

Лекция 6. Молекулярная биология

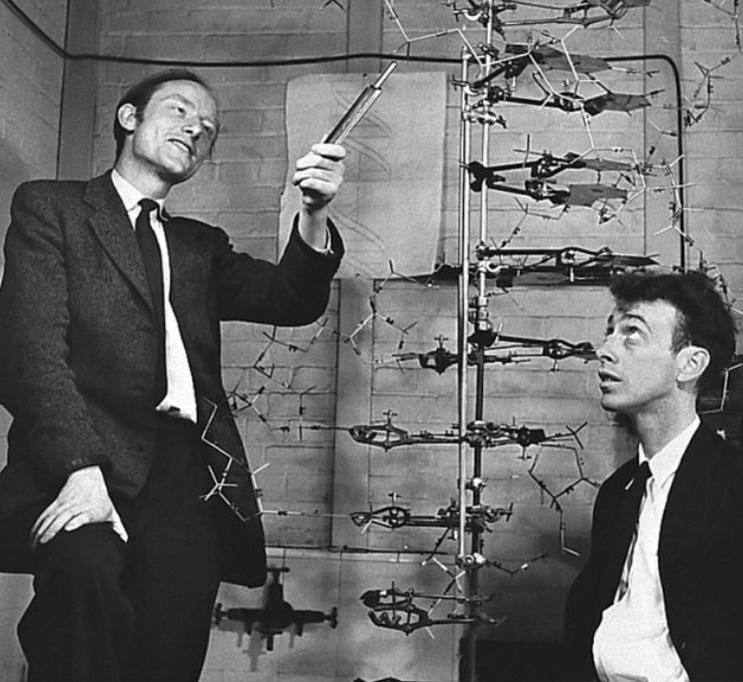




Нуклеиновые кислоты

ДНК

1953 г. – Открытие структуры ДНК
1962 г. Фрэнсису Крику, Джеймсу Уотсону и Морису Уилкинсу была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине



Розалинд Франклин
Rosalind Franklin



Francis Harry
Compton Crick

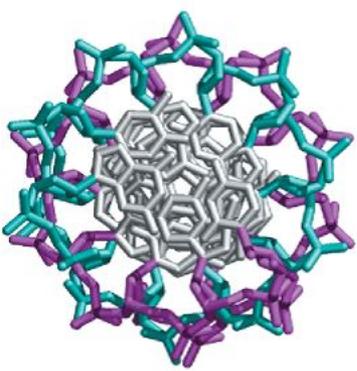
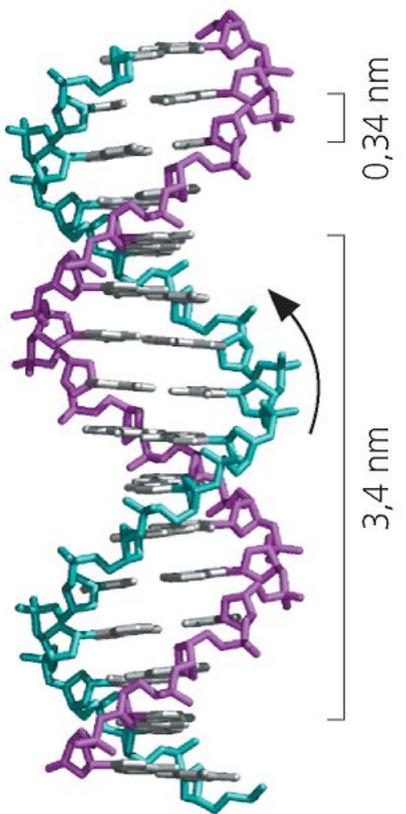


James Dewey
Watson

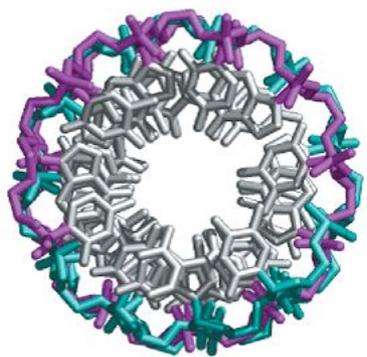
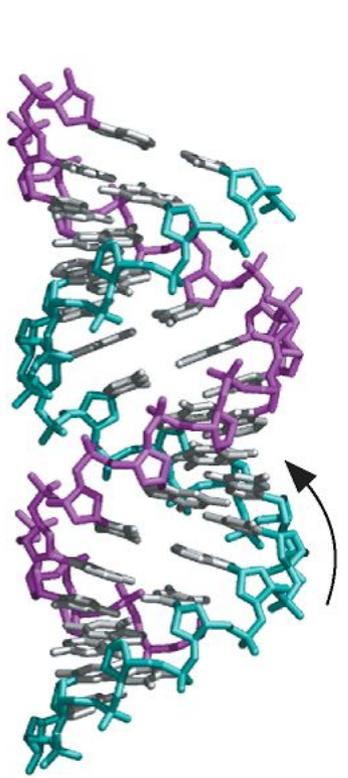


Maurice Hugh
Frederick Wilkins

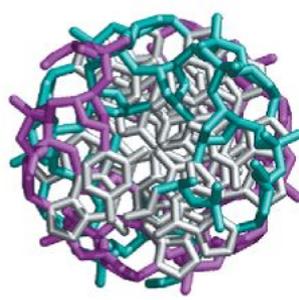
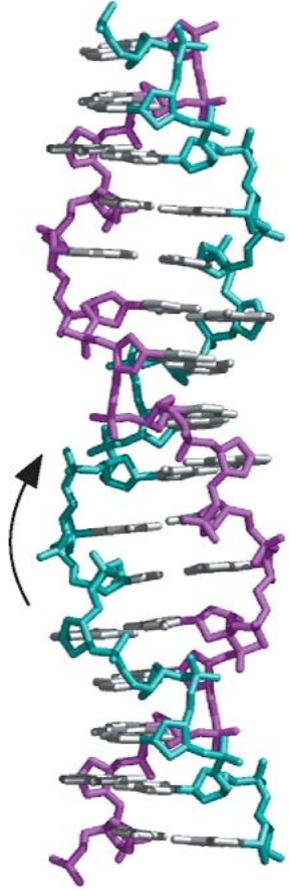
a DNA B



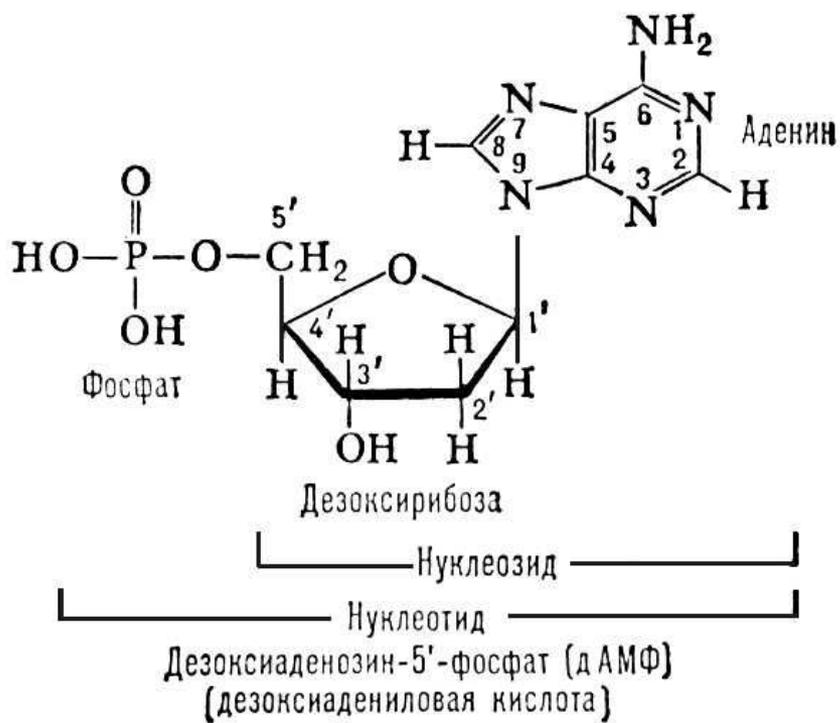
b DNA A



c DNA Z

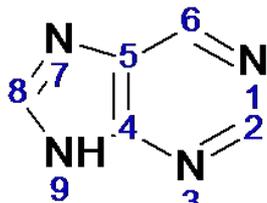


А – правозакрученная антипараллельная спираль, наблюдается в спиртовых растворах
В – основная конформация ДНК – правозакрученная антипараллельная, есть 2 бороздки, основания перпендикулярны оси закрутки
 Z – конформация – левозакрученная антипараллельная, образована чередованием -TATATATA- или -GCGCGCGC-

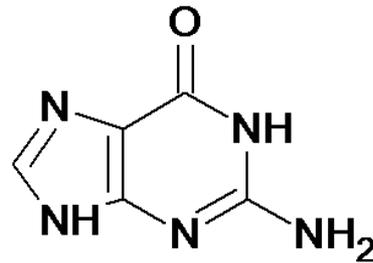


Правило Чаргаффа:

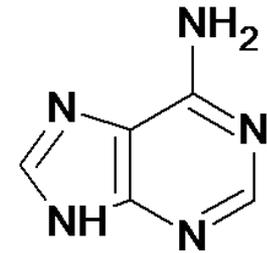
$$A=T; \Gamma=C \quad \text{или} \quad \frac{A+\Gamma}{C+T} = 1,$$



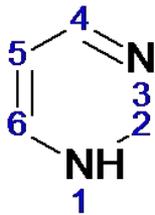
Purine



Guanine



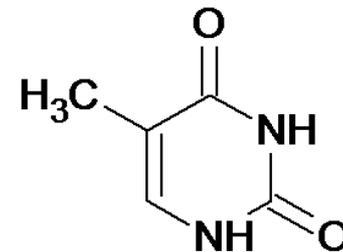
Adenine



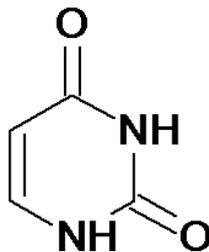
Pyrimidin



Cytosine

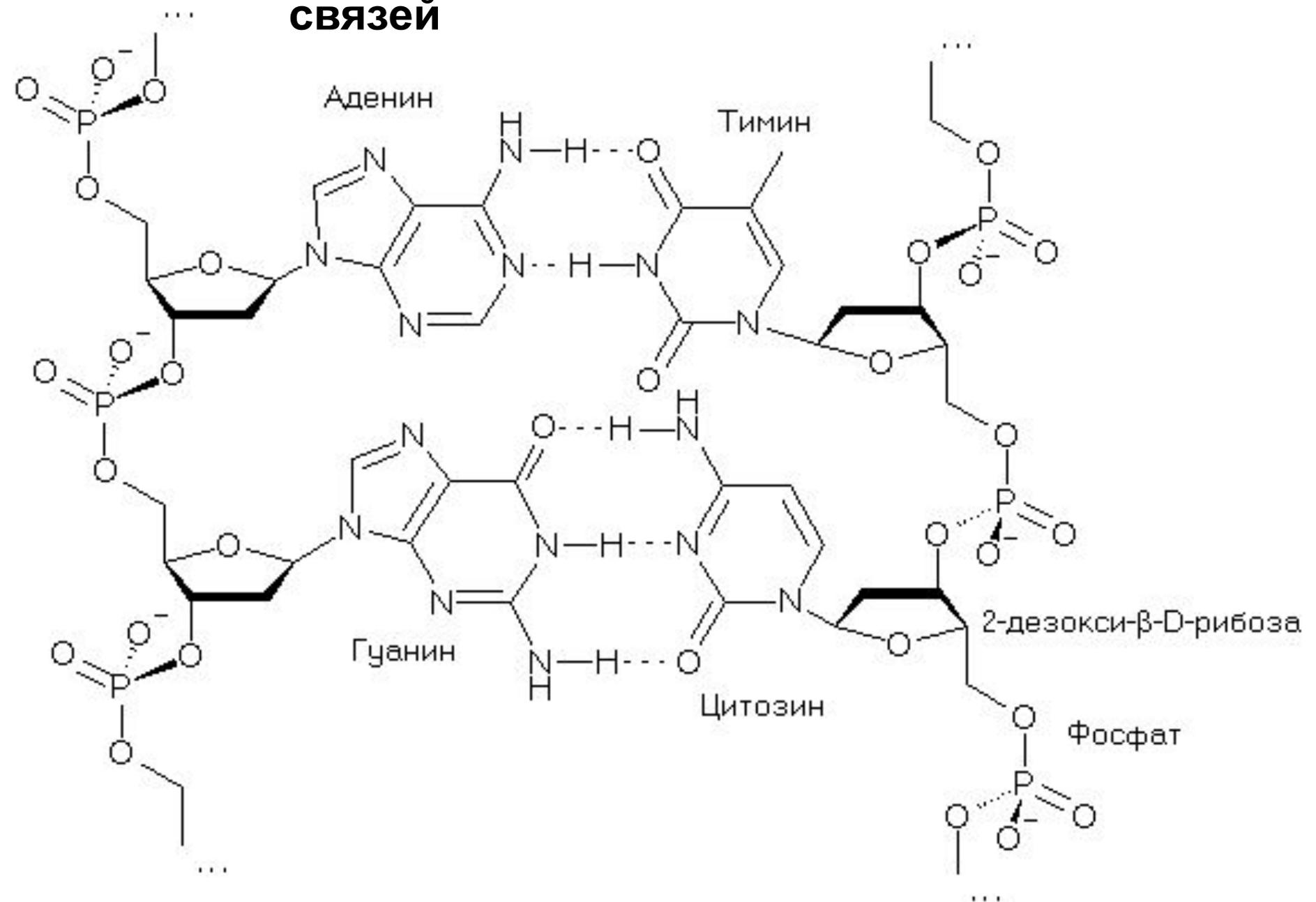


Thymine

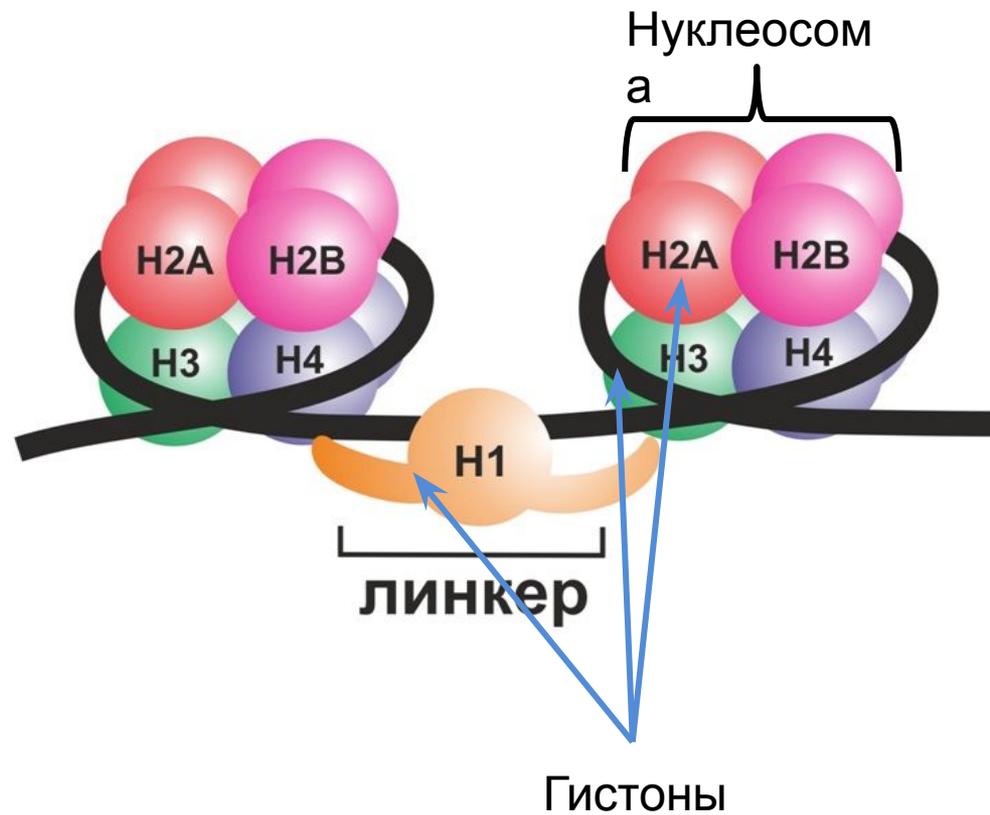
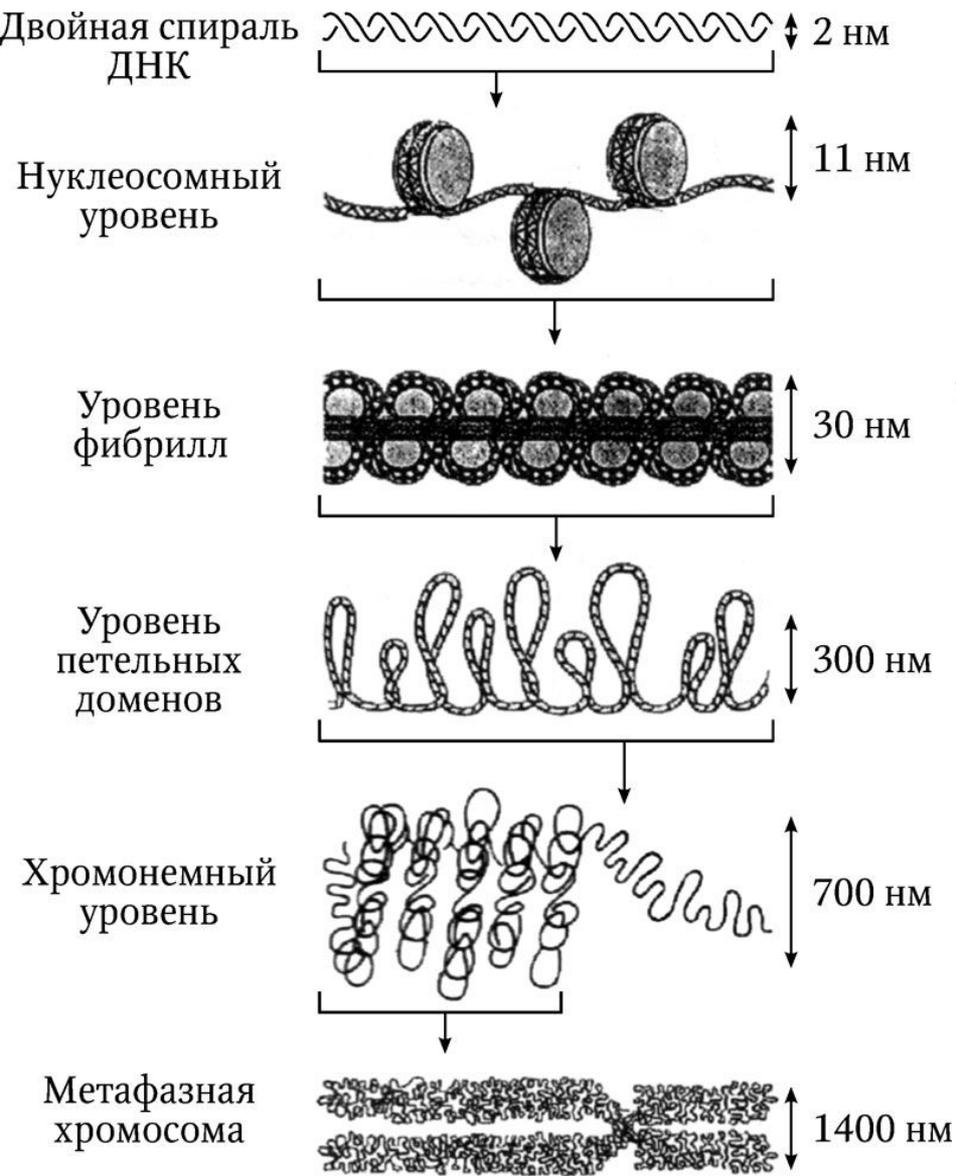


Uracil

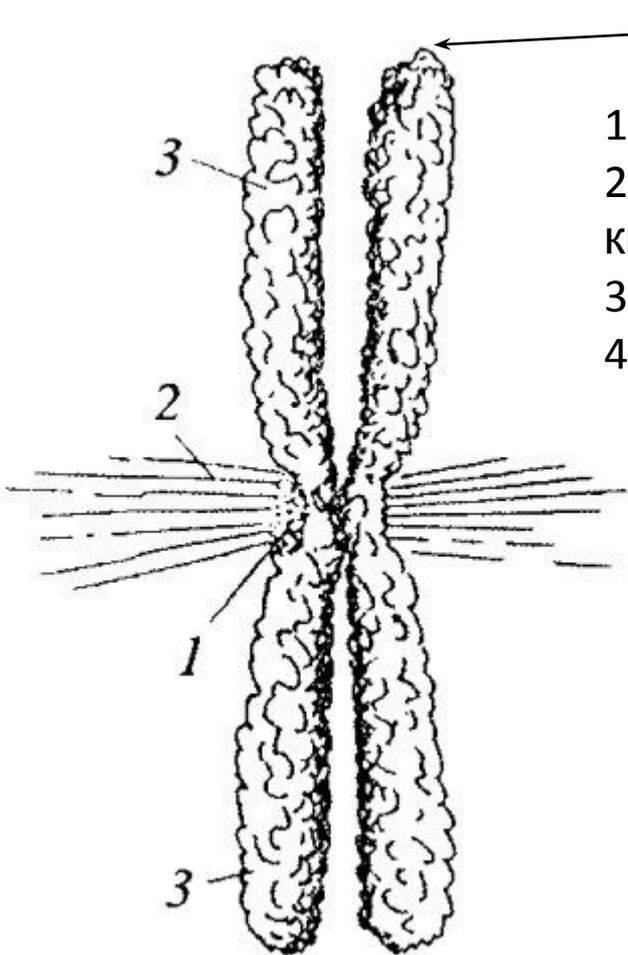
Стабилизация за счет водородных связей



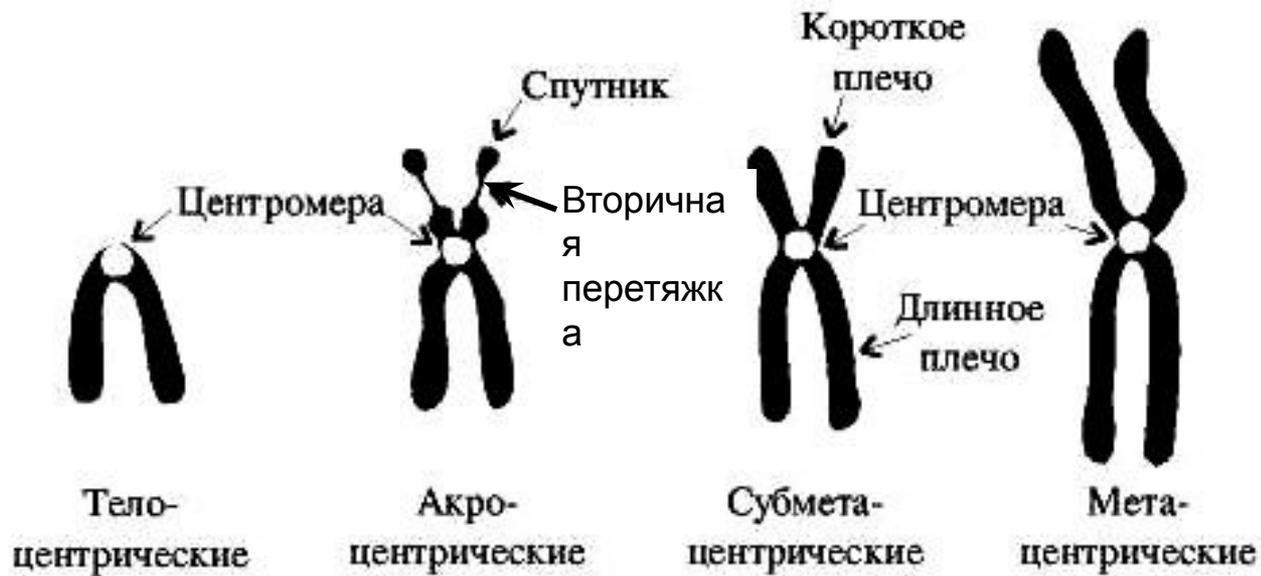
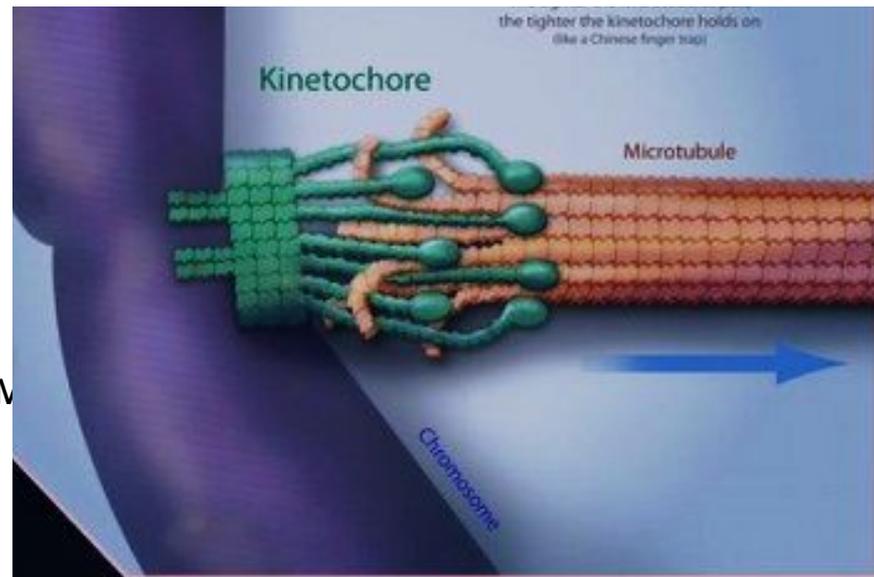
Компактизация ДНК



