

Молекулярная
структура гена.
Структура геномов
вирусов, про - и
эукариот.
Регуляция экспрессии
генов

Ген - структурно-функциональная единица наследственной информации, представляющая собой участок ДНК, который через синтез белка или пула белков участвует в образовании признаков организма.

Свойства генов. Классическими свойствами гена являются.

- стабильность - способность сохранять структуру.
- дискретность - несмешиваемость генов.
- специфичность - каждый ген кодирует свой продукт.

Гену также присущи такие свойства как:

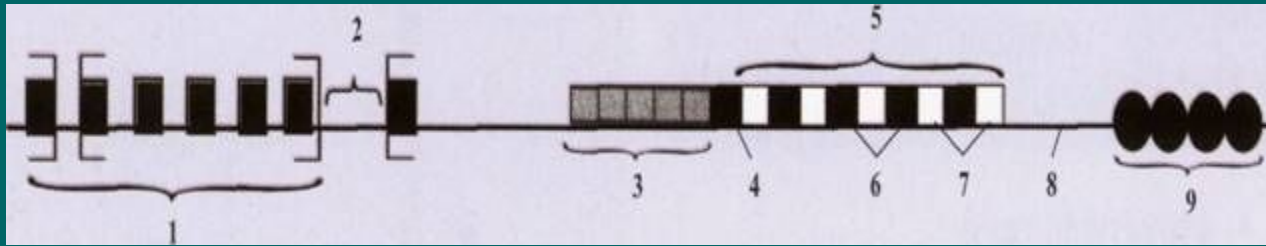
- лабильность — способность многократно мутировать;
- множественный аллелизм — многие гены существуют в популяции во множестве молекулярных форм;
- аллельность — в генотипе диплоидных организмов только две формы гена;
- плейотропия — множественный эффект гена;
- экспрессивность — различная степень выраженности гена в признаке;
- пенетрантность — частота проявления гена в фенотипе;
- амплификация — увеличение количества копий гена.

Функции генов близки к функциям ДНК:

- хранение наследственной информации,
- воспроизведение наследственной информации,
- передача наследственной информации,
- реализация наследственной информации.

Гены прокариотов отличаются от генов эукариотов. Гены прокариотов состоят исключительно из последовательностей нуклеотидов, кодирующих информацию.

Гены эукариотов кроме кодирующих последовательностей (экзонов) имеют некодирующие последовательности (интроны). У эукариотов часто встречаются участки, принадлежащие «генетическим паразитам», например, транспозонам.



Структурная организация нуклеотидных последовательностей (генов) в ДНК: 1 - повторяющиеся группы (кластеры) структурных генов (например, гистоновых белков); 2 - межгенный (спейсерный) участок; 3 - участок с большим количеством повторов (сателлитная ДНК); 4 - участки регуляции активности структурного гена (регуляторный ген); 5 - структурный ген; 6 - экзони; 7 - интроны; 8 - ДНК; 9 - повторяющиеся гены.

В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИЙ НУКЛЕОТИДНЫЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ МОГУТ БЫТЬ НЕСКОЛЬКИХ ТИПОВ.

- **Структурные гены** несут информацию о структуре определенных полипептидов. Из этих участков ДНК транскрибируется РНК, которая направляет синтез белков.
- **Регуляторные гены** контролируют и регулируют процесс биосинтеза белка.
- **Сателлитная ДНК** содержит большое количество повторяющихся групп нуклеотидов, что не имеют смысла и не транскрибируются. Единичные гены среди сателлитной ДНК, конечно, имеют регуляторное или усиливающее действие на структурные гены.
- **Кластеры генов** - это группы различных структурных генов в определенном участке хромосомы, объединенные общими функциями. Например, кластеры пяти различных гистонов повторяются 10-20 раз. Между такими кластерами находятся большие спейсерные участки, которые не транскрибируются, их роль до конца не выяснена.
- **Повторяющиеся гены** - один и тот же ген многократно повторяется (несколько сотен раз); не отделяясь друг от друга, они создают тандемы. Например, гены рРНК.

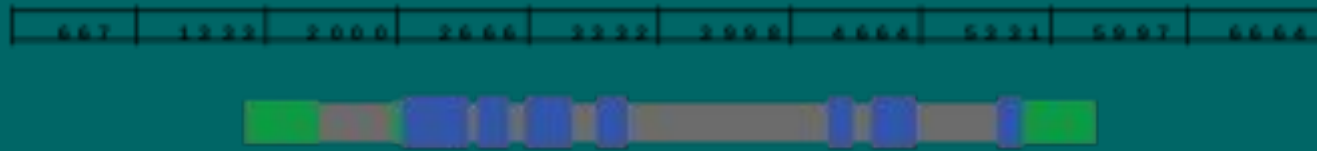


Схема нуклеотидной последовательности пре-мРНК гена CDK4 человека. Интроны показаны серым цветом.

Классификаций генов множество. Выделяют аллельные и неаллельные гены, доминантные и рецессивные гены, гены аутосом и половых хромосом.

Функциональная классификация генов:

- структурные гены (кодируют определенный белок или некоторые виды РНК.)
- регуляторные (функциональные) гены (регулируют работу структурных генов).

Функциональная классификация генов

Структурные гены	Гены модуляторы	Гены регуляторы
<p>1. Гены, которые кодируют последовательность аминокислот структурных белков и ферментов, которые характерны для определенных типов клеток.</p>	<p>1. Гены, которые снижают активность других генов (супрессоры или ингибиторы).</p>	<p>1. Гены, которые регулируют время наступления активности других генов.</p>
<p>2. Гены, которые кодируют последовательность аминокислот белков-гистонов и белков рибосом, которые присутствуют во всех типах клеток.</p>	<p>2. Гены, которые повышают активность других генов (интенсификаторы).</p>	
<p>3. Гены, которые кодируют последовательность нуклеотидов в р-РНК и в т-РНК.</p>	<p>3. Гены, которые изменяют характер активности других генов (модификаторы).</p>	

Генетический код - это последовательное расположение нуклеотидов ДНК, определяющее порядок расположения аминокислот в белке.

Теория генетического кода сформулирована Георгием Антоновичем Гаммовым и Френсисом Криком (1954).

Свойства генетического кода:

Универсальность – генетический код практически одинаков для всех живых организмов.

Триплетность - единицей кода является сочетание трёх нуклеотидов (триплет, или кодон), которое соответствует одной аминокислоте.

Непрерывность - между триплетами нет знаков препинания, информация считывается непрерывно.

