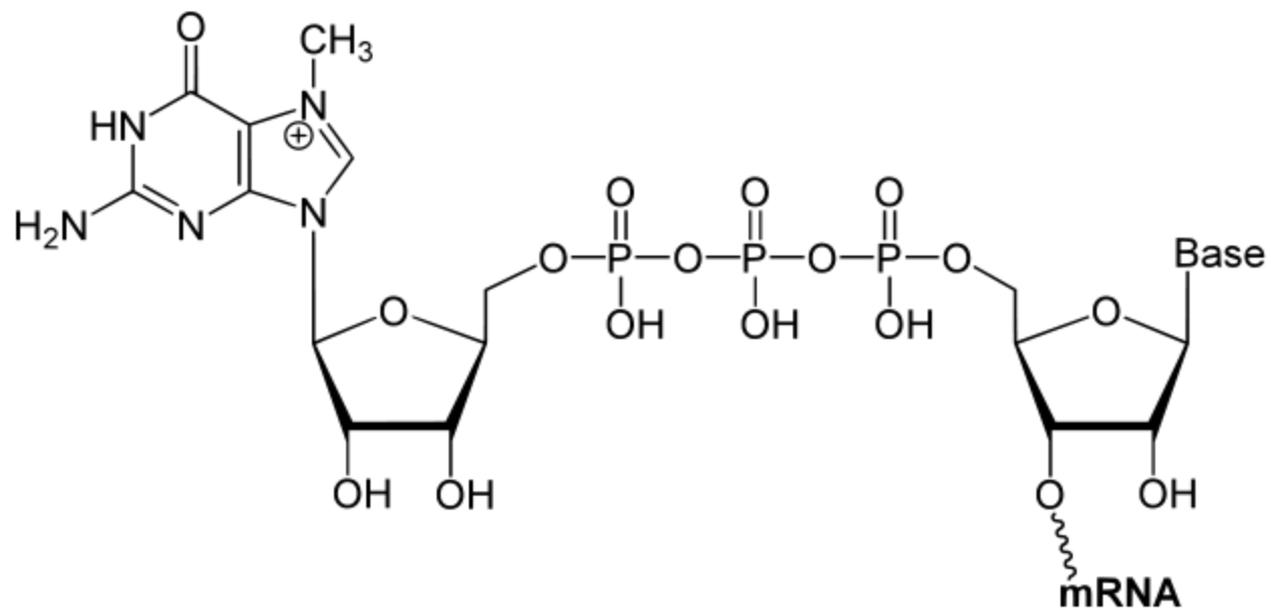


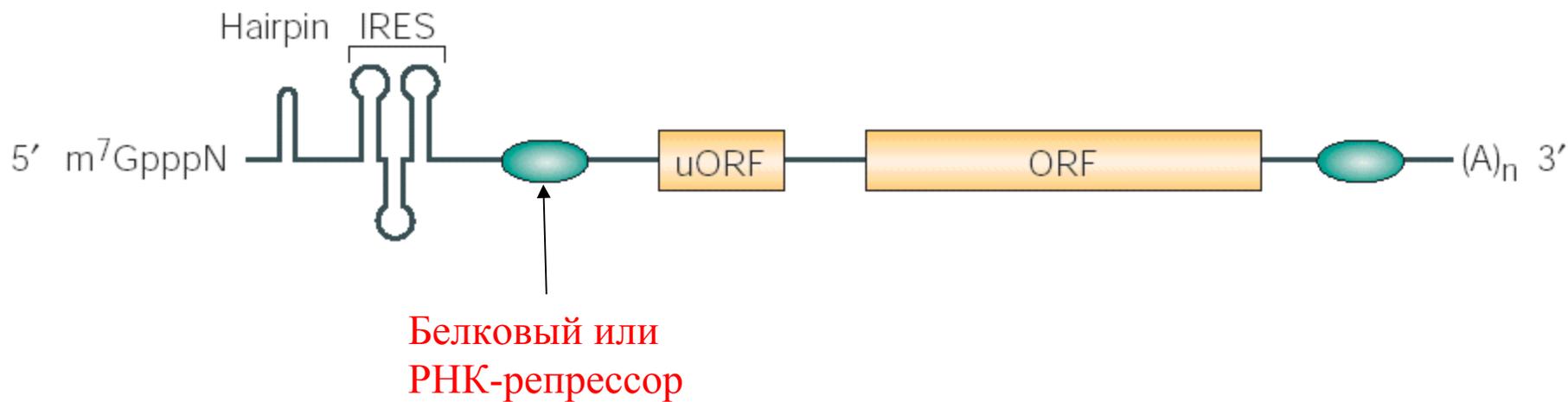
## Общие свойства эукариотических мРНК

1. Большинство мРНК у эукариот – моноцистронны, то есть имеют единственный стартовый кодон для трансляции соответствующего полипептида. Лишь немногие мРНК имеют более одного стартового кодона. Они, как правило, отстоят недалеко друг от друга и находятся в одной рамке считывания.
2. Все клеточные мРНК и мРНК ДНК-содержащих вирусов имеют на своем 5'-конце кеп-структуру.
3. Почти все имеют на 5'-конце поли(А) хвост.
4. мРНК, особенно у многоклеточных, отличаются поразительным разнообразием в структуре своих 5'- и 3'-нетранслируемых областей (5'- и 3'-НТР). Длина последних может значительно превосходить размер транслируемой части мРНК.

# Кеп – структура эукариотических мРНК

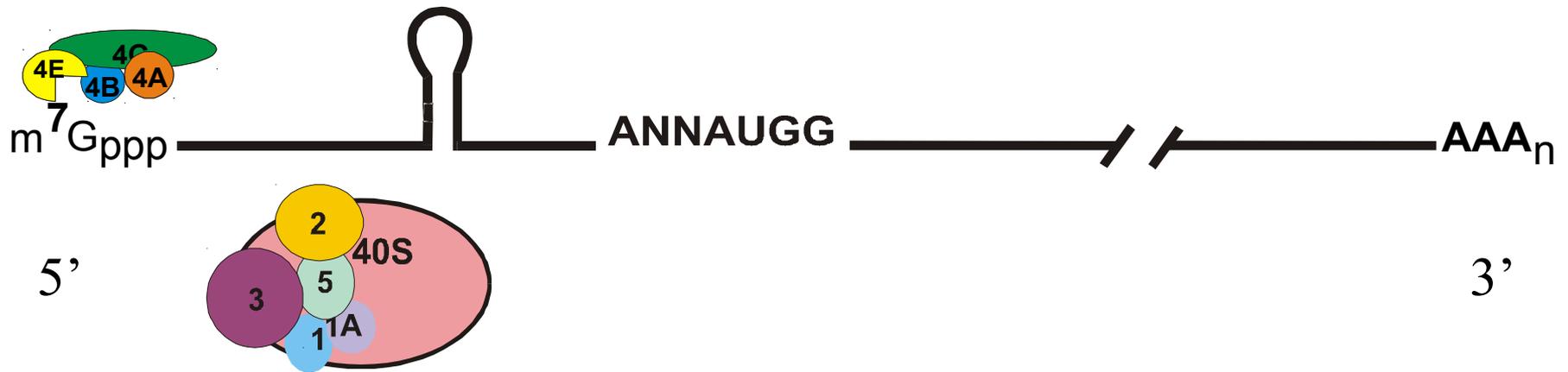


## Структурные элементы, которые влияют на трансляцию эукариотических мРНК



# Механизм первичного связывания мРНК в клетках эукариот

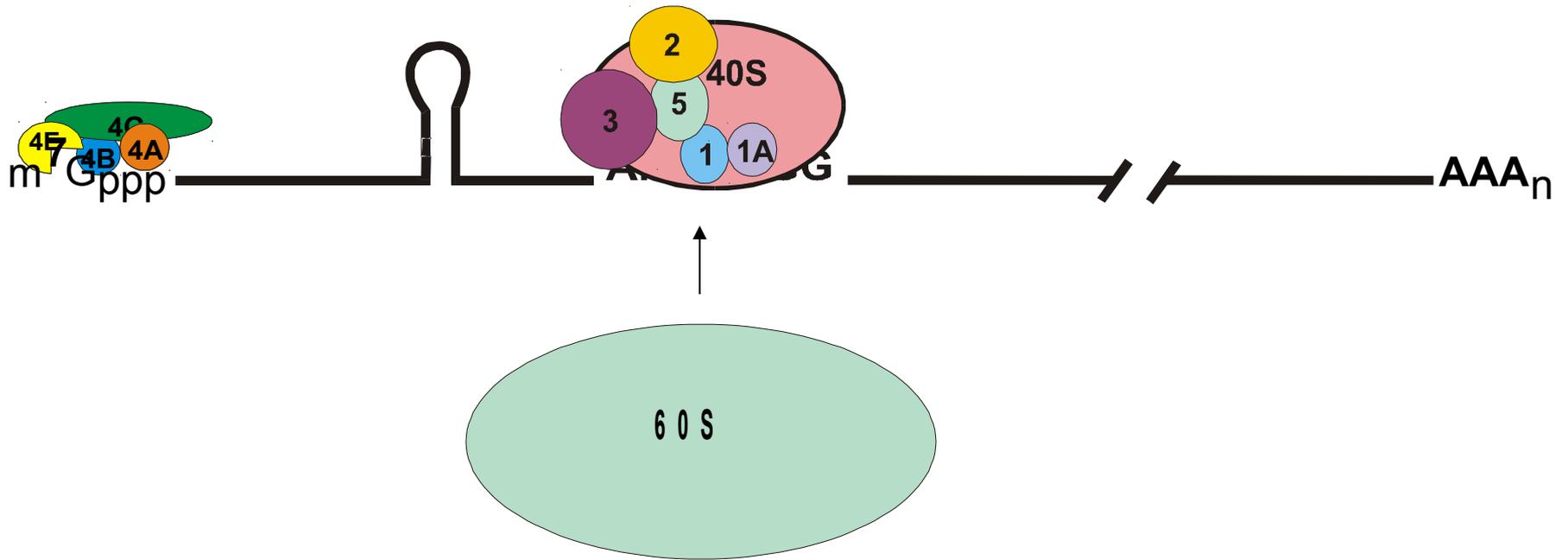
Кеп-зависимый механизм



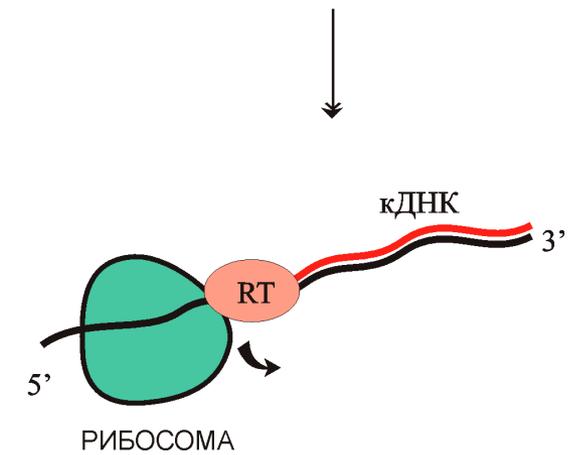
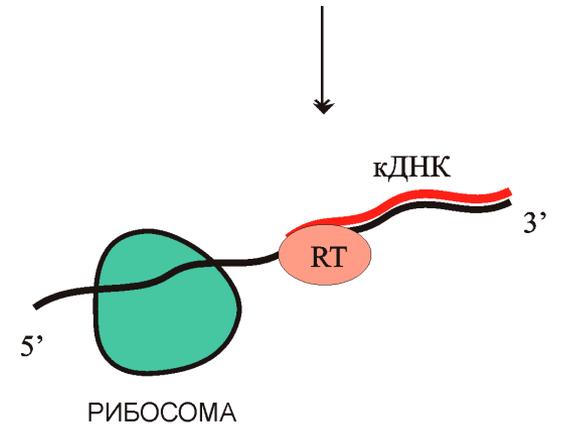
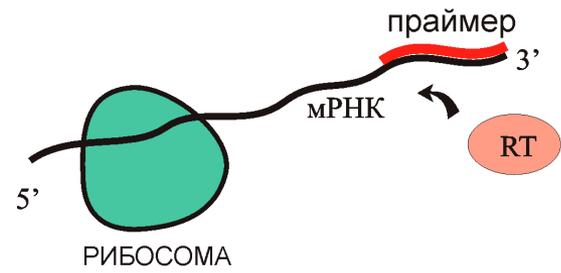
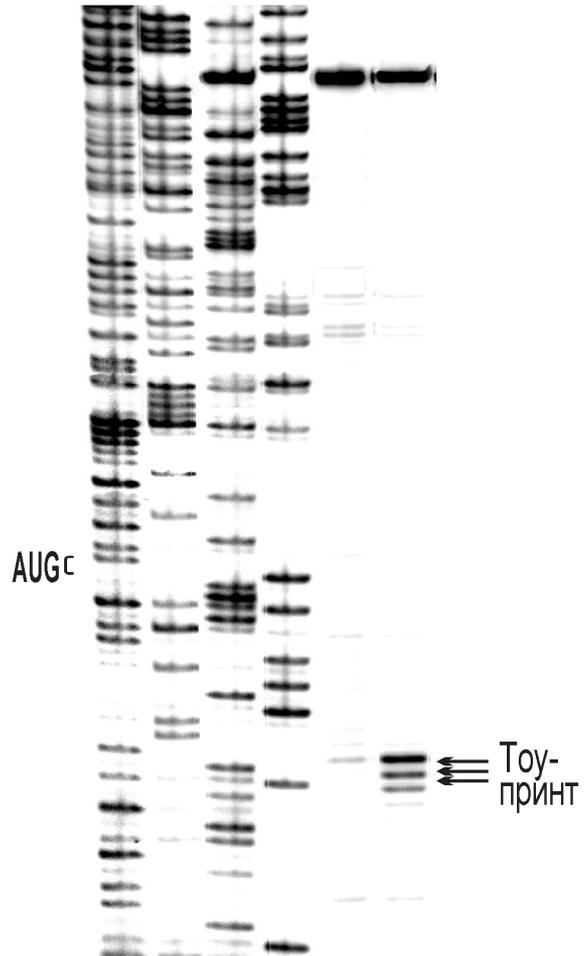




