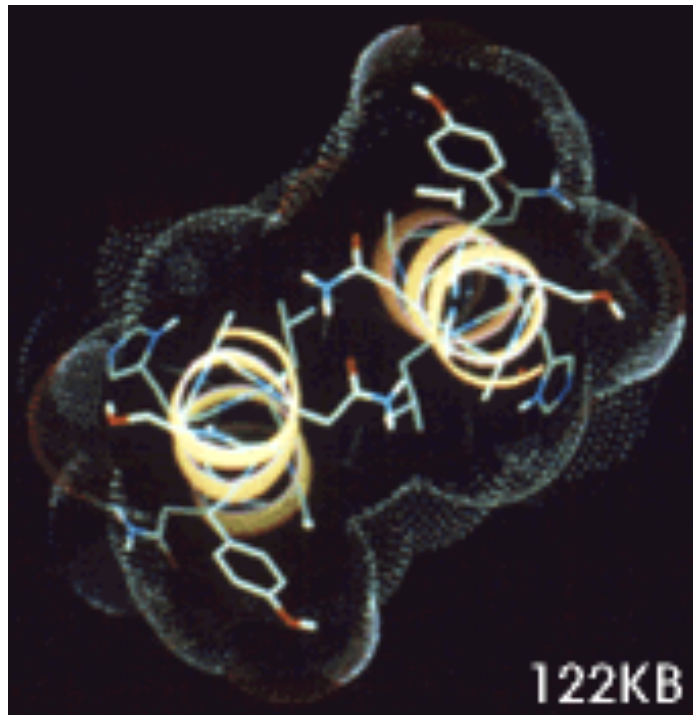


Leucine zippers (φερμουάρ λευκίνης)



(b)

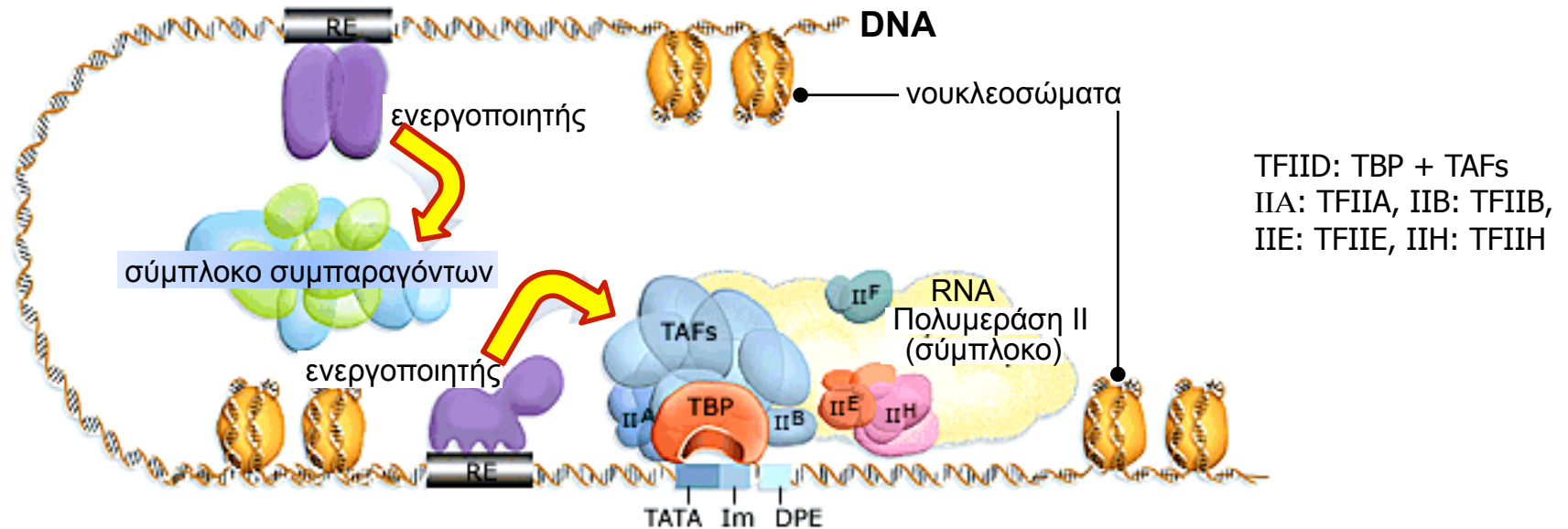
Leucine zippers (φερμουάρ λευκίνης)



The two helices of the leucine zipper, shown here in top (left) and front (right) views, are outlined as yellow-striped ribbons. The ribbons gently wrap around each other, apparent in the top view.

The stick figure represents the molecular structure -- oxygen (red), nitrogen (blue), hydrogen (white) and carbon (green). The dotted surface shows the area of the molecule that can come into contact with surrounding water. As seen in the top view, the surface shields the interface between the helices so that water is not able to penetrate into this area, where leucine and other hydrophobic amino acids form the "teeth" of the zipper.