Метафазная хромосома



- 1 – центромера
- 2 – микротрубочки кинетохора
- 3 – плечи хромосом
- 4 - теломера



Хромати

Н

Эухроматин

- Плечи хромосом
- Активная экспрессия генов

Гетерохромати

Н

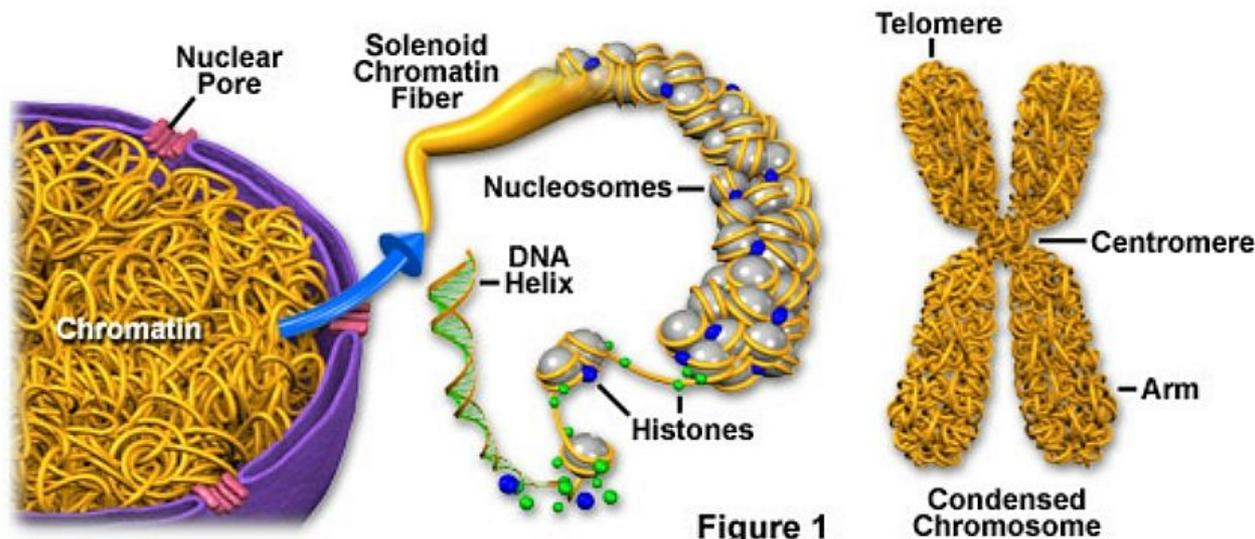
Факультативный

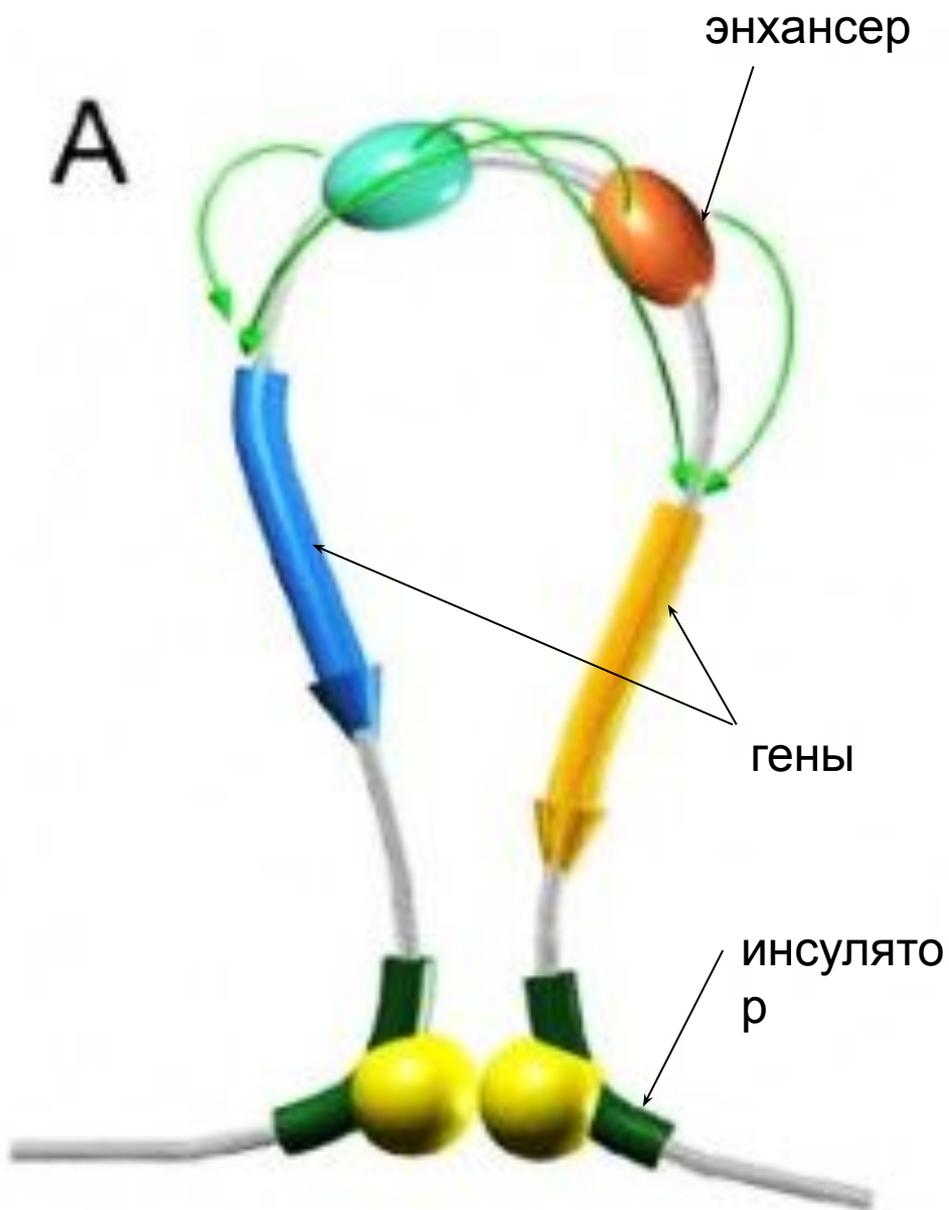
- Плечи хромосом
- Гены не экспрессируются

Конститутивный

- Центромера, теломеры хромосом, вторичные перетяжки
- Нет генов, кодирующих белки

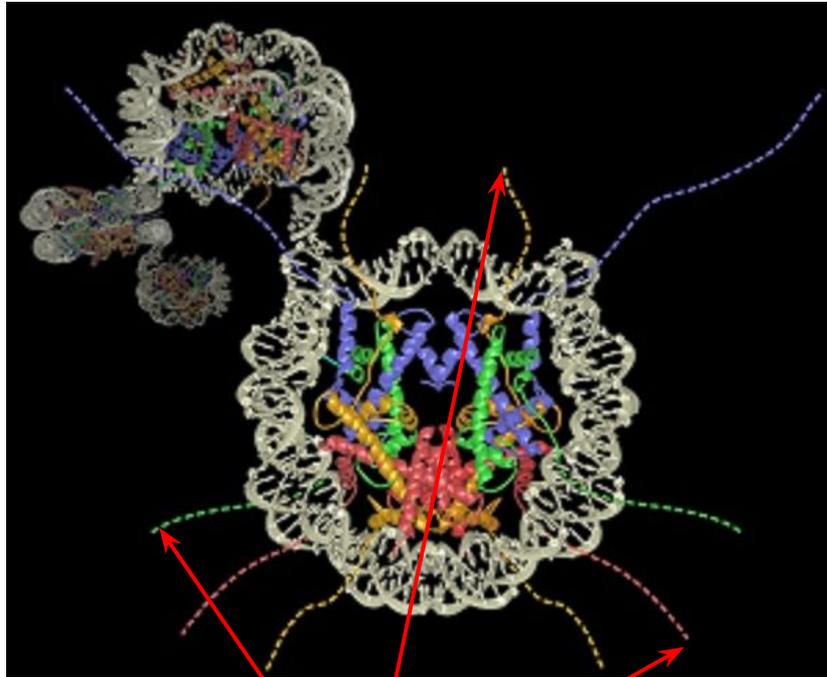
Chromatin and Condensed Chromosome Structure



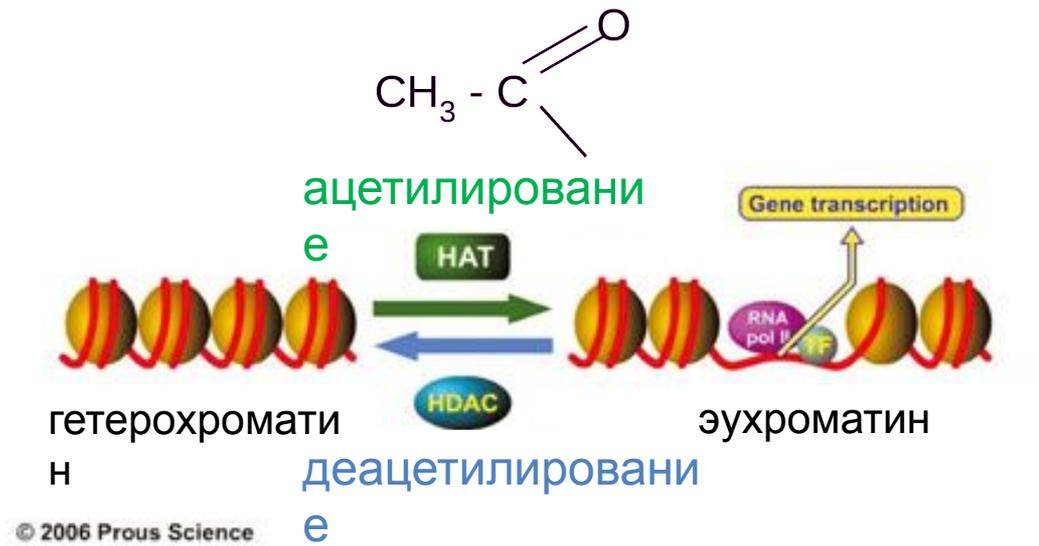


- **Энхансер (англ. enhancer)** — небольшой участок ДНК, который после связывания с ним факторов транскрипции стимулирует транскрипцию с основных промоторов гена или группы генов.
- **Сайленсер (англ. silencer)** — последовательность ДНК, с которой связываются белки-репрессоры (факторы транскрипции). Связывание белков-репрессоров с сайленсерами приводит к понижению или к полному подавлению синтеза РНК ферментом ДНК-зависимой РНК-полимеразой.
- **Инсуляторы** — последовательности ДНК, особые регуляторные элементы, которые обладают способностью блокировать сигналы, исходящие от окружения.

Модификация гистонов



N- концы
«ХВОСТОВ»
ГИСТОНОВ – ПО НИМ
идет
модификация



- Ацетилирование – гены экспрессируются
- Деацетилирование – гены «замолкают»
- Метилирование – сайленсинг генов CH_3

Центральная догма молекулярной биологии

Современное представление центральной догмы молекулярной биологии

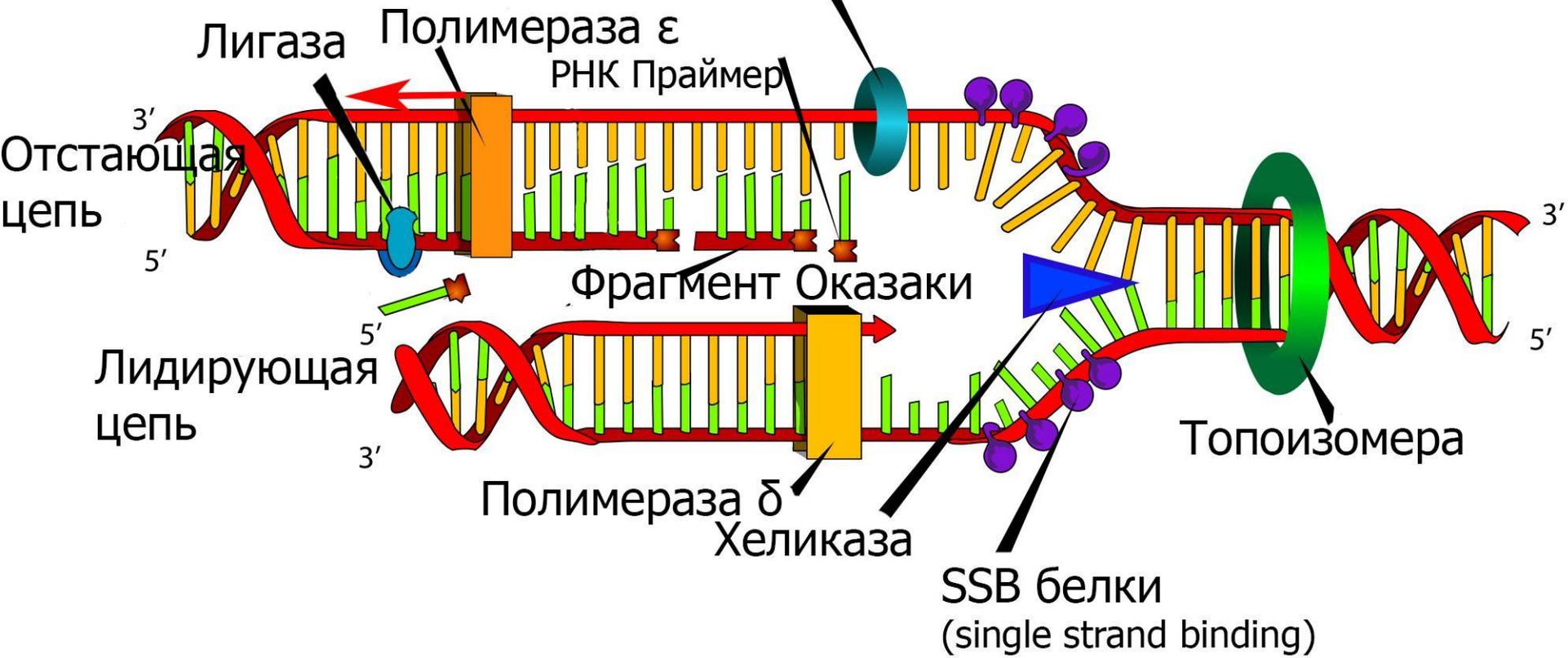


Репликация - воспроизведение и передача генетической информации в поколениях клеток и организмов

Транскрипция - это синтез всех видов РНК по матрице ДНК, осуществляемый ферментом ДНК-зависимой РНК-полимеразой

Трансляция - синтез полипептидной цепи рибосомой на РНК матрице из аминокислот

Репликация у эукариот



ДНК-зависимая ДНК полимераза ε – синтез отстающей цепи, вырезает РНК праймеры перед собой

ДНК-зависимая ДНК полимераза δ – синтез лидирующей цепи

SSB белки – поддерживают однонитевое состояние

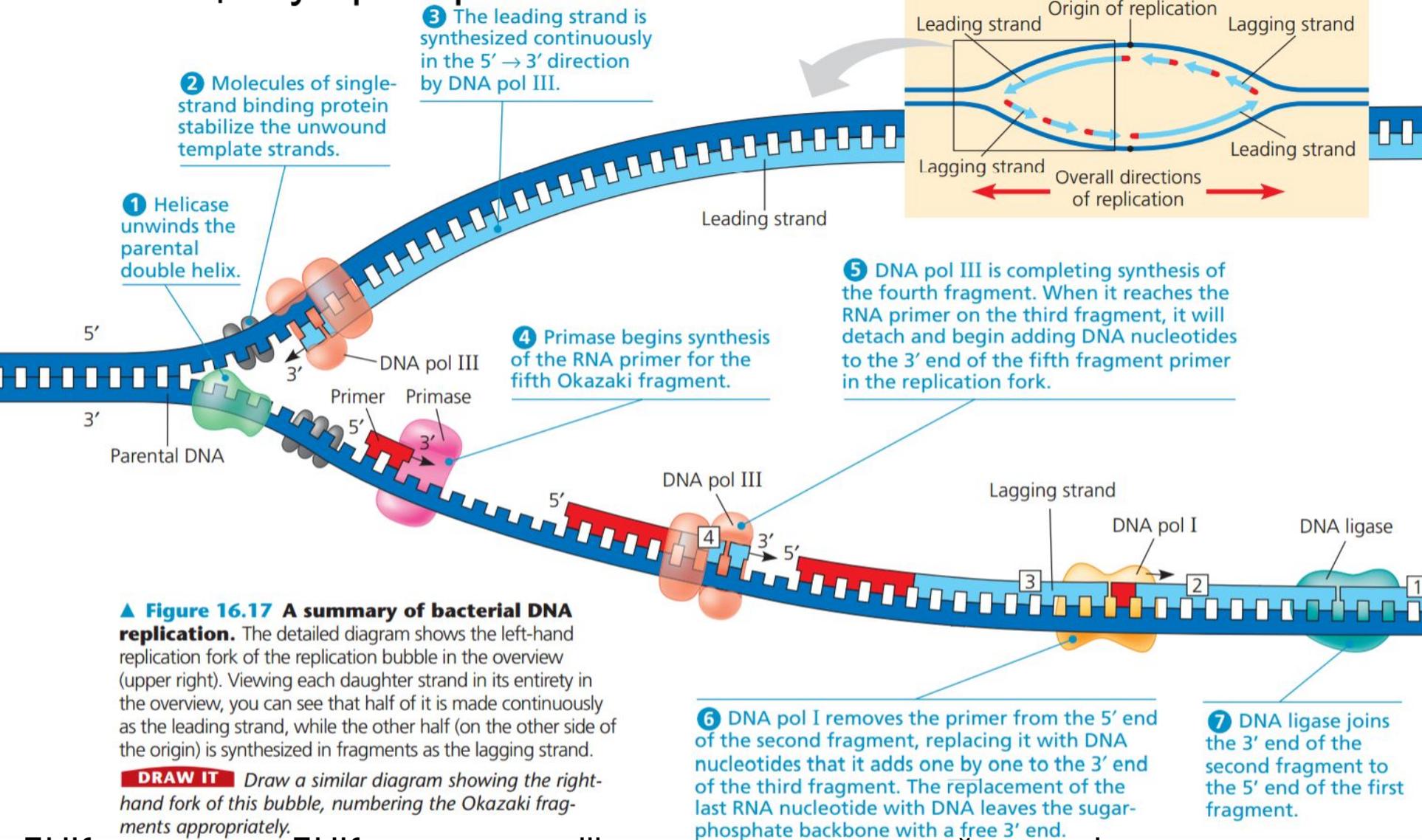
Хеликаза – расплетание цепи

Топоизомераза – убирает всверхспирализацию

Лигаза – сшивание однонитевого разрыва

Праймаза – прикрепление РНК праймера к отстающей цепи

Репликация у прокариот



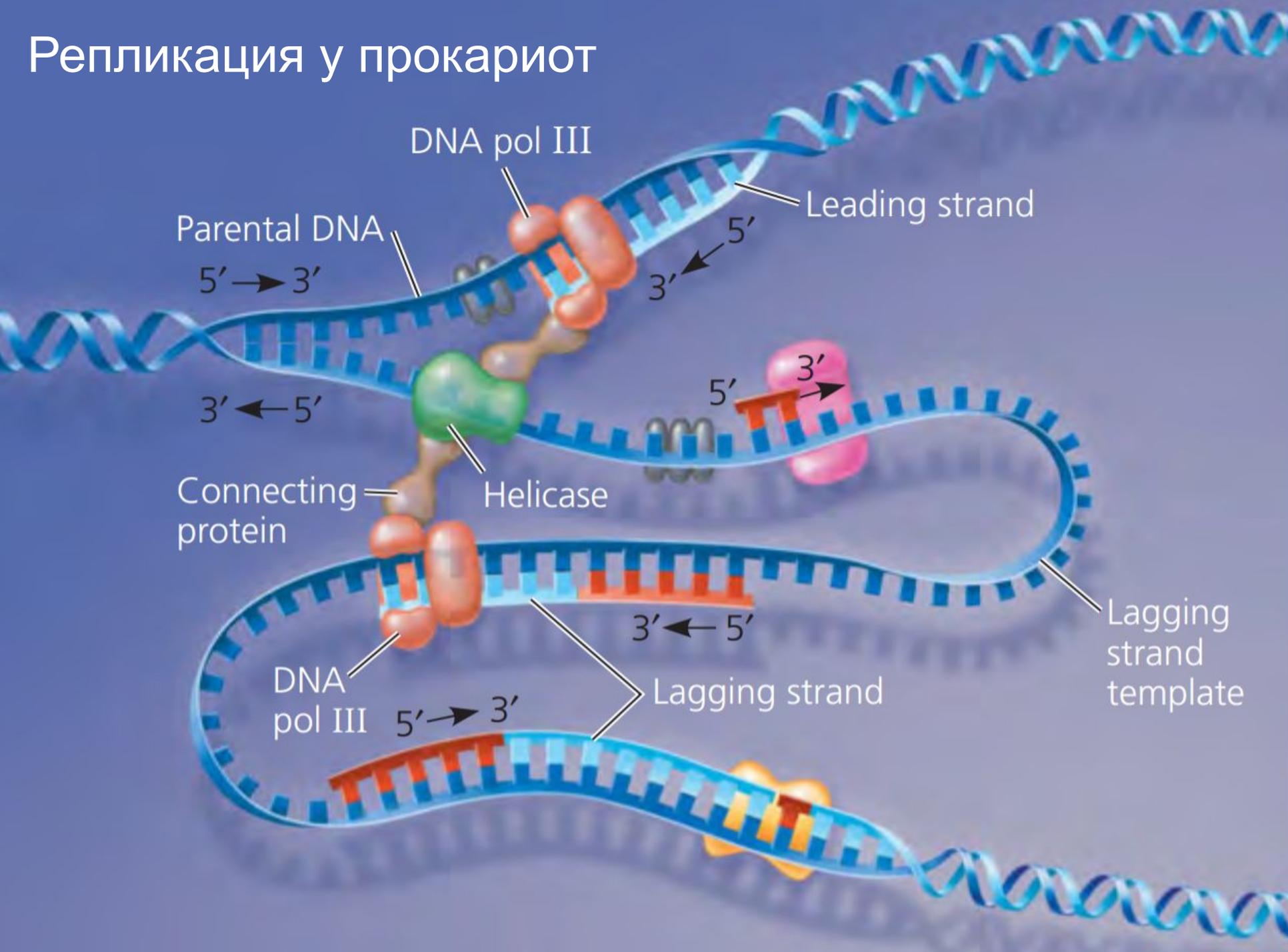
▲ Figure 16.17 A summary of bacterial DNA replication. The detailed diagram shows the left-hand replication fork of the replication bubble in the overview (upper right). Viewing each daughter strand in its entirety in the overview, you can see that half of it is made continuously as the leading strand, while the other half (on the other side of the origin) is synthesized in fragments as the lagging strand.

DRAW IT Draw a similar diagram showing the right-hand fork of this bubble, numbering the Okazaki fragments appropriately.

