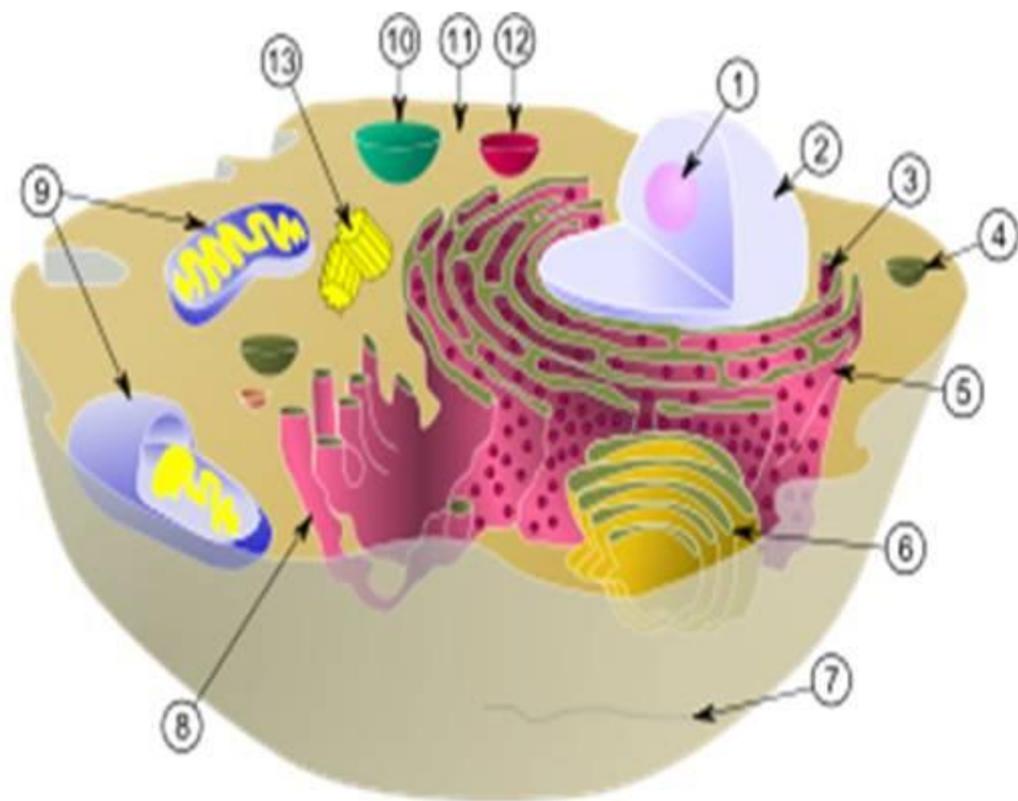


Лекция №1.

Биология клетки. Основы молекулярной биологии
клетки

Доцент кафедры
биологии медицинской Жукова А.А.

История изучения клетки



- Цитология- наука о клетке. История изучения клетки связана с именами таких ученых, как Роберт Гук, Антони ван Левенгук, Маттиас Шлейден, Тедор Шванн

Основные положения современной клеточной теории:

1. клетка – основная единица строения и развития всех живых организмов, наименьшая единица живого;
2. клетки всех одноклеточных и многоклеточных организмов сходны (гомологичны) по своему строению, химическому составу, основным проявлениям жизнедеятельности и обмену веществ;
3. клетки размножаются делением, и каждая новая клетка образуется в результате деления исходной (материнской) клетки;
4. клетки многоклеточных организмов специализированы по выполняемым ими функциям и образуют ткани;
5. ткани образуют органы, которые тесно взаимосвязаны и подчинены нервным и гуморальным системам регуляции.

Классификация живого

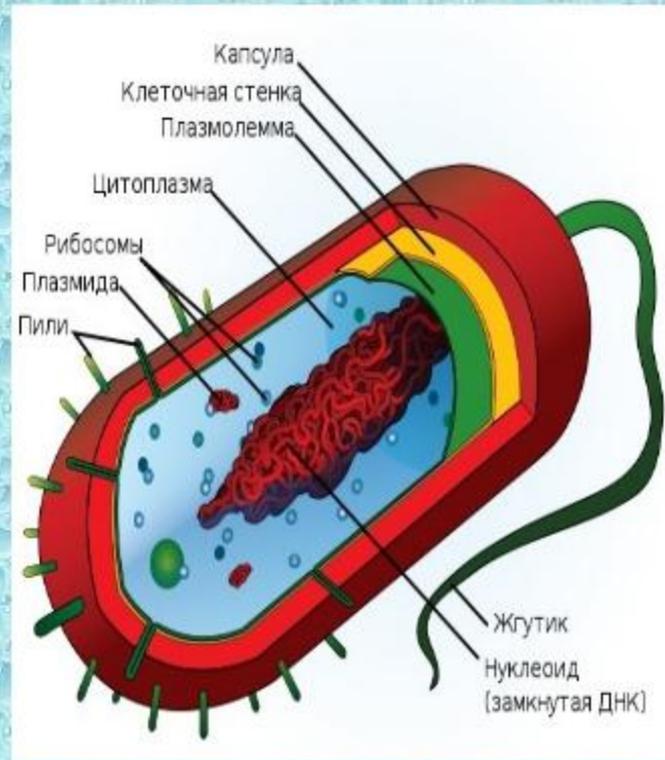
На земном шаре обитает около 1,5 млн. видов животных; 500 тыс. видов растений; 100 тыс. видов микроорганизмов.