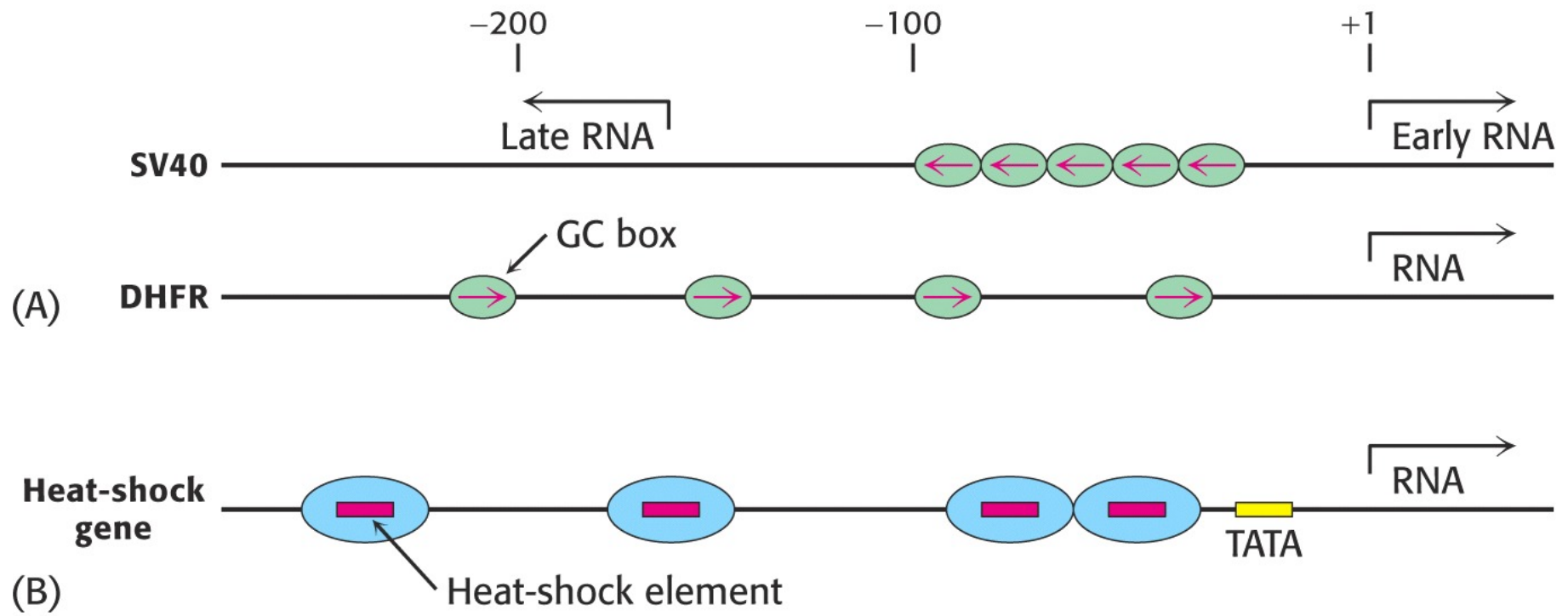
RNA πολυμεράση II και μεταγραφή

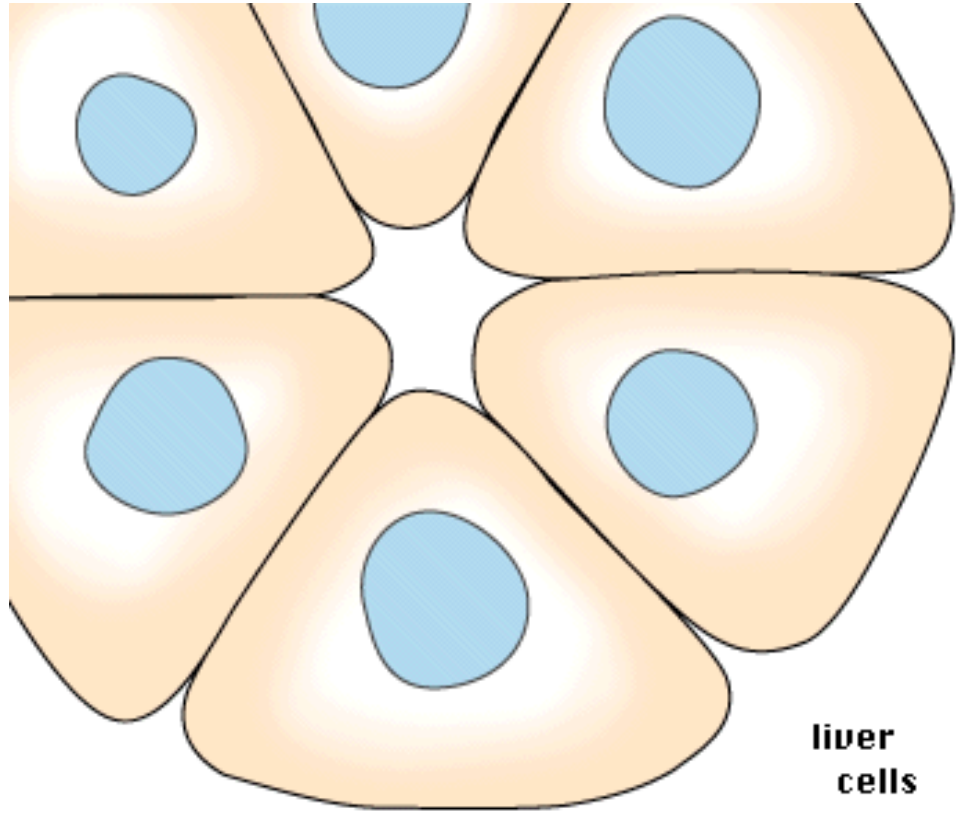


Η περιοχή έναρξης περιλαμβάνει τη συναινετική αλληλουχία (consensus sequence):