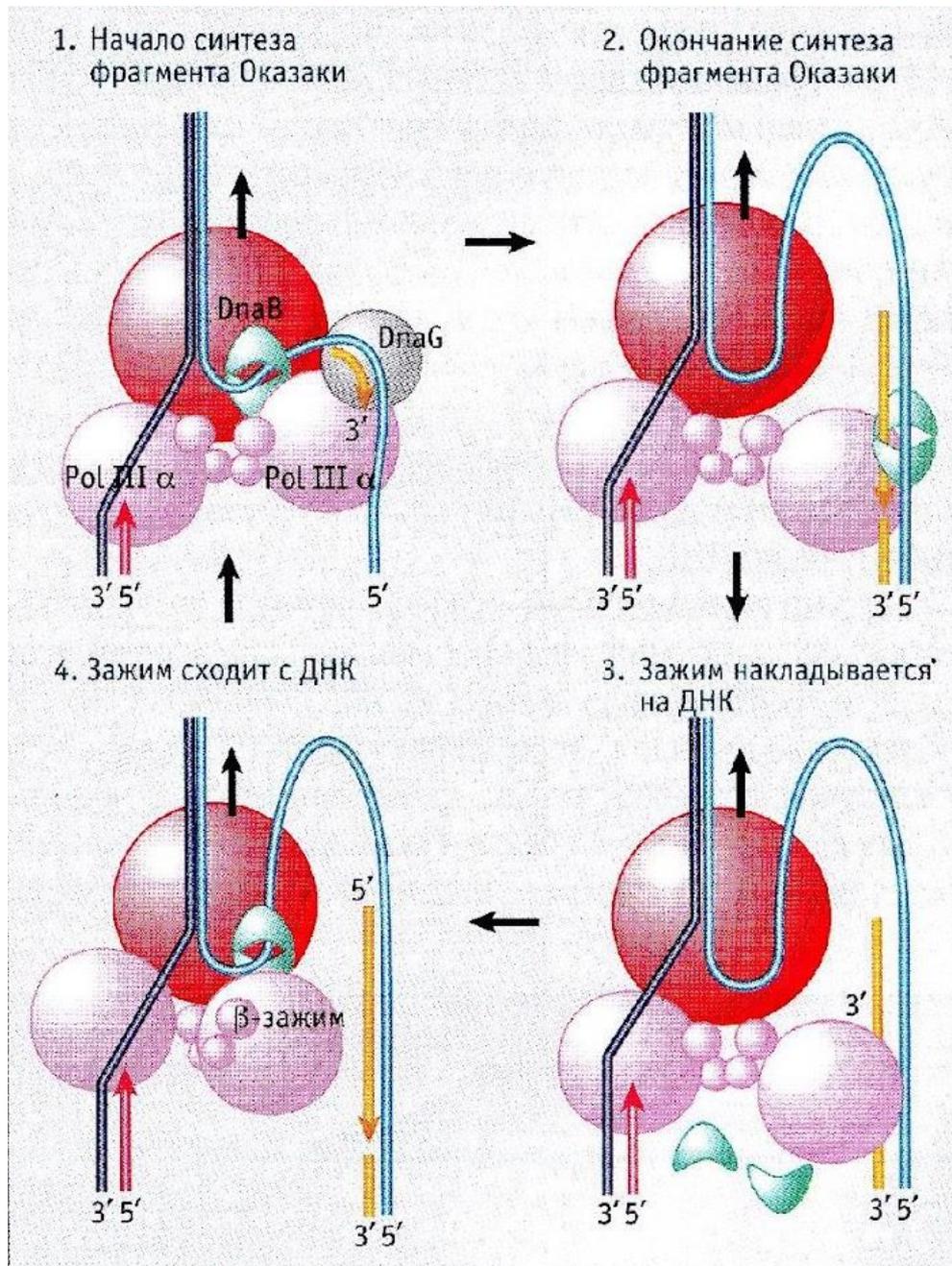
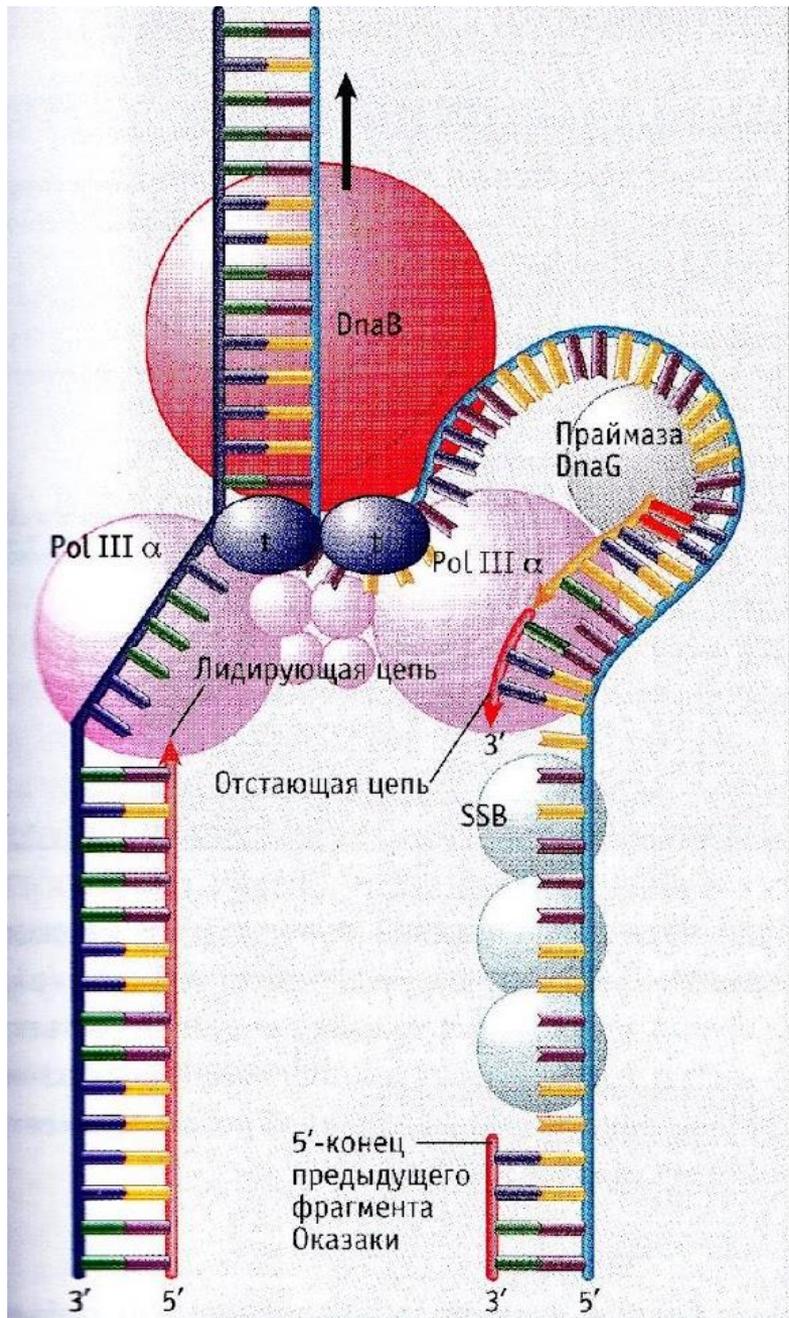
ДНК-зависимая ДНК полимераза III – синтез лидирующей цепи, фрагментов Оказаки отстающей цепи

ДНК-зависимая ДНК полимераза I – синтез отстающей цепи, вырезает РНК праймеры перед собой

Репликация у прокариот



Репликация у прокариот



Прокариоты

ДНК-полимераза	Скорость	Процессивность (способность не срываться с цепи)	Особые свойства
I	1000 нукл/мин	низкая	Вырезает нуклеотиды впереди себя
III	50000 нукл/мин	высокая	
II	3000 нукл/мин		Для починки ДНК

Другие полимеразы эукариот

- Альфа – ДНК зависимая ДНК полимераза, сцеплена с праймазой, выполняет функции прокариотической полимеразы III на отстающей цепи, не вырезает перед собой нуклеотиды
- Гамма – митохондриальная ДНК зависимая ДНК полимераза
- Бэта – для починки ДНК (одна из многих)

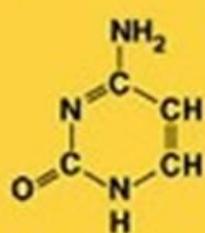
РН

РНК	Функции
мРНК	
рРНК	
тРНК	
snRNA (малые ядерные)	Сплайсинг
snoRNA (малые ядрышковые)	Хим. модификация рРНК
miRNA	Регуляция транскрипции
siRNA	Регуляция транскрипции, интерференция
Другие некодирующие	Белки-транспортеры, инактивация X хромосомы, теломеразная РНК ...

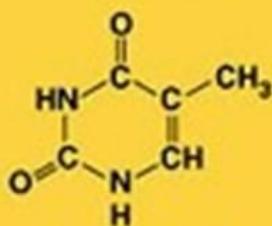
Ядрышко

- Особый компартмент ядра, не отделенный мембраной
- Синтез рРНК, сборка рибосомных субъединиц
- Гены рРНК существуют во многих копиях, поэтому ядрышек обычно несколько

Пиримидиновые основания

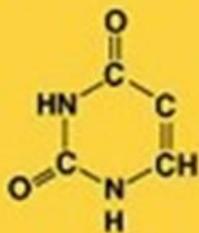


Цитозин



Тимин

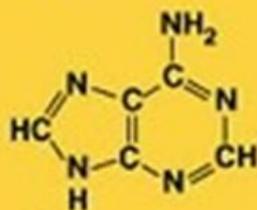
Только в ДНК



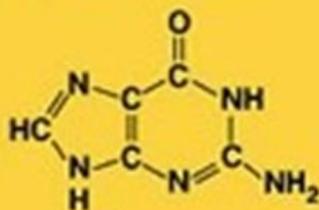
Урацил

Только в РНК

Пуриновые основания

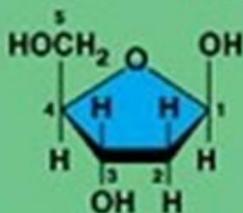


Аденин
A



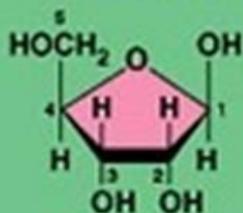
Гуанин
G

Только в ДНК

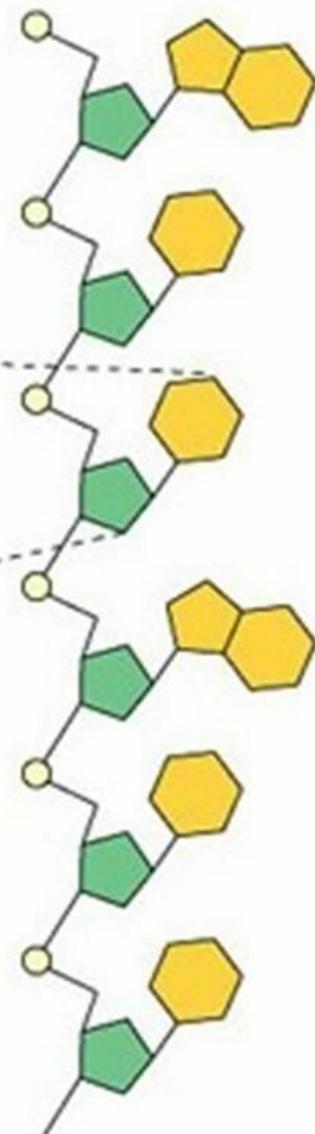
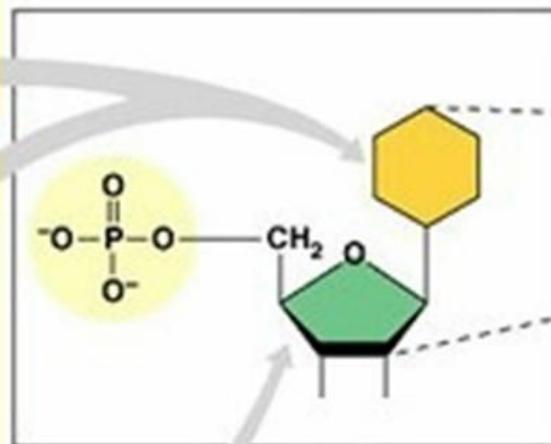


Дезоксирибоза

Только в РНК

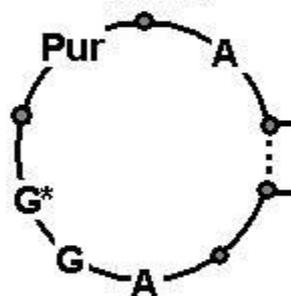


Рибоза



Вторичная структура тРНК

Дигидроуридиловая петля



5'-конец

pG...

Pur

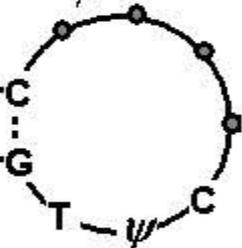
3'-конец

A
C
C
C

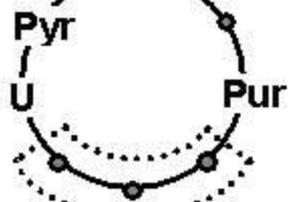
Акцепторная ветвь

U

T ψ C-петля



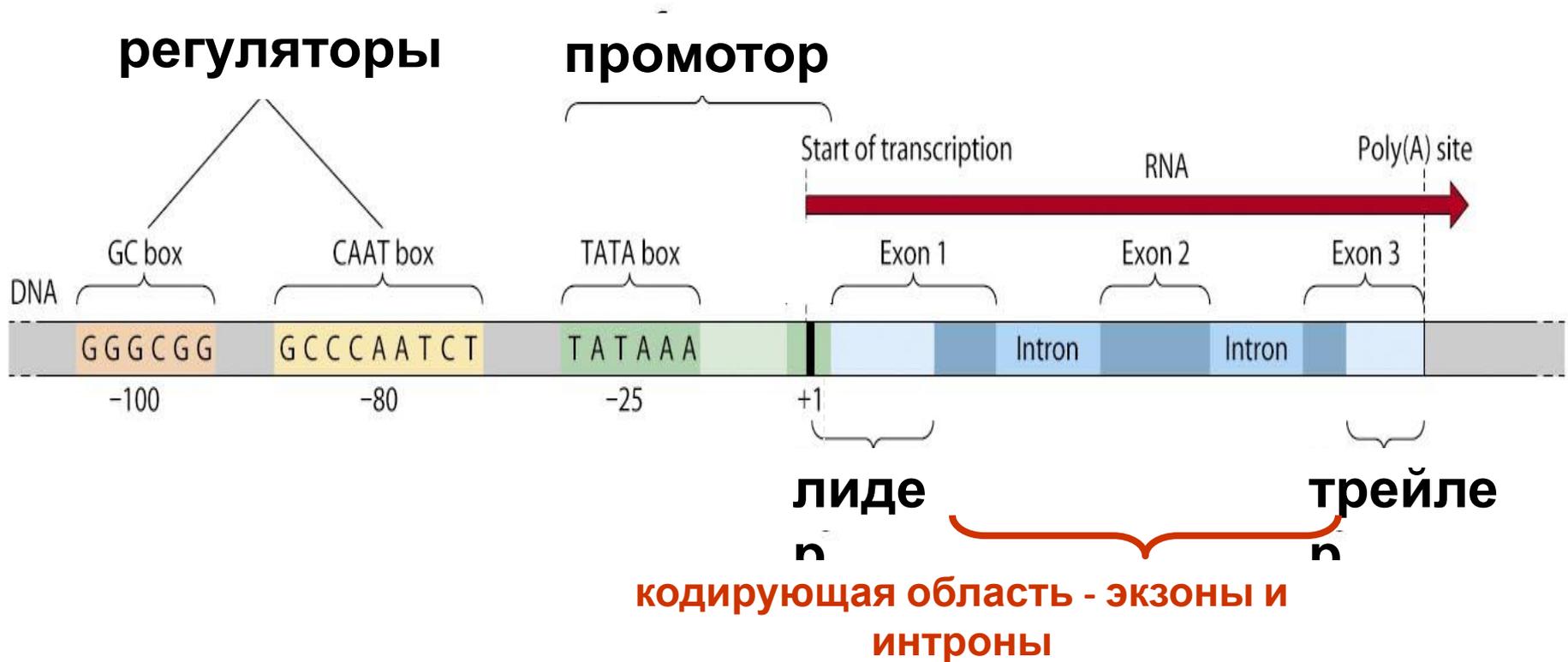
Дополнительная петля (варьирует по размеру, присутствует не во всех тРНК)



Антикодон

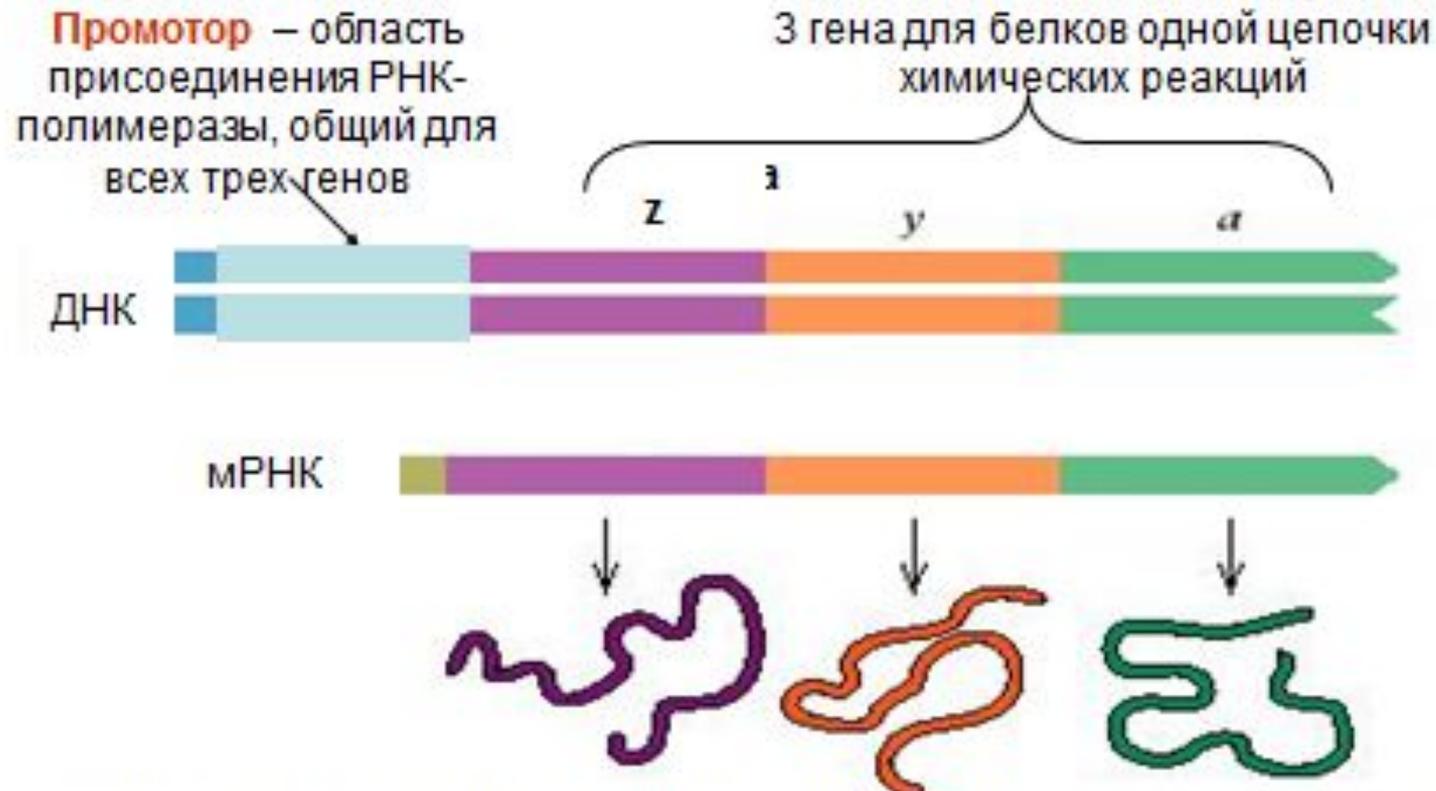
Ген эукариот

Ген – участок ДНК, в котором закодирована информация о последовательности белка или структуре функциональной РНК + регулирующие элементы, необходимые для реализации информации



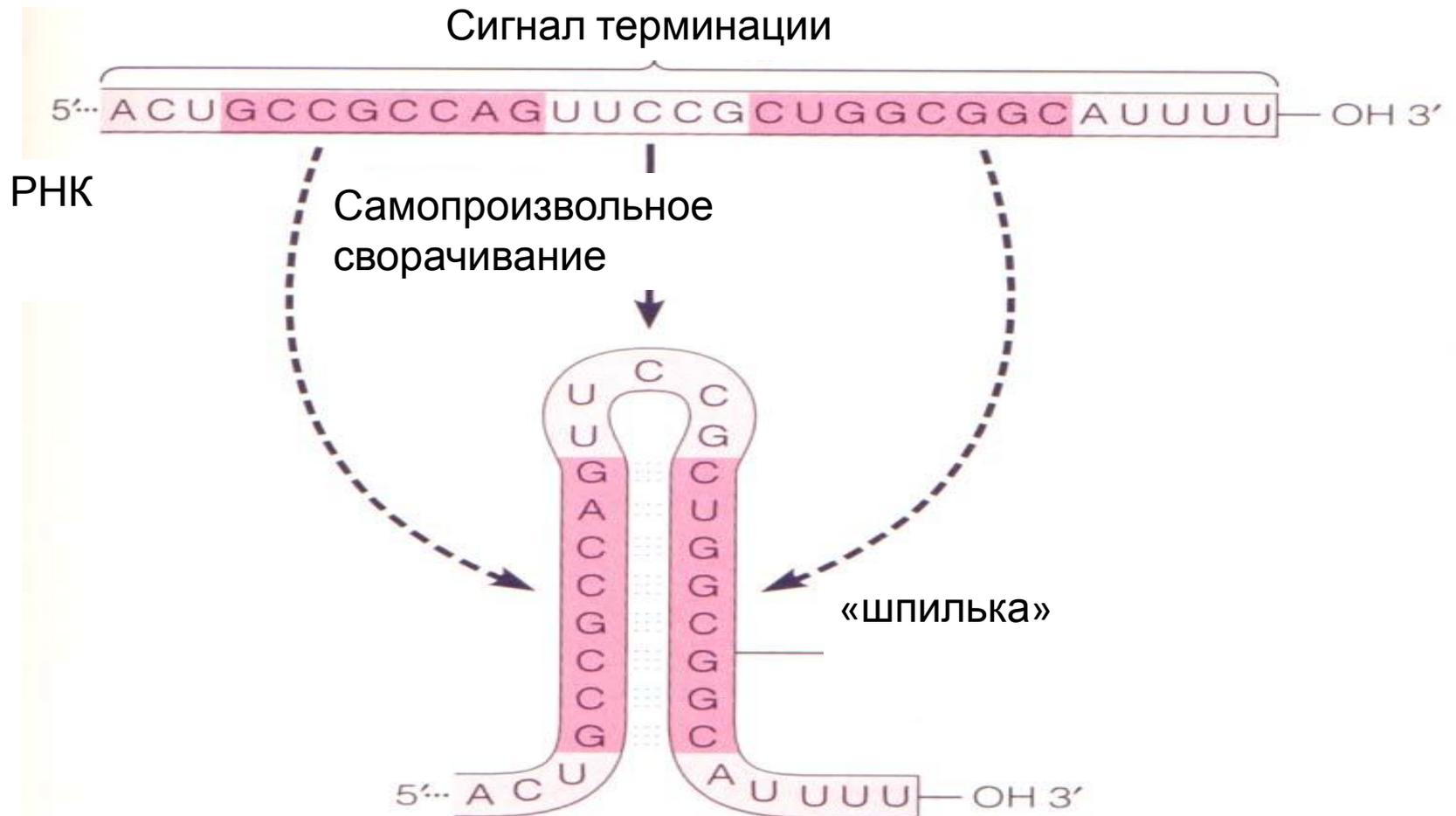
Ген прокариот – один промотор на несколько закодированных белков = оперон

Строение лактозного оперона бактерии кишечной палочки (E.coli).