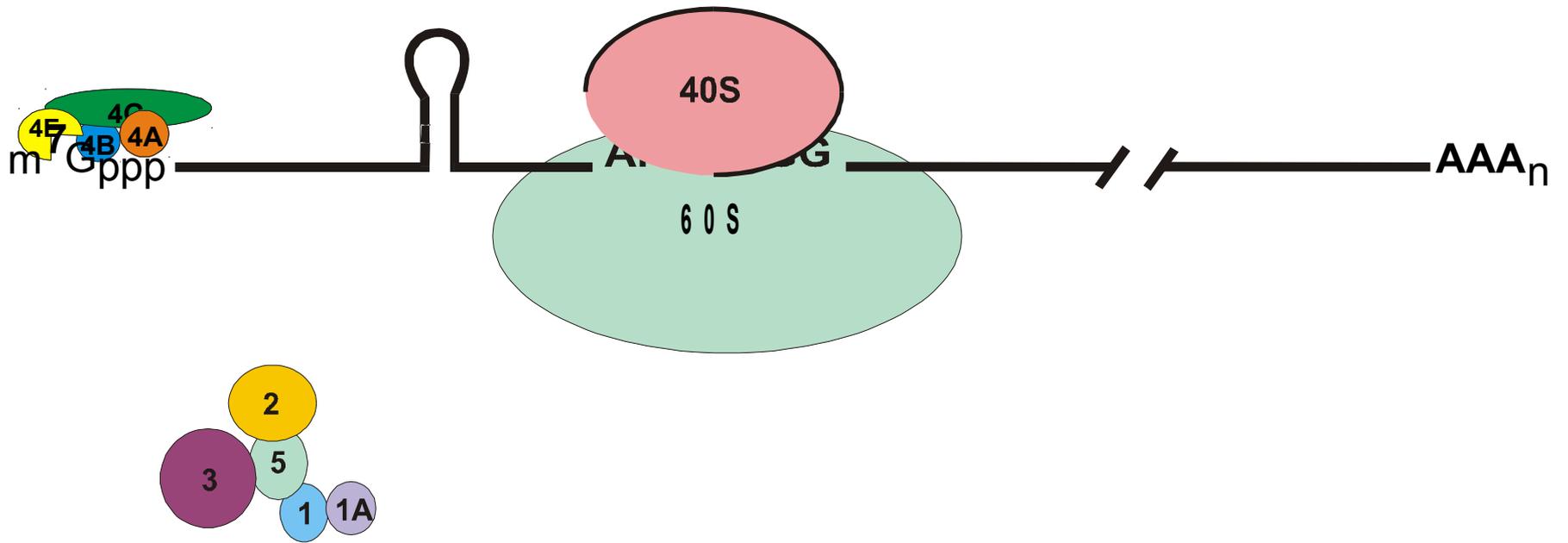
# 48S complex

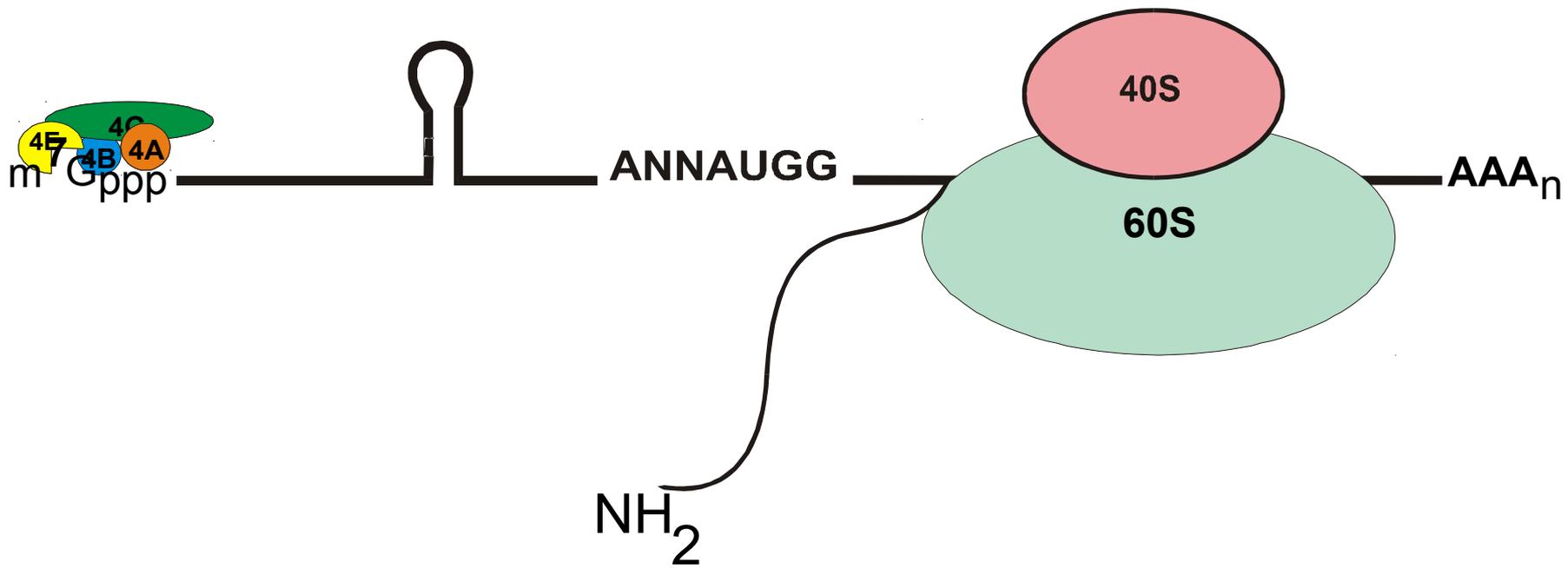


# Методика тупринтинга

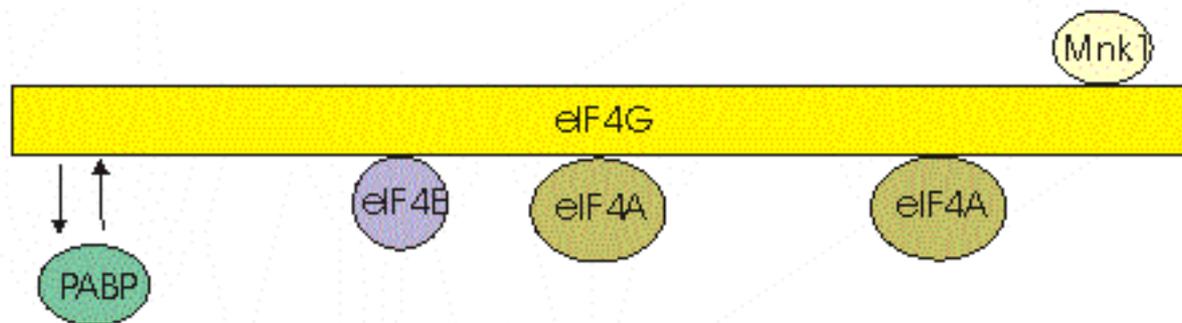


# 80S complex



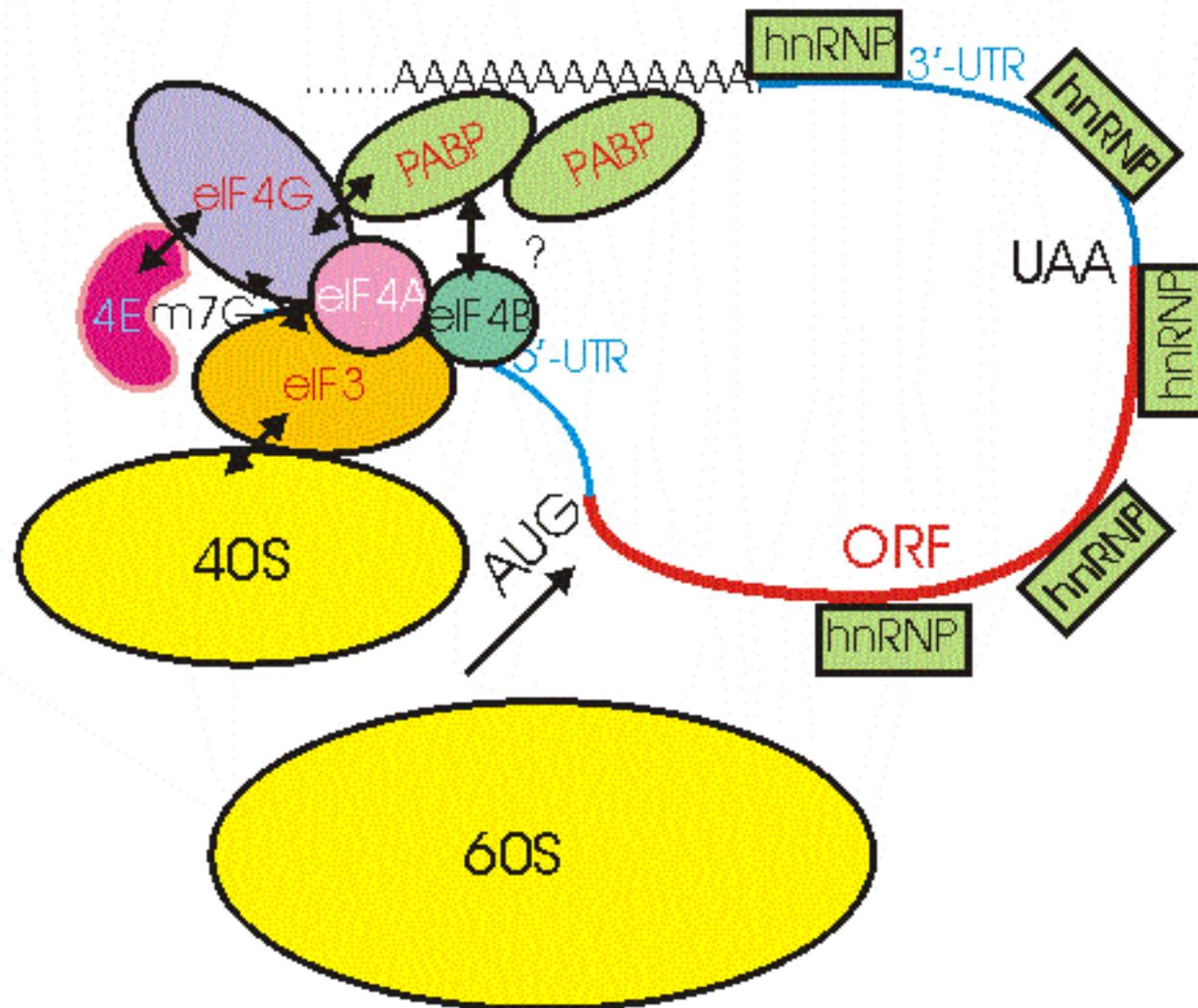


## Схема строения иницирующего комплекса eIF4F

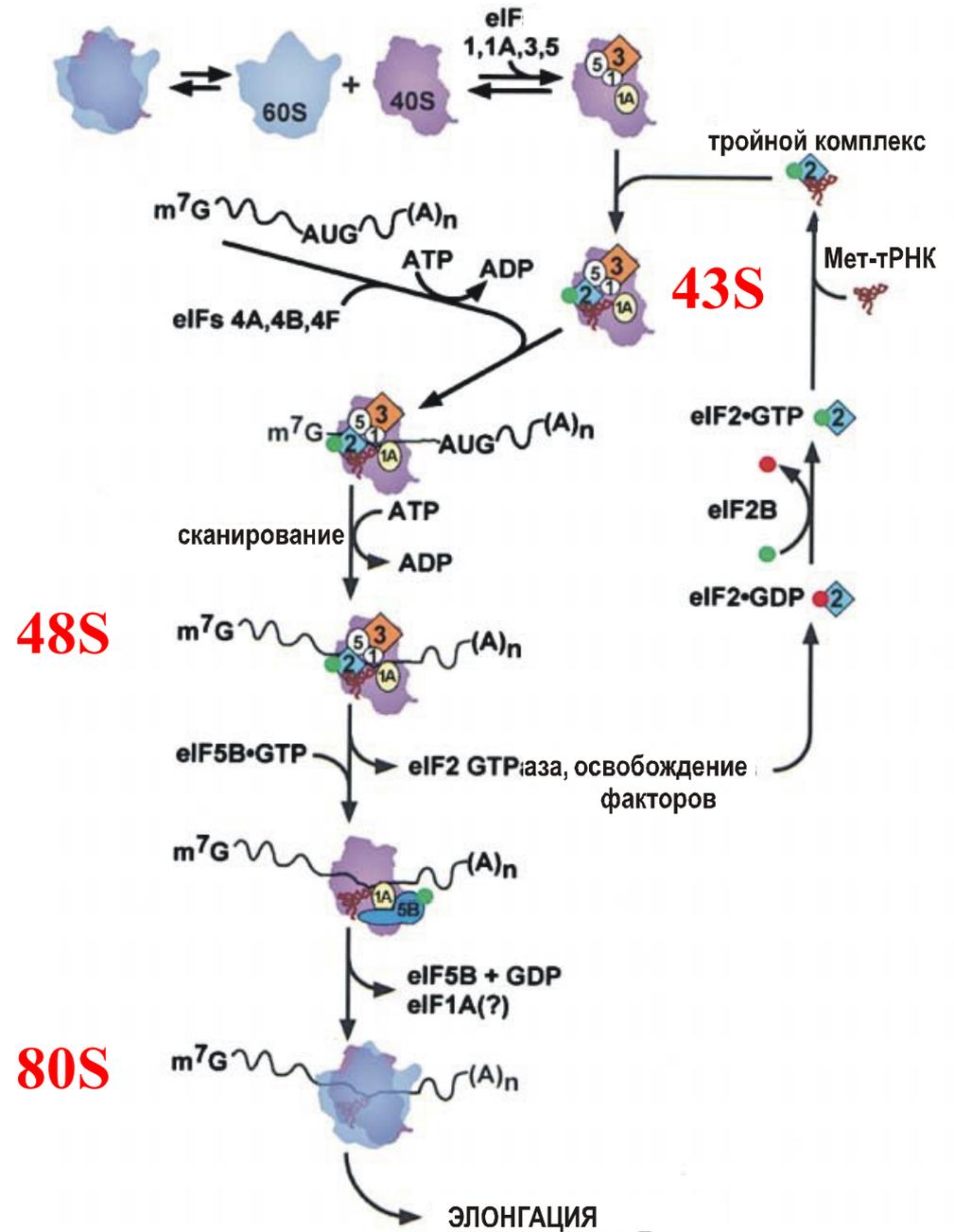


- PABP- poly(A) binding protein
- eIF4E - cap binding subunit of eIF4F
- eIF4A - RNA-helicase
- Mnk 1 - kinase, phosphorylating eIF4E
- eIF4G - scaffolding subunit of eIF4F

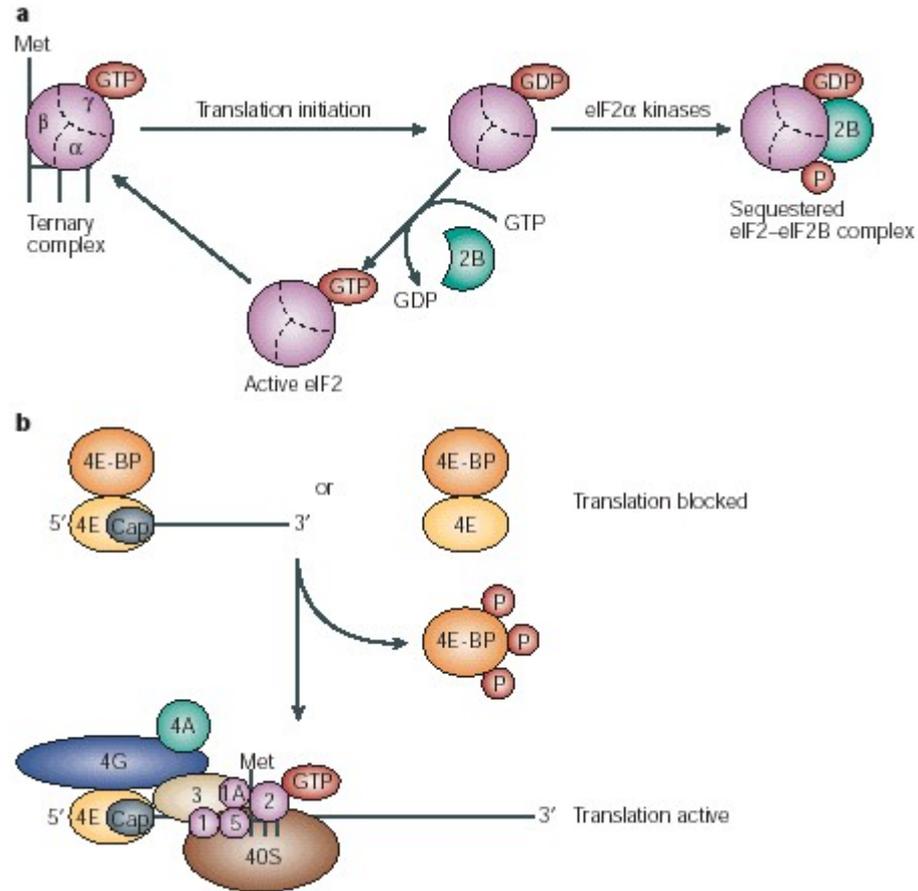