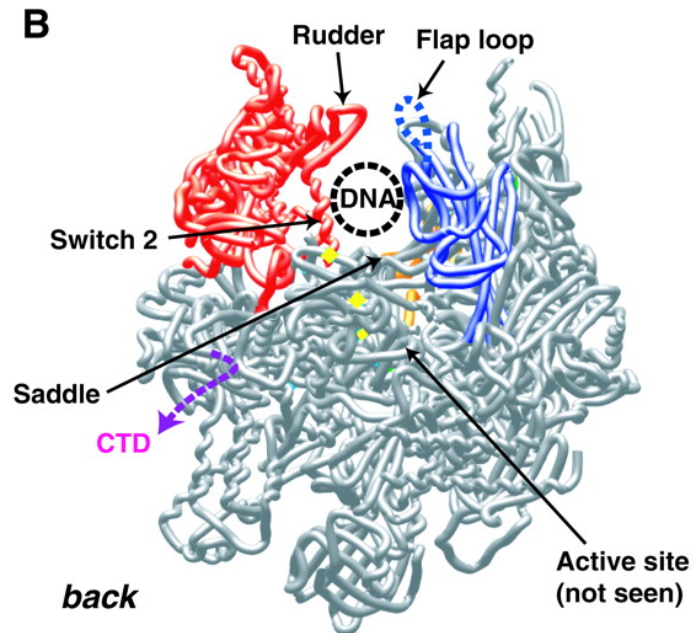
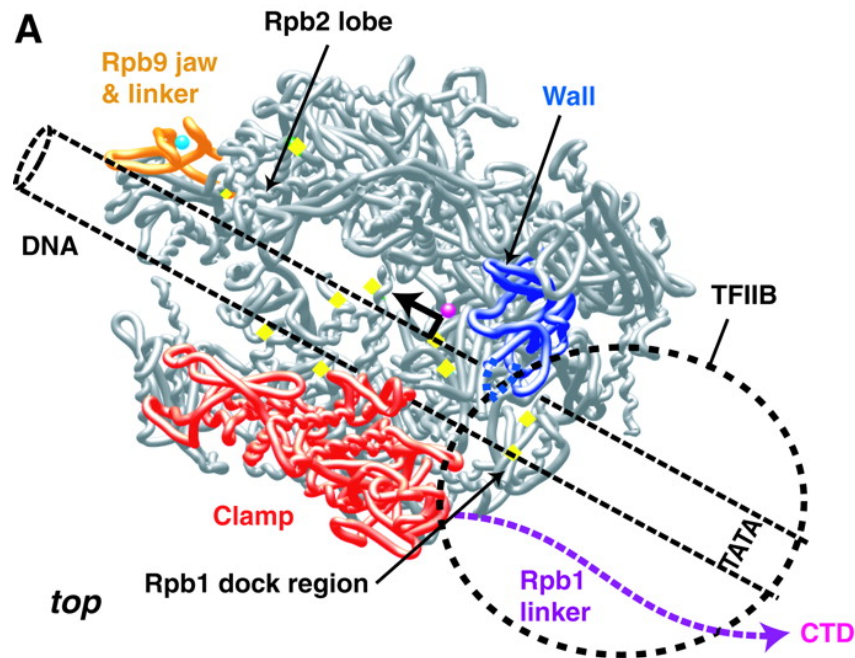
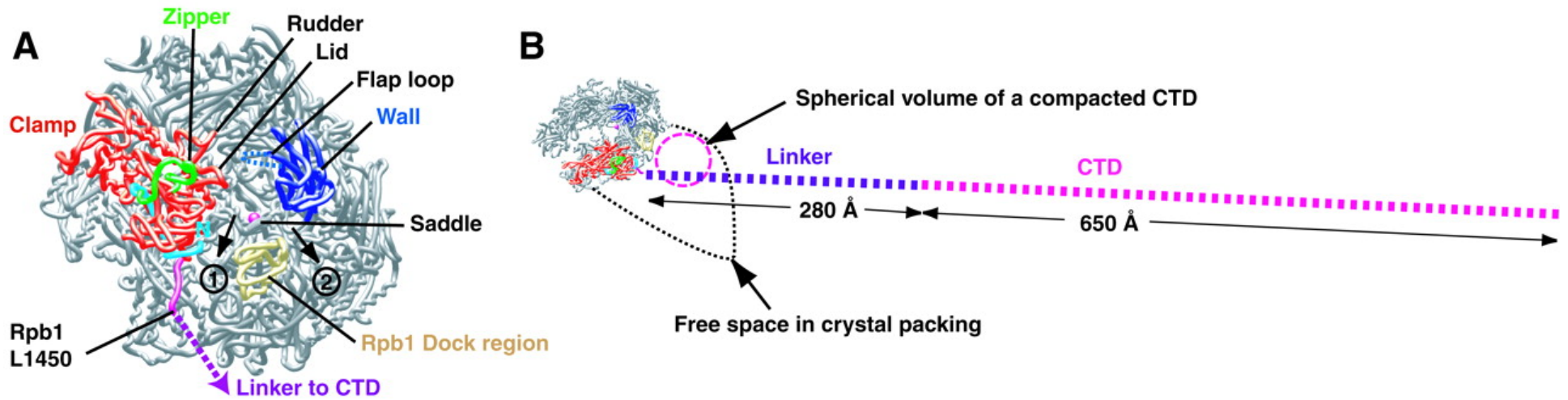
όπου Y=πυριμιδίνη, N= οποιοδήποτε νουκλεοτίδιο





**liver
cells**

Η δομή της RNA πολυμεράσης II (RNAP II)



Η δομή της RNA πολυμεράσης II (RNAP II)