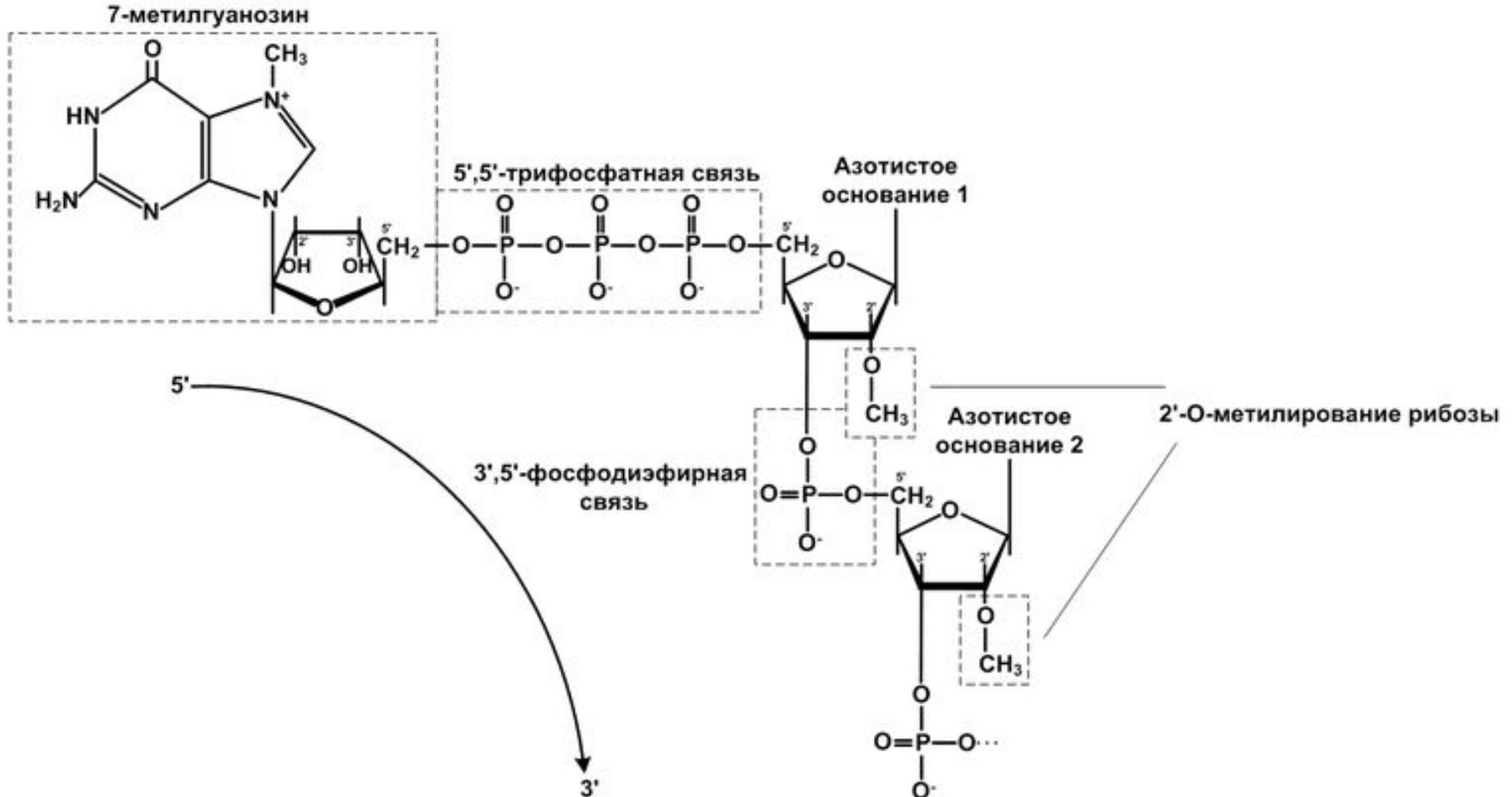
Три белка: галактозидаза, пермеаза и трансацетилаза, нужные для переваривания лактозы синтезируются одновременно

Терминация. Сигналом для этого служит образование «шпильки» на РНК, при этом РНК отсоединяется от ДНК

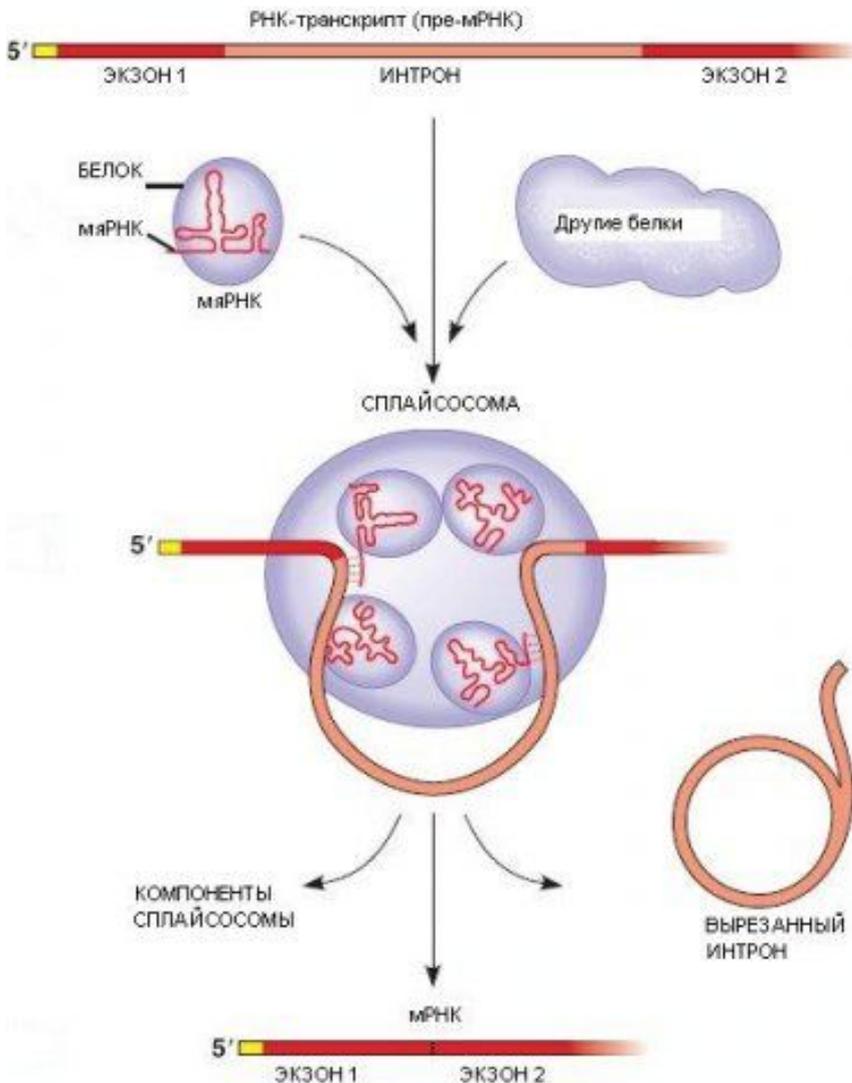


Процессинг РНК

1. присоединение кэпа (7-метилгуанозина) к 5' концу
2. полиаденилового хвоста к 3' концу
3. вырезание интронов
4. сплайсинг (сшивание) экзонов

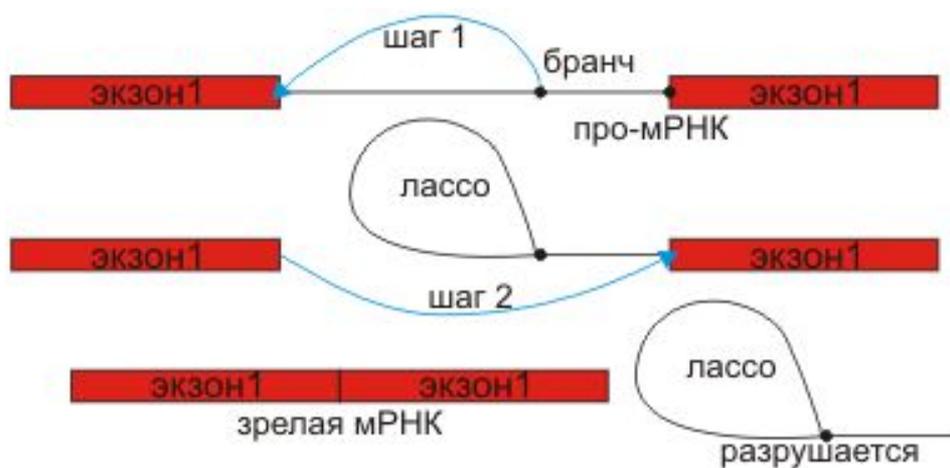
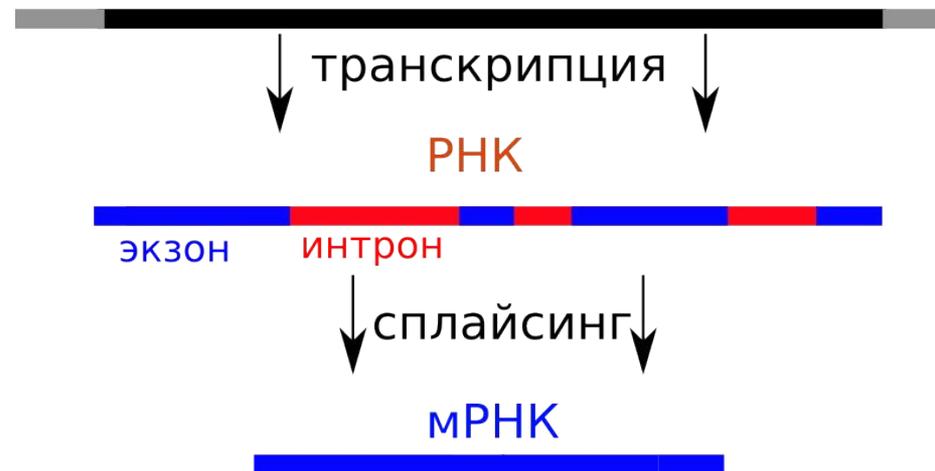


Сплайсинг



+ альтернативный сплайсинг

ДНК ген



Генетический код

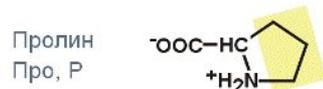
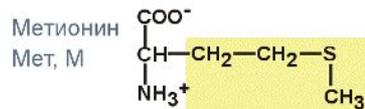
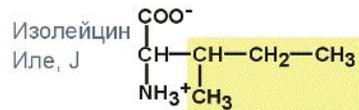
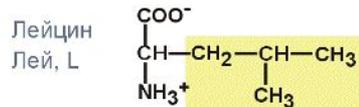
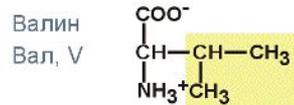
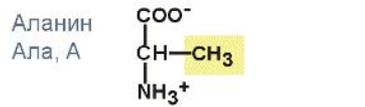
- Триплетность
- Избыточность $4 \cdot 4 \cdot 4 = 64 > 22$
- Однозначность
- Универсальность — одинаков для всех живых существ
- Универсальность
- Неперекрываемость — отсутствие сдвига рамки считывания

Second base

		U	C	A	G			
First base	U	UUU } фенилаланин UUC } UUA } лейцин UUG }	UCU } UCC } серин UCA } UCG }	UAU } тирозин UAC } UAA } стоп-кодон UAG } стоп-кодон	UGU } цистеин UGC } UGA } стоп-кодон UGG } триптофан	Third base	U	CAG
	C	CUU } лейцин CUC } CUA } CUG }	CCU } CCC } пролин CCA } CCG }	CAU } гистидин CAC } CAA } глутамин CAG }	CGU } CGC } аргинин CGA } CGG }		C	
	A	AUU } изолейцин AUC } AUA } AUG } метионин старт-кодон	ACU } ACC } треонин ACA } ACG }	AAU } аспарагин AAC } AAA } лизин AAG }	AGU } серин AGC } AGA } аргинин AGG }		A	
	G	GUU } GUC } валин GUA } GUG }	GCU } GCC } аланин GCA } GCG }	GAU } аспарагиновая GAC } кислота GAA } глутаминовая GAG } кислота	GGU } GGC } глицин GGA } GGG }		G	

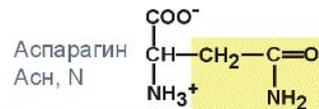
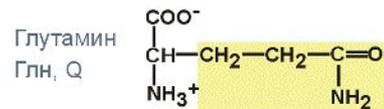
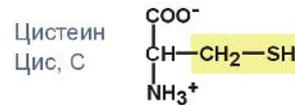
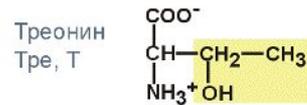
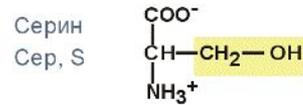
Неполярные

Алифатические

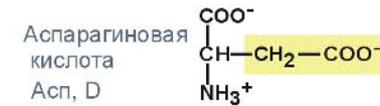
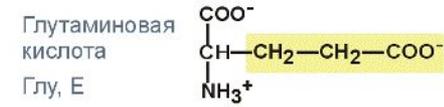


Полярные

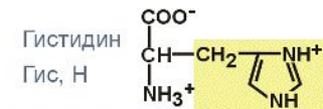
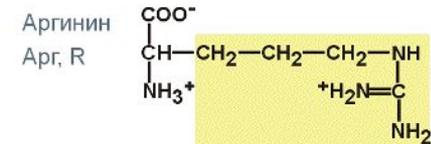
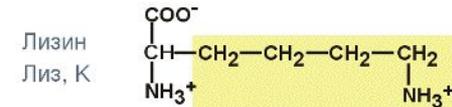
Незаряженные



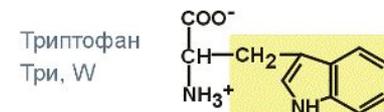
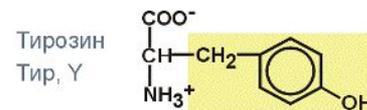
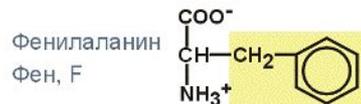
Отрицательно заряженные



Положительно заряженные

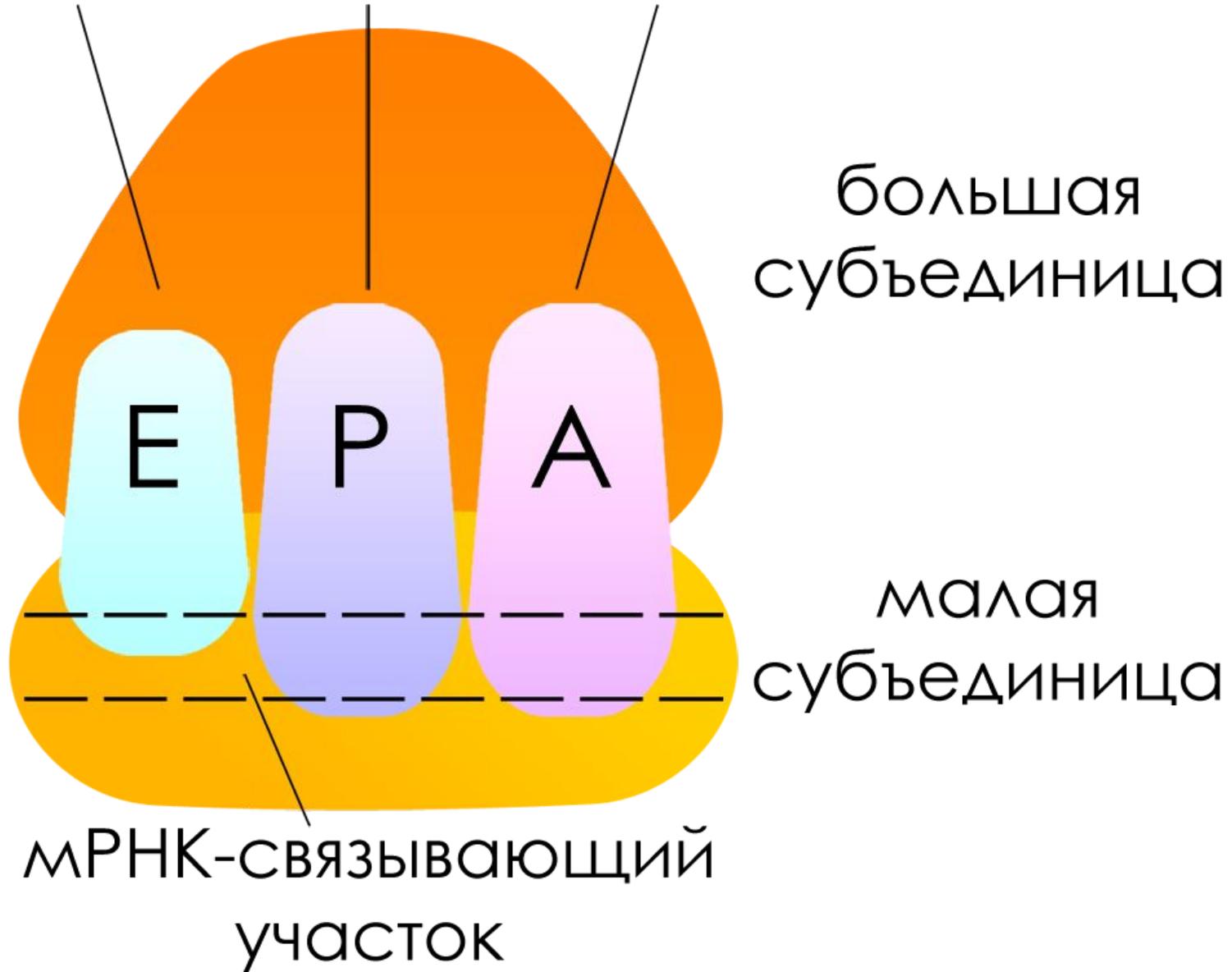


Ароматические



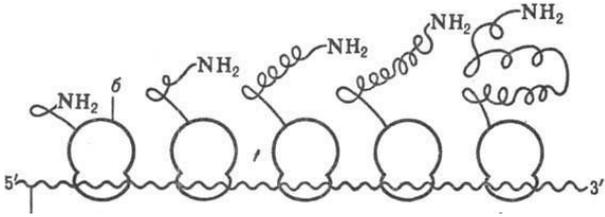
Строение рибосомы

Е-сайт Р-сайт А-сайт



Рибосомы

Свободные в цитозоли
В виде полирибосом



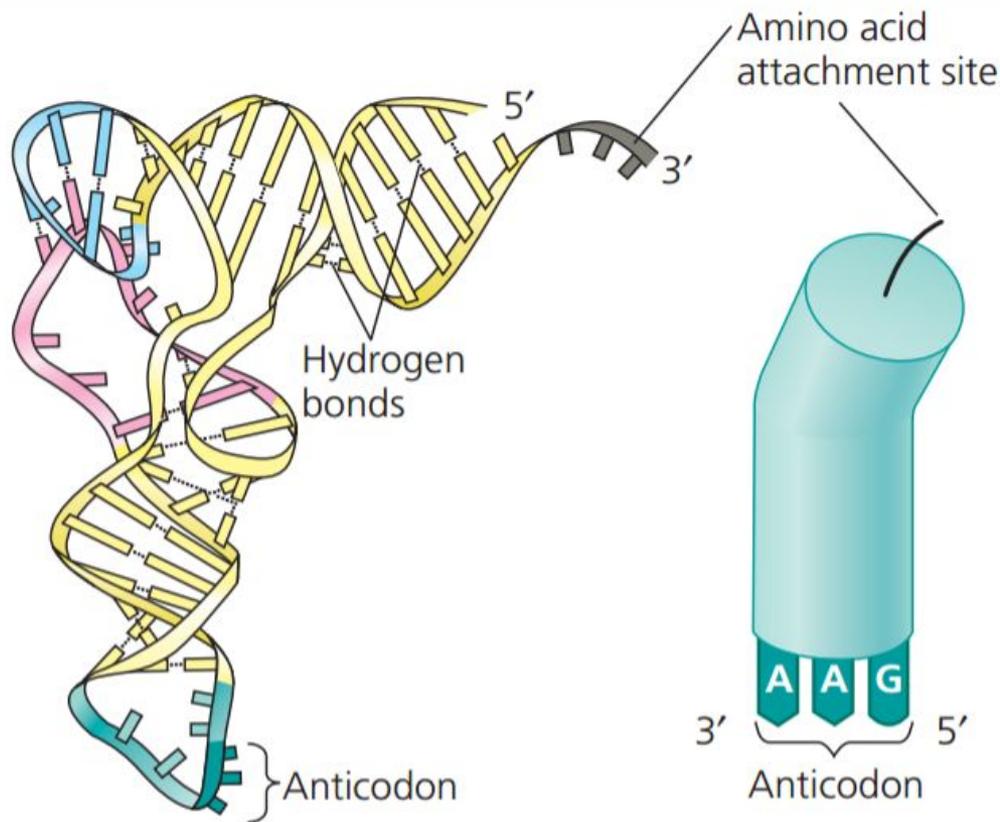
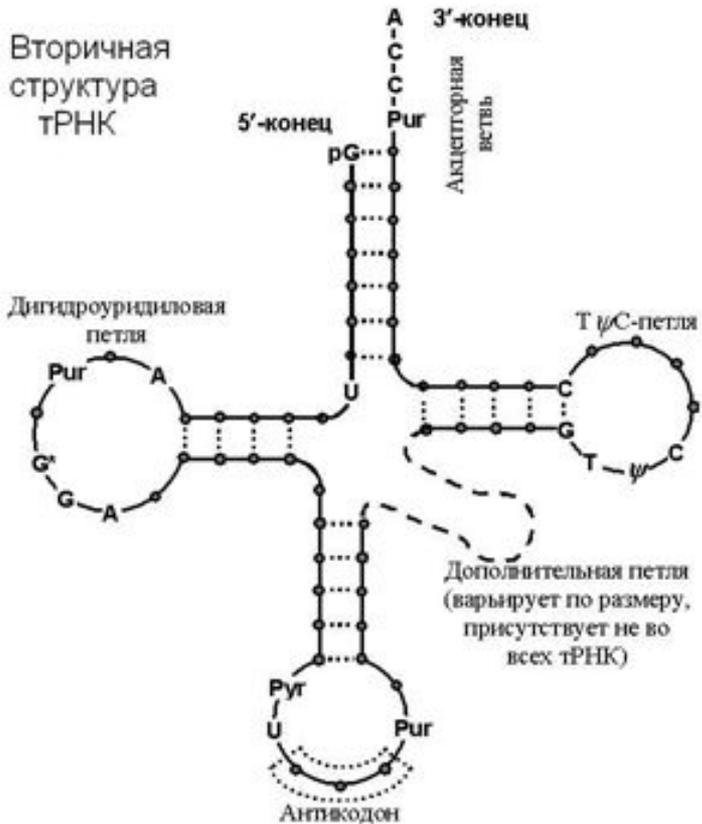
Белки цитоплазмы,
митохондрий, хлоропласт,
пероксисом

Сидячие на ЭПР

Мембранные белки, белки
на экспорт, в АГ, ядро,
лизосомы, эндосомы

	Рибосома	Субъединицы	рРНК	Белки (шт)
Эукариоты	80S	40S	18S	33
		60S	5S, 5,8S, 28S	49
Прокариоты	70S	30S	16S	21
		50S	5S, 23S	32

Вторичная структура тРНК

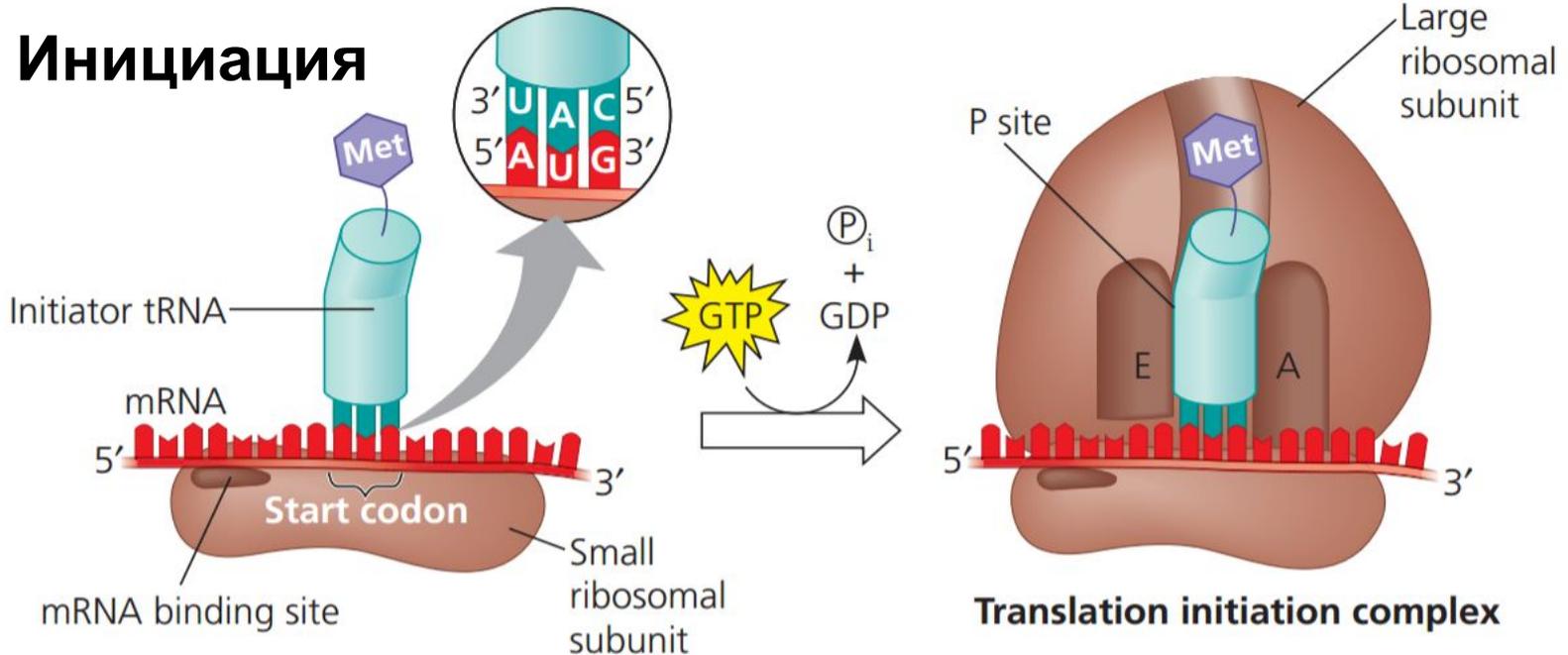


(b) Three-dimensional structure

(c) **Symbol** used in this book

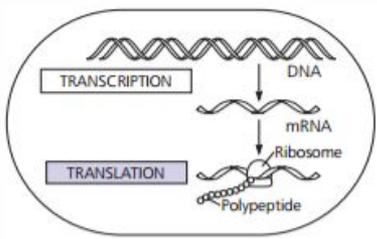
ДНК 3'-----5' – матричная цепь
 5'-----3' – кодирующая цепь
 РНК 5'-----3'
 Белок NH2-----COOH

Инициация

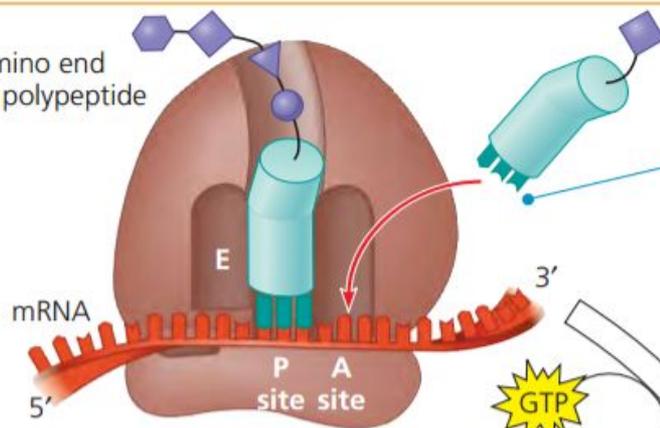


1 A small ribosomal subunit binds to a molecule of mRNA. In a bacterial cell, the mRNA binding site on this subunit recognizes a specific nucleotide sequence on the mRNA just upstream of the start codon. An initiator tRNA, with the anticodon UAC, base-pairs with the start codon, AUG. This tRNA carries the amino acid methionine (Met).