Клетка

Прокариотическая

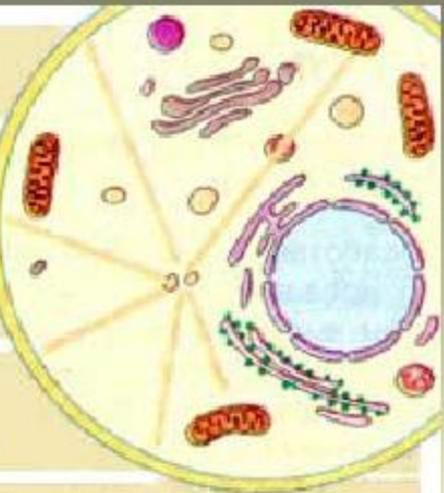
Эукариотическая



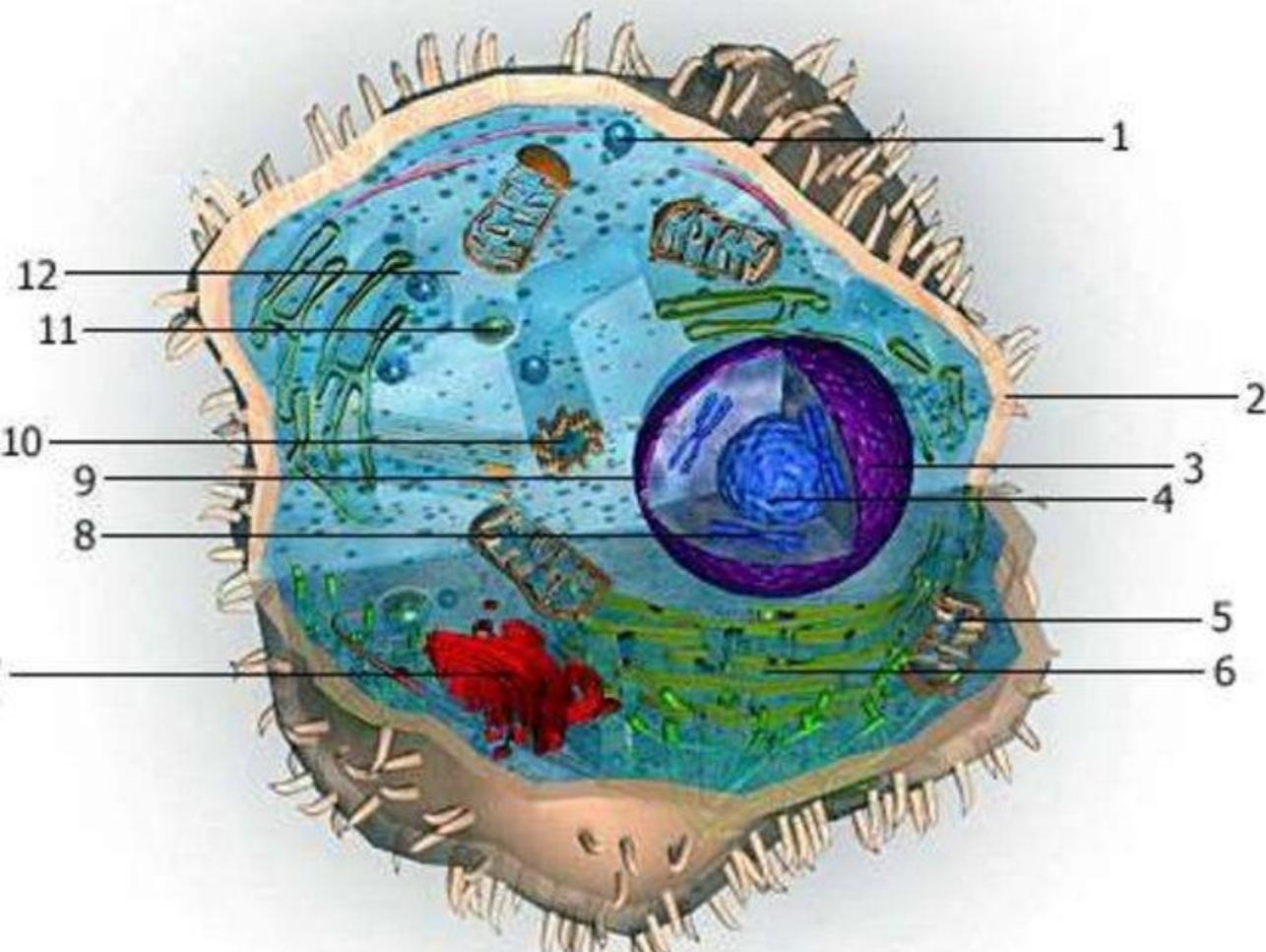
Чем отличается прокариотическая клетка от эукариотической?

Строение прокариотической клетки:

1. Размеры – от 0,1 мкм до нескольких мкм.
2. Нет организованного ядра. Ядерное вещество представлено единственной хромосомой, состоящей из 1 двуцепочечной молекулы ДНК, замкнутой в кольцо (нуклеоид);
3. В нуклеоиде отсутствуют гистоновые белки.
4. В нуклеоиде отсутствуют интроны.
5. В цитоплазме находятся мелкие кольцевые молекулы ДНК – плазмиды, участвующие в обмене генетическим материалом между бактериями (конъюгации).
2. Все мембранные органеллы отсутствуют. Из органоидов присутствуют только многочисленные, мелкие рибосомы (70S);
3. Функции мембранных органоидов выполняют впячивания клеточной мембраны - мезосомы;
4. Нет клеточного центра, следовательно, нет митоза (делятся простым бинарным делением);
5. Не характерен циклоз (постоянное круговое движение цитоплазмы с органоидами), в то время как отсутствие циклоза для эукариот означает гибель клетки;
6. Отсутствуют компартменты.
7. Клеточная стенка состоит из гликопротеида – муреина.
8. Могут иметь один или несколько жгутиков или специальных нитевидных выростов – пилей.
9. Могут быть окружены слизистой капсулой.

Прокариоты	Эукариоты	
 1-10 мкм зубактерии архебактерии	Организмы грибы растения животные	
Форма организма одноклеточные	одно- или многоклеточные	
Органеллы, цитоскелет, аппарат клеточного деления отсутствует	присутствует, сложный, специализированный	10-100 мкм
DNA		
маленькая, кольцевая, нет интронов, плазмиды	большая, в клеточных ядрах, много интронов	
RNA: синтез и созревание		
простой, в цитоплазме	сложный, в ядрах	
Белки: синтез и процессинг		
простой, связанный с синтезом RNA	сложный, в цитоплазме и полости rER	
Обмен веществ		
анаэробный или аэробный, легко перестраивающийся	преимущественно аэробный	
Эндоцитоз и экзоцитоз		
нет	различные формы	

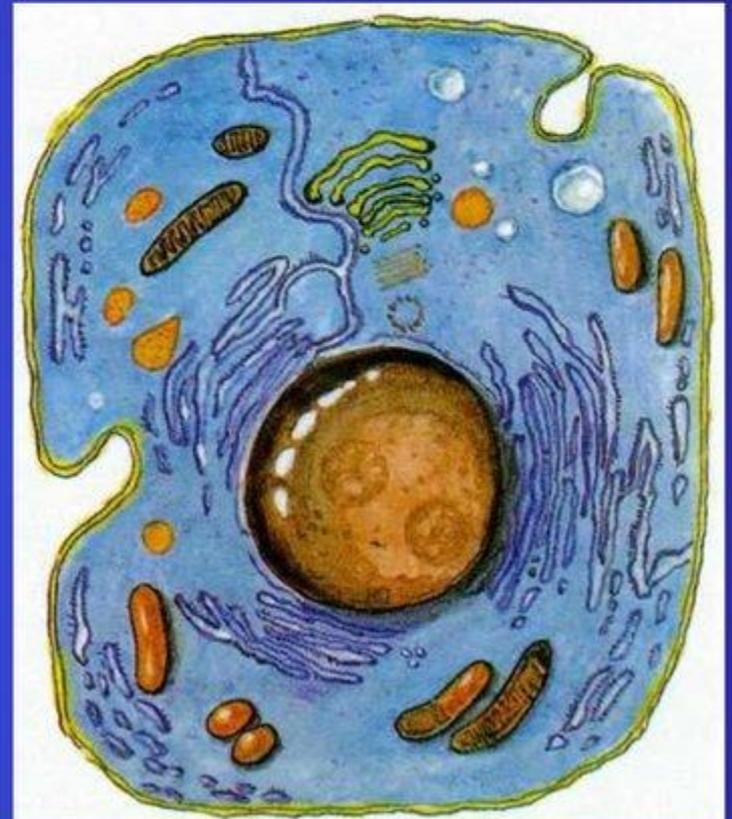
Строение эукариотической клетки



- 1 — Peroкиссома,
- 2 — Клеточная мембрана
- 3 — Ядро,
- 4 — Ядрышко,
- 5 — Митохондрии,
- 6 — Эндоплазматическая сеть,
- 7 — Аппарат Гольджи,
- 8 — Хромосома,
- 9 — Ядерная оболочка,
- 10 — Центриоли,
- 11 — Лизосома,
- 12 — Цитоплазма

