

Е.А.Буднева (11 класс, Ломоносовская гимн № 73), И.Д. Квасов, магистр биологии

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГИПЕРФОСФЕЛИРОВАННОЙ ФОРМЫ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ II В ЯДРАХ ООЦИТОВ ТРАВЯНОЙ ЛЯГУШКИ

РНК-полимераза II обеспечивает синтез пре-мРНК, которая после сплайсинга служит матрицей для транскрипции белка. Многообразие форм РНК, а также различные изменения этих молекул обеспечивают разнообразие постсинтетических процессов. Транскрипция и процессинг РНК – центральные явления в жизни клетки.

Задачами работы являлось:

1. Ознакомление с данными о РНК-полимеразах,
2. Теоретическое изучение процессинга и транскрипции РНК,
3. Изучение внутриядерных структур ооцитов травяной лягушки (ядрышко и Б-снерпосомы),
4. Изготовление препаратов диспергированного содержимого ядер ооцитов травяной лягушки и освоение метода иммунофлуоресценции,
5. Иммуноцитохимическое окрашивание препаратов антителами Н5 гипер – формы РНК-полимеразы II,
6. Анализ и обобщение полученных данных.

РНК-полимераза – фермент, катализирующий транскрипцию ДНК, представляет собой сложную молекулу, состоящую из многих полипептидных цепей. В эукариотических клетках обнаружено три РНК-полимеразы I, II, III. РНК-полимераза II синтезирует мРНК и находится на хромосомах, также как РНК-полимераза III, которая осуществляет синтез коротких стабильных РНК. Транскрипция РНК проходит с помощью РНК-полимеразы. Она связывается с последовательностью промотора в ДНК. После образования открытого комплекса полимераза начинает двигаться вдоль ДНК, удлиняя растущую цепь РНК от 5' к 3' - концу. Также как и транскрипция, процессинг – необратимый и постоянный процесс в клетке. Процессинг – это все посткрипционные изменения РНК, а сплайсинг – это частный случай процессинга, при котором происходит вырезание участков ДНК не кодирующих информацию о белке и не входящих в состав мРНК и сшивание участков ДНК, которые кодируют информацию о белке, транскрибируют и входят в состав мРНК. Ядрышко – это место в ядре, где из пре-РНК образуется рРНК, который синтезируется РНК-полимеразой I. Чтобы понять строение ядрышка, надо познакомиться с синтезом пре-рРНК. Когда молекулы подвергаются процессингу, в результате которого мРНК (28S-РНК, 18S-РНК, 5,8S-РНК).

Б-снерпосомы – сферические внутриядерные органеллы от 0.5 до 3 мкм в диаметре, содержащие факторы сплайсинга. Б-снерпосомы также называются кластеры интерхроматиновых гранул. Они могут контактировать с другими внутриядерными структурами. Б-снерпосомы ещё окончательно не изучены, т.к. их открыли совсем недавно. Предполагают, что они обеспечивают перераспределение факторов сплайсинга внутри ядра (между ТК и хромосомами).

В результате проделанной работы были выполнены все поставленные задачи (получение и осмысление данных о структуре и функциях РНК-полимераз: транскрипция РНК имеет сложную регуляцию, зависящую как от структуры ДНК, так и от факторов инициации, элонгации и терминации; процессинг включает сплайсинг пре-мРНК, кэпирование 3'- гистонового конца и полиаденирование). Были получены навыки изготовления препаратов диспергированного содержимого ядер ооцитов травяной лягушки и проведения иммуноцитохимического окрашивания этих препаратов антителами Н5. Освоенный метод можно будет применить для выявления локализации

других факторов, а также для наблюдения их динамики по мере развития ооцитов травяной лягушки.

Наши исследования, которые проводились на ядрах ооцитов травяной лягушки, на 3-4 стадиях развития, косвенно подтверждают гипотезу Голла о том, что в Б-снерпосомах присутствует структура, названная им “пол. II транскриптосома”, которая состоит из РНК-полимеразы II и факторов сплайсинга.

Работа выполнена в лаборатории морфологии клетки ИИЦ РАН