мРНК функционирует в эукариотической трансляции в виде кольцевого мРНИП



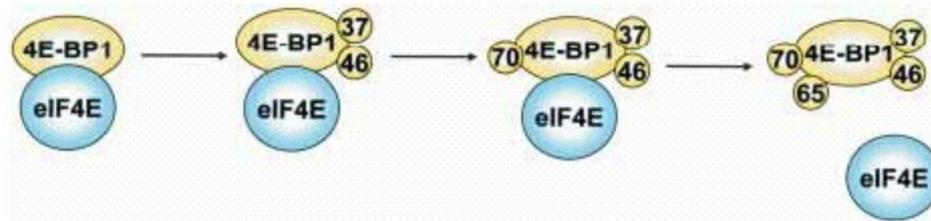
# Схема инициации трансляции у эукариот



# Глобальная регуляция белкового синтеза у эукариот, осуществляемая через иницирующие факторы eIF2 (a) или eIF4E (b)

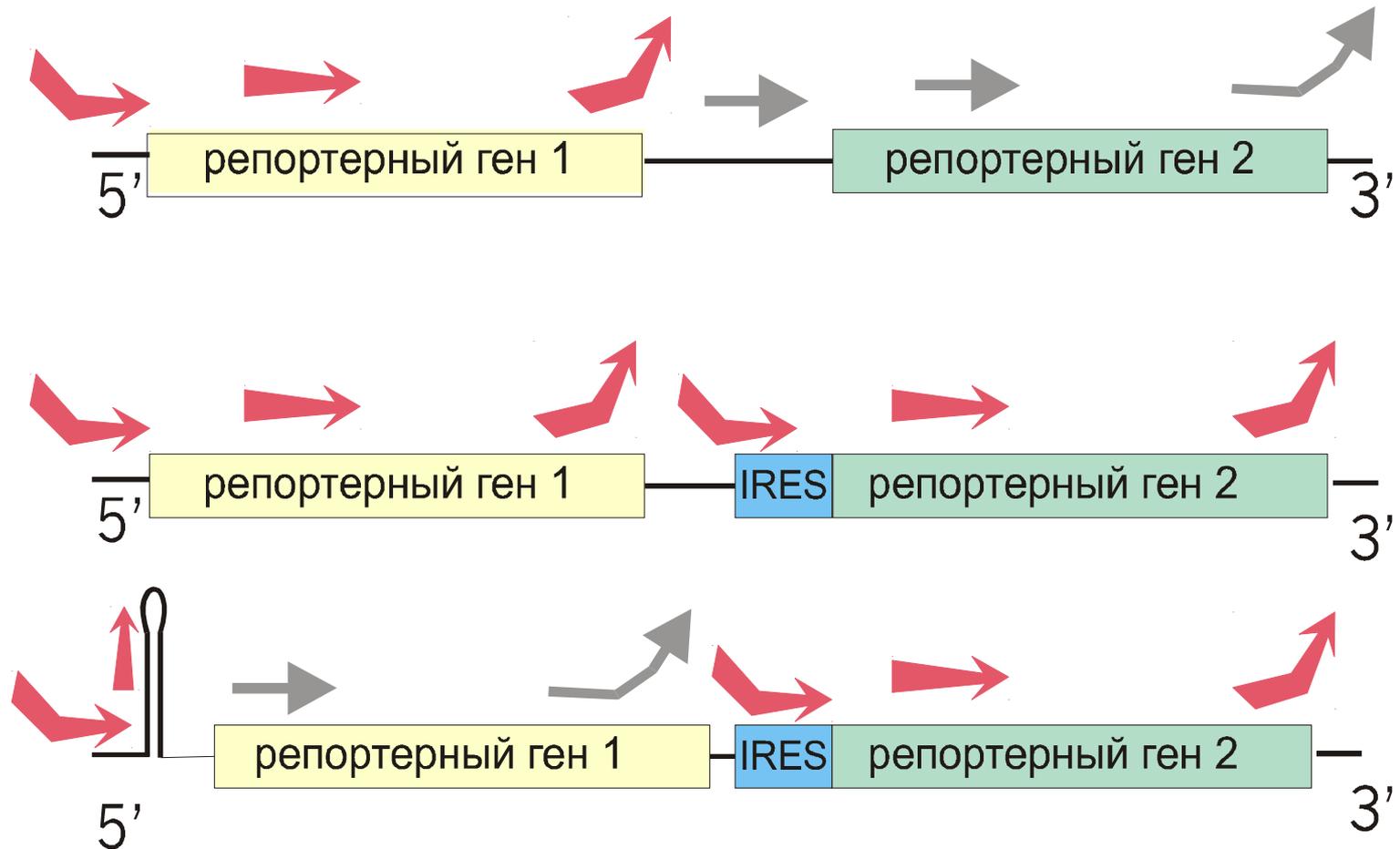


Фосфорилирование трансляционного репрессора 4E-ВР1 приводит к его отсоединению от фактора eIF4E. Фосфорилирование 4-х участков на 4E-ВР1 киназой mTOR происходит последовательно.