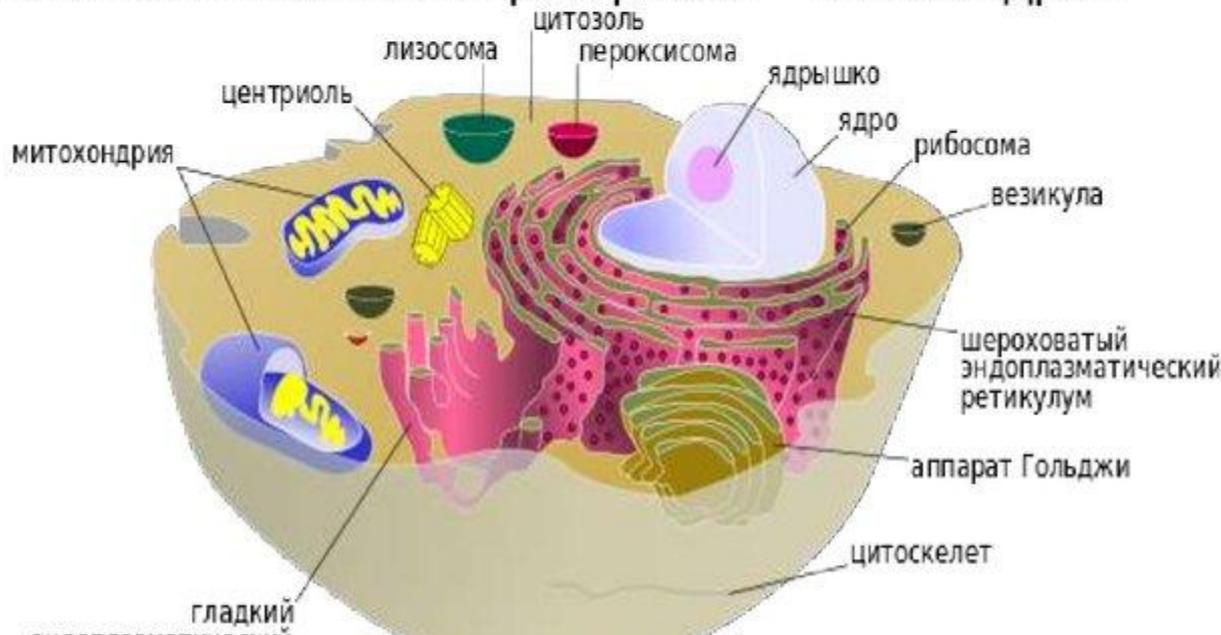
Строение эукариотической клетки

- Клетка эукариот состоит из трех основных частей:
 1. Клеточная мембрана
 2. Цитоплазма
 3. Ядро



Строение эукариотических клеток

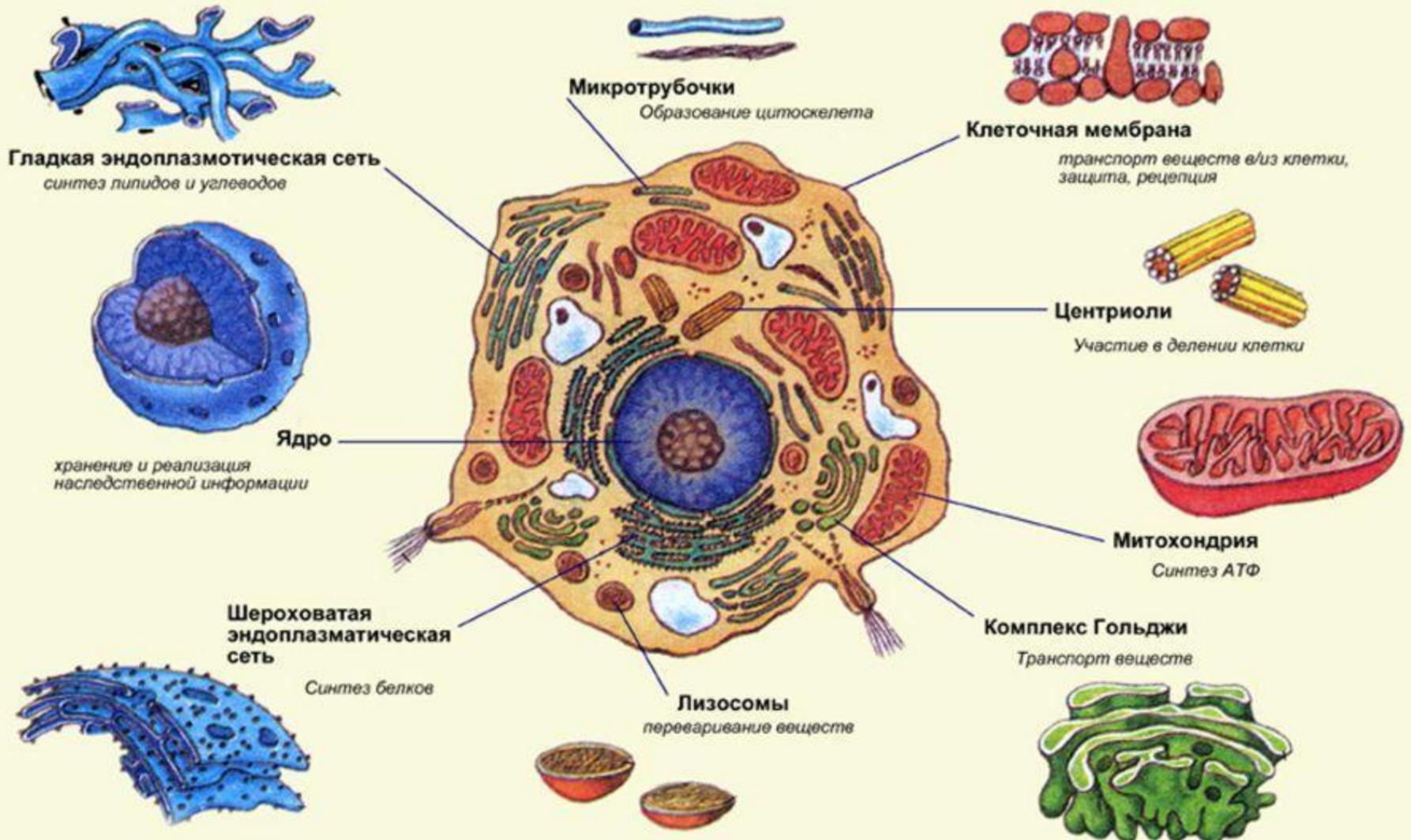
- **Эукариоты** — организмы, обладающие, в отличие от прокариот, оформленным клеточным ядром, отграниченным от цитоплазмы ядерной оболочкой. Генетический материал заключён в нескольких линейных двухцепочных молекулах ДНК (в зависимости от вида организмов их число на ядро может колебаться от двух до нескольких сотен), прикреплённых изнутри к мембране клеточного ядра и образующих у подавляющего большинства комплекс с белками-гистонами, называемый хроматином. В клетках эукариот имеется система внутренних мембран, образующих, помимо ядра, ряд других органоидов (эндоплазматическая сеть, аппарат Гольджи и др.). Кроме того, у подавляющего большинства имеются постоянные внутриклеточные симбионты-прокариоты — митохондрии.