2 The arrival of a large ribosomal subunit completes the initiation complex. Proteins called initiation factors (not shown) are required to bring all the translation components together. Hydrolysis of GTP provides the energy for the assembly. The initiator tRNA is in the P site; the A site is available to the tRNA bearing the next amino acid.

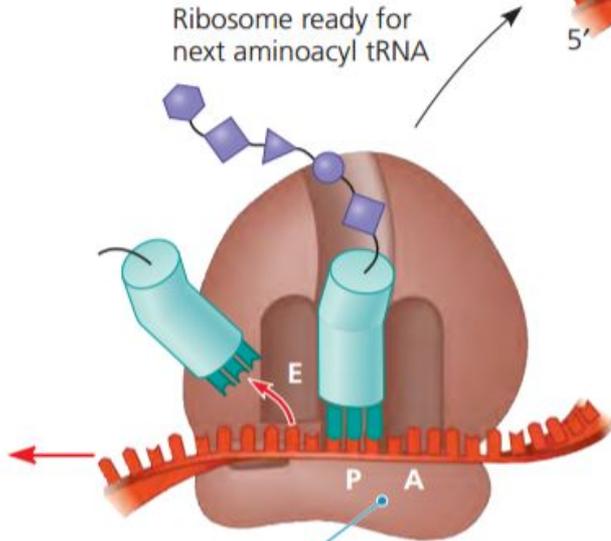


Amino end of polypeptide

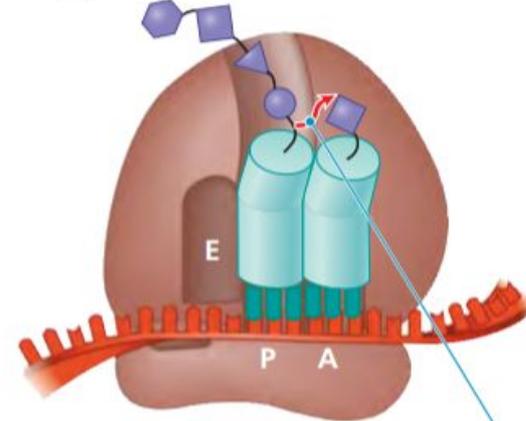


1 Codon recognition. The anticodon of an incoming aminoacyl tRNA base-pairs with the complementary mRNA codon in the A site. Hydrolysis of GTP increases the accuracy and efficiency of this step. Although not shown, many different aminoacyl tRNAs are present, but only the one with the appropriate anticodon will bind and allow the cycle to progress.

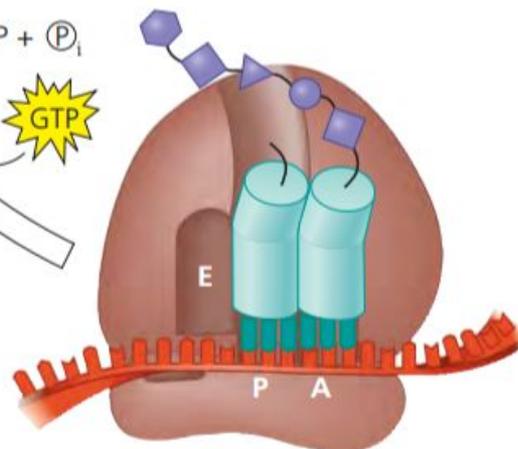
Элонгация трансляции



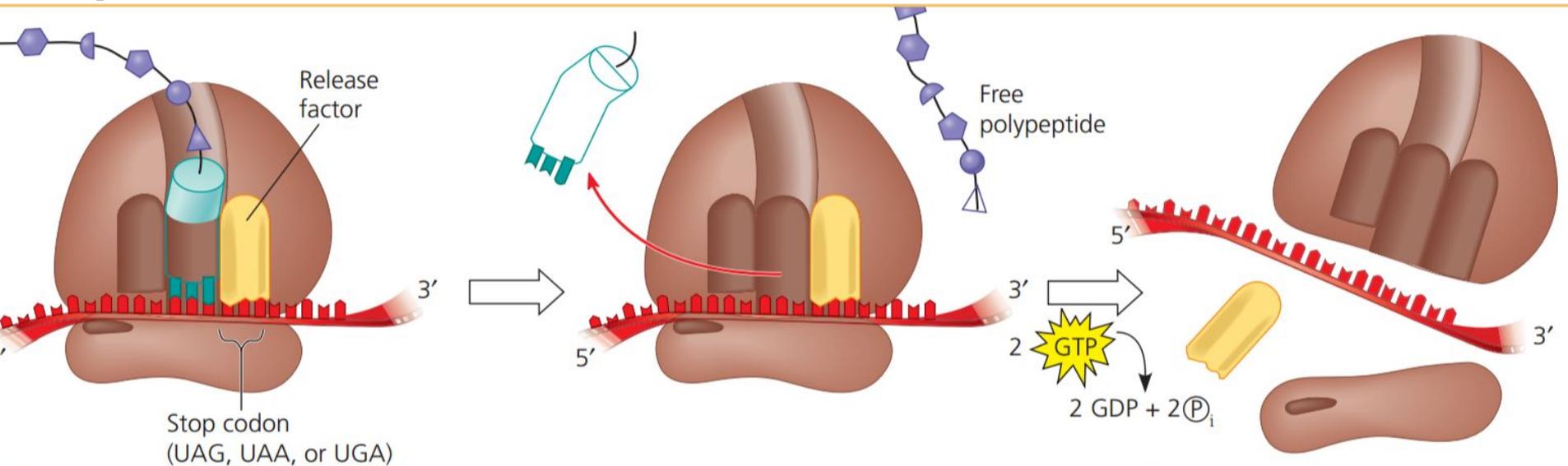
3 Translocation. The ribosome translocates the tRNA in the A site to the P site. At the same time, the empty tRNA in the P site is moved to the E site, where it is released. The mRNA moves along with its bound tRNAs, bringing the next codon to be translated into the A site.



2 Peptide bond formation. An rRNA molecule of the large ribosomal subunit catalyzes the formation of a peptide bond between the amino group of the new amino acid in the A site and the carboxyl end of the growing polypeptide in the P site. This step removes the polypeptide from the tRNA in the P site and attaches it to the amino acid on the tRNA in the A site.



Терминация



1 When a ribosome reaches a stop codon on mRNA, the A site of the ribosome accepts a "release factor," a protein shaped like a tRNA, instead of an aminoacyl tRNA.

2 The release factor promotes hydrolysis of the bond between the tRNA in the P site and the last amino acid of the polypeptide, thus freeing the polypeptide from the ribosome.

3 The two ribosomal subunits and the other components of the assembly dissociate.

ДНК

3'-----5' – матричная цепь

5'-----3' – кодирующая цепь

РНК

5'-----3'

Белок

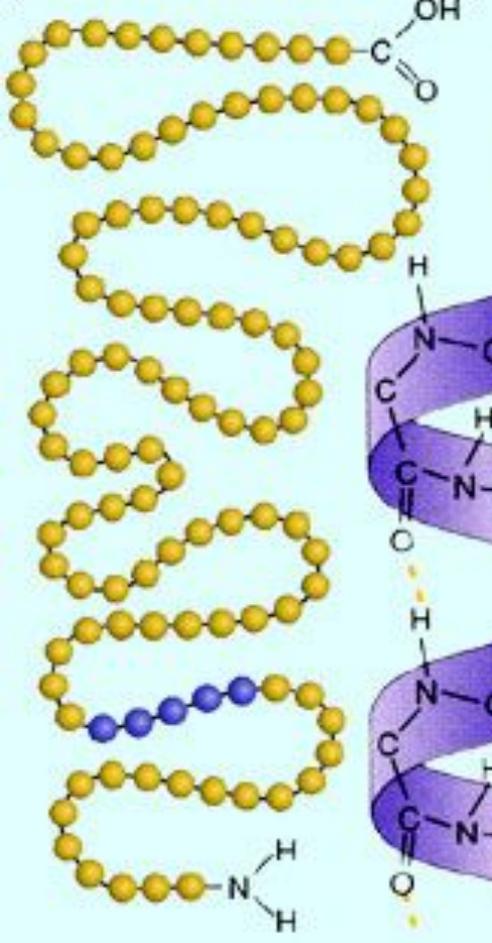
NH₂-----COOH

Белки

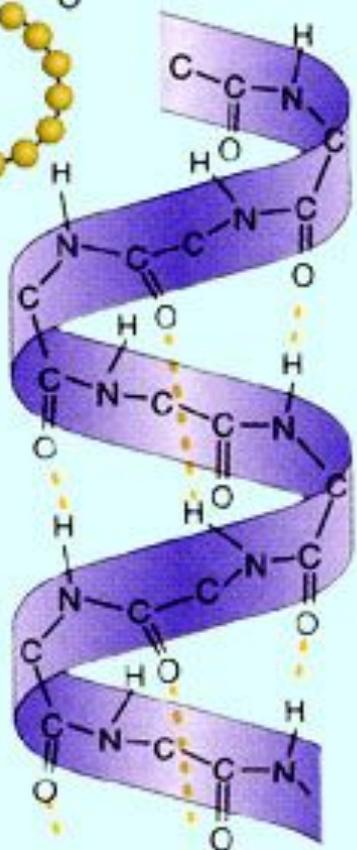


Белки

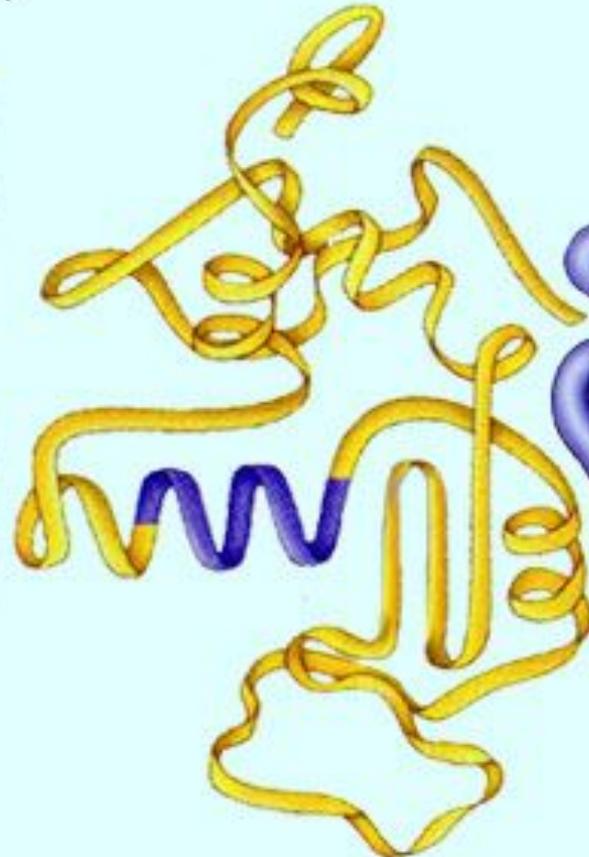
Первичная структура
(цепочка аминокислот)



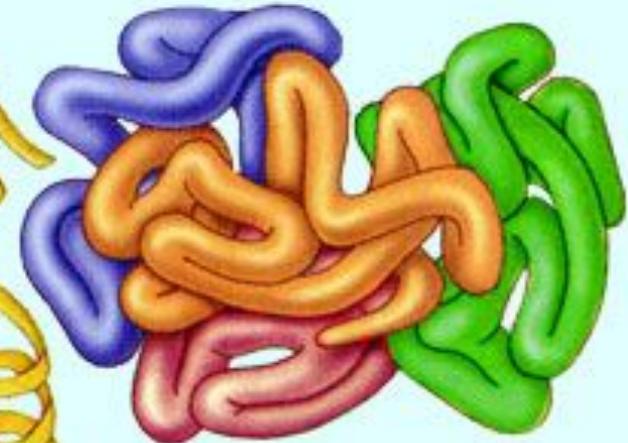
Вторичная структура
(α -спираль)



Третичная структура

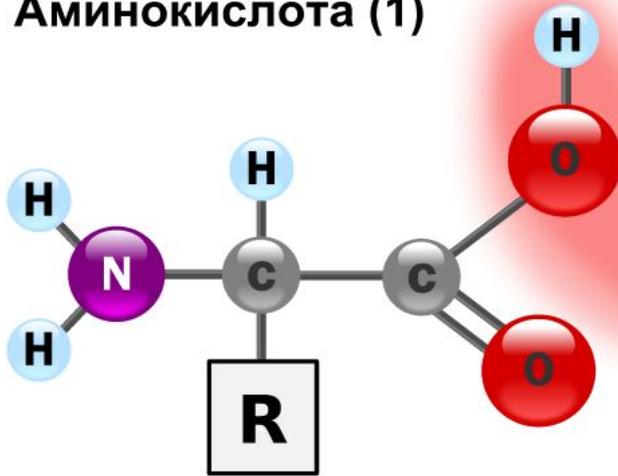


Четвертичная структура
(клубок белков)

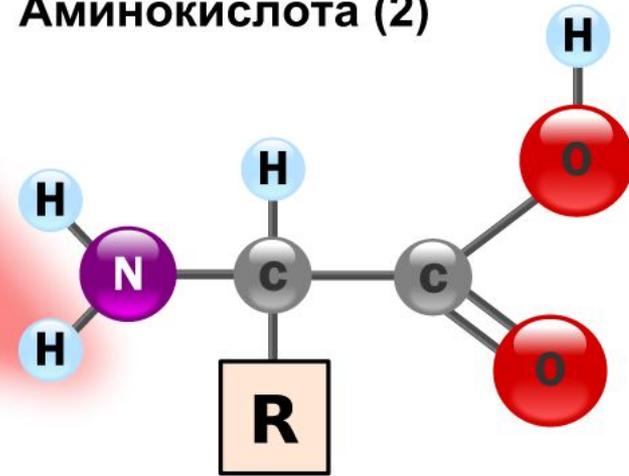


Первичная структура, образование пептидной связи

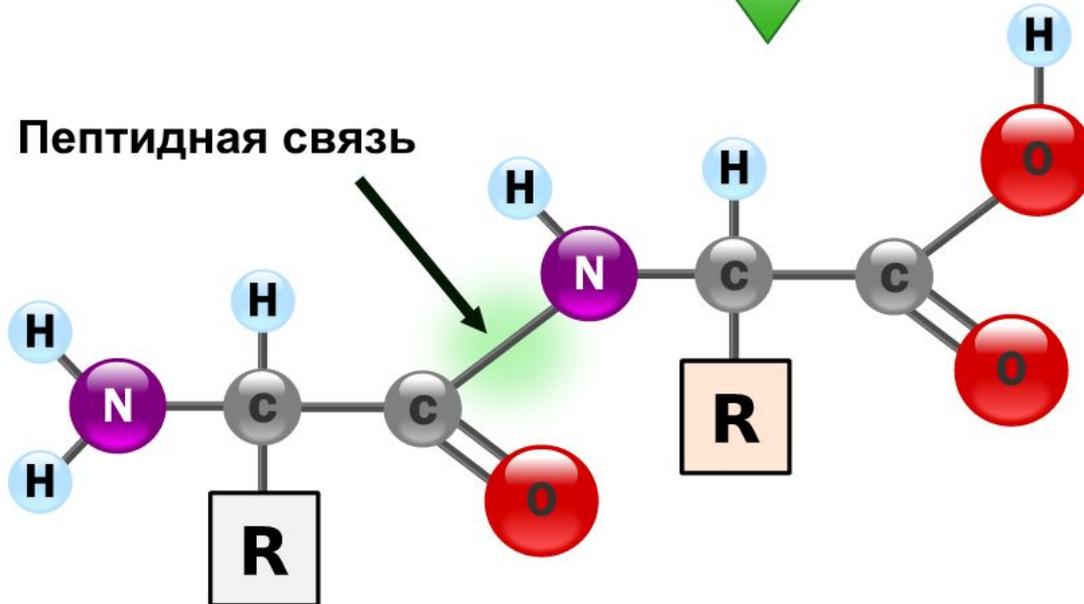
Аминокислота (1)



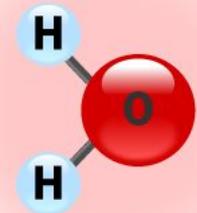
Аминокислота (2)



Пептидная связь

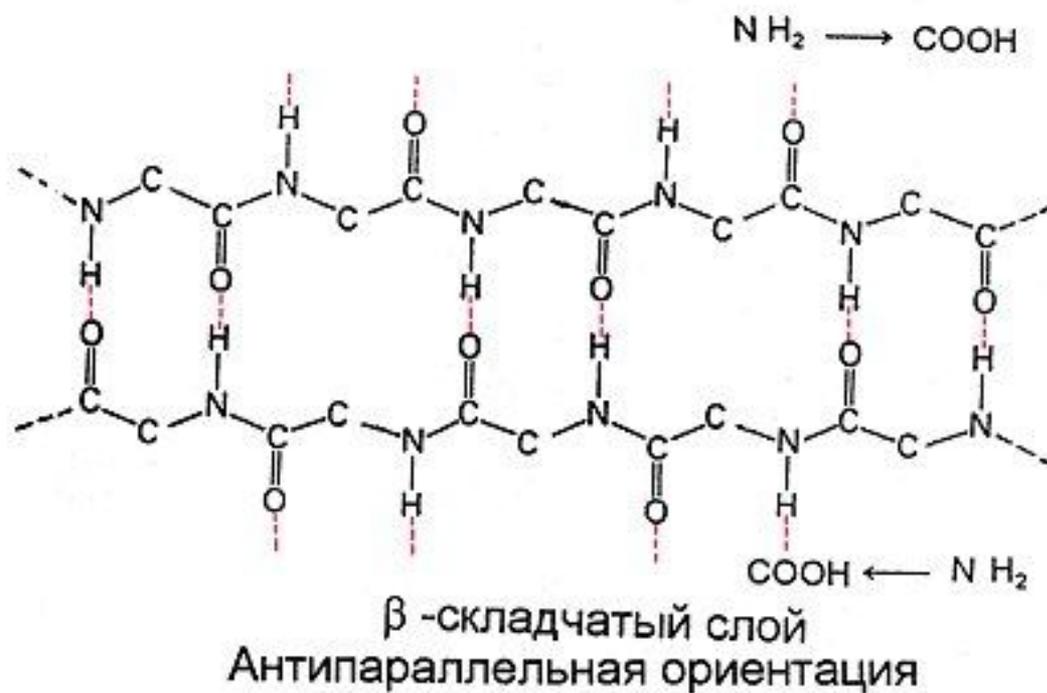
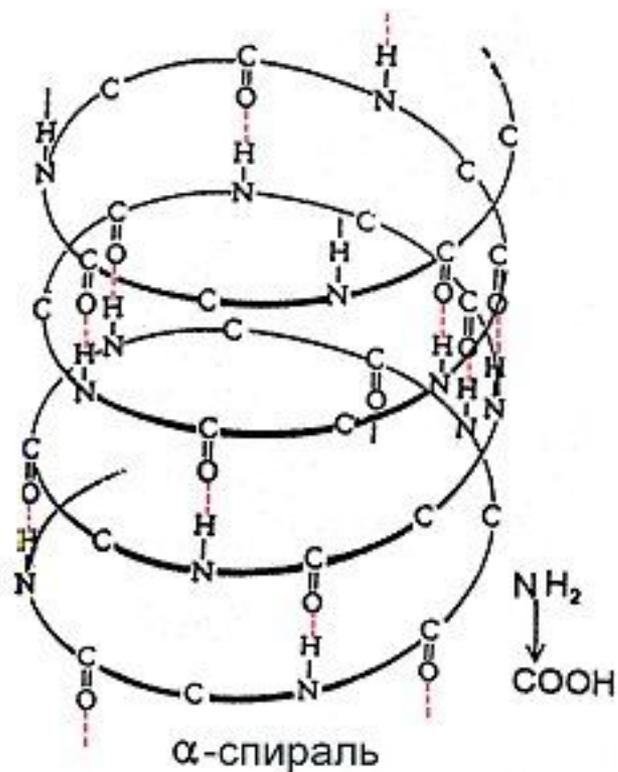