Неперекрываемость - один и тот же нуклеотид не может входить одновременно в состав двух или более триплетов.

Вырожденность (избыточность) - несколько кодонов могут соответствовать одной аминокислоте.

Однозначность (специфичность) - определённый кодон соответствует только одной аминокислоте.

Помехоустойчивость - замена некоторых нуклеотидов на другие (мутация) не изменяет смысла генетического кода.

Большинство триплетов (61 из 64) имеют смысл.

В последнее время подвергаются сомнению некоторые свойства генетического кода:

триплетность (третий нуклеотид триплета неравнозначен двум первым),

неперекрываемость (код некоторых вирусов, митохондрий и бактерий перекрывается),

непрерывность (существуют некодирующие участки),

специфичность (кодон UGA у *Euplotes crassus* кодирует две аминокислоты - цистеин и селеноцистеин).

		Second base					
		U	C	A	G		
U	UUU	Phe	UCU	UAU	Tyr	UGU	Cys
	UUC		UCC	UAC		UGC	
	UUA	Leu	UCA	UAA Stop	UGA Stop	UAG Stop	
	UUG		UCG		UGG	Trp	
C	CUU		CCU	CAU	His	CGU	
	CUC	Leu	CCC	CAC		CGC	Arg
	CUA		CCA	CAA	Gln	CGA	
	CUG		CCG	CAG		CGG	
A	AUU		ACU	AAU	Asn	AGU	Ser
	AUC	Ile	ACC	AAC		AGC	
	AUA		ACA	AAA	Lys	AGA	Arg
	AUG Met/Start		ACG	AAG		AGG	
G	GUU		GCU	GAU	Asp	GGU	
	GUC	Val	GCC	GAC		GGC	Gly
	GUA		GCA	GAA	Glu	GGA	
	GUG		GCG	GAG		GGG	

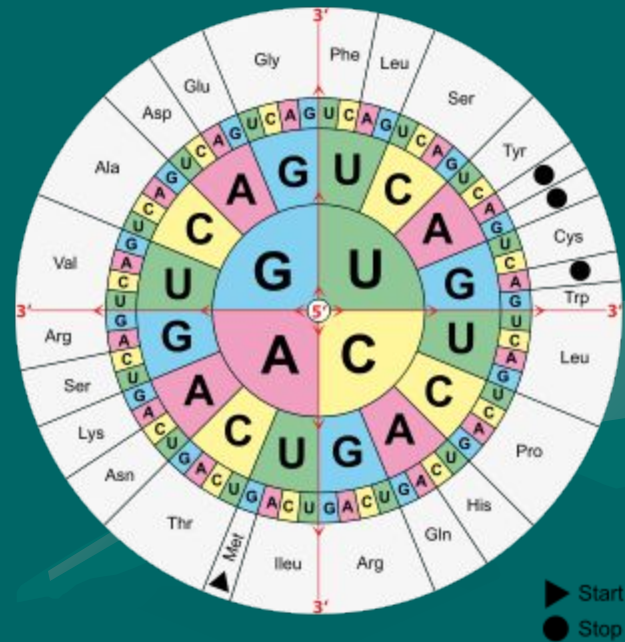


Таблица генетического кода.

Секторный вариант записи генетического кода, внутренний круг — 1-е основание кодона (от 5'-конца).

Для обеспечения процессов онтогенеза необходима реализация генетической информации.

Основным механизмом ее реализации является биосинтез белка.

Биосинтез белка - это процесс синтеза белка на основе информации ДНК.

Этапы биосинтеза белка:

- транскрипция,
- рекогниция,
- трансляция.

Транскрипция - это процесс переписывания информации с ДНК на и-РНК.

Происходит в ядре, по принципу комплементарности, с участием фермента ДНК-зависимой РНК-полимеразы.

Процесс транскрипции РНК включает три этапа: инициацию (начало синтеза), элонгацию (осуществление синтеза) и терминацию (прекращение синтеза).

Инициация начинается с узнавания РНК-полимеразы промотором, а терминация происходит тогда, когда РНК-полимераза достигает кодона-терминатора.

У эукариотов ДНК содержит экзоны (участки, несущие информацию) и интроны (неинформационные участки).

У эукариот на базе ДНК вначале синтезируется предшественник и-РНК – про-и-РНК (пре-и-РНК, пре-м-РНК), а затем, собственно и-РНК.

Про-и-РНК содержит участки, синтезированные на базе как экзонов, так и интронов.

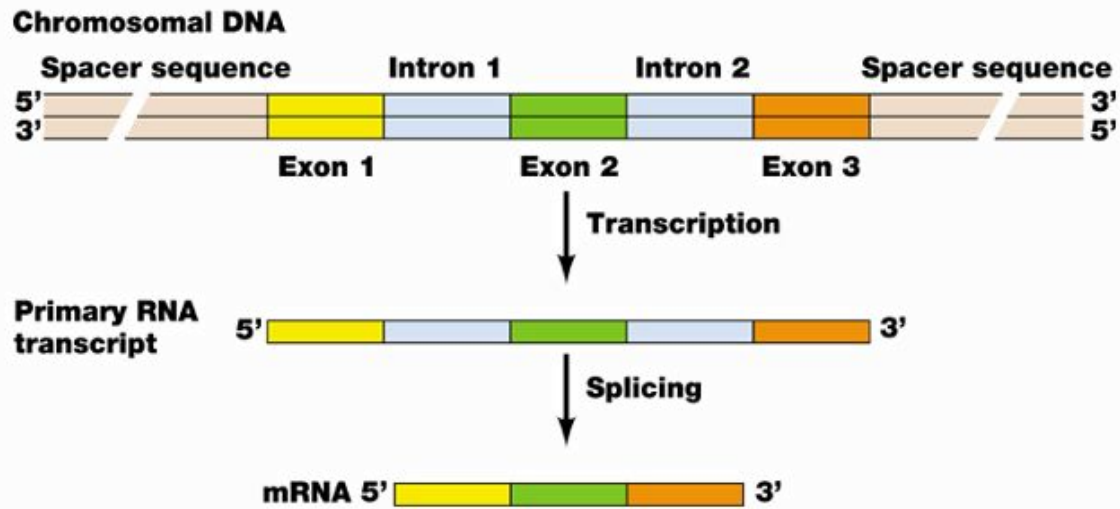
При созревании про-и-РНК в и-РНК (процессинг), участки, образовавшиеся на интронах, вырезаются, а участки, образовавшиеся на экзонах – сшиваются между собой (сплайсинг).