Эукариотическая клетка



КЛЕТКА И КЛЕТОЧНЫЕ ОРГАНЕЛЛЫ



Нуклеиновые кислоты

- Существует два типа нуклеиновых кислот: *ДНК* (дезоксирибонуклеиновая кислота) и *РНК* (рибонуклеиновая кислота). *Мономерами* нуклеиновых кислот являются *нуклеотиды*.



Строение нуклеиновых кислот

Швейцарский врач Фридрих Мишер в конце 19в. , работая над раскрытием тайны биосинтеза белка, выделил неизвестное вещество из остатков клеток, содержащихся в гное.

В его составе, кроме углерода, водорода и кислорода, были азот и фосфор. Это новое вещество Мишер назвал нуклеином (от лат. *nucleus*- ядро) т. к. считал, что оно находится только в ядрах этих клеток.



Нуклеиновые кислоты

Признаки	ДНК	РНК
Нахождение в клетке	Ядро, митохондрии, хлоропласты	Ядро, митохондрии, рибосомы, хлоропласты
Нахождение в ядре	Хромосомы	Ядрышко
СОСТАВ НУКЛЕОТИДА	АДЕНИН, ТИМИН, ГУАНИН, ЦИТОЗИН; ДЕЗОКСИРИБОЗА; ОСТАТОК ФОСФОРНОЙ КИСЛОТЫ.	АДЕНИН, УРАЦИЛ, ГУАНИН, ЦИТОЗИН; РИБОЗА; ОСТАТОК ФОСФОРНОЙ КИСЛОТЫ.
Строение макромолекулы	Двойная свёрнутая правозакрученная спираль	Одинарная полинуклеотидная цепочка (кроме вирусов)



2.4. Нуклеиновые кислоты (РНК и ДНК) – полимерные соединения из нуклеотидов 5 видов.

Общая структура **нуклеотида**:



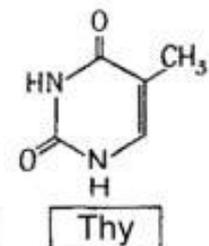
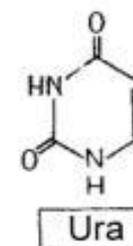
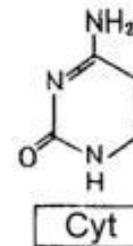
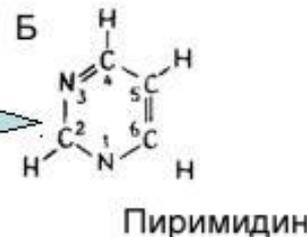
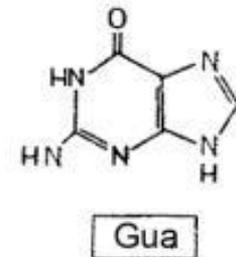
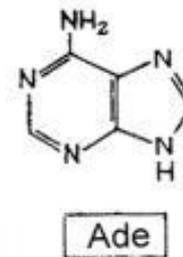
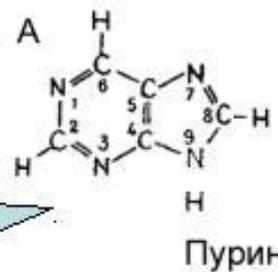
Нуклеотиды различаются по составу **азотистых оснований**. Соответственно, выделяют пять видов азотистых оснований.

Пуриновые основания:

Аденин и **Гуанин** – в их составе два углеродно-азотных кольца;

Пиримидиновые основания:

Цитозин, **Урацил** и **Тимин** – одно кольцо.



Строение нуклеиновых кислот

двойная спираль

ДНК

РНК

одинарная спираль

Азотистое основание
(А, Г, Ц, Т)

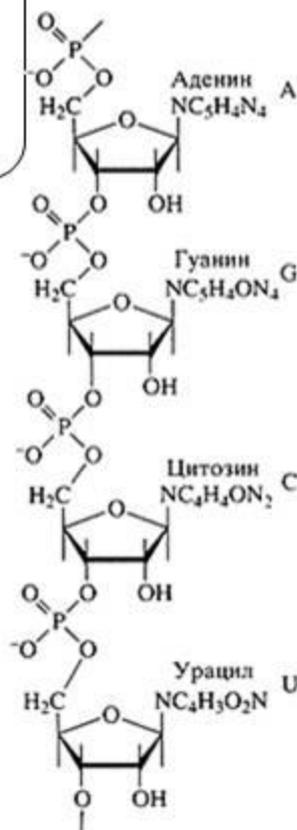
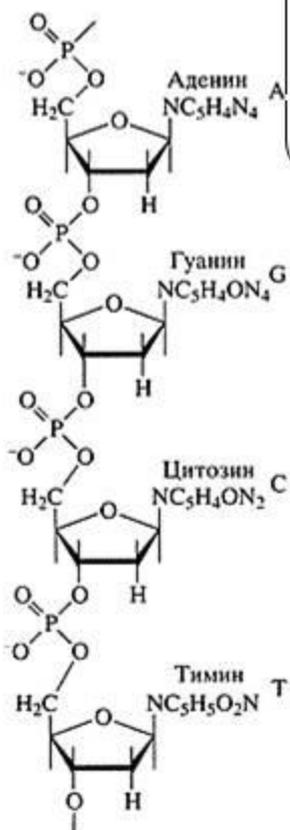
Азотистое основание
(А, Г, Ц, У)

Дезоксирибоза
(углевод)

Рибоза
(углевод)