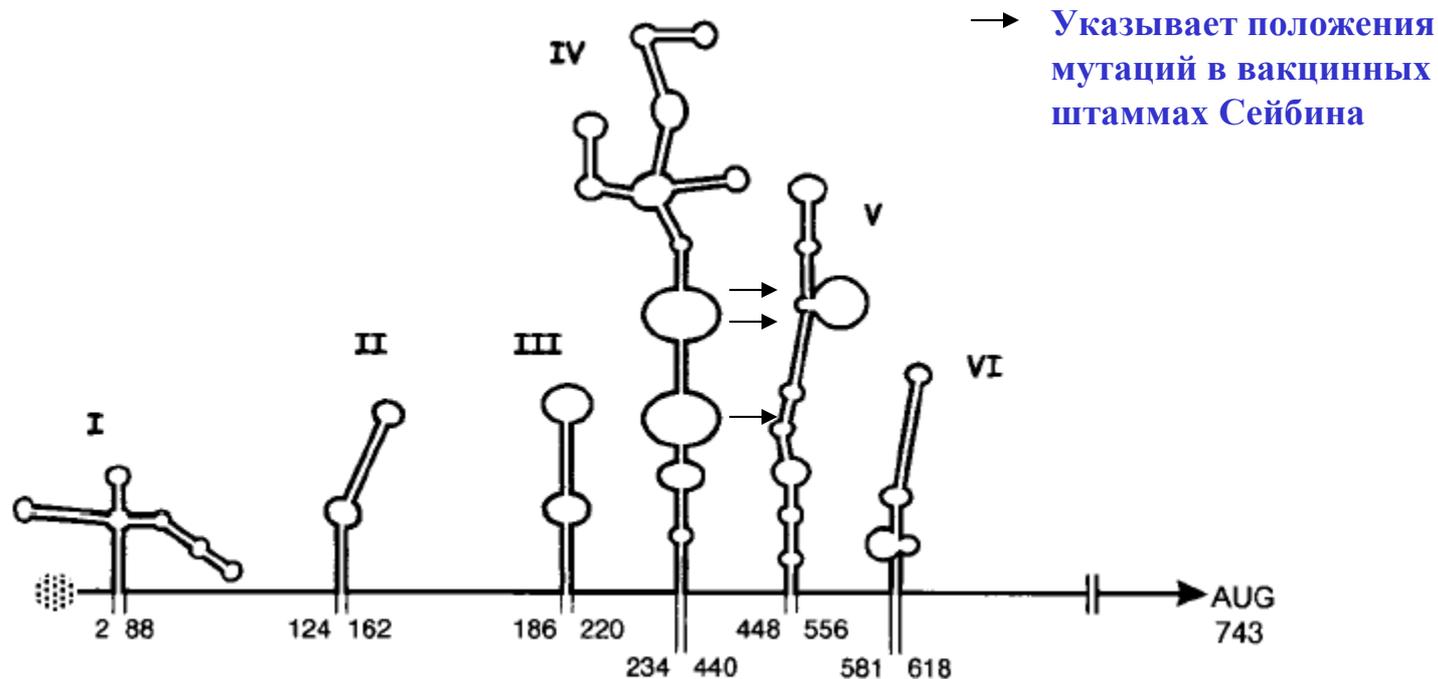


# Неканоническая инициация трансляции на эукариотических мРНК

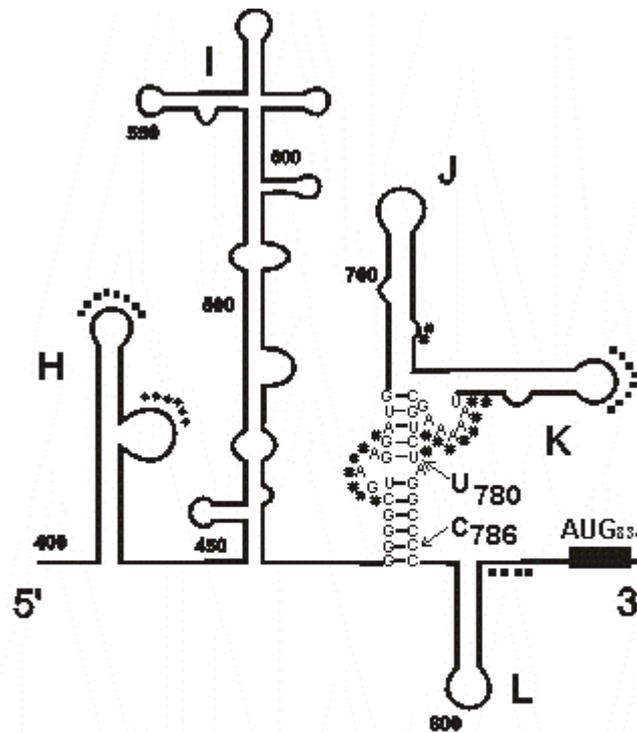
# Метод бицистронных конструкций для идентификации IRES-элементов



## Вторичная структура 5'- НТР РНК полиовируса (энтеровирусы)

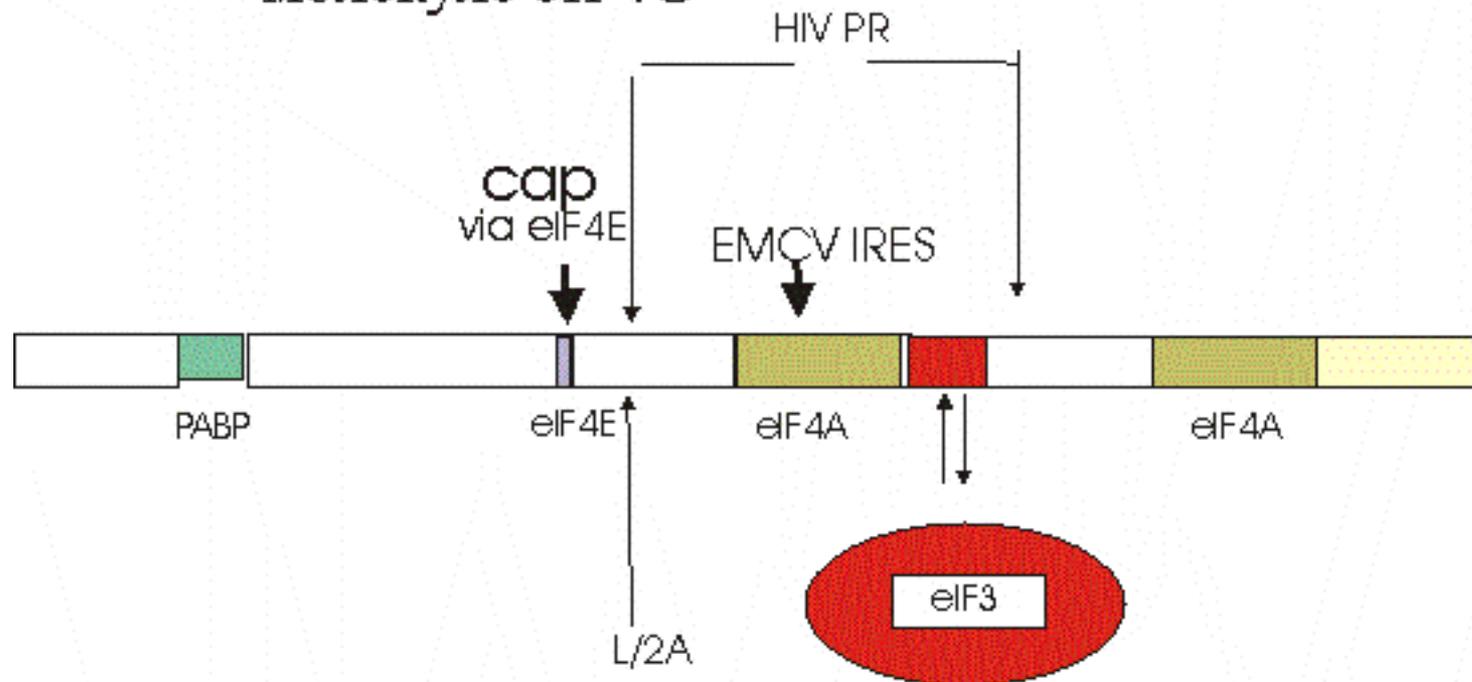


IRES-элемент РНК полиовируса включает домены II, IV, V и VI. Работает только при участии хозяйских мРНК-связывающих белков РТВ, РСВР2 и UNR.



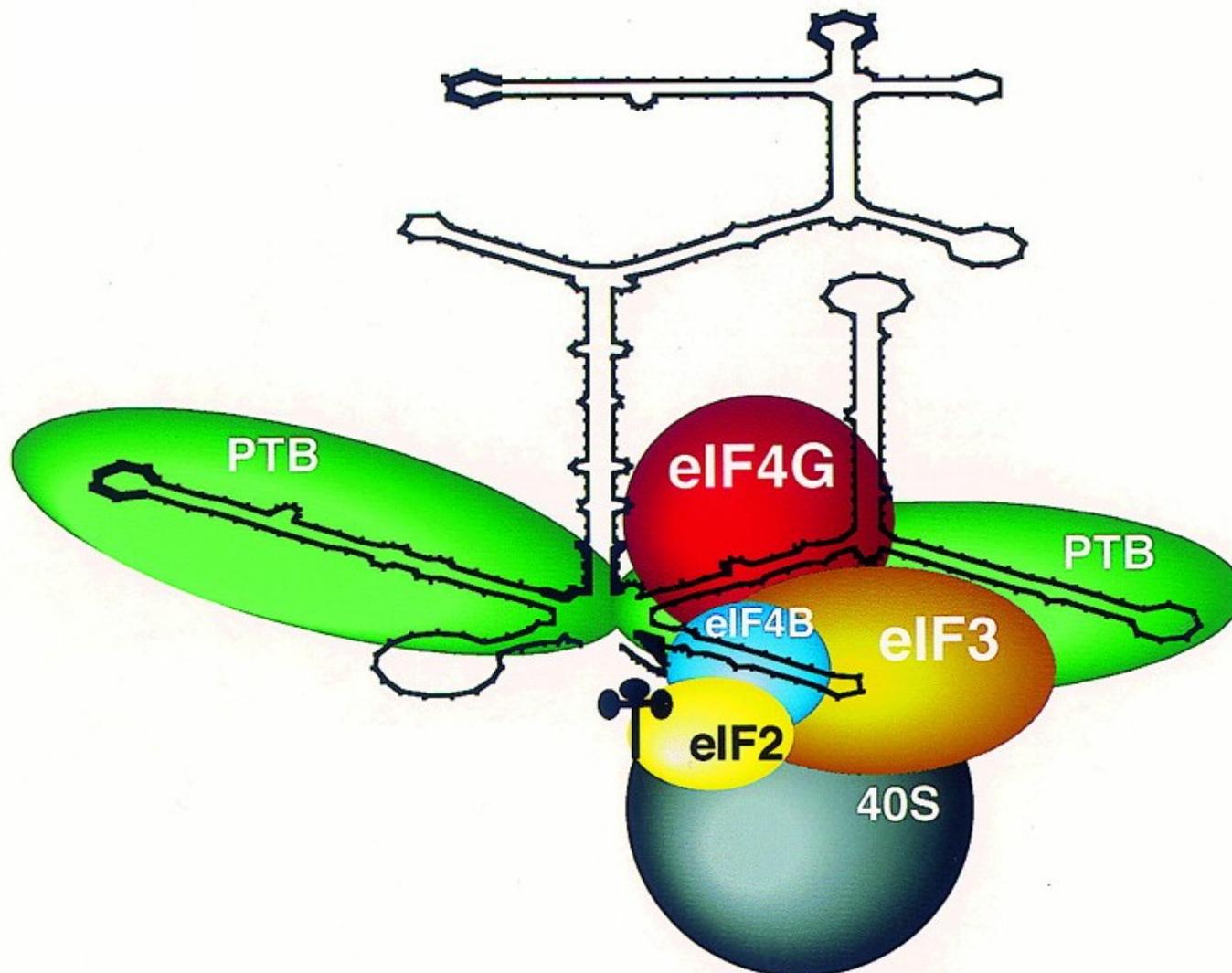
Схематическое изображение IRES-элемента РНК вируса энцефаломиокардита. Участки, защищаемые от химической модификации белком РТВ и фактором инициации eIF4G, показаны черными квадратиками и звездочками, соответственно.

## Расположение функциональных участков на молекуле eIF4G

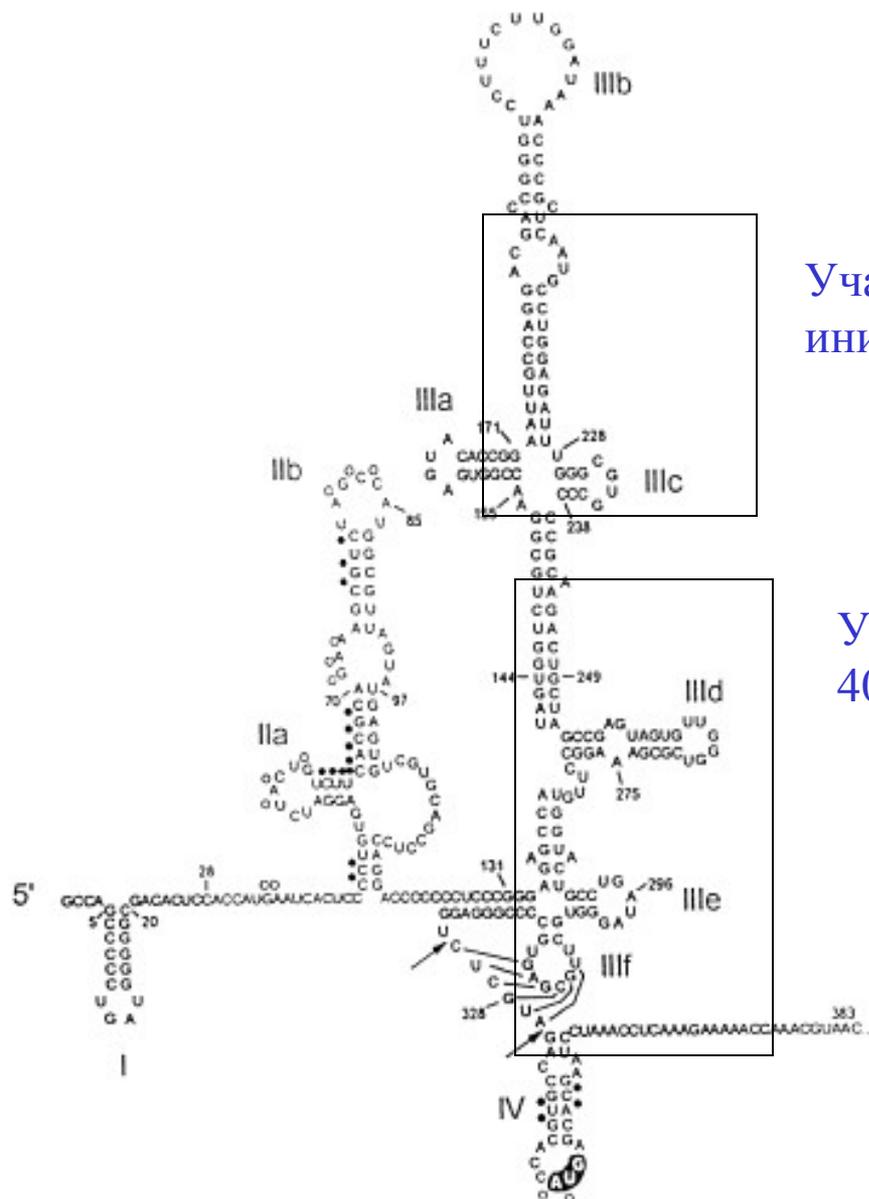


Стрелками указаны участок связывания фактора инициации eIF3 и места расщепления фактора eIF4G протеазами вируса ящура и полиовируса (соответственно, L и 2A), а также протеазой вируса HIV-1