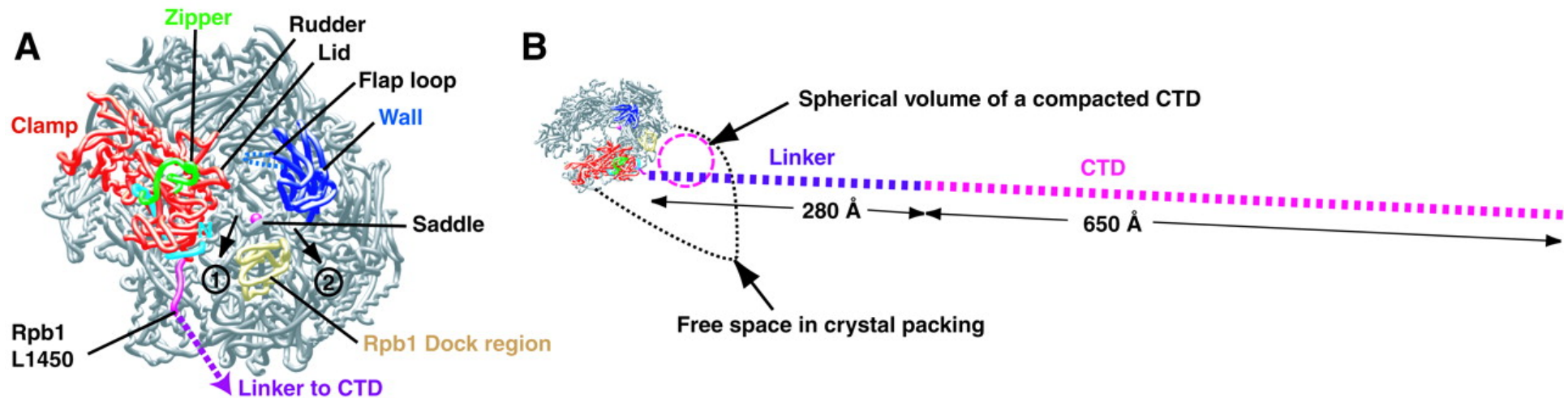


Fig. 9. RNA exit and Rpb1 COOH-terminal repeat domain (CTD).

(A) Previously proposed RNA exit grooves 1 and 2 (9). The two grooves begin at the saddle between the clamp and wall and continue on either side of the Rpb1 dock region. The last ordered residue in Rpb1 (L1450) is indicated. The NH₂-terminal 25 residues of Rpb1 are highlighted in blue and correspond to an *E. coli* RNA polymerase fragment that was cross-linked to exiting RNA (32, 47). The next 30 residues of Rpb1, which form the zipper, are highlighted in green and likely mark the location of *E. coli* residues that have been cross-linked to exiting RNA (47) and to the upstream end of the transcription bubble (32).

(B) Size and location of the CTD. The space available in the crystal lattice for the CTDs from four neighboring polymerases is indicated. The dashed line represents the length of a fully extended linker and CTD. The pink dashed circle indicates the size of a compacted random coil with the mass of the CTD.

Η δομή της RNA πολυμεράσης II (RNAP II)

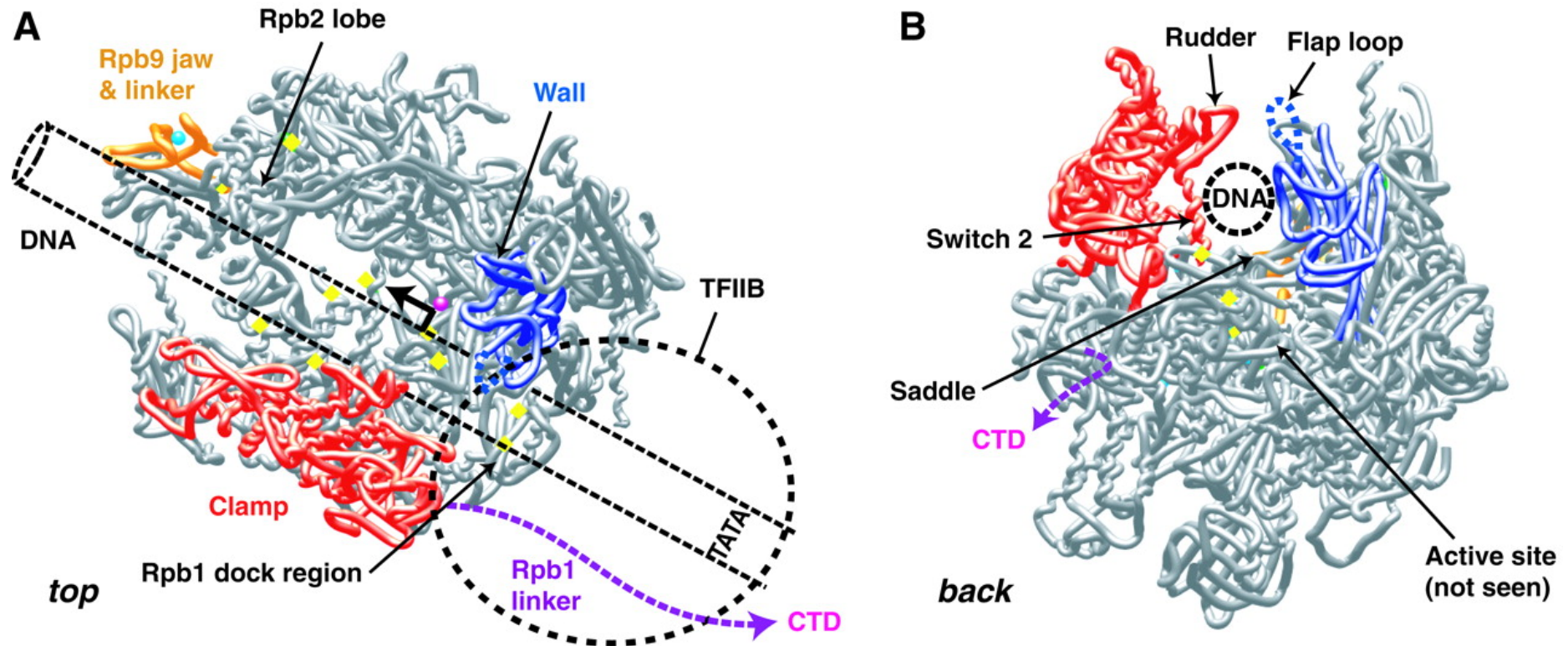


Figure 10. Proposed path for straight DNA in an initiation complex.

(A) Top view. A B-DNA duplex was placed as indicated by the dashed cylinder.

Rpb9 regions involved in start site selection are shown in orange.

The location of mutations that affect initiation or start site selection are marked in yellow.