В процессе сплайсинга из пре-мРНК удаляются некодирующие белок последовательности (интроны).

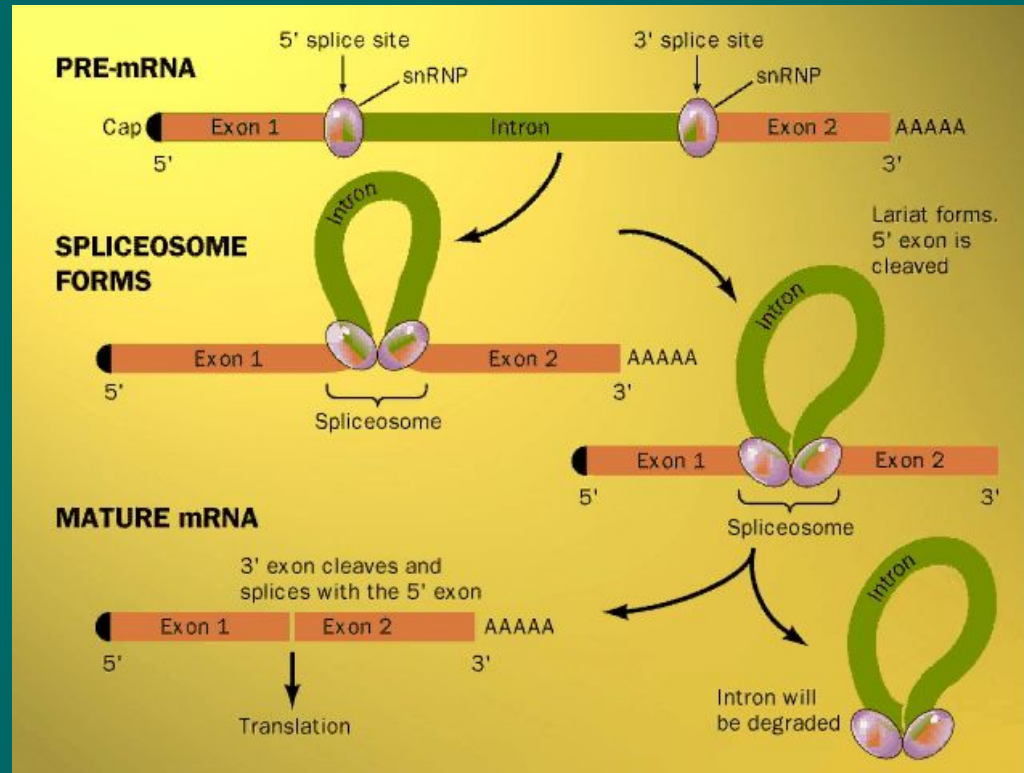
На 5' конец молекулы и-РНК добавляется специальный модифицированный нуклеотид - 7-метилгуанозин (кэп, 5'-кэп), на 3' конец добавляются несколько аденинов, так называемый полиадениновый хвост.

Сплайсинг может происходить в различных вариантах. Это альтернативный сплайсинг.

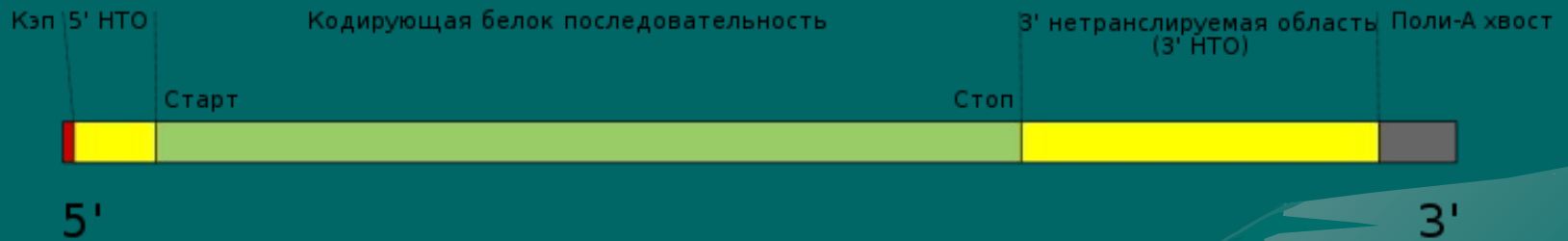
Благодаря этому феномену у эукариотов на одной молекулу ДНК (на одном гене) может синтезироваться не один белок, а несколько (в зависимости от потребностей клетки).



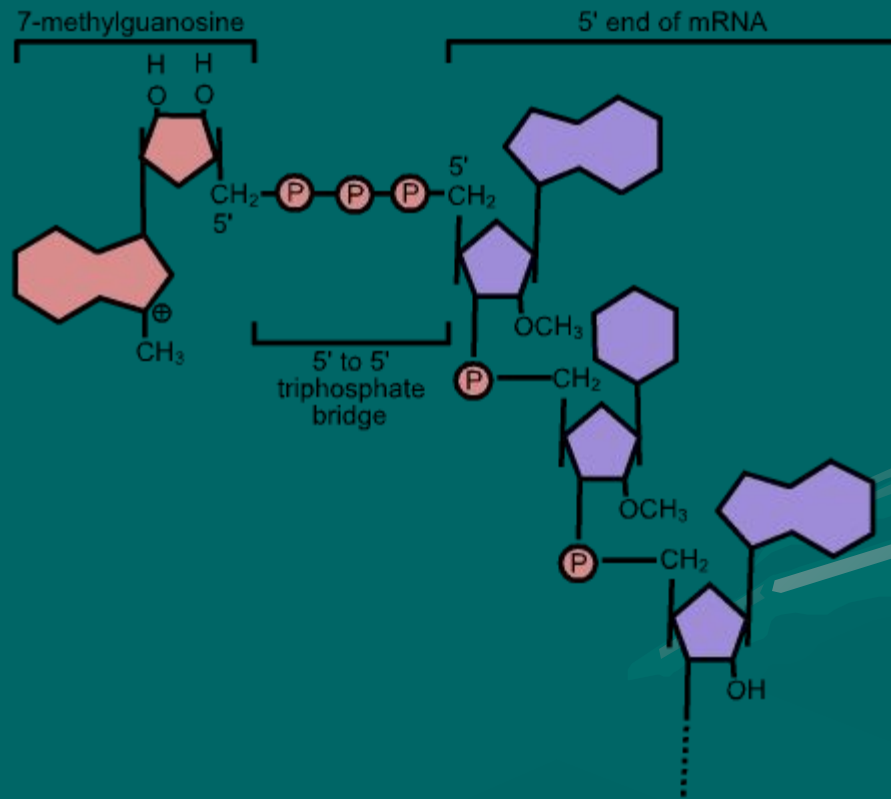
Созревание и-РНК.