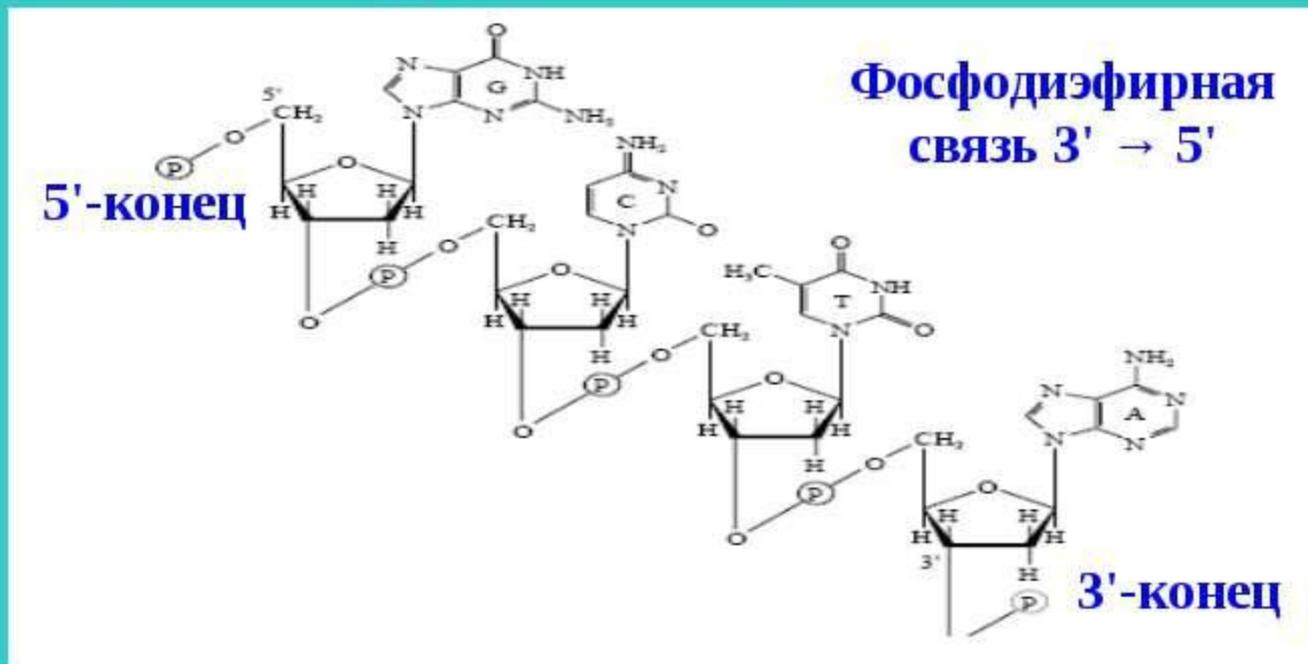


нуклеотид – мономер НК



Строение нуклеиновых кислот

- РНК и ДНК построены соответственно из ковалентно связанных **рибонуклеотидных** или **дезоксирибонуклеотидных** звеньев.
- **Нуклеотиды** соединяются между собой **фосфодиэфирными** связями, связывающими **5'-ОН** группу одного нуклеотида и **3'-ОН** группу следующего нуклеотида.
- При этом образуется регулярная основная цепь **фосфат-сахар-фосфат-сахар-.....**
- **Азотистые основания** присоединены к **сахарам** аналогично тому, как присоединены боковые группы в белках.

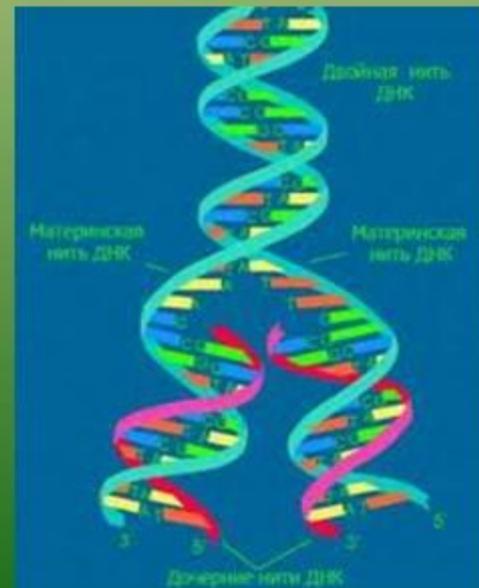


Функции ДНК

- Хранение наследственной информации о первичной структуре белковой молекулы
- Синтез молекул РНК

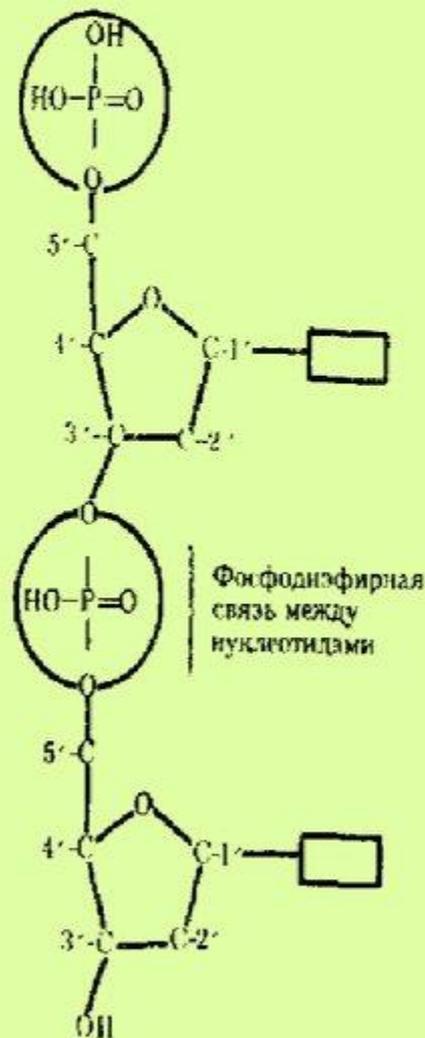


- Передача наследственной информации из поколения в поколение благодаря редупликации



Строение ДНК

- ДНК – полимерная молекула, состоящая из повторяющихся мономерных звеньев, называемых нуклеотидами
- Нуклеотид состоит из азотистого основания, сахара – дезоксирибозы и остатка фосфорной кислоты
- К первому атому углерода в молекуле пентозы С-1' присоединяется азотистое основание, к пятому атому С-5' с помощью эфирной связи – фосфат, у третьего атома С-3' всегда имеется гидроксильная группа – ОН
- Соединение нуклеотидов в макромолекулу происходит путем взаимодействия фосфата одного нуклеотида с гидроксильной группой другого так, что между ними устанавливается фосфодиэфирная связь
- Азотистые основания в ДНК: аденин, гуанин – пуриновые; тимин и цитозин - пиримидиновые