The presumed location of general transcription factor TFIIB in a preinitiation complex is indicated by a dashed circle.

(B) Back view. DNA may pass through the enzyme over the saddle between the wide open clamp (red) and the wall (blue).

The circle corresponds in size to a B-DNA duplex viewed end-on.

RNA πολυμεράση II

- Συνθέτει 5S rRNA (ένα γονίδιο)
tRNA (τα γονίδιά τους περιέχουν ιντρόνια)
snRNAs (τροποποιήσεις σε βάσεις, κυρίως U)
- Τρεις κατηγορίες προαγωγών
καθοδικά από το σημείο έναρξης
- Η διαδικασία ελέγχεται από γενικούς παράγοντες
μεταγραφής (TFIIIA, B, C, κλπ)
- Τερματισμός ανάλογος με προκαρυωτική RNAP

Ο τερματισμός της μεταγραφής

Βασικές διαφορές μεταγραφής μεταξύ προκαρυωτικών - ευκαρυωτικών οργανισμών

Προκαρυωτικοί

Μία RNA πολυμεράση

Απευθείας δέσμευση της πολυμεράσης στον προαγωγό

Οπερόνια

Απλή σχετικά δομή προαγωγών

Ευκαρυωτικοί

Τρεις RNA πολυμεράσες (RNAP)
RNAP I, RNAP II, RNAP III

Σύνδεση RNAP στον προαγωγό μέσω ενός μεγάλου αριθμού μεταγραφικών παραγόντων.

Μονοκιστρονικά μόρια mRNA

Πολύπλοκη δομή προαγωγών/
cis-δραστικών στοιχείων

Αλληλουχία TATA (θέση -29)

Αλληλουχίες GGC GG/CCAAT

Ωρίμανση RNA



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1959

"for their discovery of the mechanisms in the biological synthesis of ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid"



Severo Ochoa

1/2 of the prize

USA

New York University,

College of Medicine New York, NY, USA

b. 1905 (in Luarca, Spain) d. 1993



Arthur Kornberg

1/2 of the prize

USA

Stanford University Stanford,

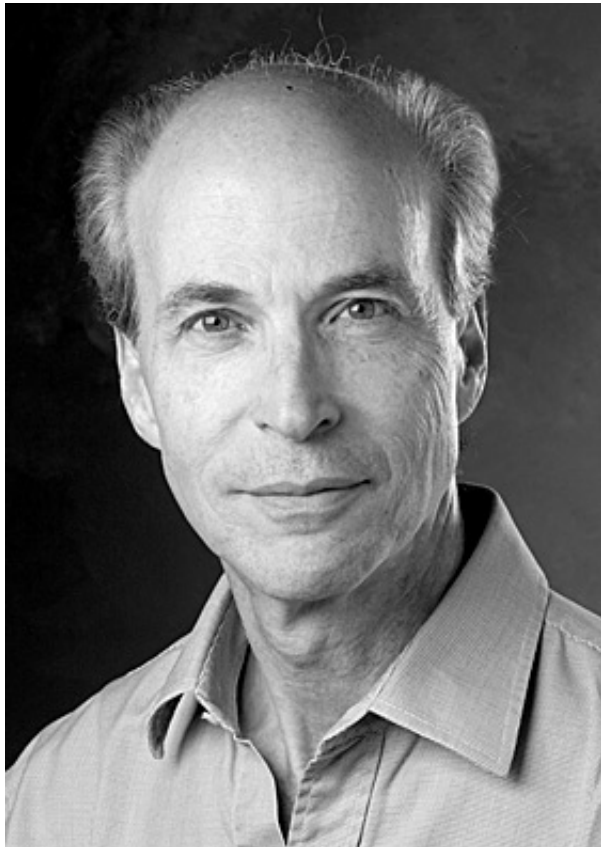
CA, USA

b. 1918 d. 2007

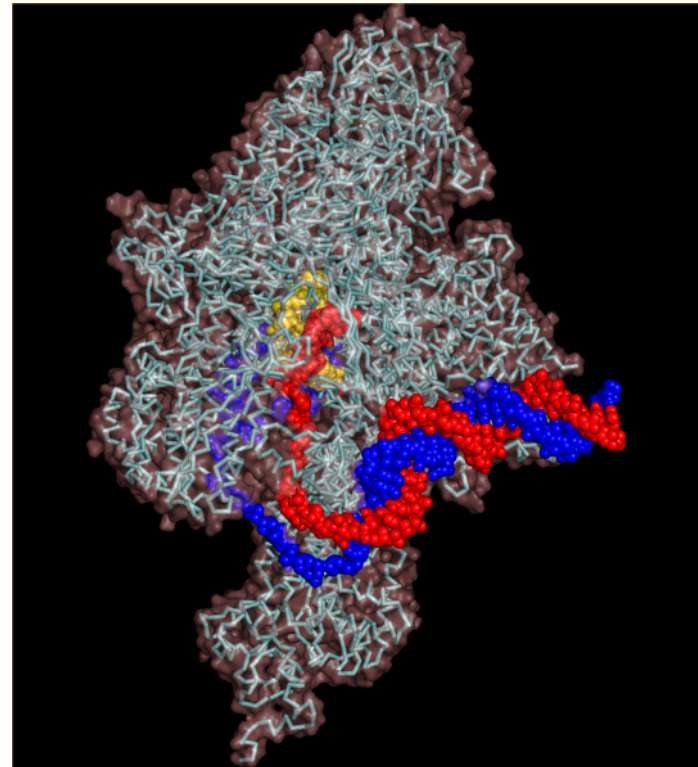


The Nobel Prize in Chemistry 2006

"for his studies of the molecular basis of eukaryotic transcription".