**Трёхмерная структура IRES-элементов для РНК вируса энцефаломиокардита, вируса энцефаломиелита Тейлера и вируса ящура.**

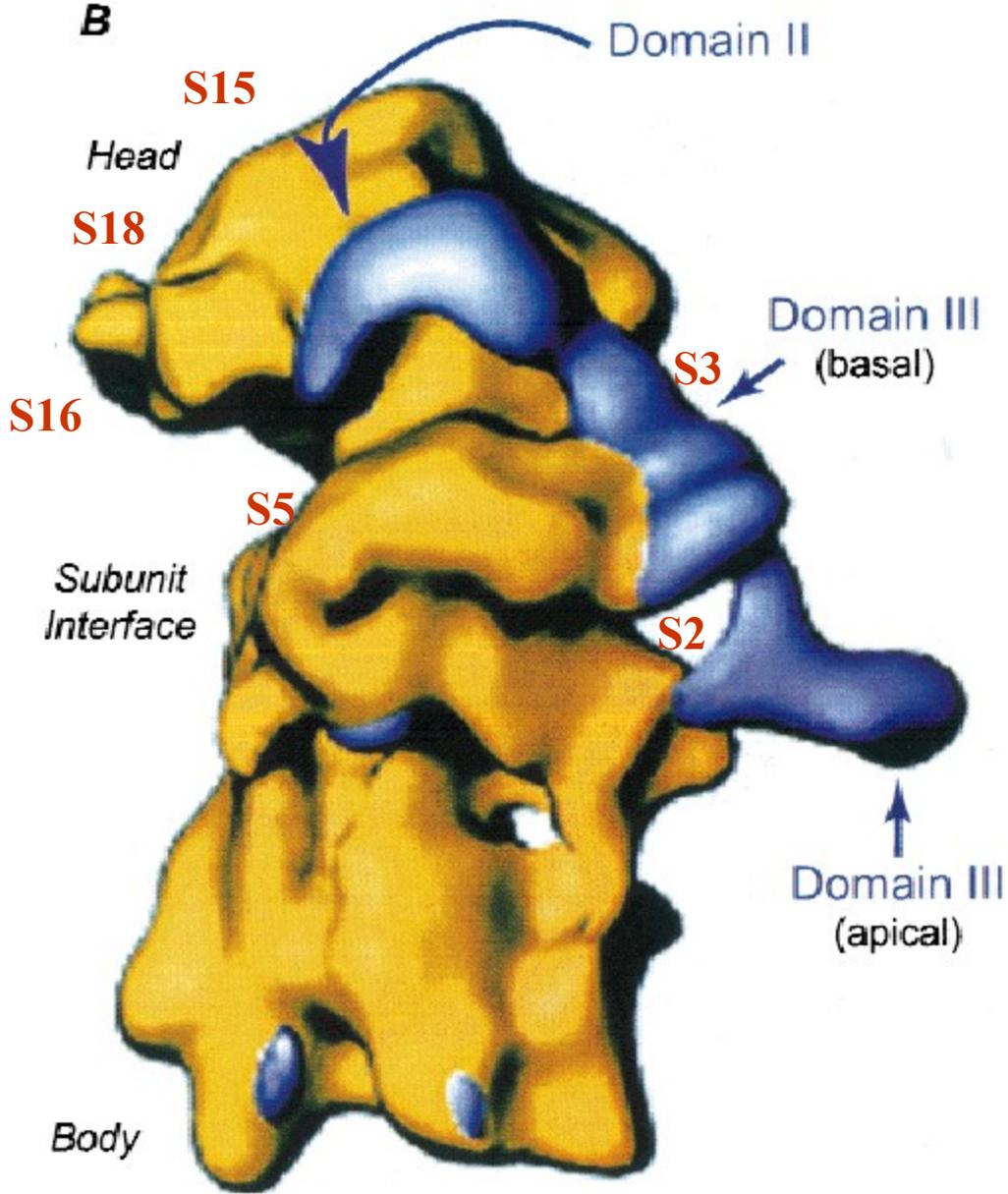


# Модель вторичной и третичной структуры 5'-НТР РНК вируса гепатита С



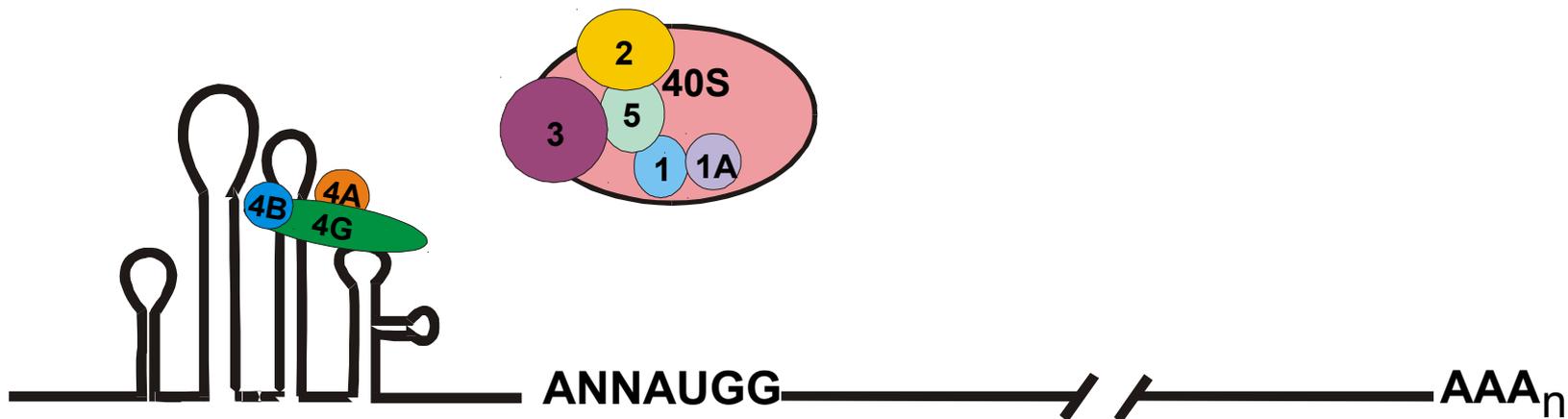
Участок связывания фактора инициации 3 (eIF3)

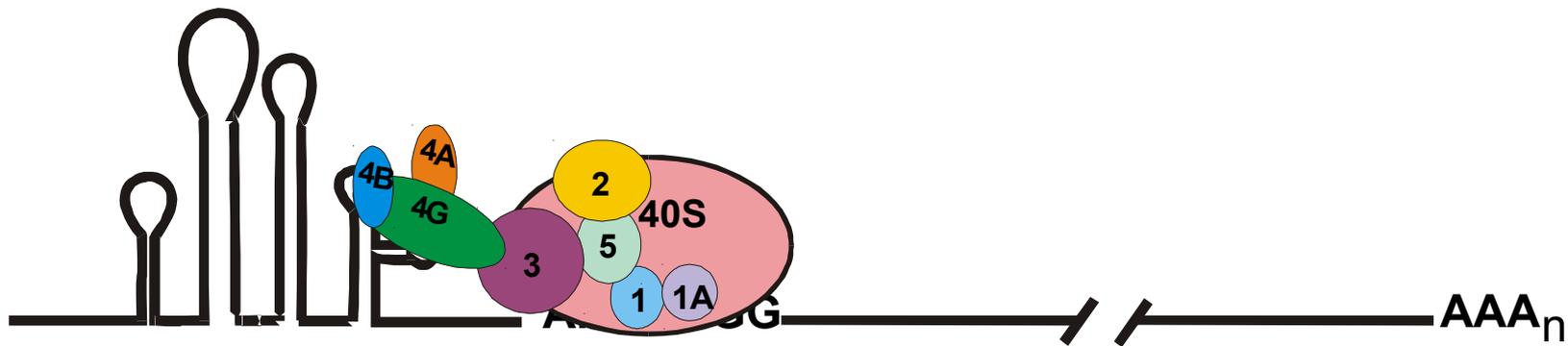
Участок связывания 40S рибосомной субчастицы