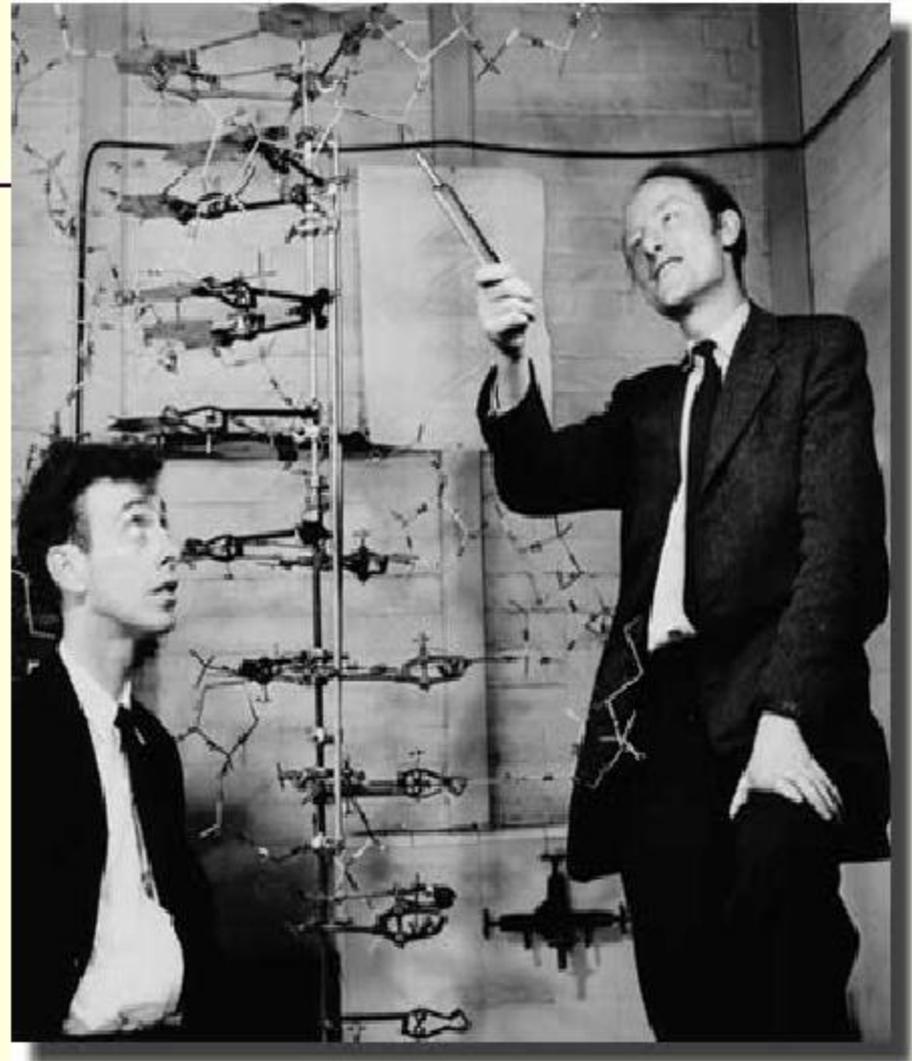


Правило ЧАРГАФФА

- Число пуриновых оснований в ДНК всегда равно числу пиримидиновых, количество аденина равно количеству тимина, а гуанина — количеству цитозина

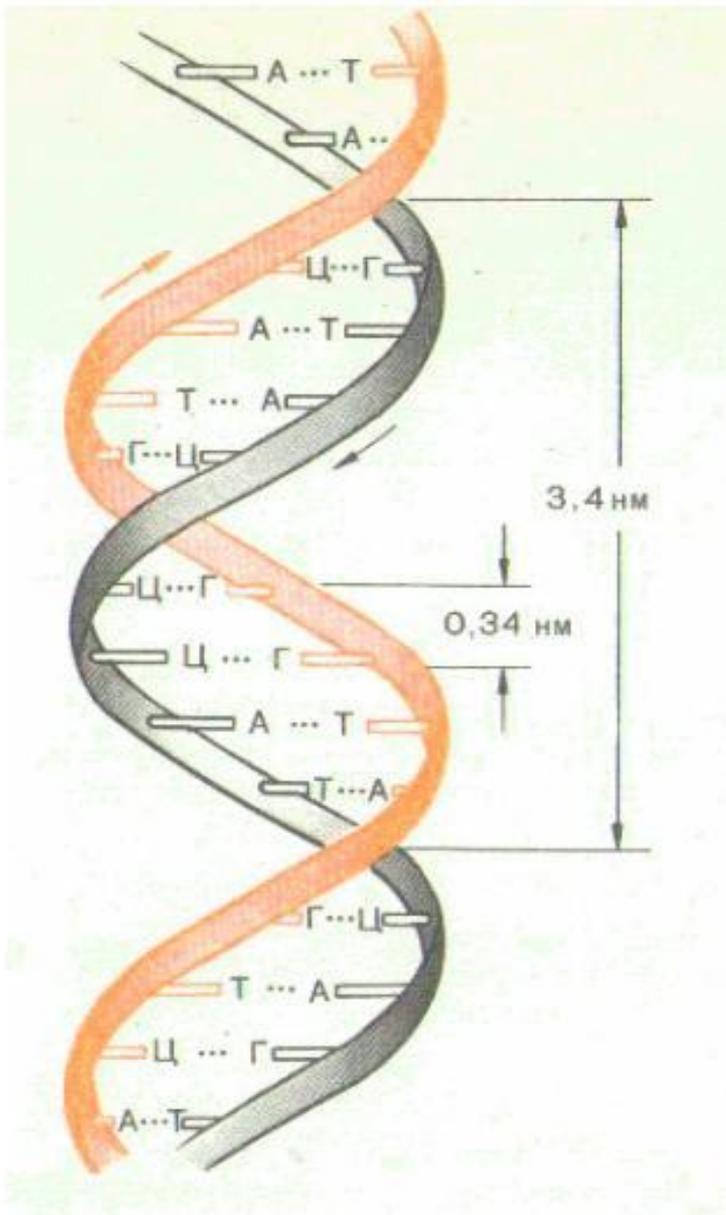
В 1953г. Дж. Уотсон и Ф. Крик предложили модель строения молекулы ДНК. Она была подтверждена экспериментально. Это открытие имело огромное значение для развития генетики, молекулярной биологии и др. наук.

В 1962г. ученым была присуждена *Нобелевская премия.*



Дж. Уотсон, Ф. Крик
1953 г.