Дипептид

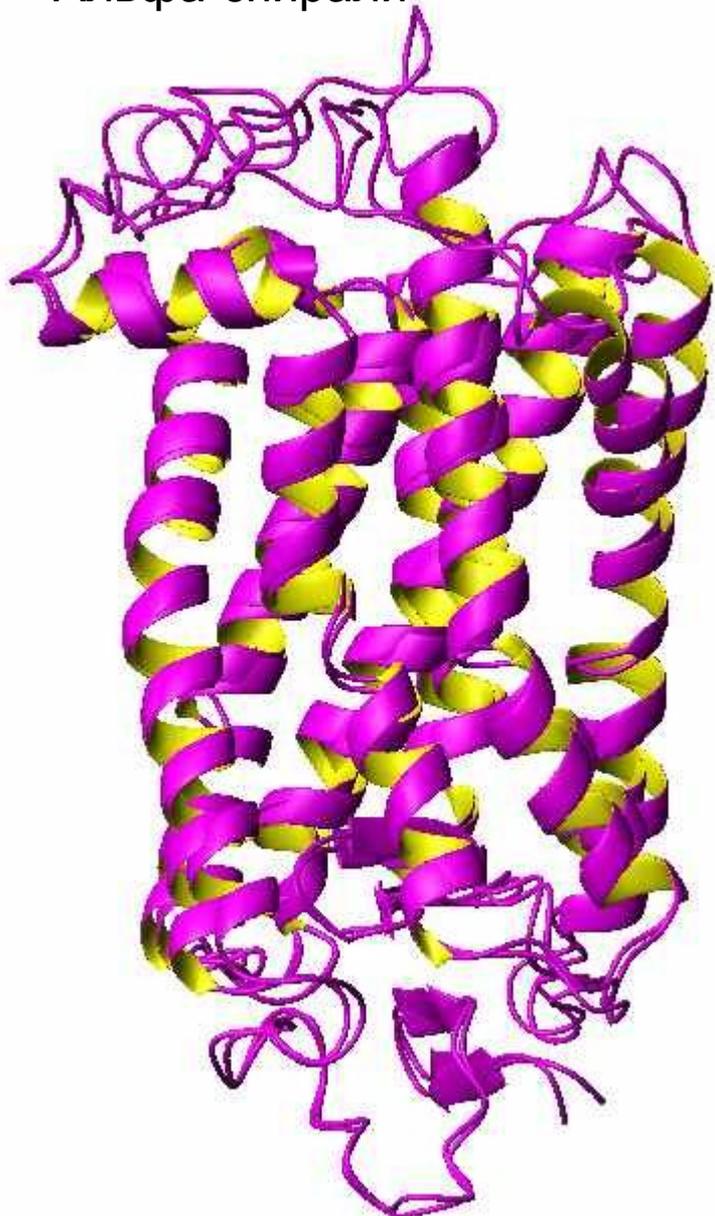


Вода

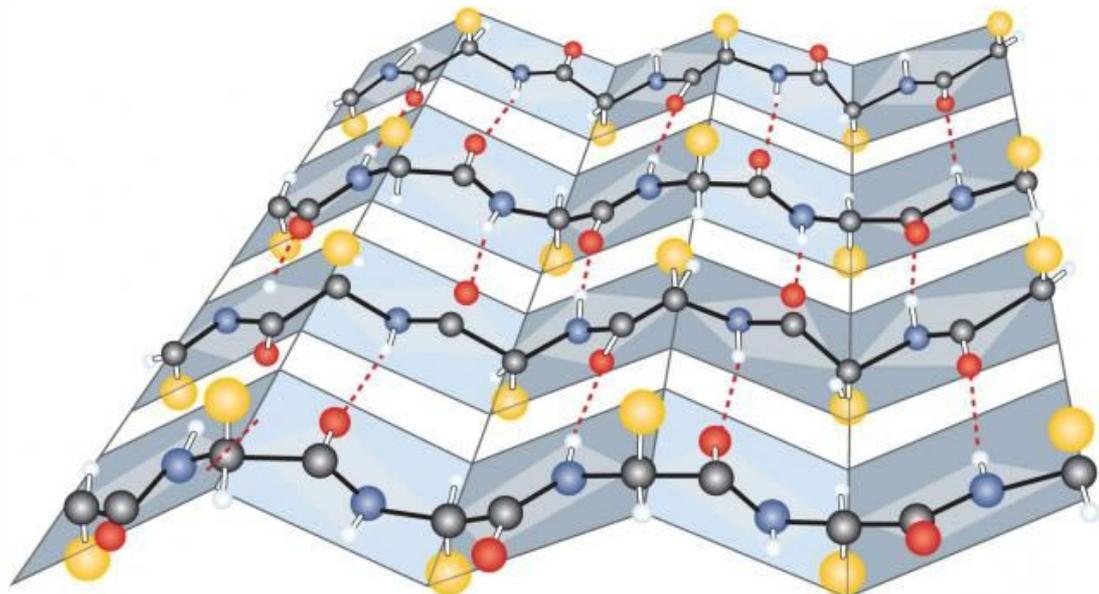
Вторичная структура – стабилизация за счет водородных связей



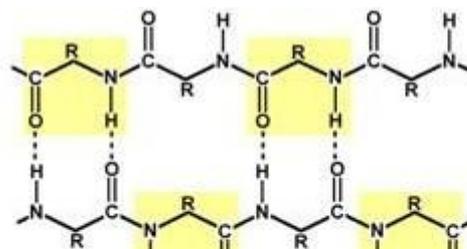
Альфа-спирали



Бета-слой белка

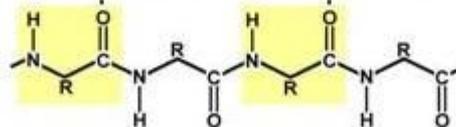


Антипараллельная
ориентация цепей



← Направление цепи

Параллельная
ориентация цепей



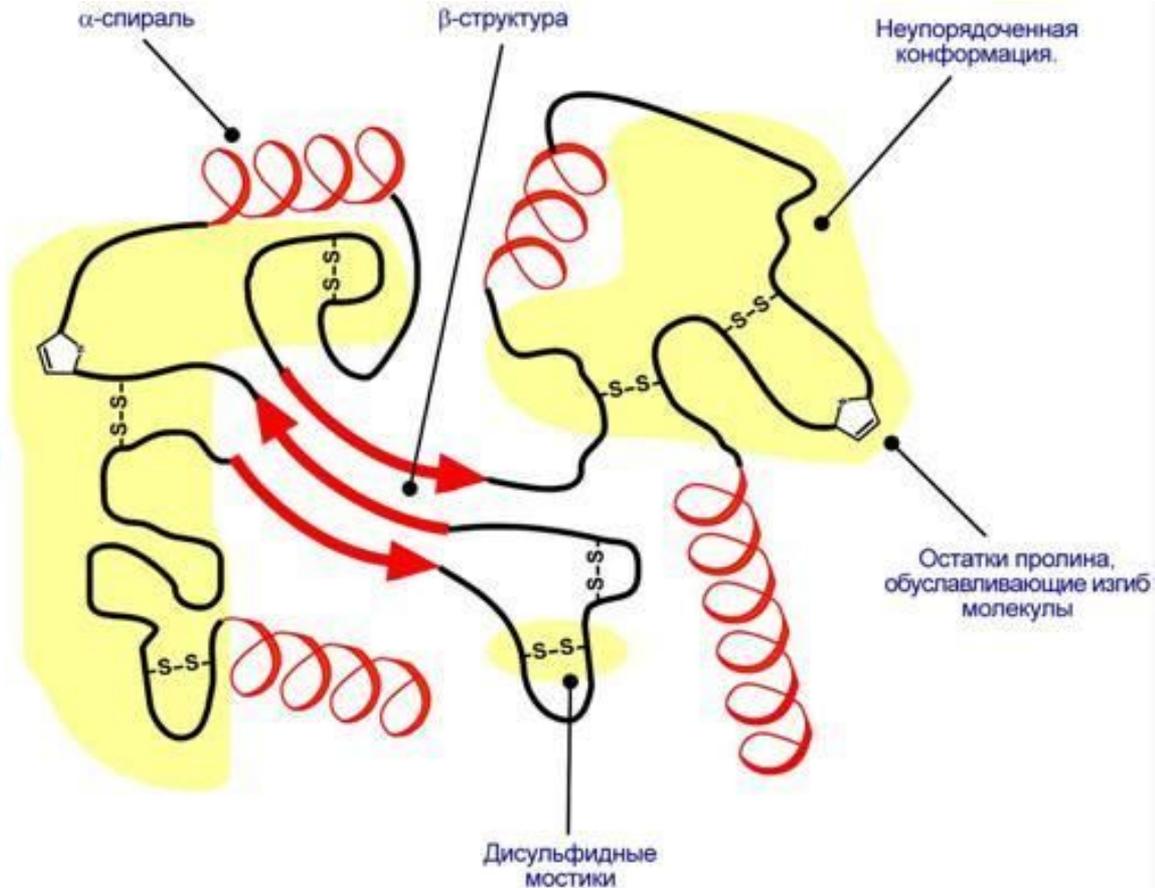
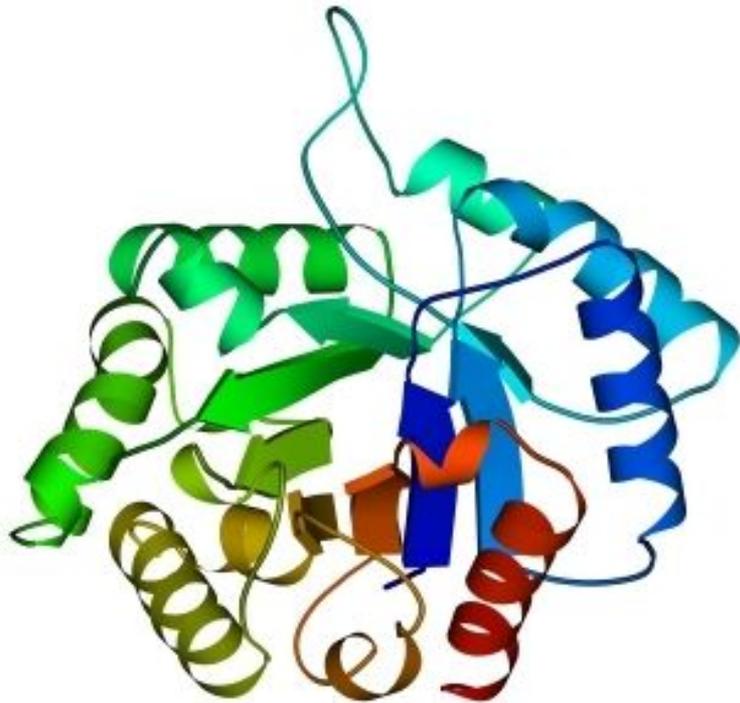
→ Направление цепи

→ Направление цепи

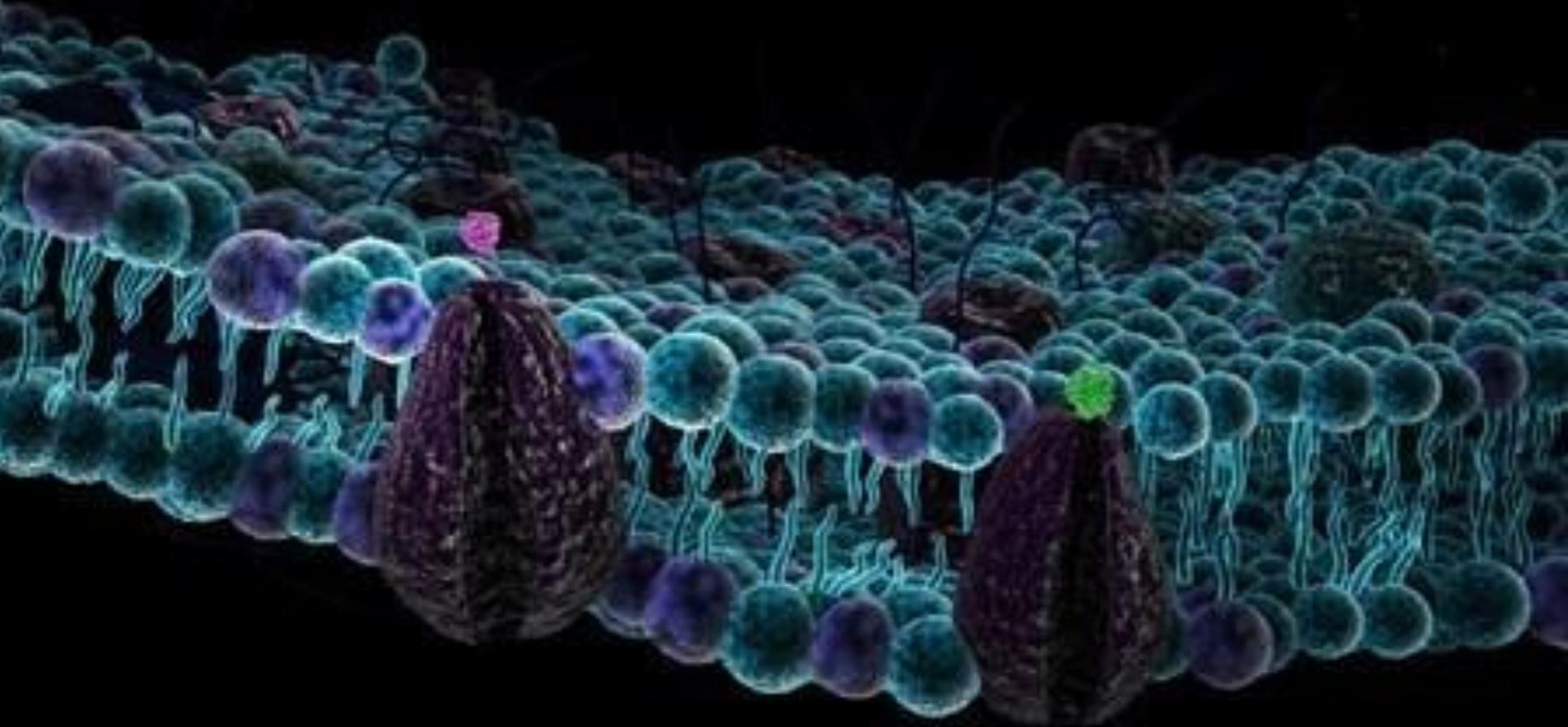
Третичная структура

Стабилизация:

- Дисульфидные мостики –S-S- (цистеин)
- Гидрофобные взаимодействия (аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин)
- Водородные связи
- Электростатика, диполь-дипольные взаимодействия

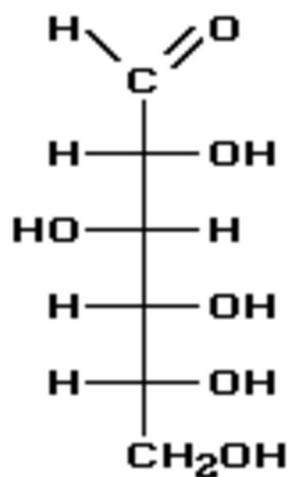


Другие классы соединений



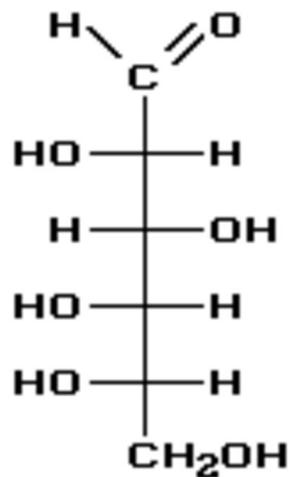
Углеводы (гексозы)

Модель Фишера:

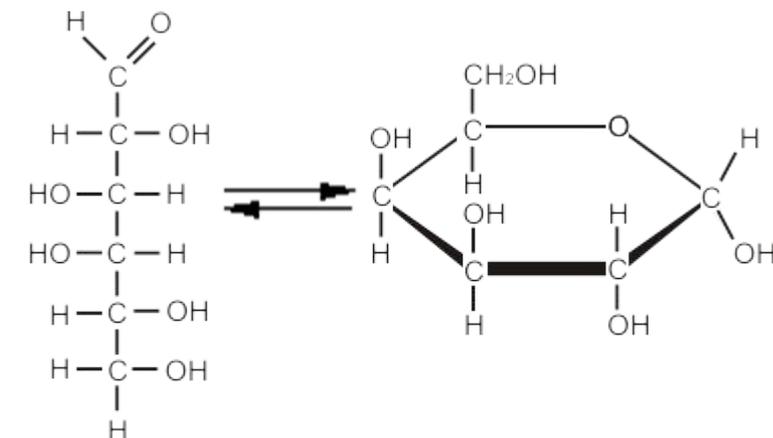


D-глюкоза

зеркало



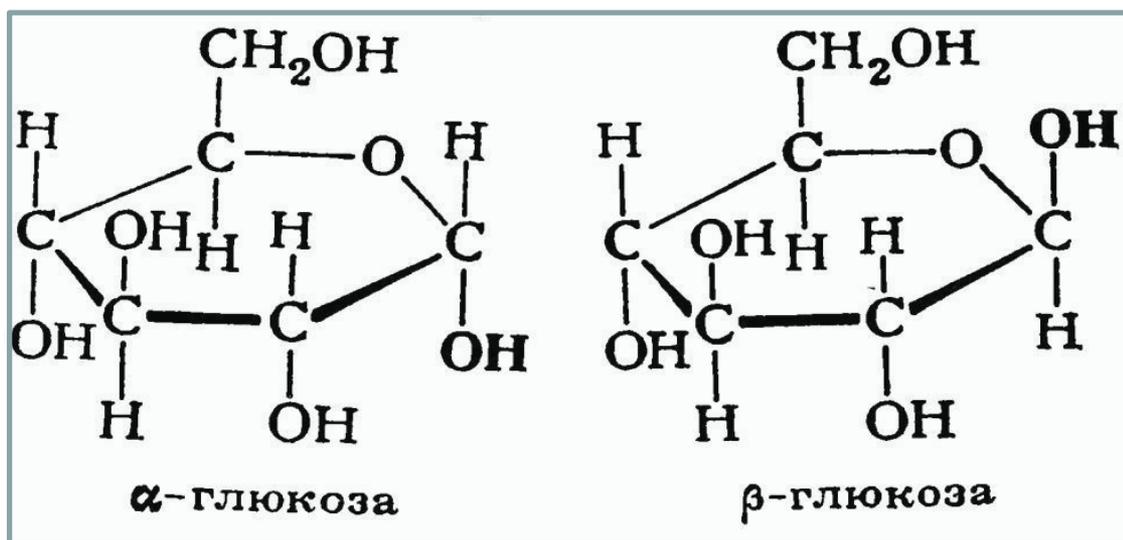
L-глюкоза



Открытая форма галактозы

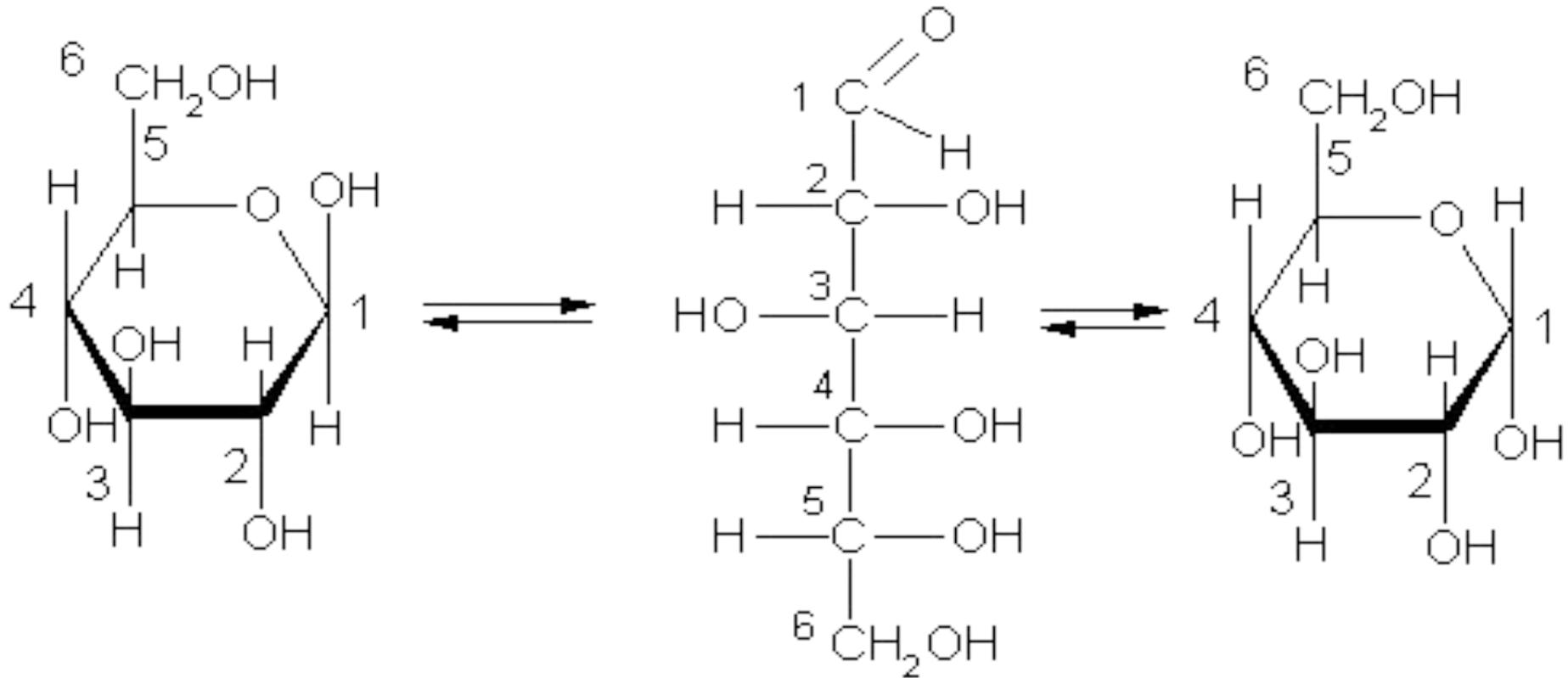
Циклическая форма галактозы

D-глюкоза в растворе:



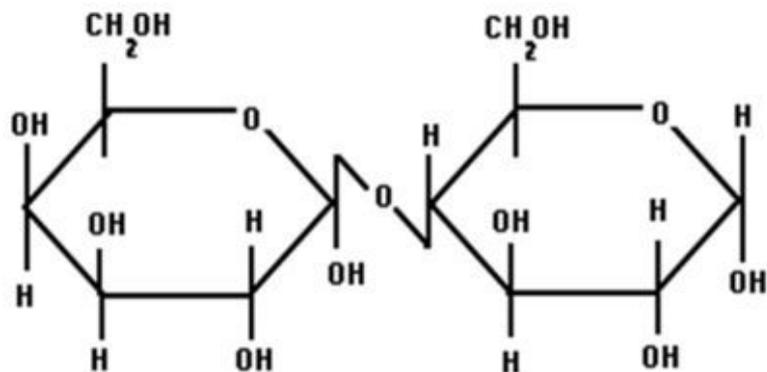
D-глюкоза:

Бета-форма, линейная форма, альфа-форма



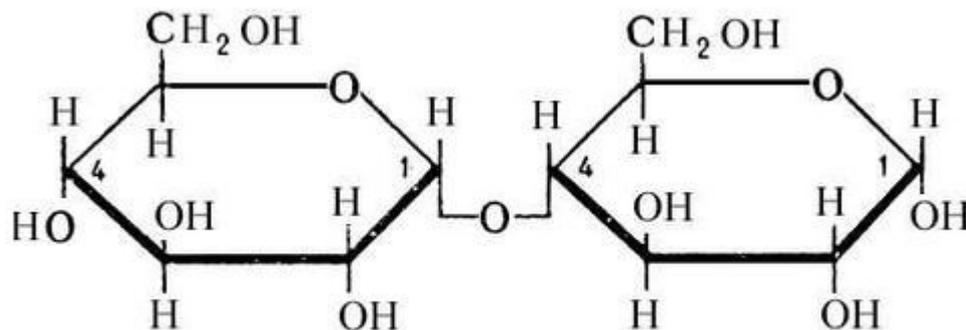
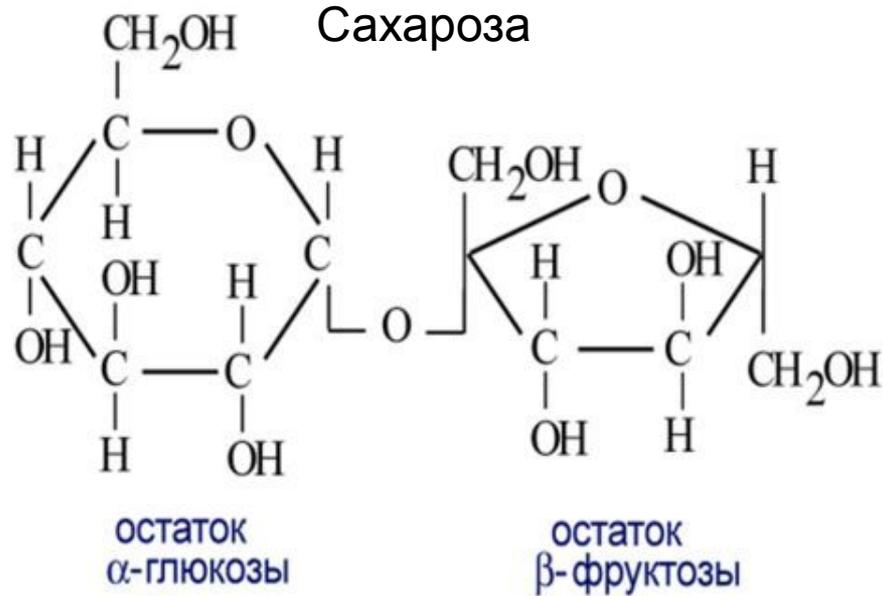
Олигосахариды

Лактоза



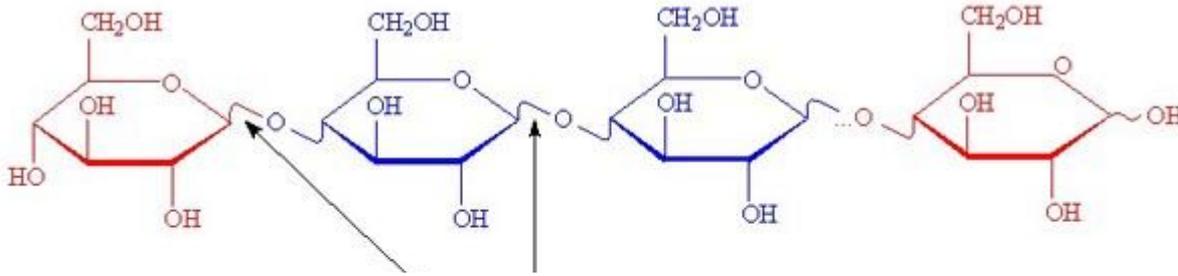
Galactose ————— Glucose

Сахароза



Мальтоза (две альфа глюкозы)