Вырезание интронов и сшивание (сплайсинг) экзонов.



Зрелая и-РНК состоит из нескольких участков: 5'-кэп, 5'-нетранслируемая область, кодирующая (транслируемая) область, 3'-нетранслируемая область и 3'-полиадениновый «хвост» (трейлер).



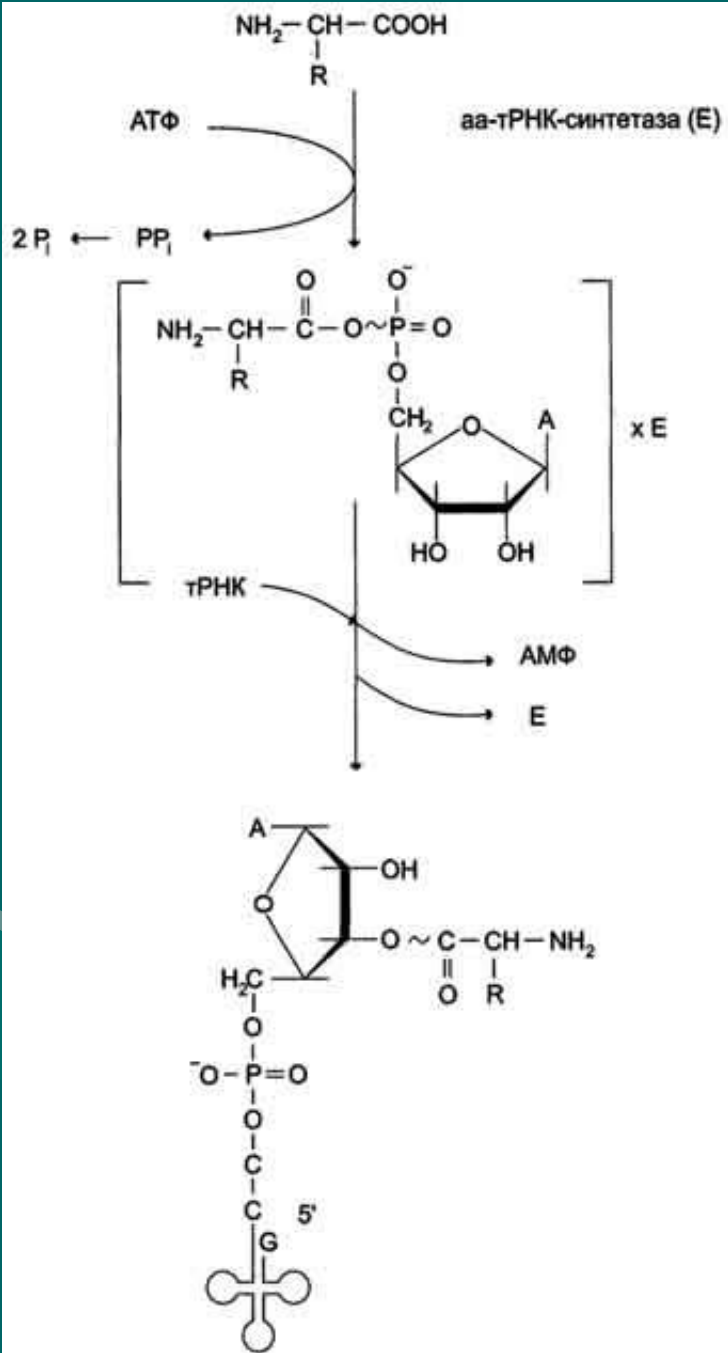
Строение 5'-кэпированной мРНК (фрагмент).

Рекогниция - процесс узнавания т-РНК аминокислоты, активация ее и транспорт к месту сборки полипептидной последовательности.

Активация аминокислоты осуществляется специфическим ферментом (аминоацил-тРНК-синтетаза), который узнает только определенную аминокислоту.

Для каждой аминокислоты существует своя аминоацил-тРНК-синтетаза.

В результате активации аминокислоты образуется аминоацил-т-РНК. Молекула т-РНК связана с аминокислотой через ацильную связь между карбоксильной группой аминокислоты и 3'-ОН-группой рибозы т-РНК.



Суммарное уравнение
реакции активации
аминокислоты:

аминокислота + т-РНК +
АТР → аминоацил-тРНК +
AMP + PP_i.

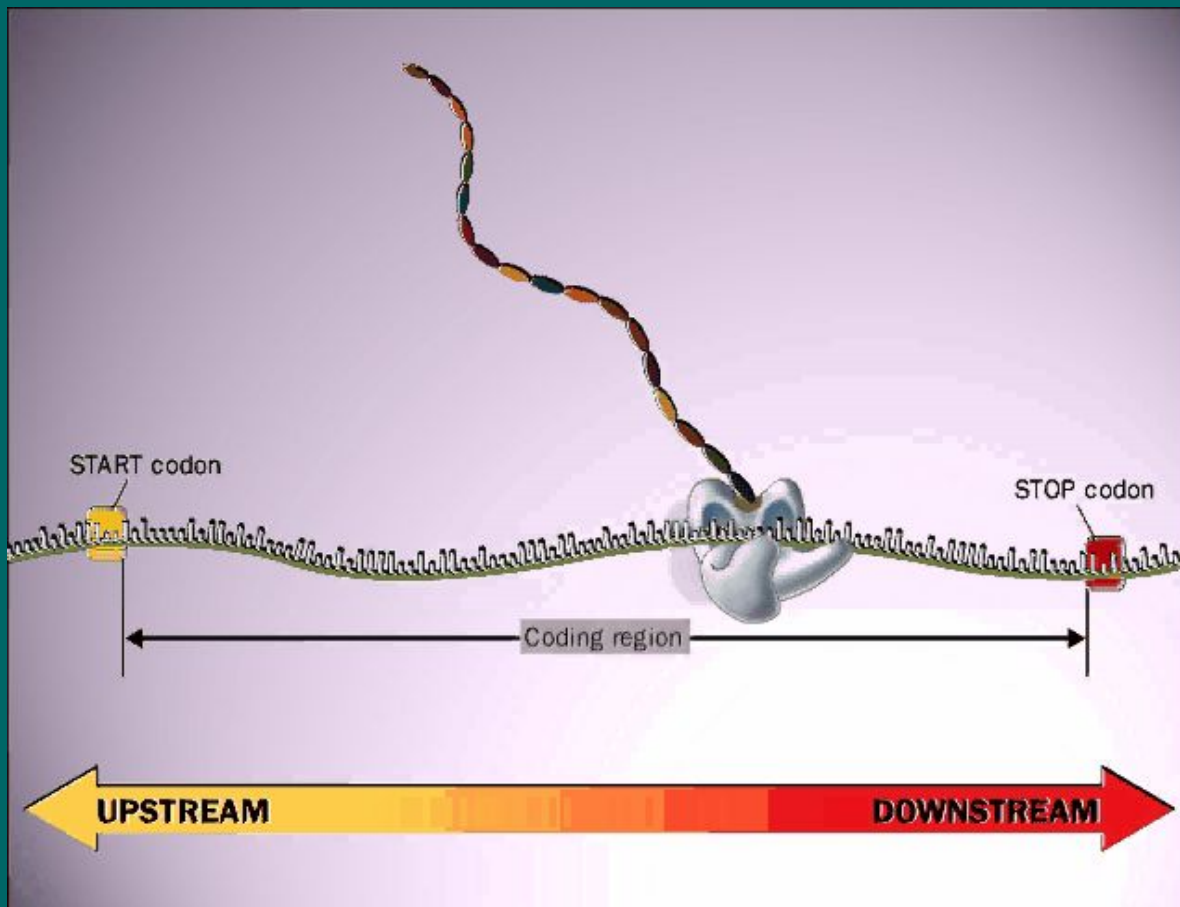
Трансляция - процесс построения полипептида на базе информации и-РНК. Происходит в рибосомах.