Вторичная структура ДНК в виде двойной спирали



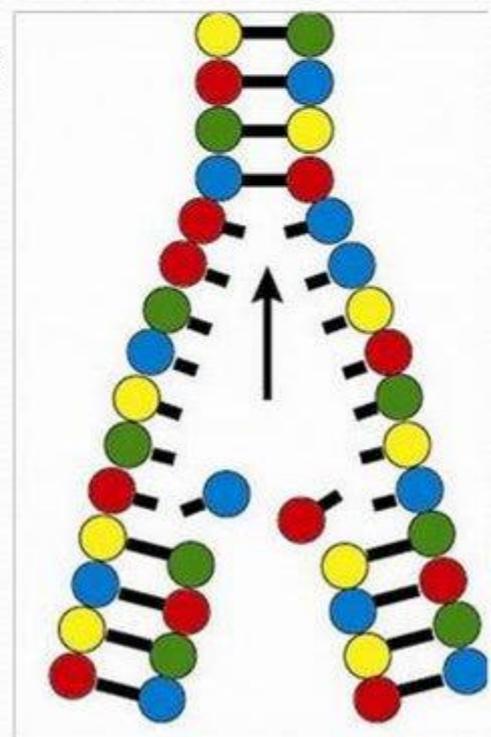
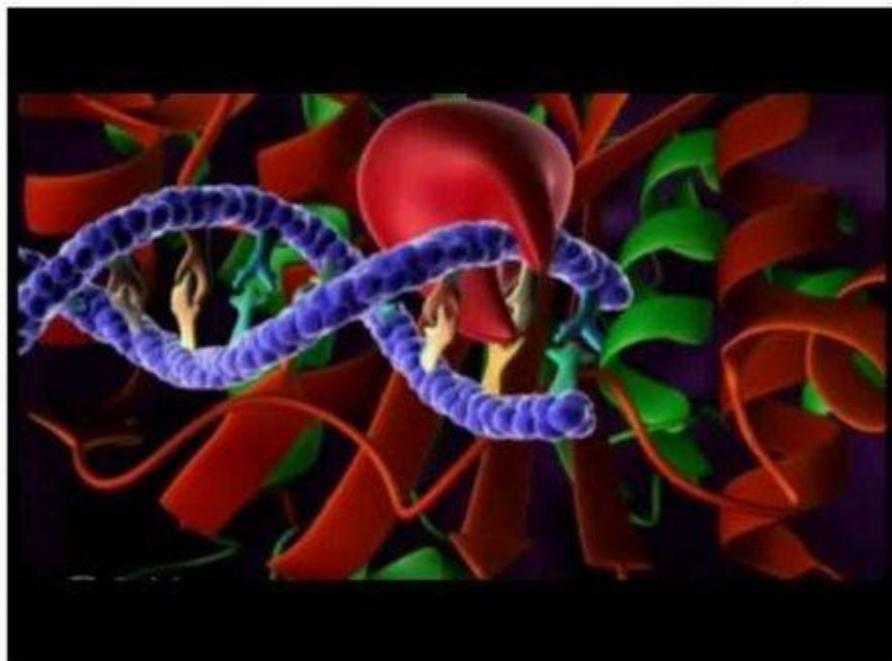
Молекула ДНК состоит из двух полинуклеотидных цепей, правозакрученных вокруг общей оси с образованием двойной спирали, имеющей диаметр 1,8 – 2,0 нм. Две нуклеотидные цепи антипараллельны друг другу (противоположные направления образования фосфодиэфирных связей 5'-3' и 3'-5'). Пуриновые и пиримидиновые основания направлены внутрь спирали. Между пуриновым основанием одной цепи и пиримидиновым основанием другой цепи возникают водородные связи. Эти основания составляют комплементарные пары.

Репликация ДНК

Репликация молекулы ДНК – это процесс образования идентичных копий ДНК, осуществляемый комплексом ферментов и структурных белков.

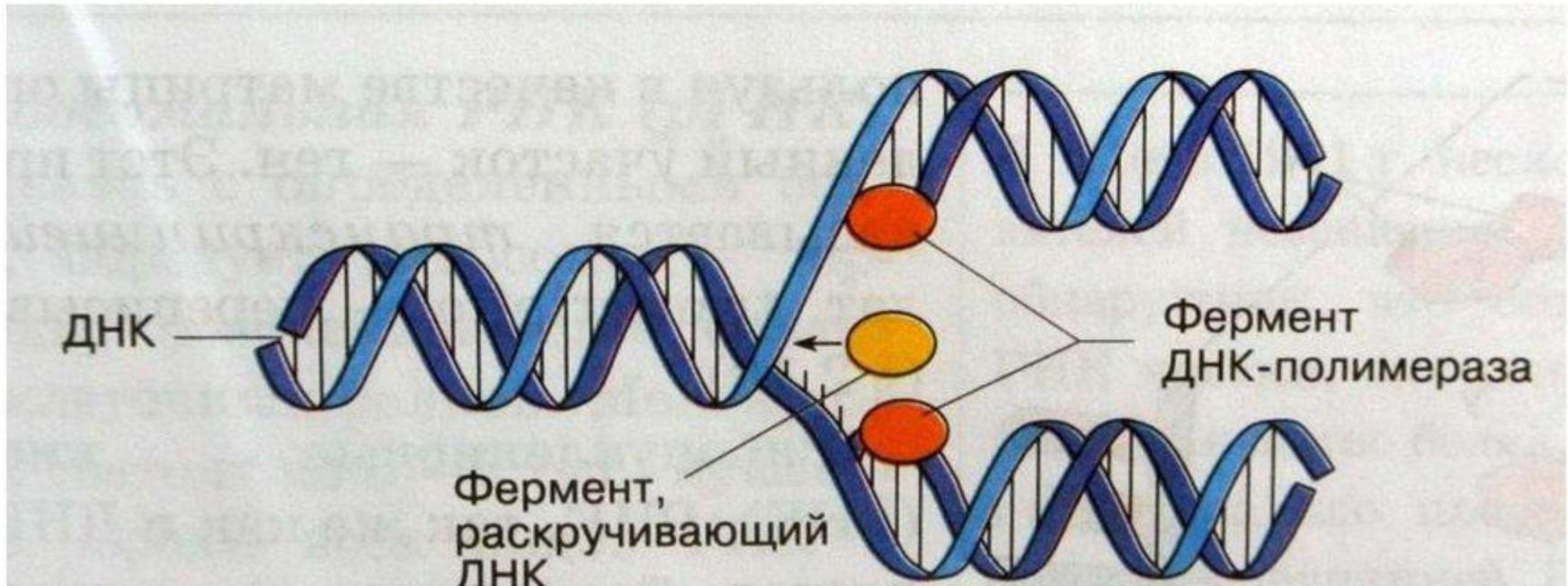
Репликация ДНК лежит в основе:

- Воспроизведения генетической информации при размножении живых организмов
- Передачи наследственных свойств из поколения в поколение
- Развития многоклеточного организма из зиготы