Полисахариды

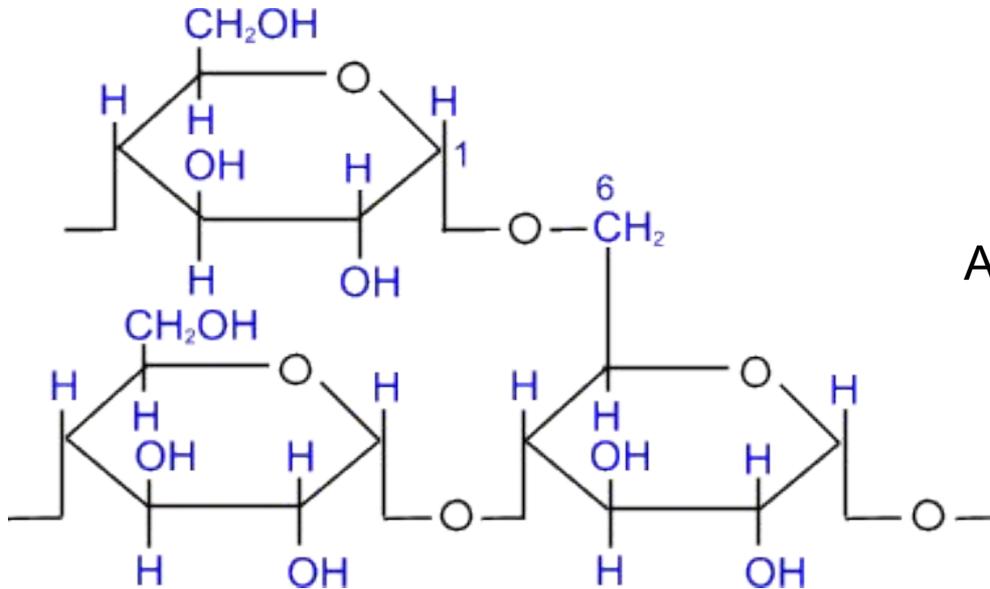


Целлюлоза –
поли b-D глюкоза

Крахмал:

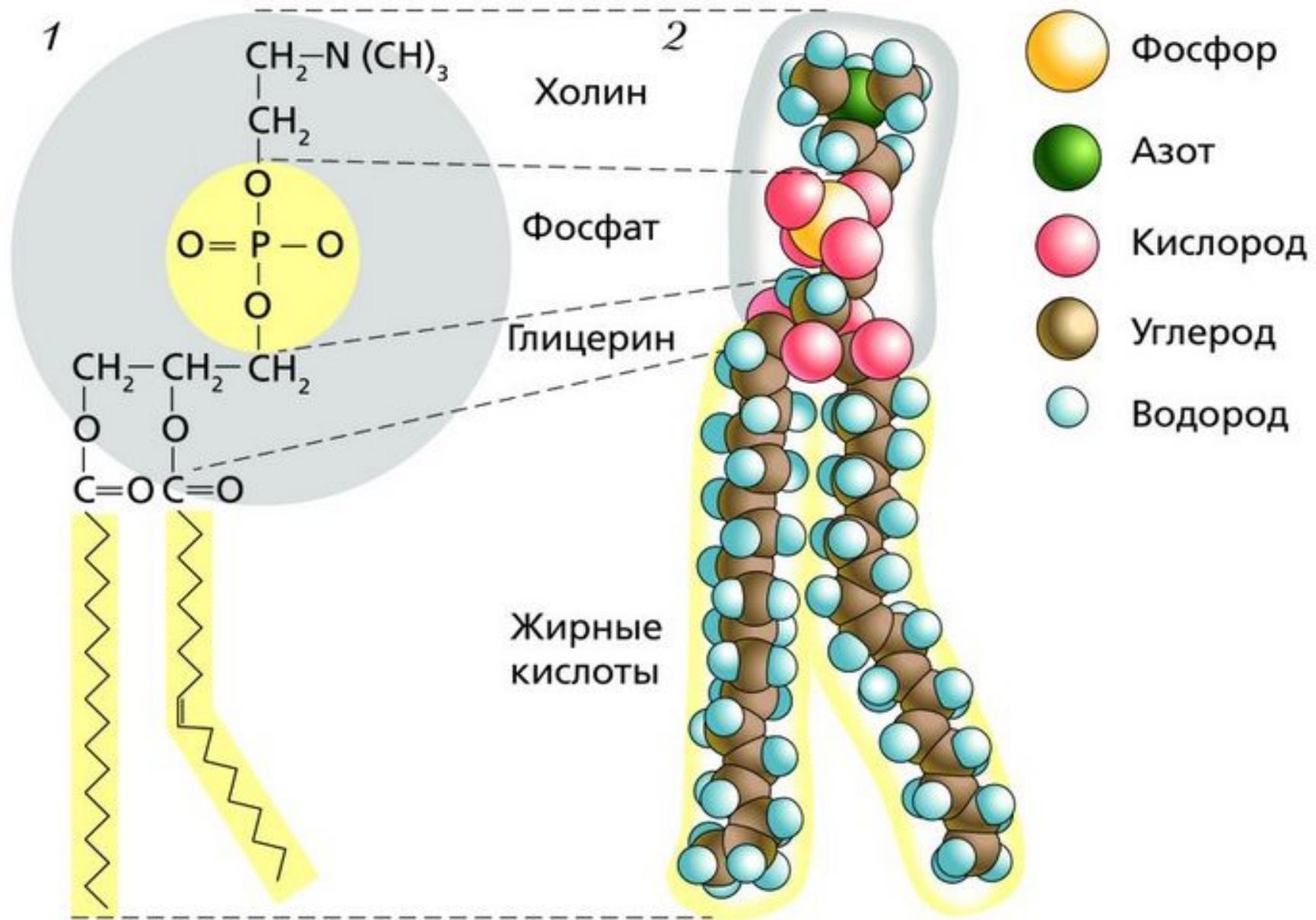
Амилоза (синий с KI) + Амилопектин (розовый с KI)

Гликоген – только амилопектин, но с большим
числом ветвлений

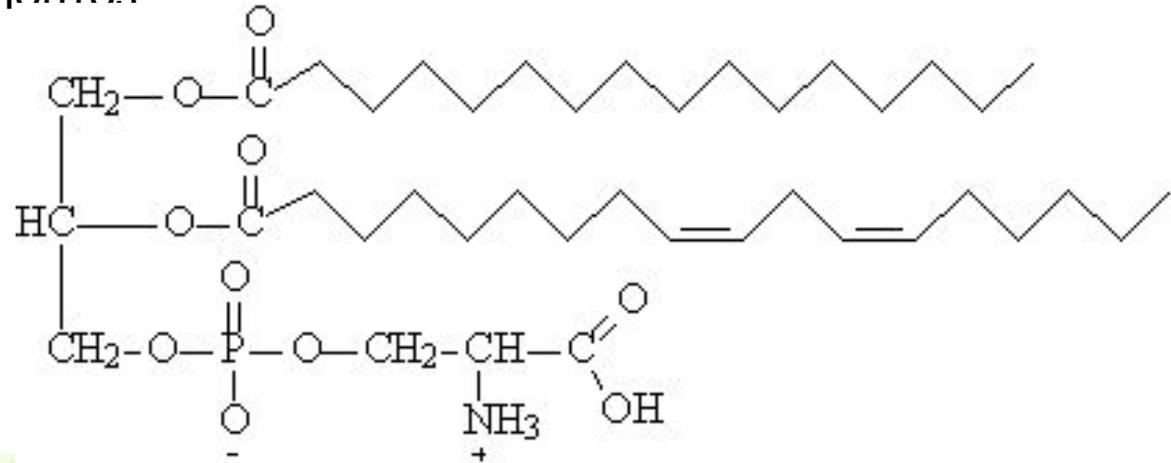


Амилопектин - поли a-D глюкоза

Фосфолипиды



Фосфатидилсерин – в норме только во внутреннем слое мембраны, при появлении снаружи - апоптоз



Кардиолипин – мембраны бактерий и митохондрий

The background of the slide features a microscopic view of cells. The cells are primarily brown and orange, with some having bright blue, textured protrusions. The overall appearance is that of a dense, multi-colored cellular structure, possibly representing a tissue or a specific type of cell cluster.

Цитология
эукариот
Избранные
главы

Плазматическая мембрана

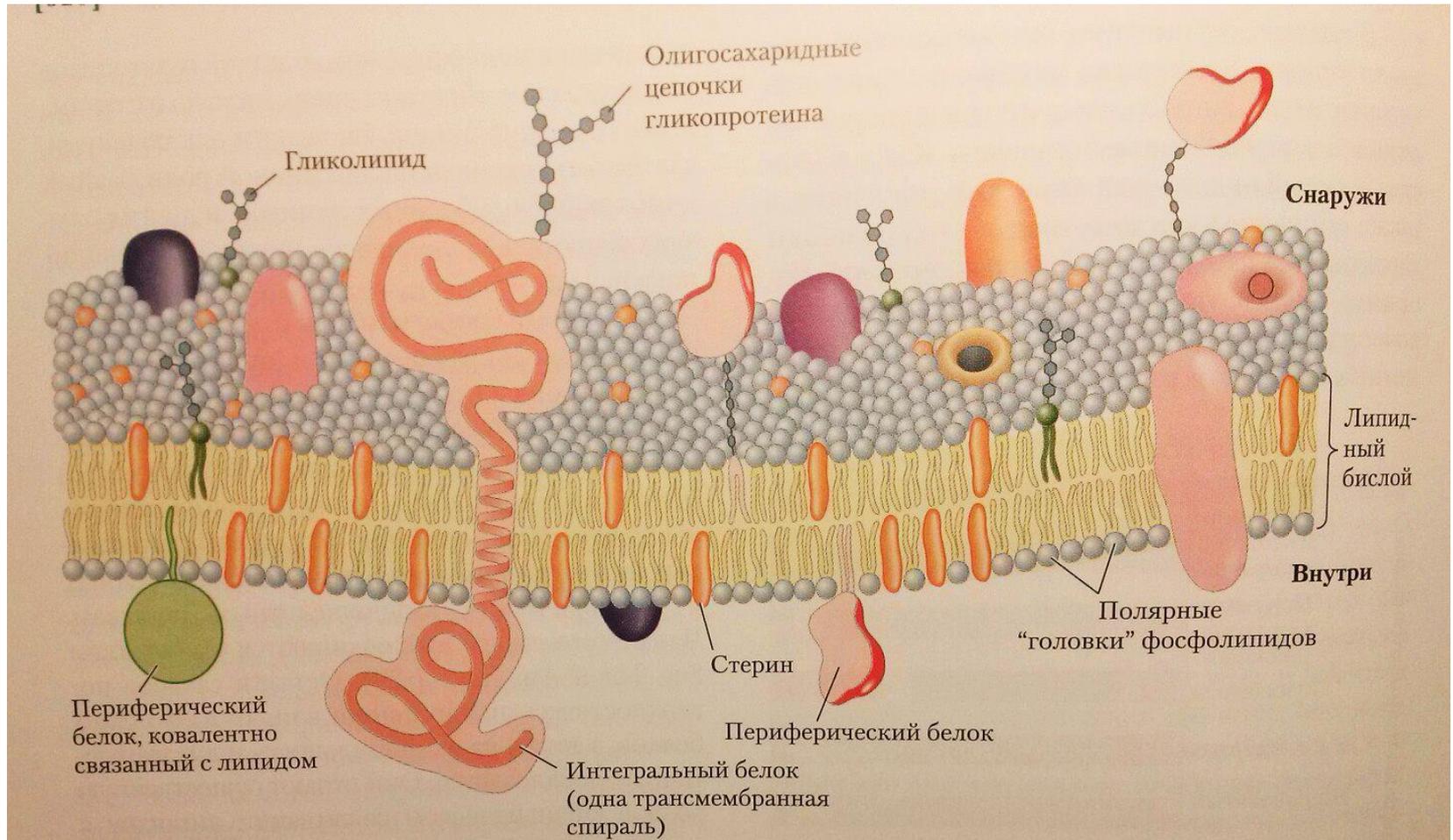


Рис. 11-3. Жидкостно-мозаичная модель структуры мембраны. Жирнокислотные цепочки внутри мембраны формируют гидрофобную область. Интегральные белки плавают в этом липидном «море» благодаря своим гидрофобным свойствам, обусловленным неполярными боковыми аминокислотными цепями. И белки, и липиды могут свободно двигаться вдоль плоскости бислоя, но движение с одной стороны бислоя на другую ограничено. Углеводные части, связанные с некоторыми белками и липидами плазматической мембраны, находятся на внешней поверхности мембраны.

Органоиды эукариот

Немембранные

- Рибосомы
- Цитоскелет
 - Микротрубочки
 - Промежуточные филаменты
 - Актиновые филаменты
- Клеточный центр

Двумембранные

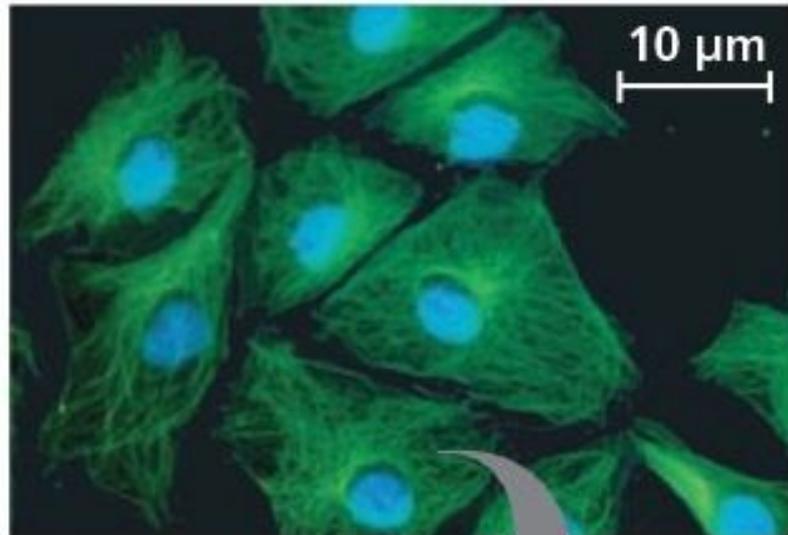
- Ядро
- Митохондрии
- Пластиды

Одномембранные

- Эндоплазматический ретикулум (ЭПР)
 - Гранулярный (грЭПР)
 - Гладкий (глЭПР)
- Аппарат Гольджи
- Лизосомы
- Пероксисомы
- Др.

Цитоскелет эукариот.

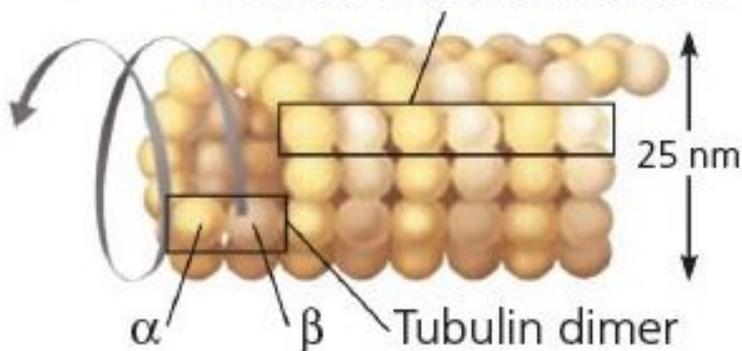
Микротрубочки



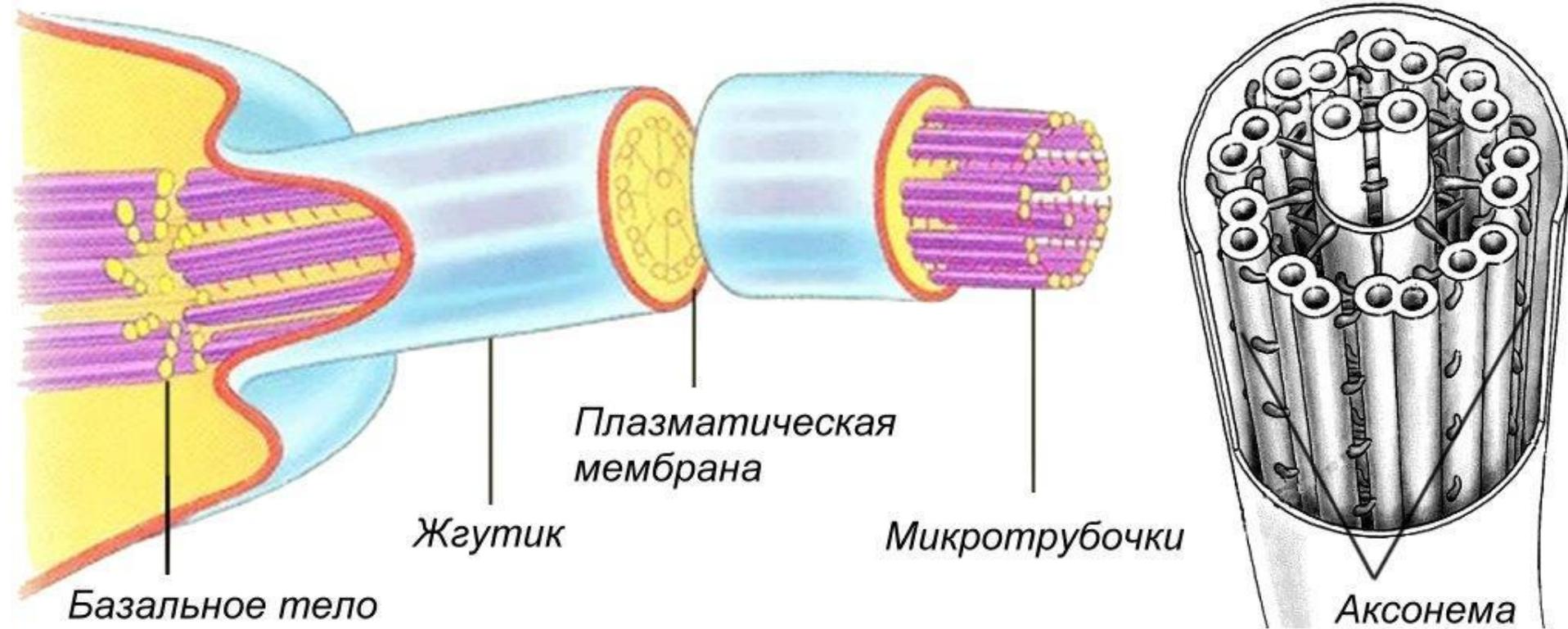
- Полые трубки диаметром 25 нм с просветом 15 нм
- Состоят из белка тубулина (димер альфа-тубулина и бета-тубулина)
- С плюс-конца (ближе к периферии клетки) всё время идёт сборка, с минус-конца (ближе к центру клетки) – разборка
- Сборка идет с затратами ГТФ
- Функции
 - Поддержание формы клетки
 - Перемещение органоидов
 - Перемещение хромосом во время деления
 - Формирование жгутиков



Column of tubulin dimers

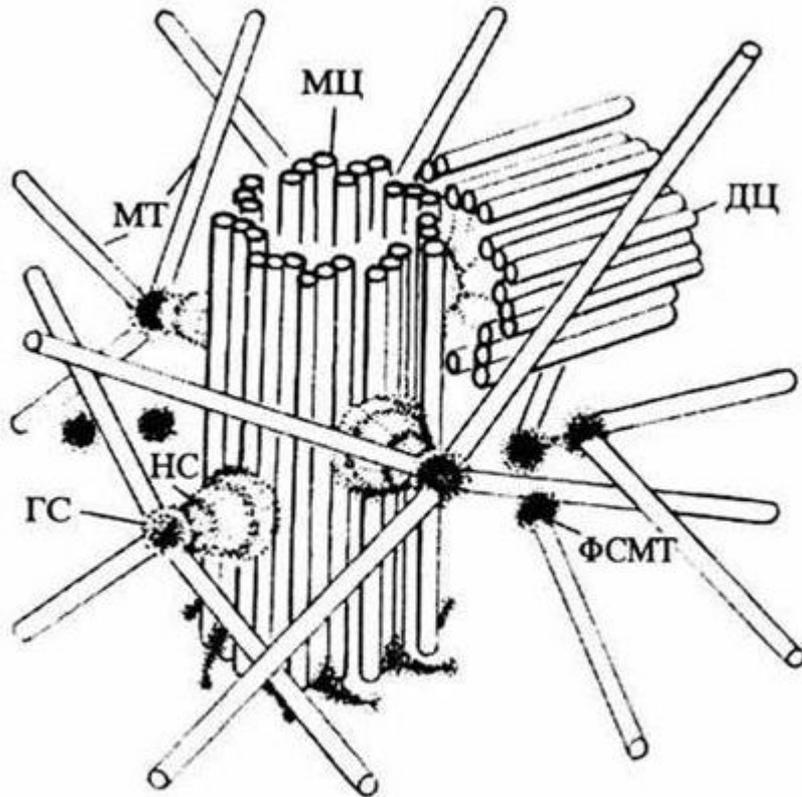


Жгутик



- Базальное тело = центриоль = кинетосома – $9 \times 3 + 0$
- Переходная зона – $9 \times 2 + 0$
- Аксонема = осевая нить – $9 \times 2 + 2$

Клеточный центр



Клеточный центр = главный центр организации микротрубочек (ЦОМТ).

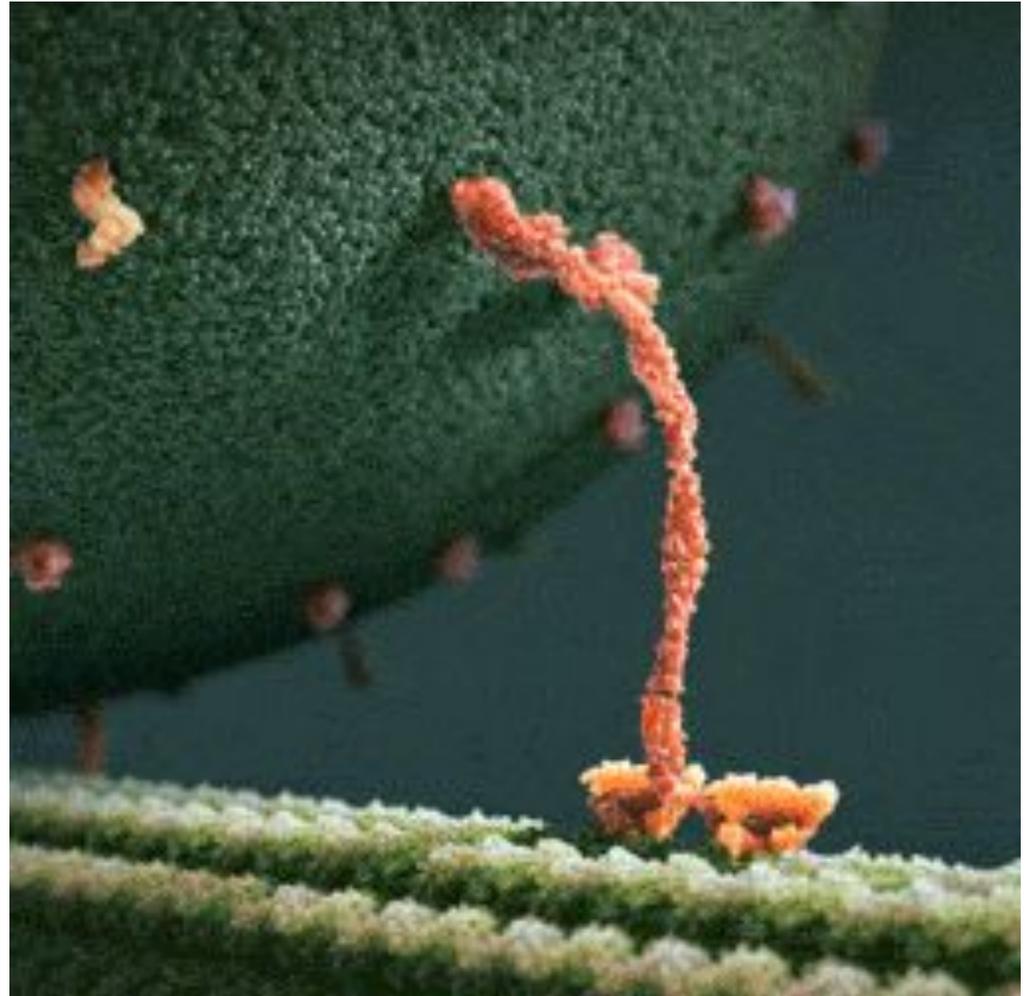
- У животных и многих протист содержит 2 центриоли, которые также служат базальными телами жгутиков. Центросома = 2 центриоли + окружение
- У семенных растений, высших грибов, некоторых протист центриолей нет -> жгутики не развиваются. Но сам ЦОМТ есть.