Аминокислотная последовательность белка выстраивается при помощи т-РНК, которые образуют с аминокислотами комплексы - аминоацил-тРНК.

Каждой аминокислоте соответствует своя т-РНК, имеющая антикодон, комплементарный кодону и-РНК.

Во время трансляции рибосома движется вдоль и-РНК от её 5'-конца.

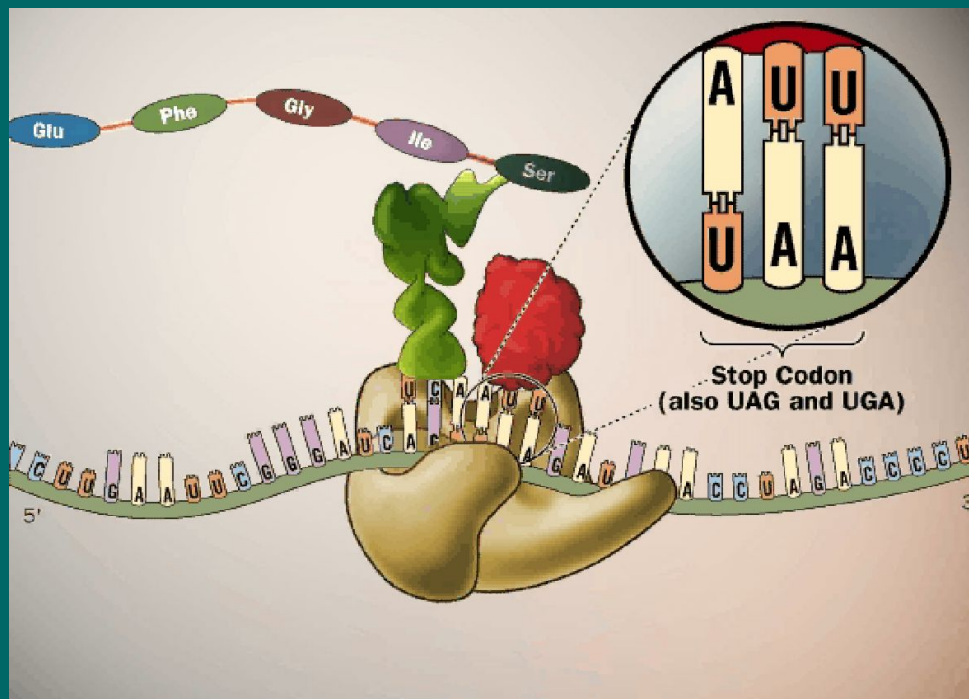
По мере движения рибосомы наращивается полипептидная цепь. Энергией биосинтез белка обеспечивается за счет АТФ.



Процесс трансляции разделяют на инициацию - узнавание рибосомой стартового кодона и начало синтеза, элонгацию собственно синтез белка и терминацию - узнавание терминирующего кодона (стоп-кодона) и отделение белка.

Инициация трансляции начинается со стартового кодона AUG-кодона, кодирующего метионин. Происходит узнавание рибосомой этого кодона и привлечение инициаторной аминоацил-тРНК. Процесс инициации обеспечивается специальными белками - факторами инициации.

Элонгация. В процессе наращивания полипептидной цепи принимают участие белковые факторы. После присоединения очередной аминокислоты к белку рибосома перемещается на один триплет.



Терминация осуществляется, когда в А-сайте рибосомы оказывается один из стоп-кодонов - UAG, UAA, UGA. Из-за отсутствия т-РНК, соответствующих этим кодонам, активируются специфические белки RF1 или RF2, которые катализируют отсоединение полипептидной цепи от мРНК, а также RF3, который вызывает отделение от рибосом от и-РНК.

Готовая белковая молекула отщепляется от рибосомы и транспортируется в нужное место клетки.

Для достижения своего активного состояния некоторые белки требуют дополнительной посттрансляционной модификации.

Посттрансляционная модификация - это химическая модификация белка после его трансляции. Образуются вторичная, третичная, иногда четвертичная структуры белка.

Считывание информации с ДНК носит название экспрессия генов.

В каждый момент времени информация считывается только с определенного участка генома.

Экспрессия генов подчиняется сложной регуляции. У прокариот и у эукариот регуляция осуществляется по-разному.

Концепцию оперона для прокариот предложили в 1961 году французские ученые Франсуа́ Жакоб и Жаком Моно, за что получили Нобелевскую премию в 1965 году.

Оперон - участок структурных генов (цистронов), объединенных общей регуляторной зоной.

Начинается и заканчивается оперон регуляторными областями - промотором в начале и терминатором в конце.

каждый отдельный ген может иметь в своей структуре собственный промотор и/или терминатор.