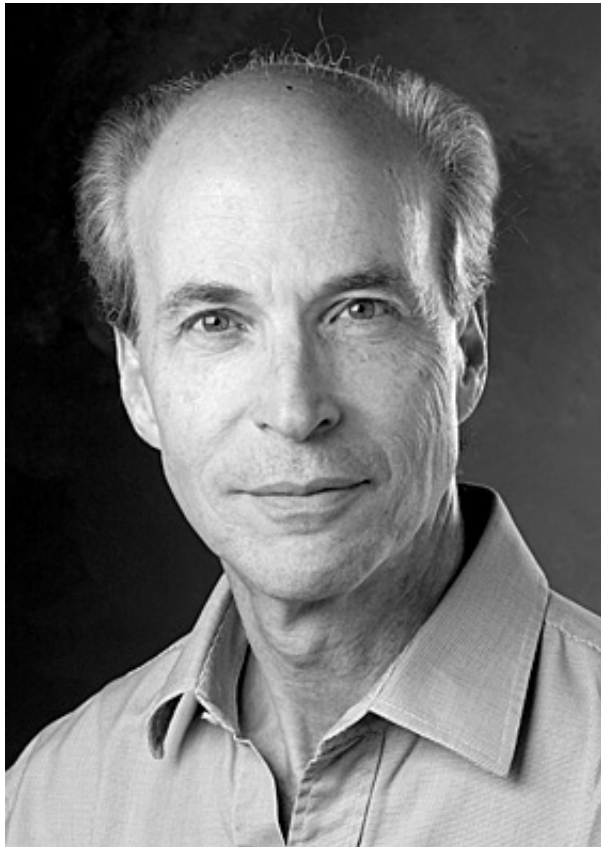
Roger D. Kornberg
Stanford University, USA
1947 -





The Nobel Prize in Chemistry 2006

"for his studies of the molecular basis of eukaryotic transcription".