Микротрубочки и моторные белки

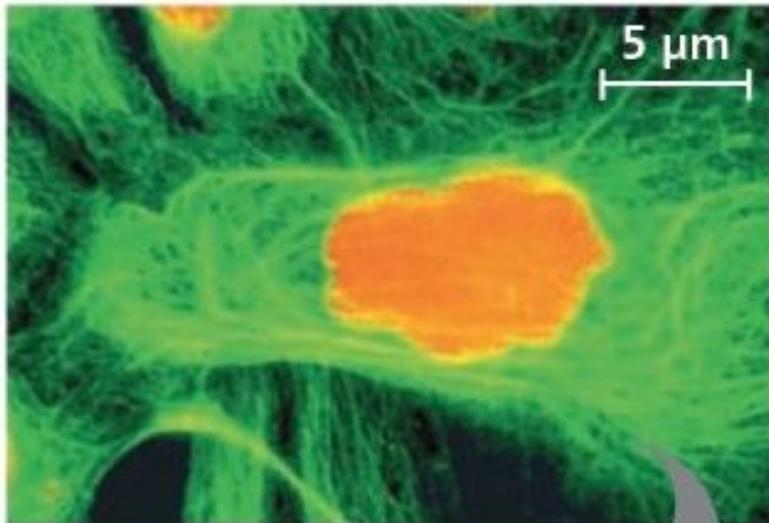
Моторные белки – транспорт органелл по микротрубочкам. Идёт с затратами АТФ

- Динеины (от + к –, т. е. к centrosome)
- Кинезины (от – к +, т. е. к периферии)

Динеины, закрепленные в аксонеме, обеспечивают движение жгутика, смещая микротрубочки в аксонеме друг относительно друга



Промежуточные филаменты



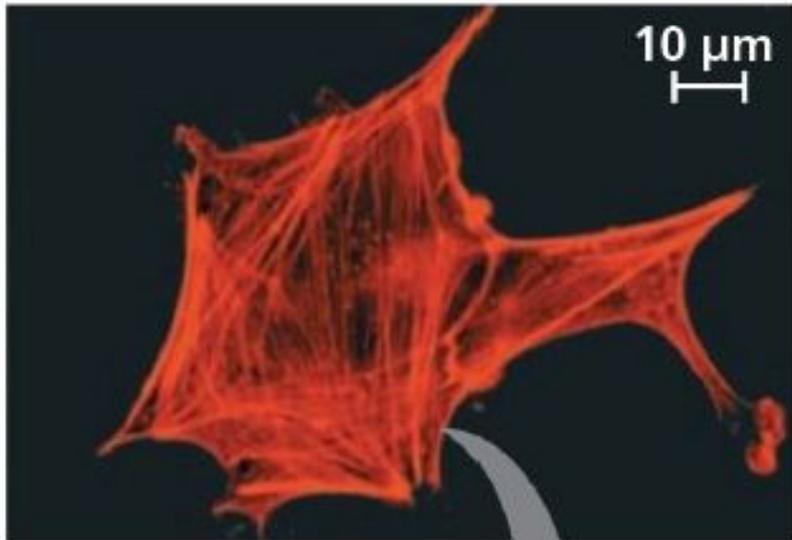
Keratin proteins

Fibrous subunit (keratins coiled together)



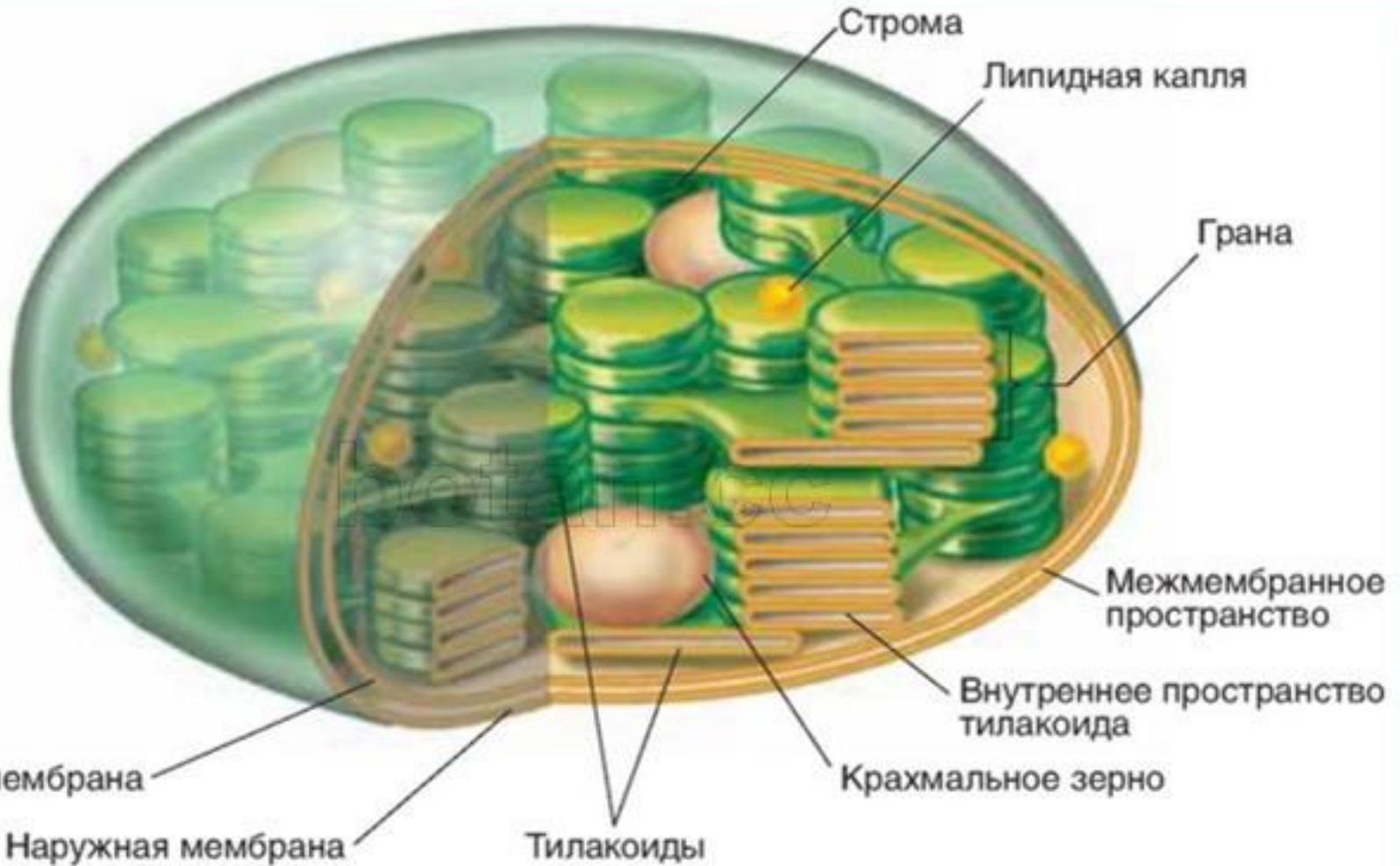
- Канат из фиброзных белков
- Диаметр 8-12 нм
- Кератины и другие белки
- Функции
 - Поддержание формы клетки и ядра
 - Заякоривание органелл
 - Формирование ядерной ламины
 - Участие в клеточных контактах (десмосомах)

Актиновые филаменты (микрофиламенты)

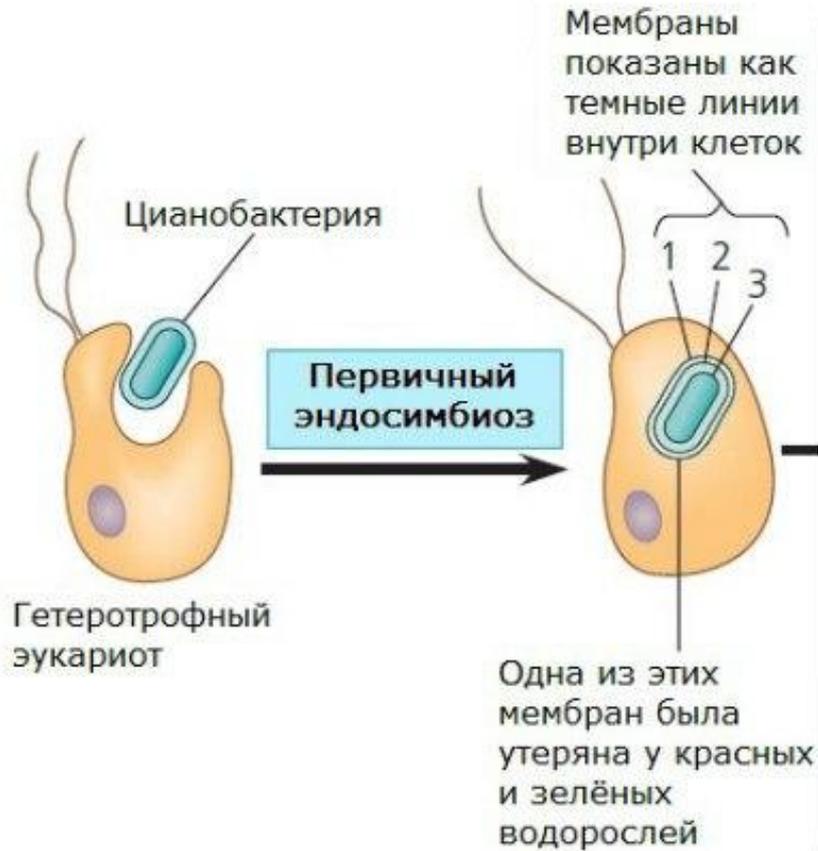


- Две перекрученные цепочки глобулярного актина, реже – других белков
- Имеются плюс- и минус-концы
- Диаметр около 7 нм
- Функции
 - Поддержание и изменение формы клетки
 - Образование ложноножек, амебоидное движение
 - Мышечное сокращение (вместе с филаментами миозина)

Хлоропласты

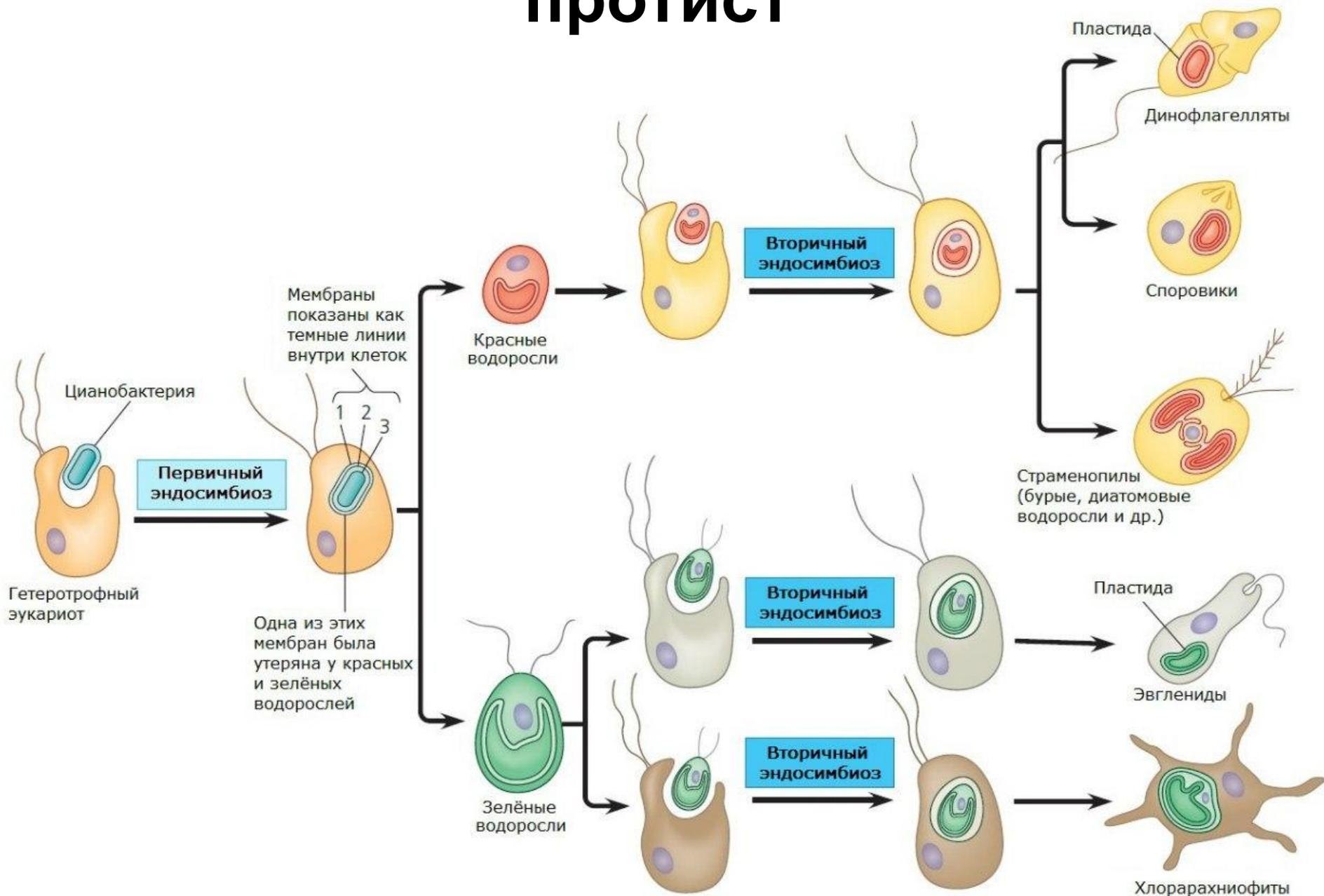


Хлоропласты



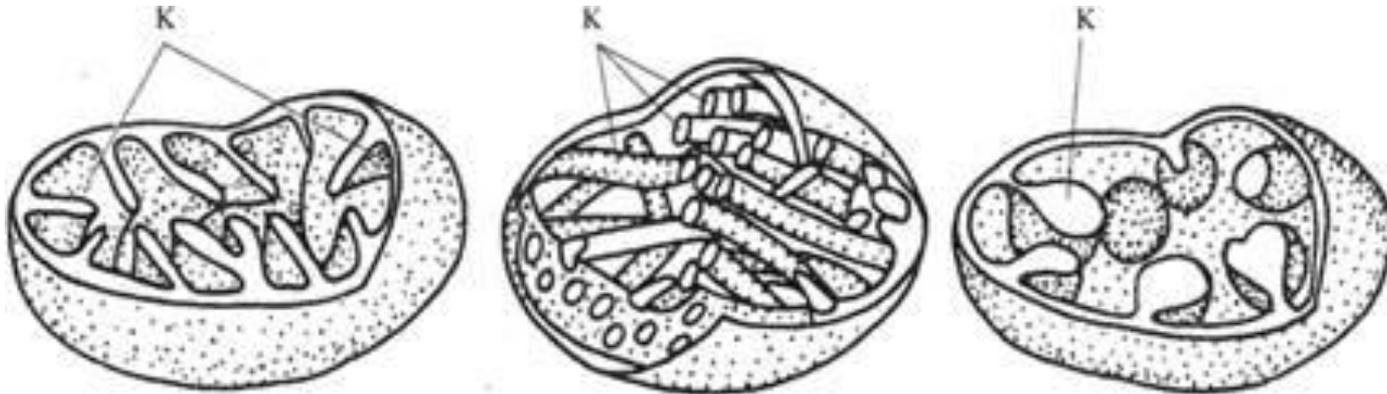
- Образовались в результате эндосимбиоза эукариот с цианобактерией (сине-зеленой водорослью)
- Содержат свою ДНК, рибосомы бактериального типа
- Пиреноид – скопление фермента РубисКО (фиксирует CO_2), центр синтеза сахаров
- Имеются в некоторых группах эукариот
- Функции
 - Фотосинтез сахаров

Хлоропласты в разных группах протист



Немного о митохондриях

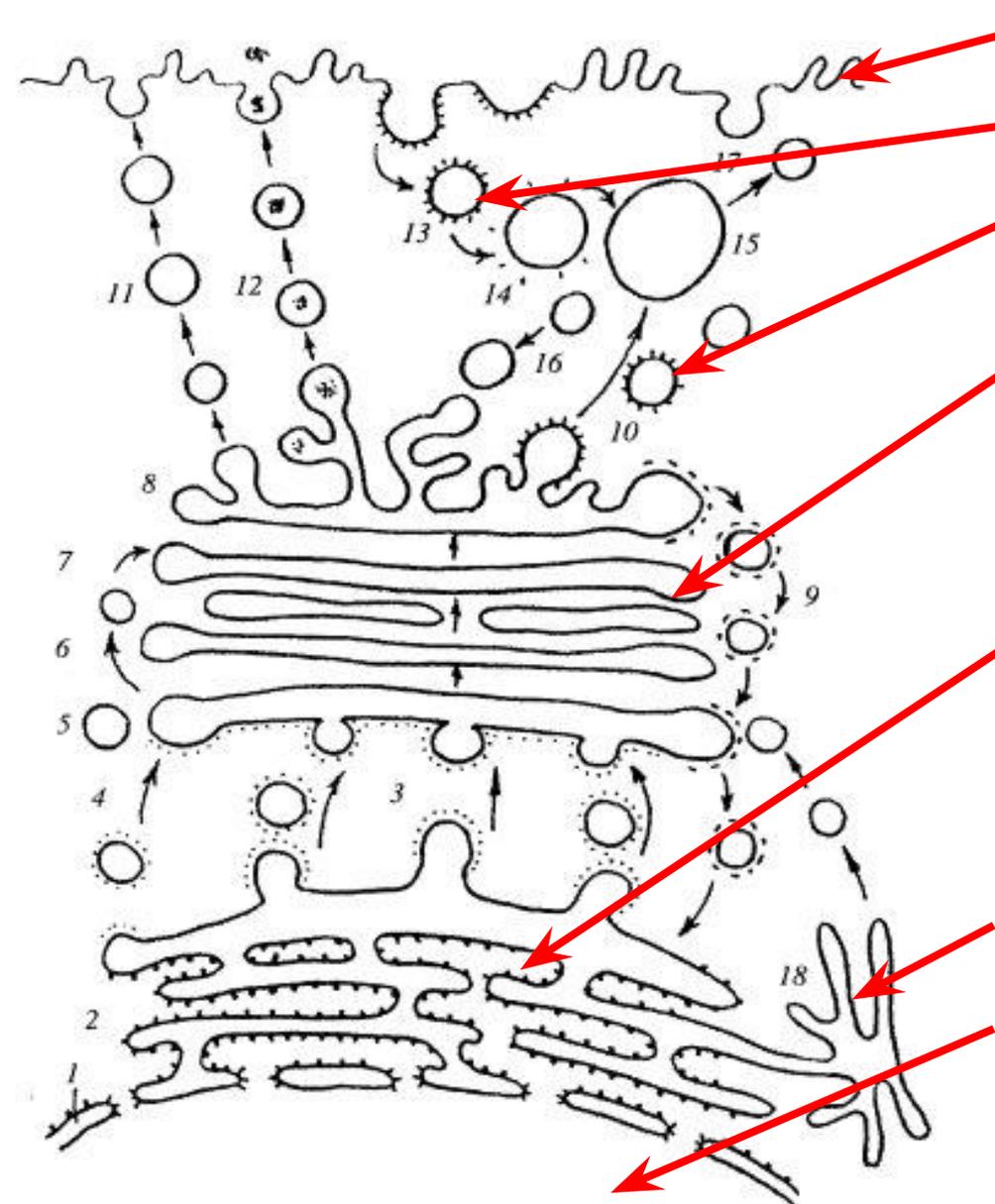
- Образовались в результате эндосимбиоза эукариот с альфа-протеобактерией
- Содержат свою ДНК, рибосомы бактериального типа
- Имеются почти у всех эукариот, если отсутствуют, то вторично
- Функция – образование АТФ в ходе кислородного дыхания



Типы крист митохондрий

Пластинчатые, трубчатые, дисковидные

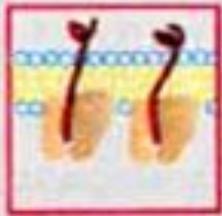
Вакуолярная система цитоплазмы



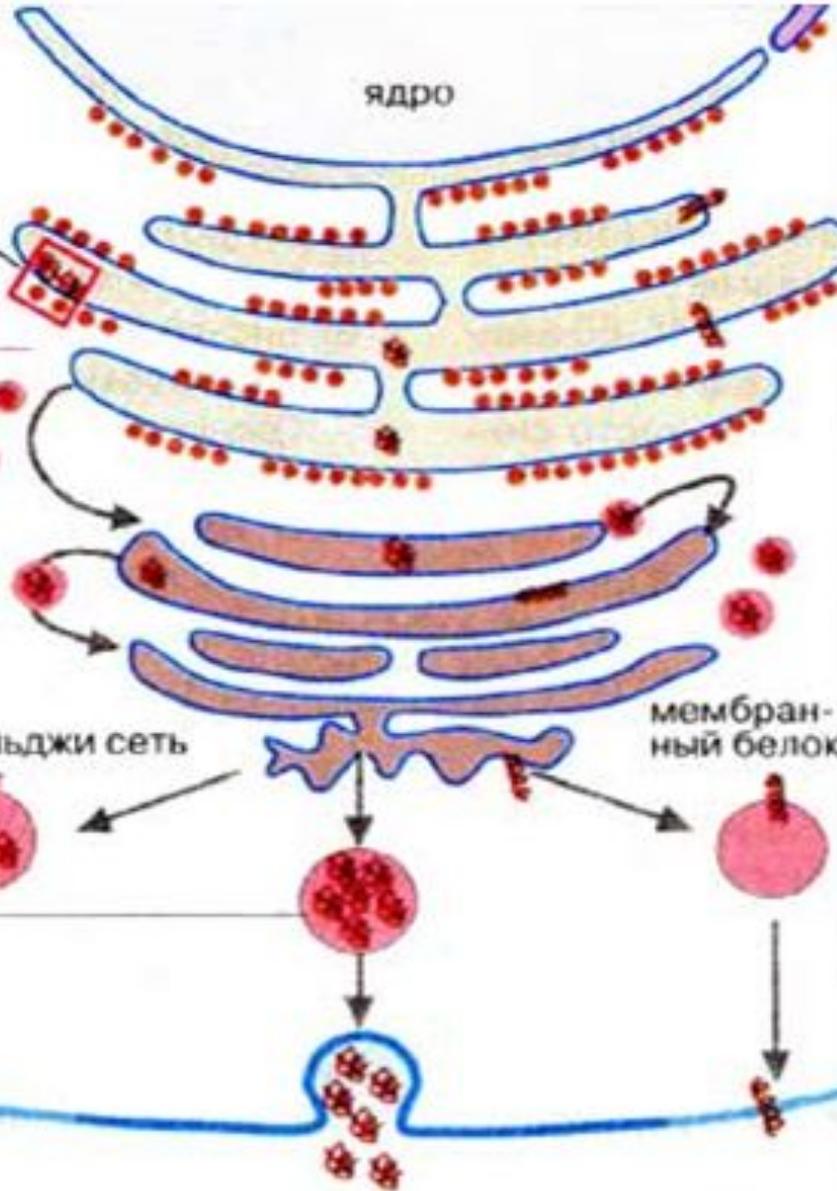
- Плазматическая мембрана
- Эндосомы
- Лизосомы – разрушение, «переваривание»
- Аппарат Гольджи - модификация (фосфорилирование, сборка четвертичных структур, др.) белков и сортировка белков
- ГрЭПР – синтез и модификация белков, предназначенных для экспорта или встраивания в мембраны
- ГлЭПР – синтез липидов
- Ядро – фактически, его мембрана представляет собой продолжение ЭПР

Вакуолярная система цитоплазмы

Морфологические структуры



1. rER
2. Транспортная везикула
3. Аппарат Гольджи
4. Лизосома
5. Секреторная везикула
6. Цитоплазматическая мембрана



Биохимические процессы

1. Транспорт по ЭР
2. Синтез белка и мембранный перенос, отщепление сигнального пептида, образование дисульфидных мостиков, олигомеризация, N-гликозилирование, свертывание
3. цис-область: фосфорилирование
промежуточная область: отщепление сахаров, присоединение GlcNAc, присоединение Gal и NeuAc
транс-Гольджи сеть: сортировка
4. Гидролиз макромолекул
5. Протеолиз
6. Экзоцитоз