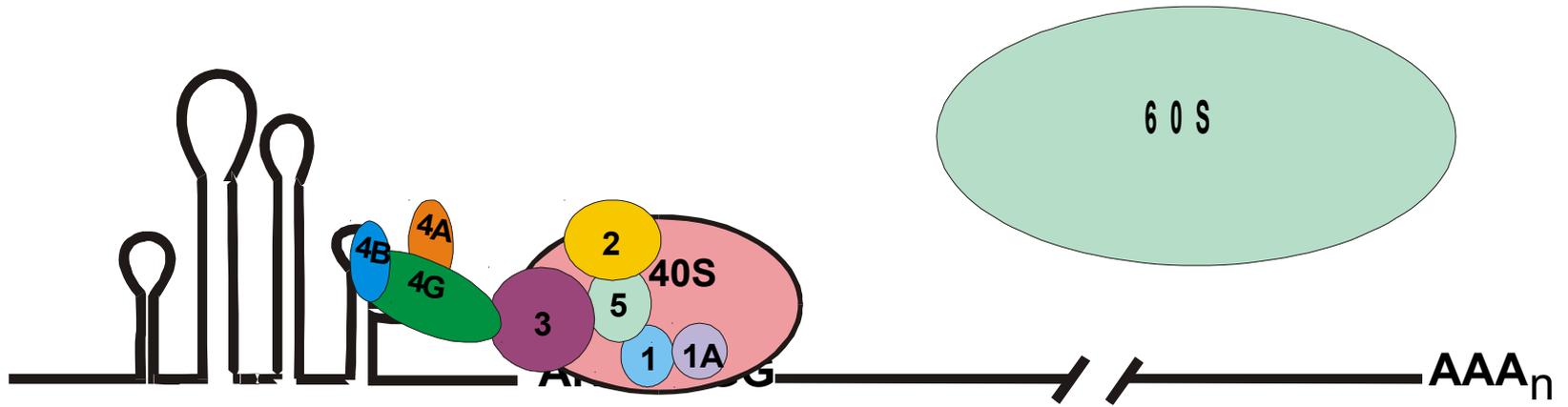


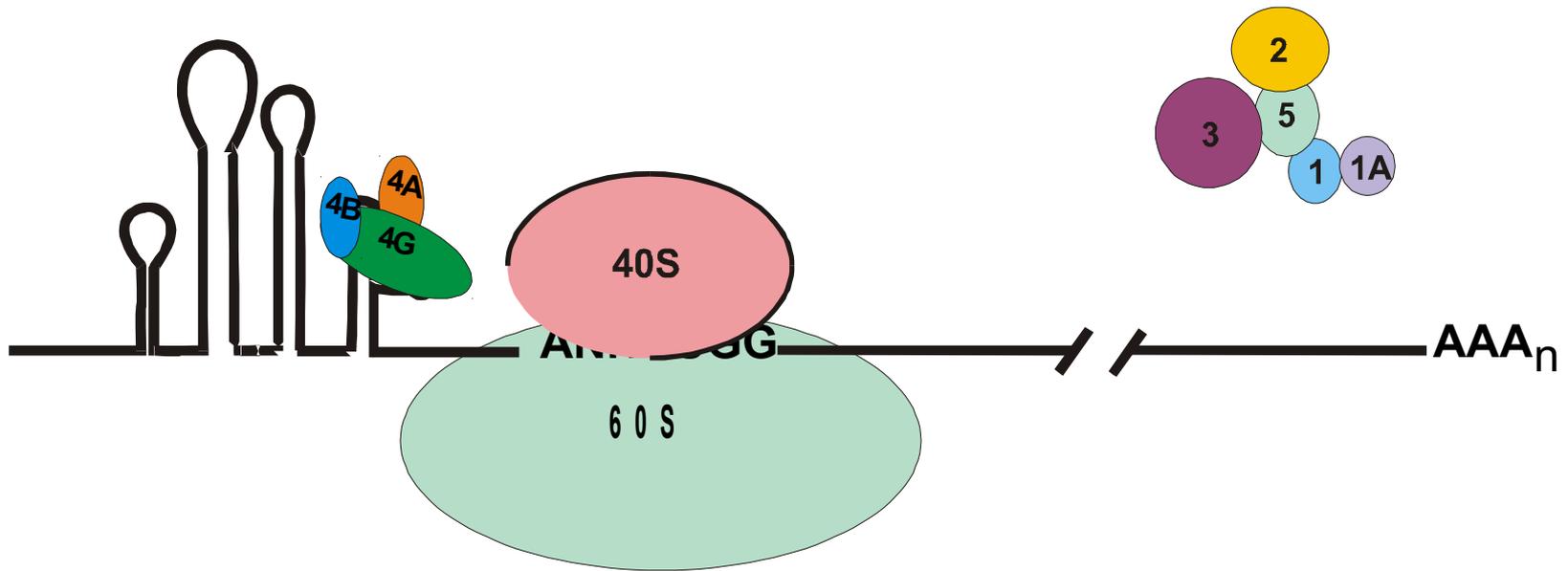
HCV IRES - rabbit 40S cryo-EM  
(E-site side view)

# Кеп-независимый механизм или внутренняя инициация трансляции

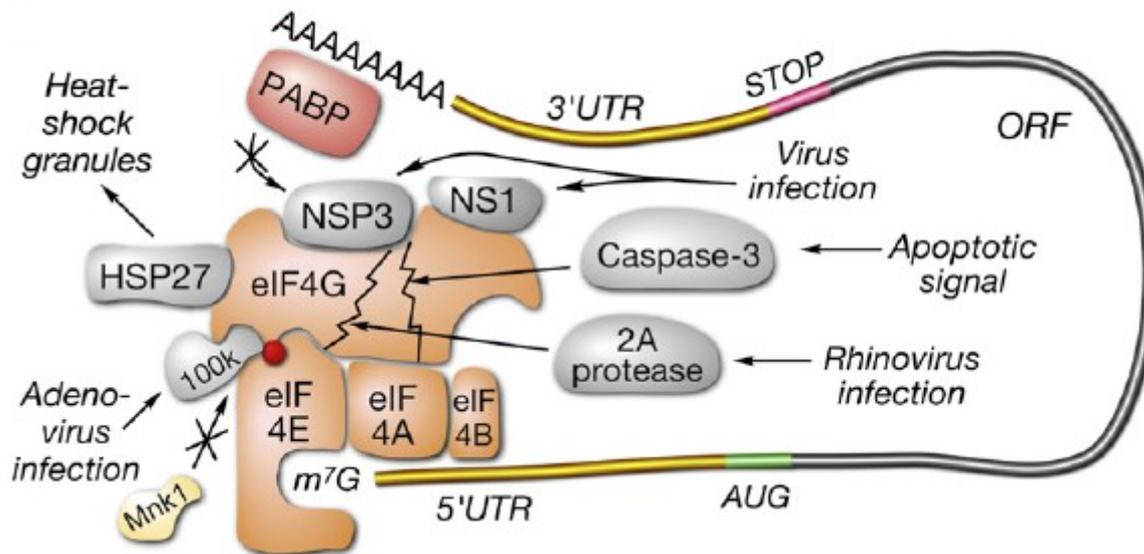






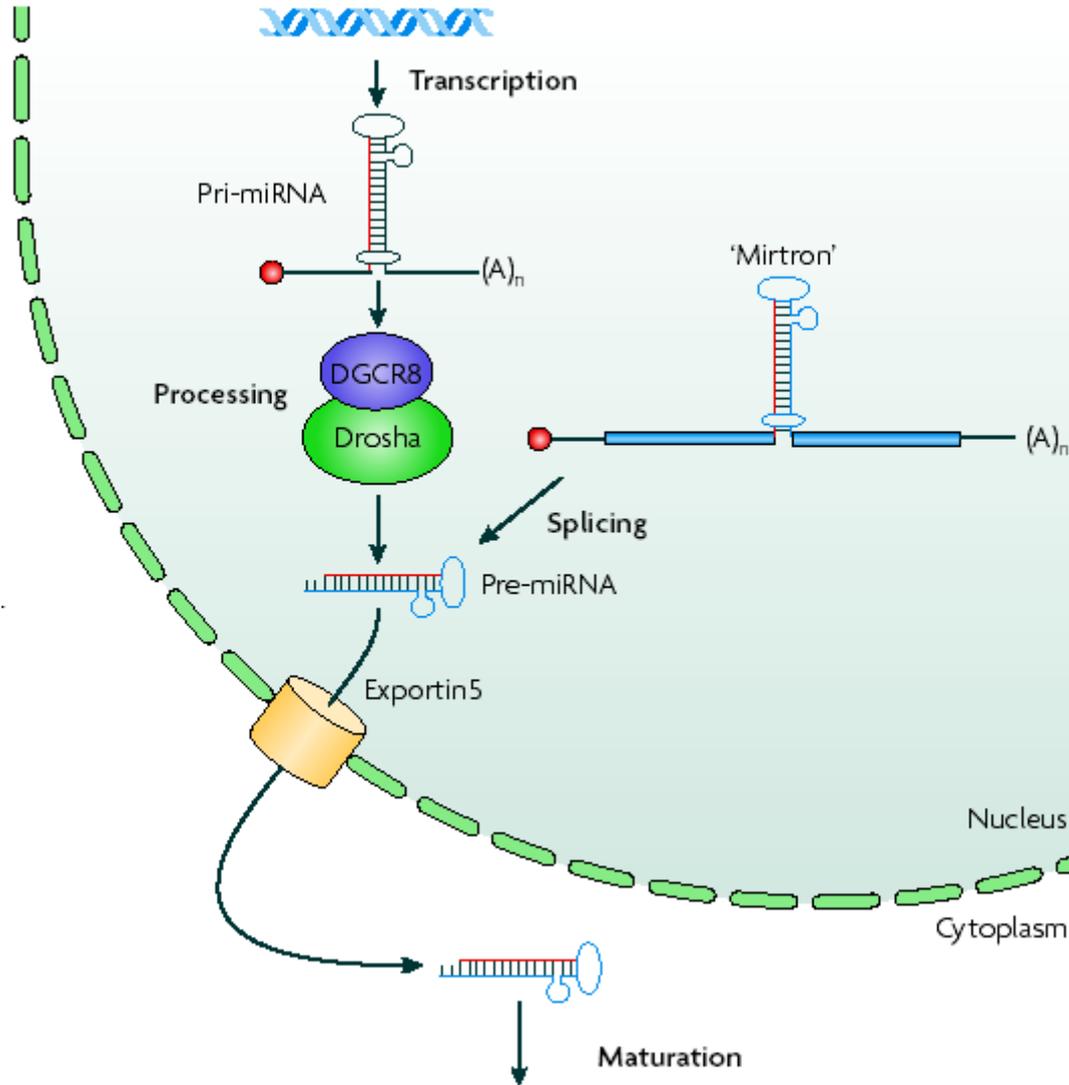


# Механизмы специфической регуляции трансляции эукариотических мРНК

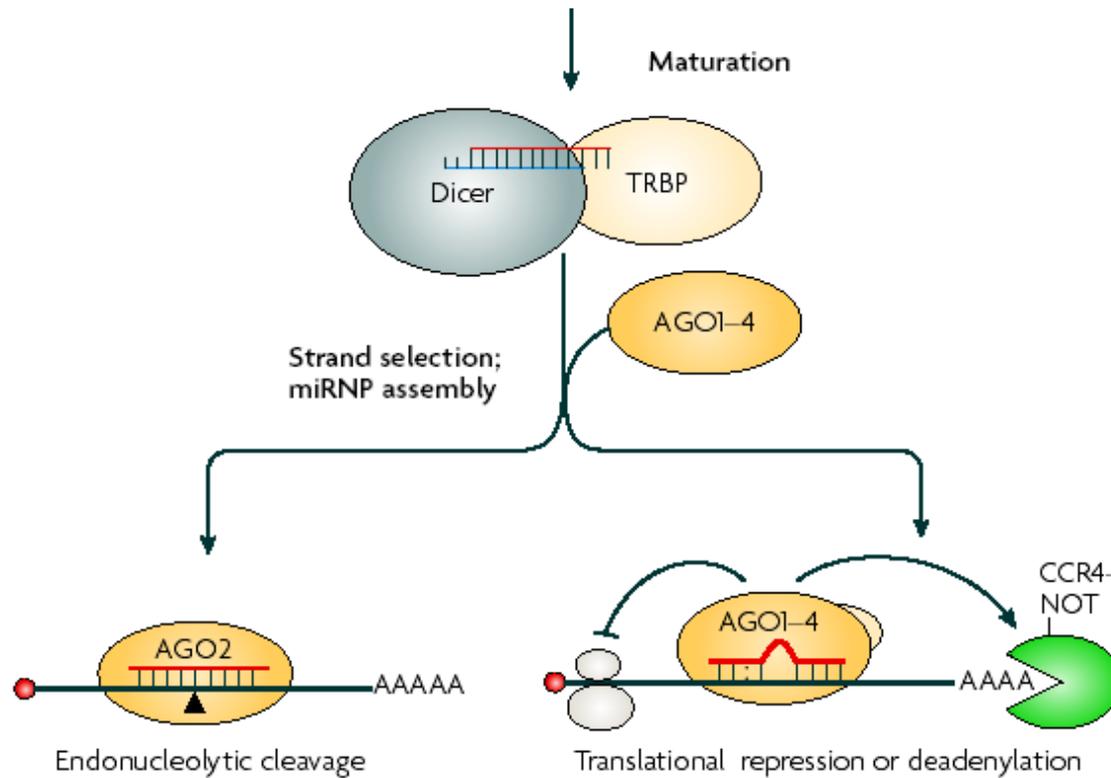


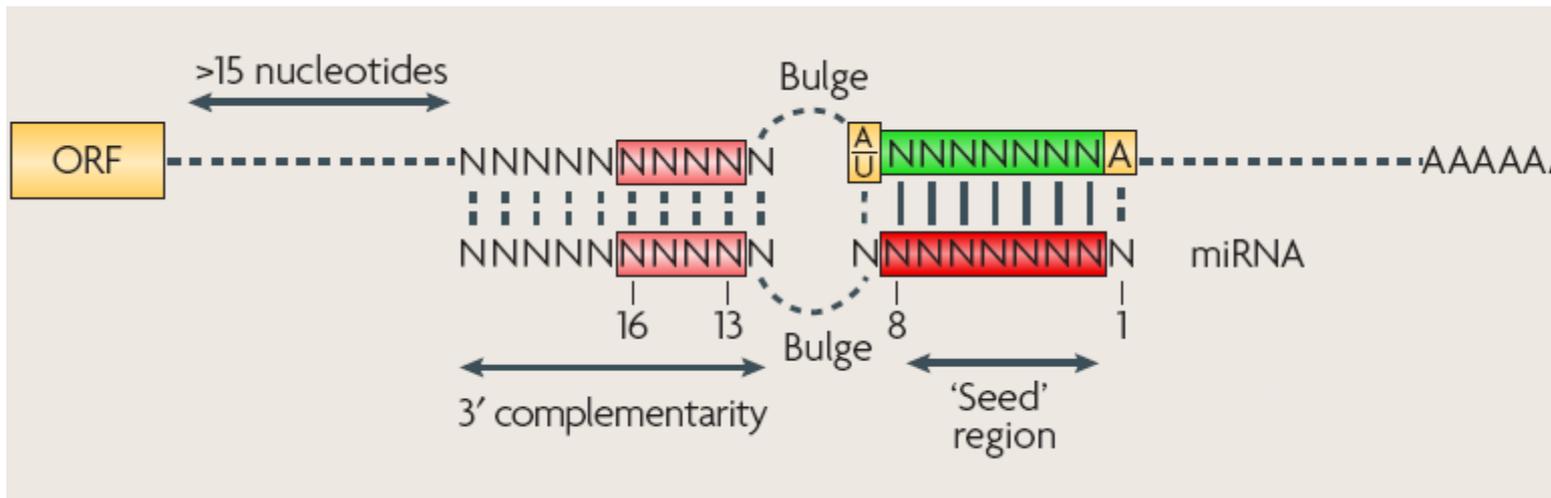
Глобальный трансляционный сайленсинг, направленный против иницирующего фактора 4G (eIF4G)