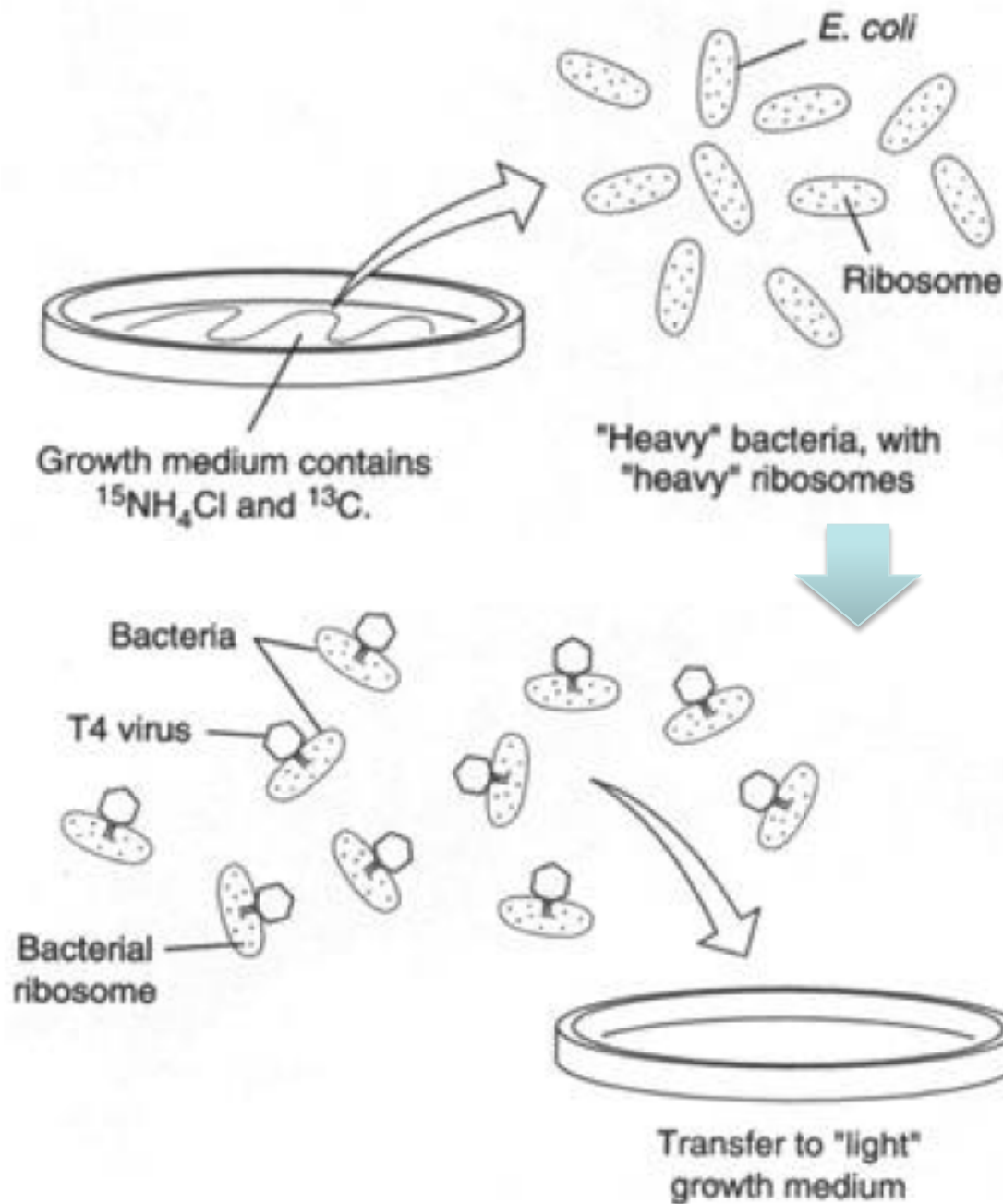


Roger D. Kornberg
Stanford University, USA
1947 -



Kornberg RD, Kornberg A

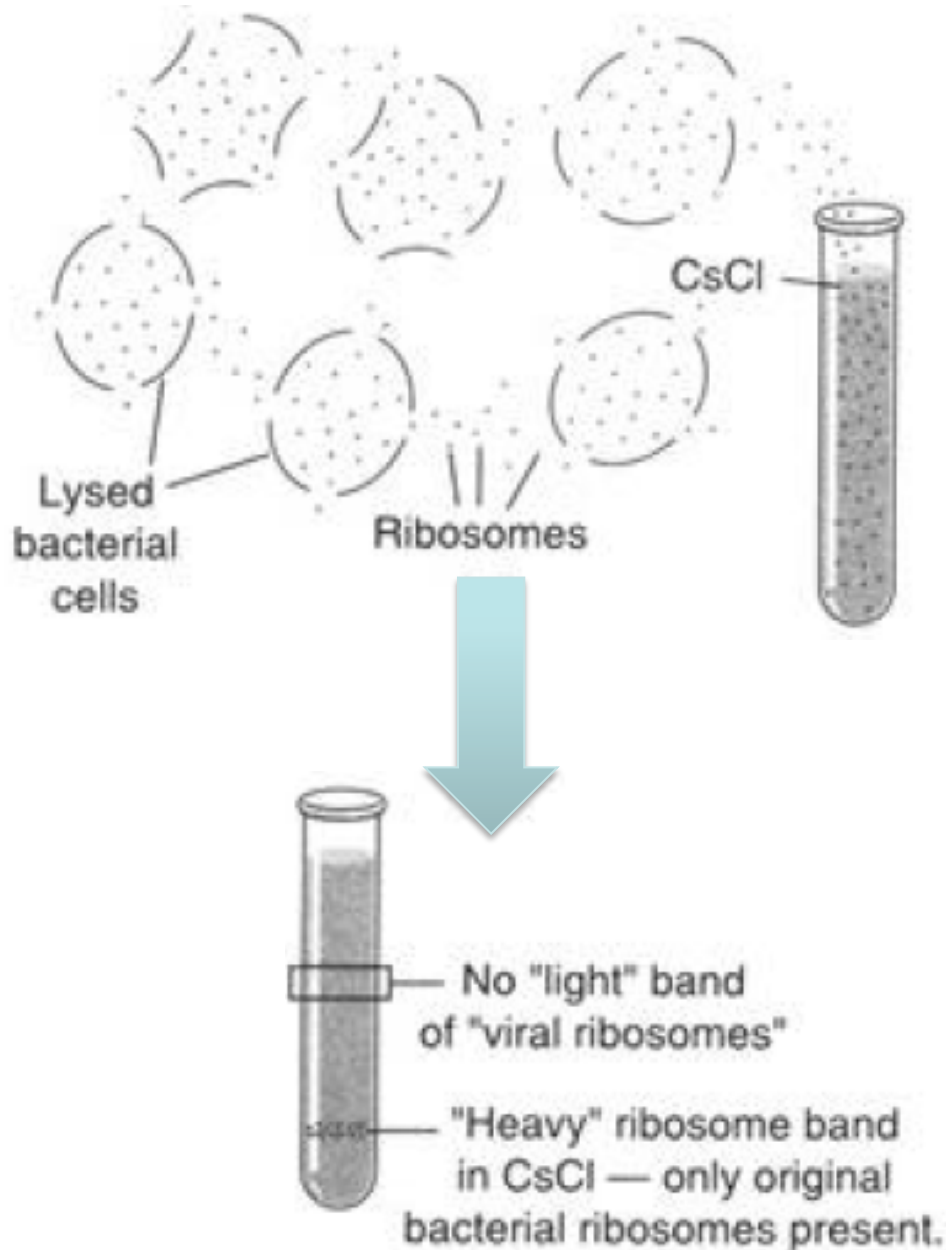
The (re)discovery of mRNA



- 1 Bacteria grow for several generations on heavy-isotope-laden media, yielding "heavy"-labeled bacteria.

- 2 Bacteria infected with T4 virus, which destroys bacterial DNA, and substitutes viral DNA. Bacterial cells are simultaneously transferred to a "light" (non-heavy-isotope-labeled) medium.