Опероны по количеству структурных генов делят на моно-, олиго- и полицистронные, содержащие, соответственно, только один, несколько или много цистронов (генов).

Примером оперона генома прокариот является лактозный оперон (lac-оперон) - полицистронный оперон бактерий, кодирующий гены метаболизма лактозы. Был впервые описан у кишечной палочки (*Escherichia coli*).

Бактериальная клетка синтезирует ферменты, принимающие участие в метаболизме лактозы, лишь в том случае, когда лактоза присутствует в окружающей среде и клетка испытывает недостаток глюкозы.

Лактозный оперон (*lac*-operon) состоит из трех структурных генов (гены *lacZ*, *lacY* и *lacA*), промотора, оператора и терминатора.

В состав оперона входит также ген-регулятор. Ген-регулятор расположен дистантно от остальных генов оперона, который кодирует белок-репрессор.

Ген *lacZ* кодирует фермент β -галактозидазу, которая расщепляет дисахарид лактозу на глюкозу и галактозу.

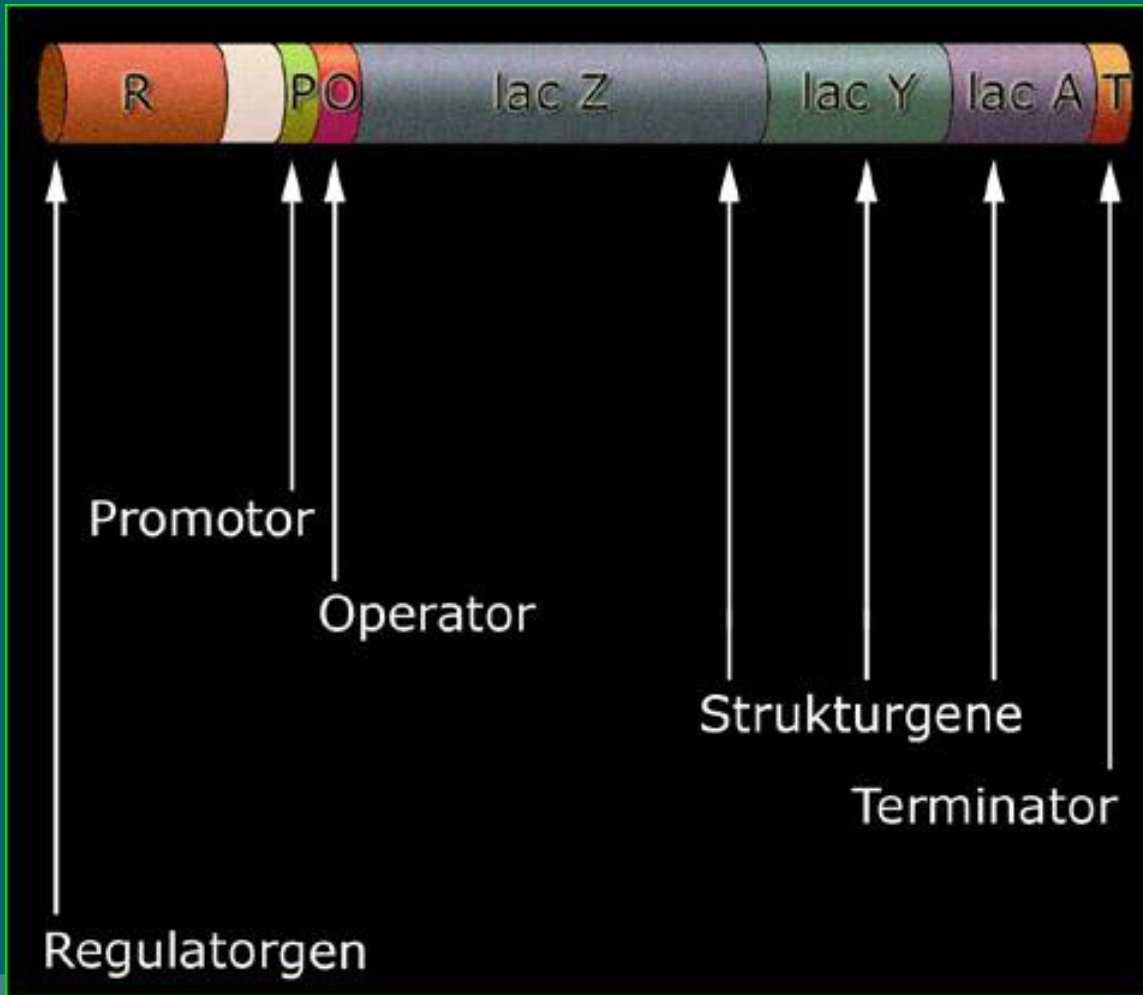


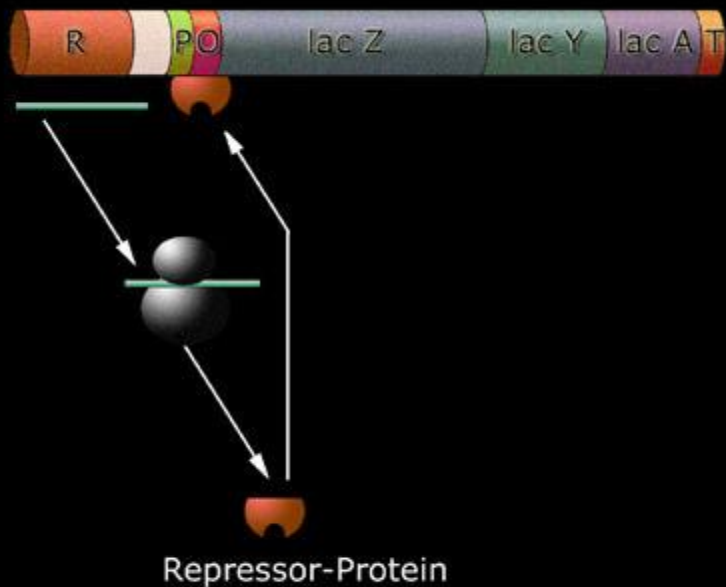
Схема строения lac-оперона.

Промотор узнает, активирует и направляет РНК-полимеразу на оператор, оператор пропускает или не пропускает РНК-полимеразу на структурные гены.

Если РНК-полимераза прошла на структурные гены, то экспрессия идет, оперон активен. Если РНК-полимераза не прошла на структурные гены, то экспрессии нет, оперон не активен.