# Биогенез микроРНК



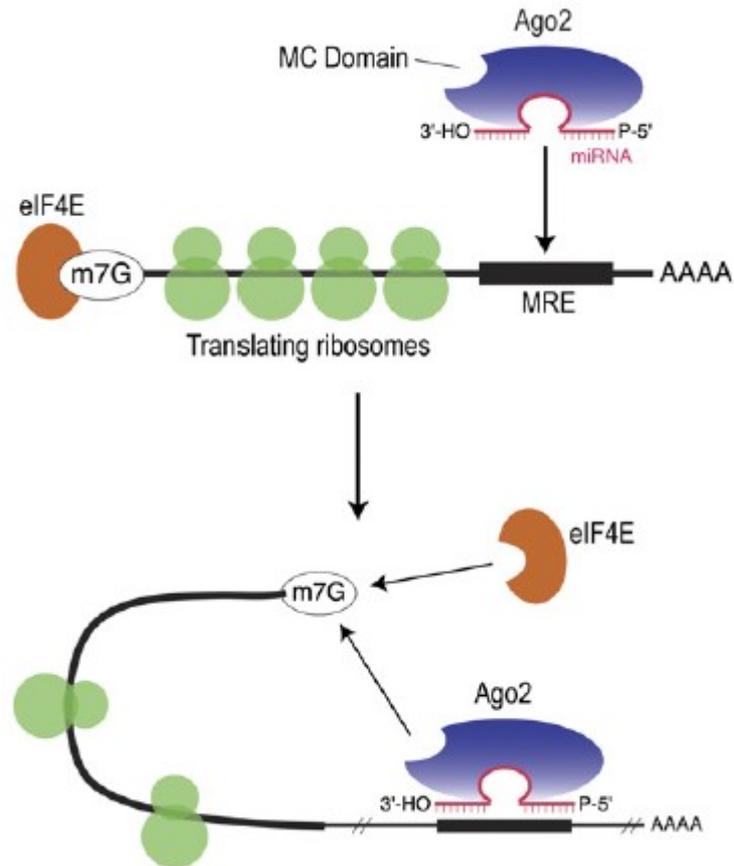
Сборка микроРНК в микрорибонуклеопротеидные комплексы, подавляющие инициацию трансляции или непосредственно или через стимуляцию деаденилирования





## Принципы взаимодействия микроРНК с мРНК

Предполагаемый механизм подавления трансляции белком Ago2  
(по Kiriakidou et al. )

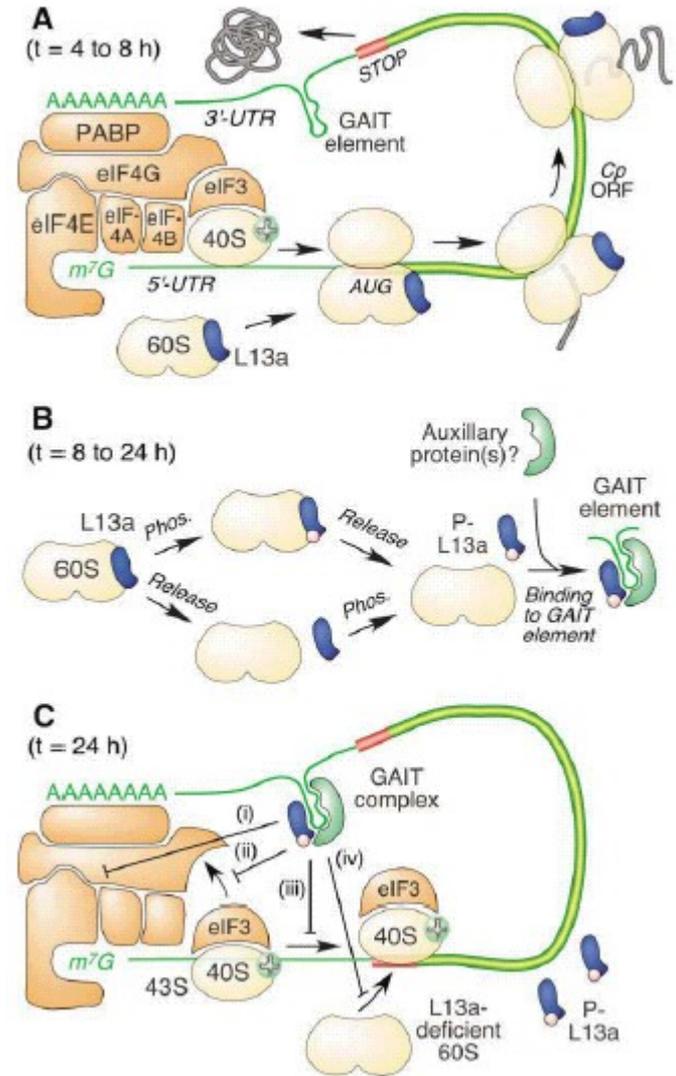


# Модель участия рибосомного белка L13a в трансляционном silencing'e мРНК церулоплазмина (GAIT – Gamma interferon Activated Inhibitor of Translation)

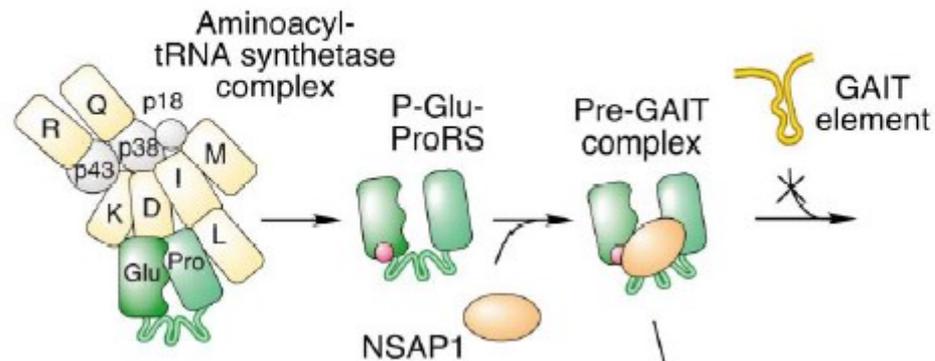
(A)  $t = 4-8$  час. после добавления  $\gamma$ -интерферона. Ср мРНК индуцируется и активно транслируется

(Б)  $t = 8-24$  час. после добавления интерферона. Белок L13a фосфорилируется, покидает 60S рибосомную субчастицу и связывается со специфическим сигналом (GAIT-element) на 3'-НТР Ср мРНК.

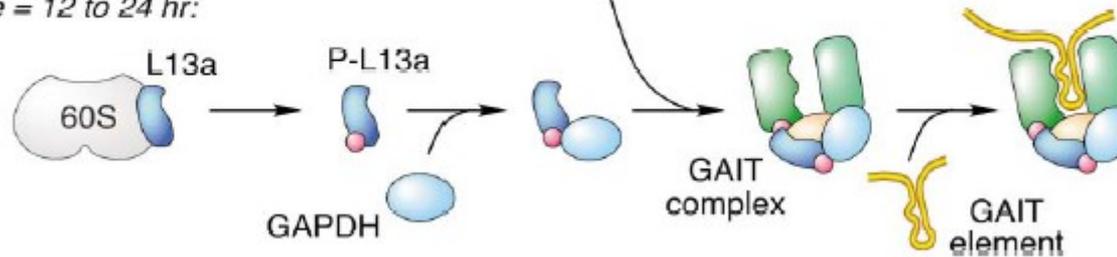
В)  $t = 24$  час. Комплекс белка L13a (а возможно и других белковых факторов) с участком GAIT блокирует инициацию трансляции Ср мРНК по неизвестному механизму. Указаны 4 возможные мишени для такого блока.



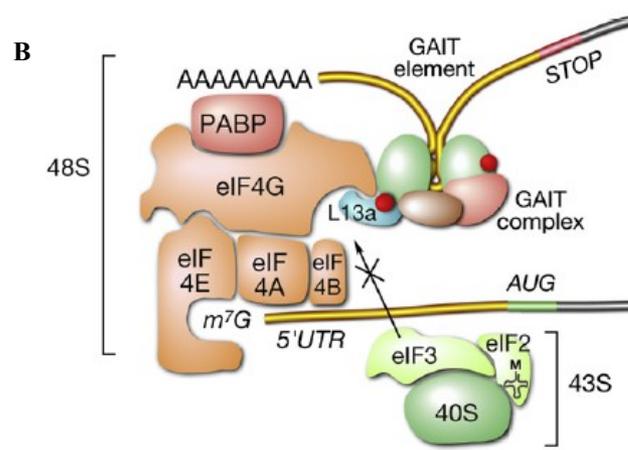
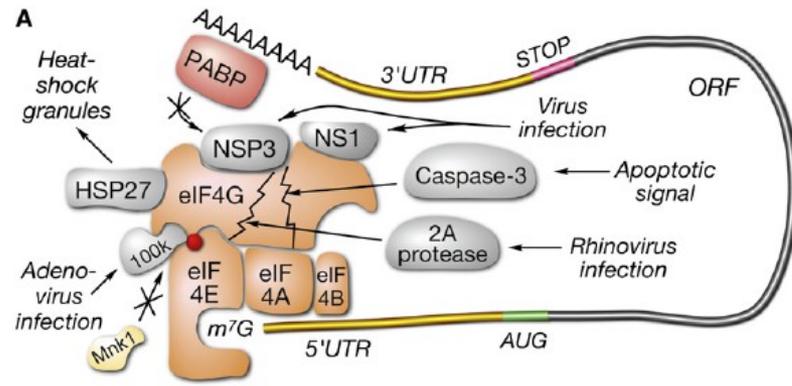
*Time = 0 to 4 hr:*



*Time = 12 to 24 hr:*



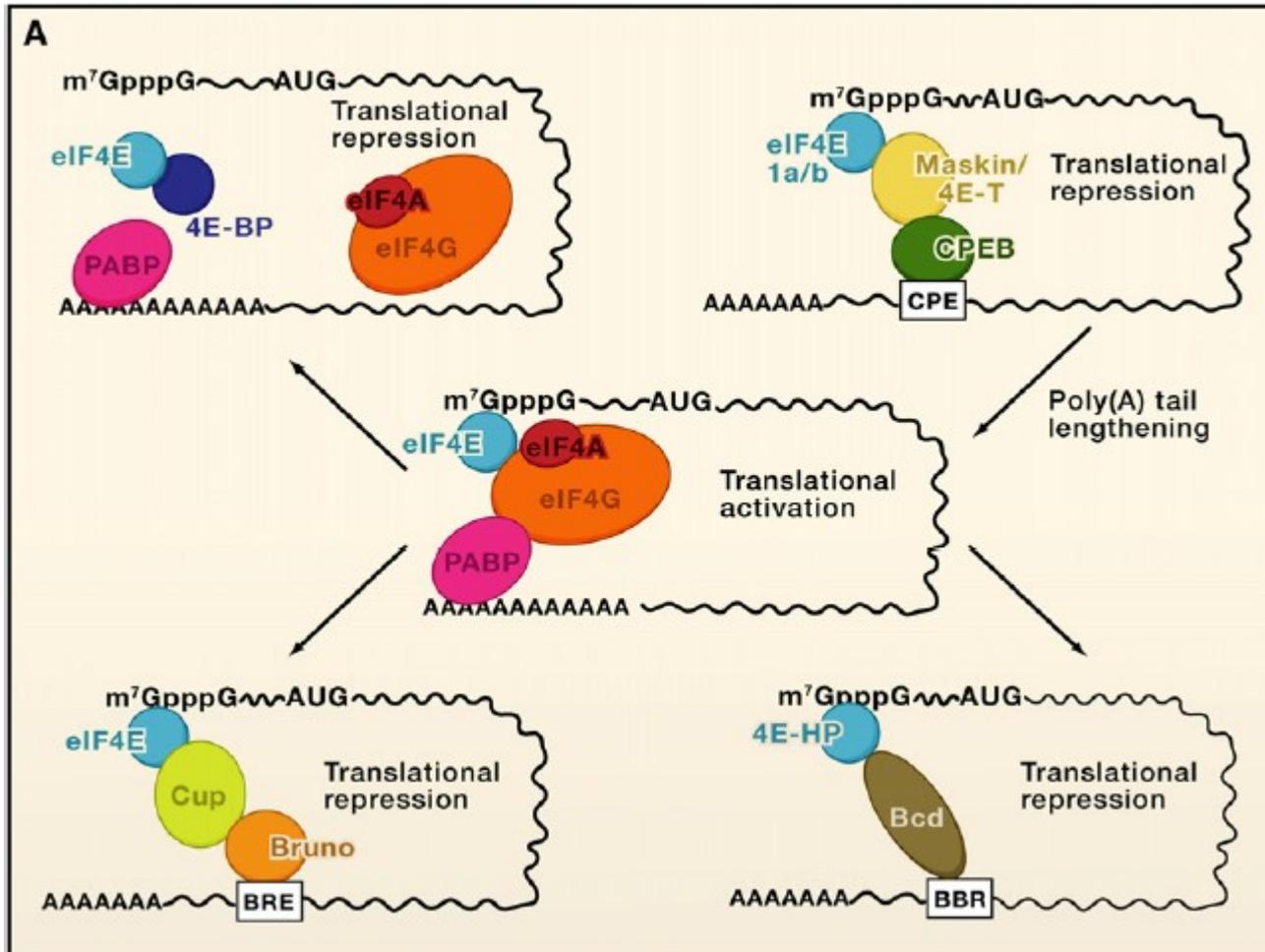
Двухстадийная модель образования GAIT-комплекса



GAIT комплекс включает:  
 Орнитин-пролил-тРНК-  
 синтетазу, NS1-ассоциированный  
 белок-1, глицеральдегид 3-фосфат  
 дегидрогеназу и рибосомный белок  
 L13a.