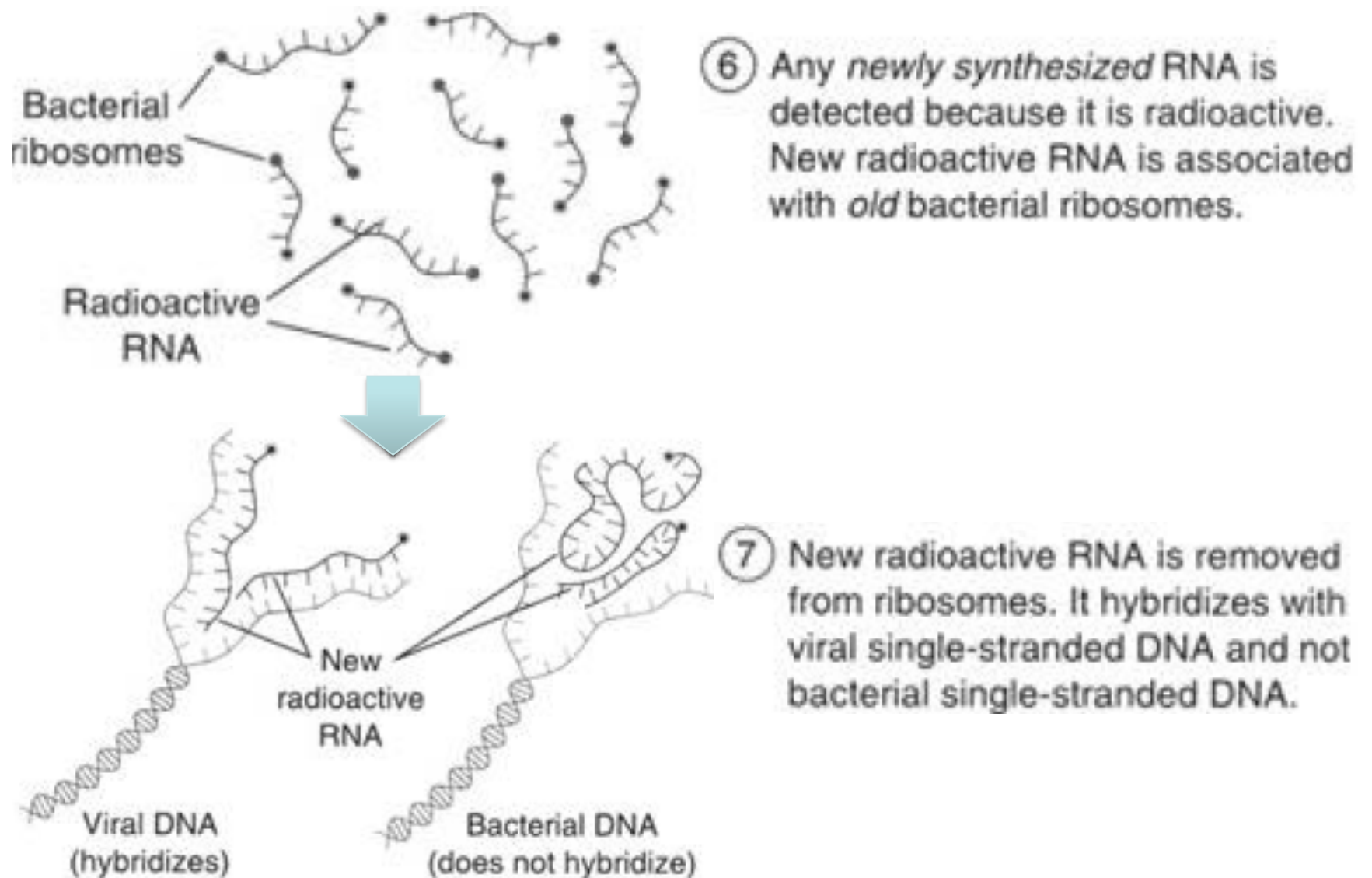
The (re)discovery of mRNA



④ Bacteria lysed and ribosomes centrifuged on a CsCl gradient.

⑤ Only heavy ribosomes were present after centrifugation.

The (re)discovery of mRNA



Brenner S, Jacob F., Meselson M.

An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis.

Nature 1961; 190: 576-581.

REVIEW ARTICLE

**Genetic Regulatory Mechanisms in the Synthesis
of Proteins †**

FRANÇOIS JACOB AND JACQUES MONOD

*Services de Génétique Microbienne et de Biochimie Cellulaire,
Institut Pasteur, Paris*

(Received 28 December 1960)

The synthesis of enzymes in bacteria follows a double genetic control. The so-called structural genes determine the molecular organization of the proteins. Other, functionally specialized, genetic determinants, called regulator and operator genes, control the rate of protein synthesis through the intermediacy of cytoplasmic components or repressors. The repressors can be either inactivated (induction) or activated (repression) by certain specific metabolites. This system of regulation appears to operate directly at the level of the synthesis by the gene of a short-lived intermediate, or messenger, which becomes associated with the ribosomes where protein synthesis takes place.

DNA-like RNA, or The discovery of mRNA

Phosphorus Incorporation in *Escherichia coli* Ribonucleic Acid after Infection with Bacteriophage T2¹

ELLIOT VOLKIN AND L. ASTRACHAN

(With the technical assistance of Martha Helen Jones)

Biology Division, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, Tennessee

Accepted January 17, 1956

Incorporation of medium phosphorus into RNA of T2r⁺-infected *Escherichia coli* has been demonstrated in a manner that reduces the contribution from uninfected bacteria to an insignificant level, and which unambiguously identifies such phosphorus with RNA phosphorus. In nutrient broth cultures containing P³²O₄, accumulation of labeled RNA takes place very shortly after infection with phage and then stops, whereas with P³²O₄ in synthetic medium accumulation of labeled RNA continues almost linearly for at least 60 minutes after infection. The unequal specific activities of the RNA mononucleotides isolated from alkaline hydrolyzates of RNA requires a heterogeneous uptake of the phosphorus with respect to the total RNA phosphorus. Possible mechanisms to explain the data have been presented.

VIROLOGY 2, 149-161 (1956)

DNA-like RNA, or The discovery of mRNA

Metabolism of RNA Phosphorus in *Escherichia coli* Infected with Bacteriophage T7

ELLIOT VOLKIN, L. ASTRACHAN, AND JOAN L. COUNTRYMAN

Biology Division, Oak Ridge National Laboratory,¹ Oak Ridge, Tennessee

Accepted July 9, 1958

Following infection of *Escherichia coli* B with bacteriophage T7, the ribonucleic acid phosphorus of the host undergoes metabolic turnover in the absence of measurable net synthesis of ribonucleic acid (RNA), the T7-infected cell being similar in this respect to the T2-infected host. The distribution of isotope (P^{32}) into the RNA mononucleotides is not uniform, but is characterized by somewhat higher specific radioactivities associated with adenylic and uridylic acids than with cytidylic and guanylic acids. This pattern of RNA nucleotide labeling differs from that observed with uninfected bacteria or T2-infected bacteria. As in the T2 system, however, the specific activity ratios of the RNA mononucleotides bear a striking resemblance to the molar composition of the analogous deoxynucleotides in T7 deoxyribonucleic acid (DNA).



Elliot Volkin



Lazarus Astrachan



<http://www.mfpl.ac.at/rna-biology/wp-content/uploads/2012/03/RNA-BIOLOGY-WALLPAPER.png>