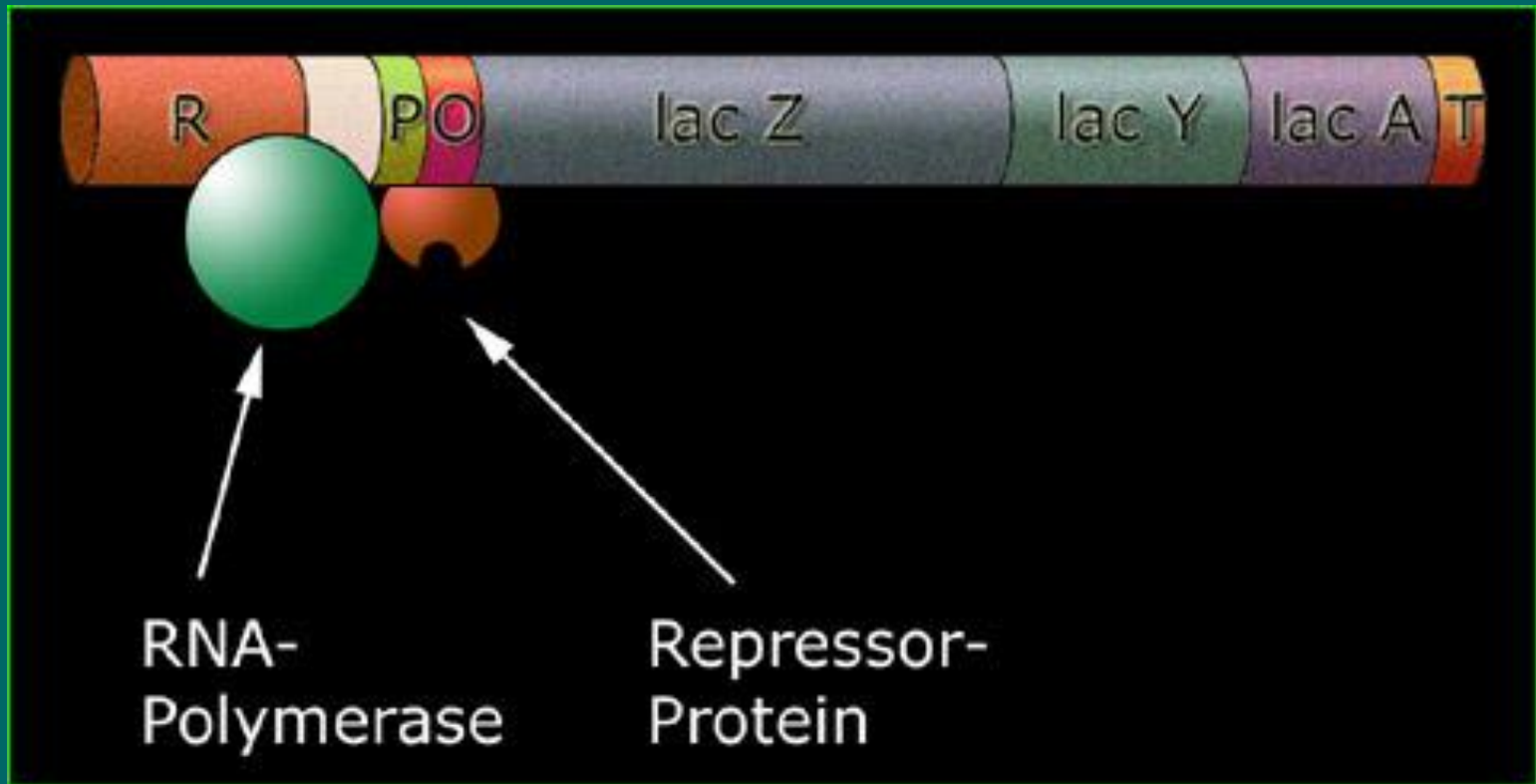
РНК-полимераза движется до гена терминатора, который завершает ее продвижение.

Прохождение или не прохождения РНК-полимеразы на структурные гены зависит от состояния гена-оператора, который может быть блокирован белком репрессором (РНК-полимераза не проходит) или деблокирован (РНК-полимераза проходит).

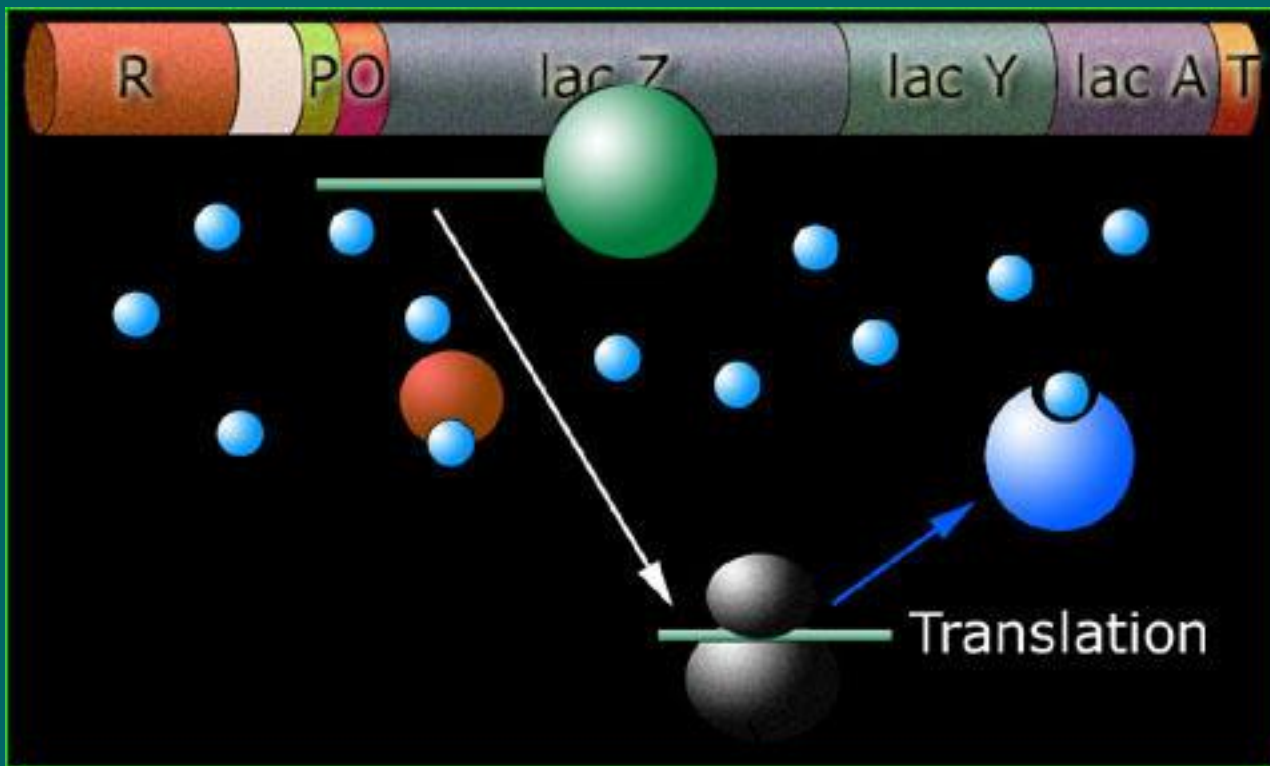


Синтез белка-репрессора на гене-регуляторе и присоединение белка-репрессора к гену-оператору lac-оперона в отсутствие лактозы.