Глобальный (A) и транскрипт-специфичный трансляционный сайленсинг, направленный против иницирующего фактора 4G (eIF4G)

Другие случаи глобального и специфического трансляционного контроля, осуществляемого через 3' нетранслируемую последовательность эукариотических мРНК

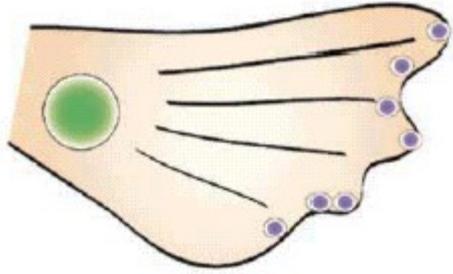


# Механизмы субклеточной локализации мРНК

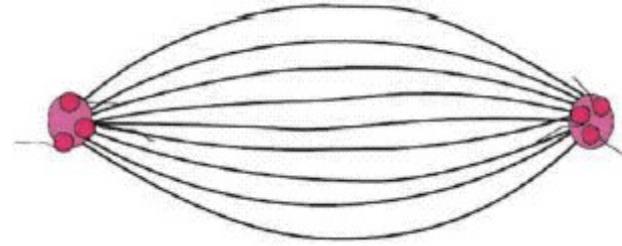
мРНК в клетках локализуется по следующим причинам:

1. Получение локальной высокой концентрации белка (бета-актин в лидирующем крае движущихся фибробластов).
2. Создание градиента морфогена для поляризации яйцеклетки (белок bicoid в яйцах *Drosophila*).
3. Инициация образования клона специализированных клеток путем локализации специфических мРНК в определенных бластомерах или дочерних клетках (специализация линий зародышевых клеток у амфибий, нематод, и насекомых. Дифференцировка нейробластов).
4. Распределение специфических мРНК по определенным органеллам или субклеточным структурам ( направление мРНК, кодирующей циклин В, в митотическое веретено; трансляция определенных мРНК только в нужном компартменте клетки или эмбриона, напр. мРНК *oskar* и *nanos* у *Drosophila* или различные мРНК в нейронах.)

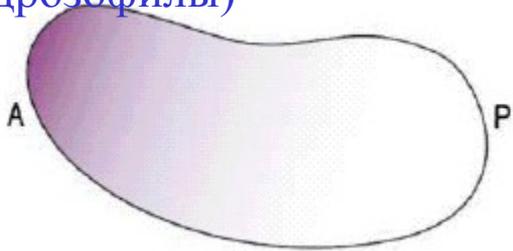
Локальная высокая концентрация белка  
(лидирующий край фибробластов)



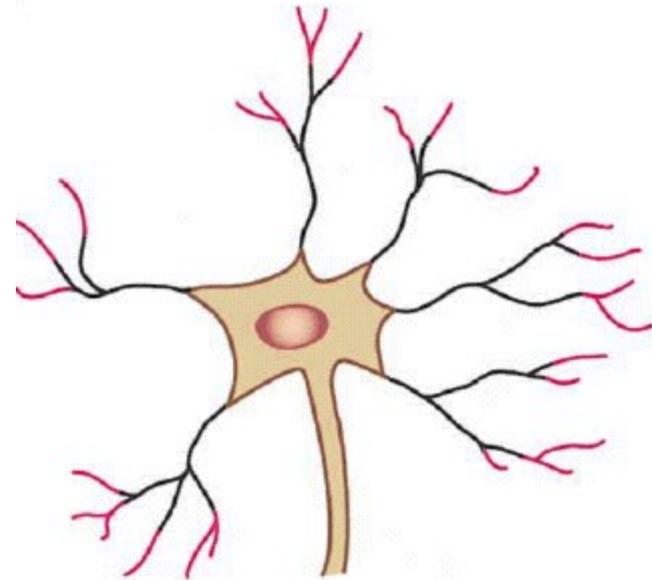
Ассоциация со специфическими  
субклеточными структурами (митоз)



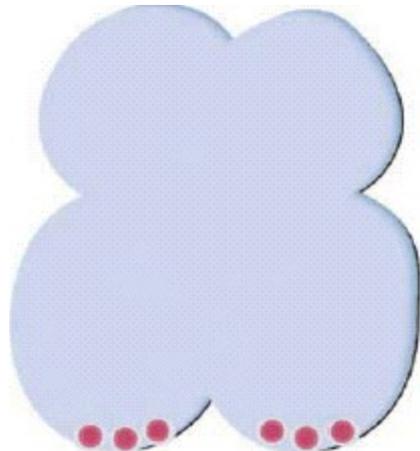
Градиент морфогена (bicoid у  
дрозофилы)

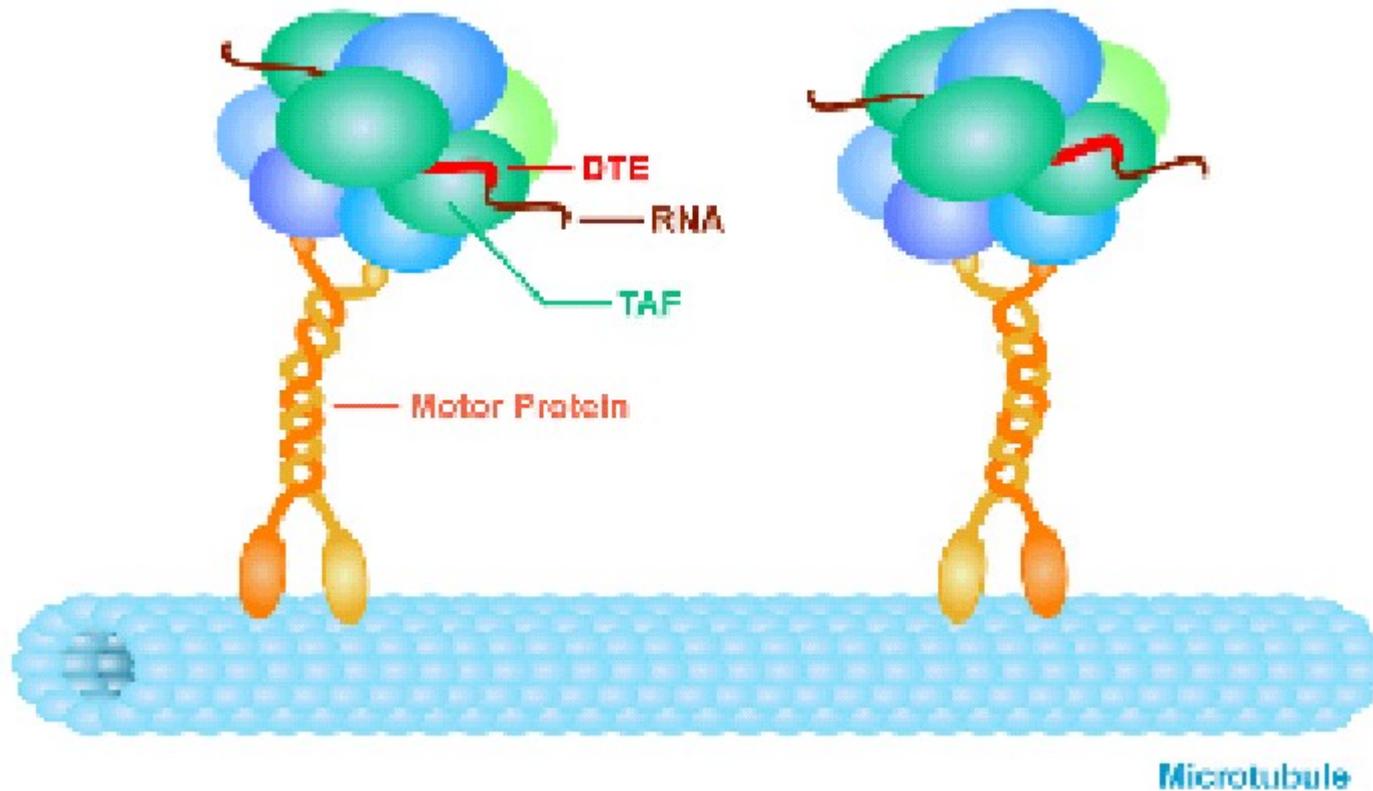


Локализованная трансляция (нейроны)



Специализация клеточной линии  
(зародышевая плазма у *Xenopus*)





Транспорт рибонуклеопротеидных частиц (RNPs) вдоль микротрубочек дендритов. Транс-действующие факторы (TAFs), например Staufen, взаимодействуют с “dendritic targeting elements” (DTE), которые содержатся в 3'-НТР транспортируемых РНК. Предполагается, что RNPs активно транспортируются с помощью молекулярных моторов, таких как кинезин, со скоростью до 300-400 микрон/час.

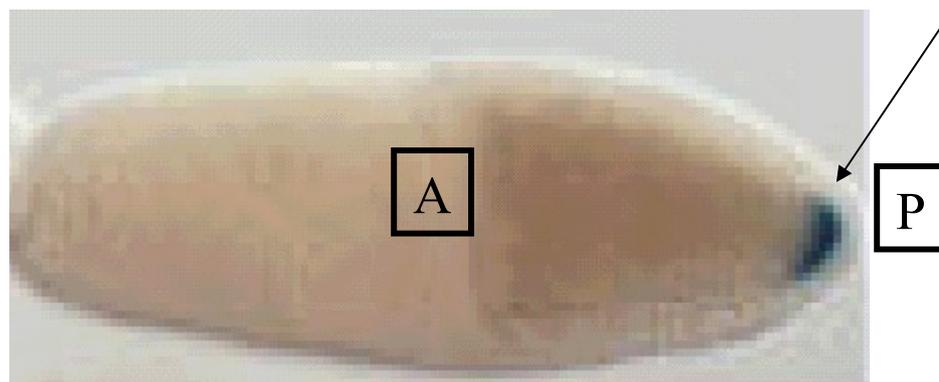
Локализация мРНК детерминирует полярность яйцеклетки при оогенезе, у *Drosophila*, т.е. определяет ее передний, задний, брюшной или спинной отделы.

Например, передний (anterior) и задний (posterior) полюсы определяются локализацией мРНК, кодирующей морфогены bicoid и nanos, которые и определяют дальнейшее образование головных и брюшных отделов эмбриона *Drosophila*, соответственно.

Однако локализации и экспрессии этих мРНК должна предшествовать локализация и синтез других мРНК и белков. В частности, локализации nanos в заднем полюсе яйцеклетки должна предшествовать локализация OSK мРНК и последующий синтез osk-белка. Локализация OSK-мРНК также необходима для формирования зародышевой плазмы в заднем полюсе.

Таким образом, локализации одной мРНК должна предшествовать локализация и экспрессия другой, и этот процесс контролируется не только в пространстве, но и по времени. Момент локализации и начало экспрессии могут не совпадать.

OSK мРНК локализуется строго на заднем (posterior) полюсе ооцита дрозофилы (показано стрелкой) и в норме только там возможна дерепрессия трансляции белка *osk*. OSK обходим для формирования зародышевой плазмы и локализации белка *nanos*, необходимого для формирования брюшного отдела



В переднем полюсе (anterior) локализуется мРНК морфогена *bicoid* (на рис. не показано), ответственного за образование головки и торакса дрозофилы