Белок - репрессор синтезируется на гене-регуляторе и имеет два активных центра, одним из которых он может связываться с геном-оператором, другим - с субстратом (в случае lac-оперона - с двумя молекулами лактозы). Если субстрат (лактоза) присутствует, то репрессор связывается субстратом (лактозой), оператор деблокируется и происходит экспрессия структурных генов.



Лас-оперон блокирован.
РНК-полимераза не проходит на структурные гены в
отсутствие лактозы.



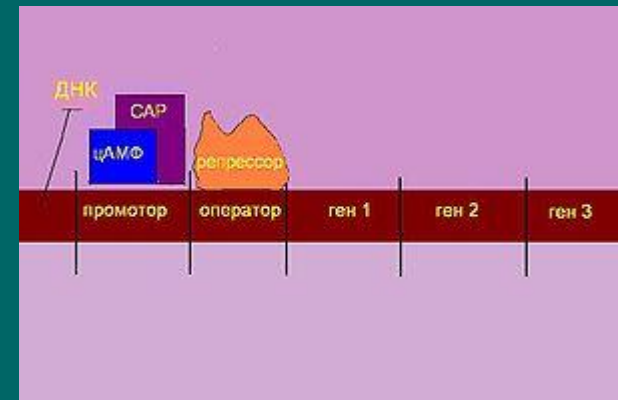
Лас-оперон деблокирован. В присутствии лактозы (голубой цвет) и отсутствии глюкозы белок-репрессор (оранжевый цвет) связан лактозой, промотор свободен РНК-полимераза (зеленый цвет) проходит на структурные гены. Синтезируется фермент β -галактозидаза (голубой цвет), который расщепляет лактозу .

В регуляции активности *lac*-оперона принимает участие специфический белок - белок, активирующий катаболизм (CAP, catabolism activating protein), который в комплексе с цАМФ (сAMP) взаимодействует с промотором оперона, и приводит к повышению сродства РНК-полимеразы к нему. Оперон активируется.

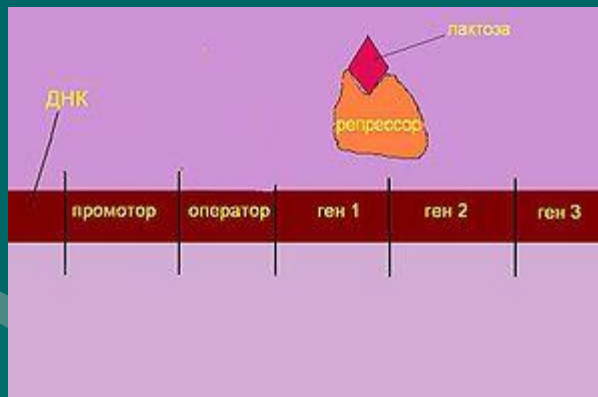
Без взаимодействия комплекса CAP и цАМФ с промотором (что бывает при наличии глюкозы в клетке) *lac*-оперон остается неактивным даже при наличии лактозы, так как в расщеплении лактозу нет необходимости.



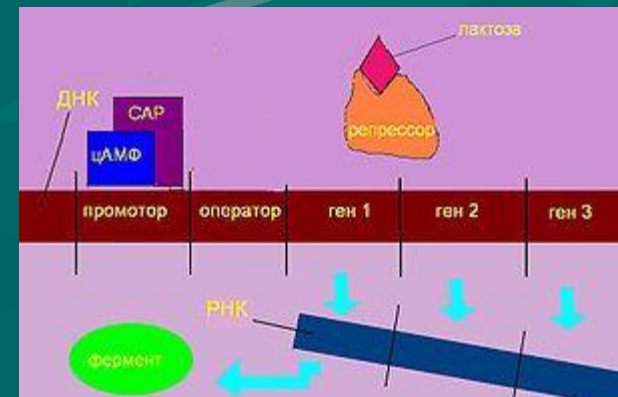
Есть глюкоза, нет лактозы



Нет глюкозы, нет лактозы



Есть глюкоза, есть лактоза



Нет глюкозы, есть лактоза

У эукариот регуляция экспрессии генов происходит сложнее.

РНК-полимеразы эукариот сами по себе не способны узнать промотор, им помогают в этом другие белки - факторы транскрипции.

Перед промотором у эукариот располагаются короткие нуклеотидные последовательности - "мотивы" узнаваемые факторами транскрипции.

У эукариот присутствуют усилители (энхансеры) и репрессоры транскрипции, представленные короткими участками ДНК, узнаваемыми белками.

Усилители и репрессоры могут быть расположены далеко (на расстоянии 1000 нуклеотидных пар и более от старта транскрипции). ДНК может изгибаться, в результате чего усилитель или репрессор и связанный с ним белок будут приближены к участку связывания РНК-полимеразы с ДНК.

У эукариот один ген может иметь множество промоторов, определяющих формирование различных белковых продуктов.

В регуляции экспрессии у эукариот участвуют гистоновые и негистоновые белки. Гистоновые белки препятствуют считыванию информации с ДНК, а негистоновые - демаскируют ДНК, способствуют экспрессии генов.

У эукариот регуляция осуществляется на этапе созревания про-и-РНК в зрелую и-РНК.

У эукариот регуляция экспрессии генов происходит на этапе транспорта и-РНК в цитоплазму.

У эукариот присутствует РНК-интерференция (англ. RNA interference, RNAi) - процесс подавления экспрессии гена на стадии транскрипции и/или трансляции, посредством дегградации и-РНК при помощи малых молекул РНК.

Благодарю за внимание!