Репликация ДНК

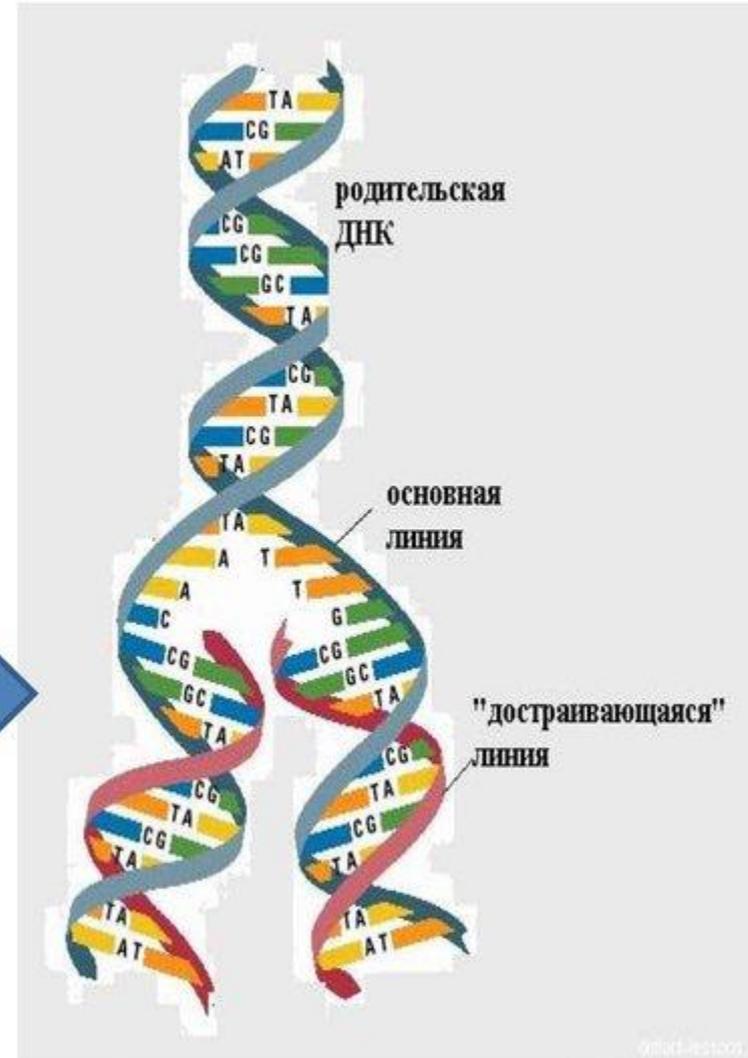
1. Специальный фермент (**хеликаза**) раскручивает двойную спираль молекулы ДНК и «разрезает» водородные связи между азотистыми основаниями,
2. в результате чего получаются 2 полинуклеотидные цепочки.
3. По принципу комплиментарности к каждой из этих цепочек ферментом **полимеразой** достраиваются недостающие нуклеотиды до тех пор, пока не
4. образуются две молекулы ДНК. При этом каждая молекула ДНК состоит из одной новой цепочки и одной старой.



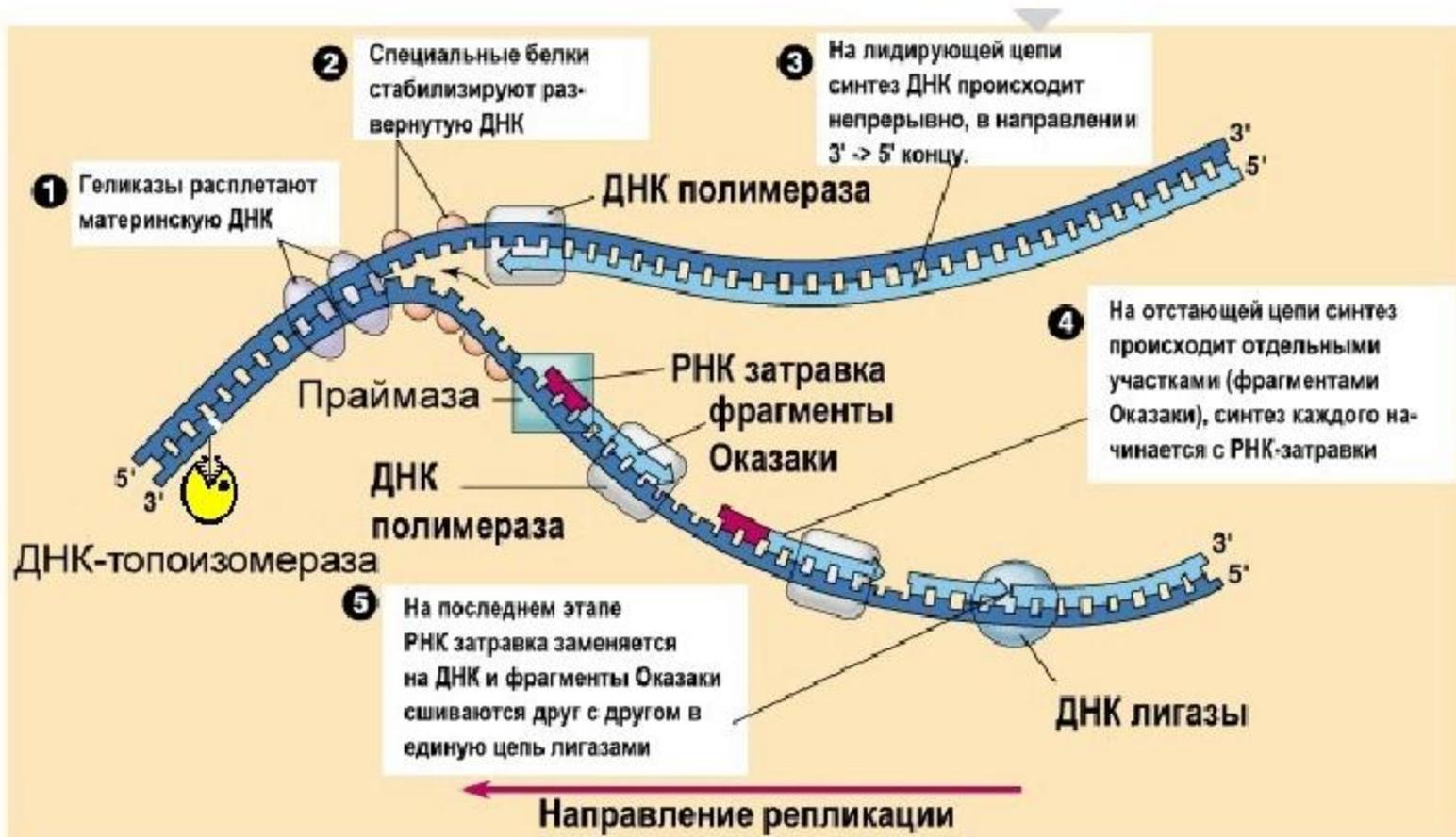
Репликация ДНК

В процессе репликации ДНК выделяют фазы:

- – инициации (начало),
- – элонгации (удлинение),
- – терминации (завершение)



Репликация хромосом



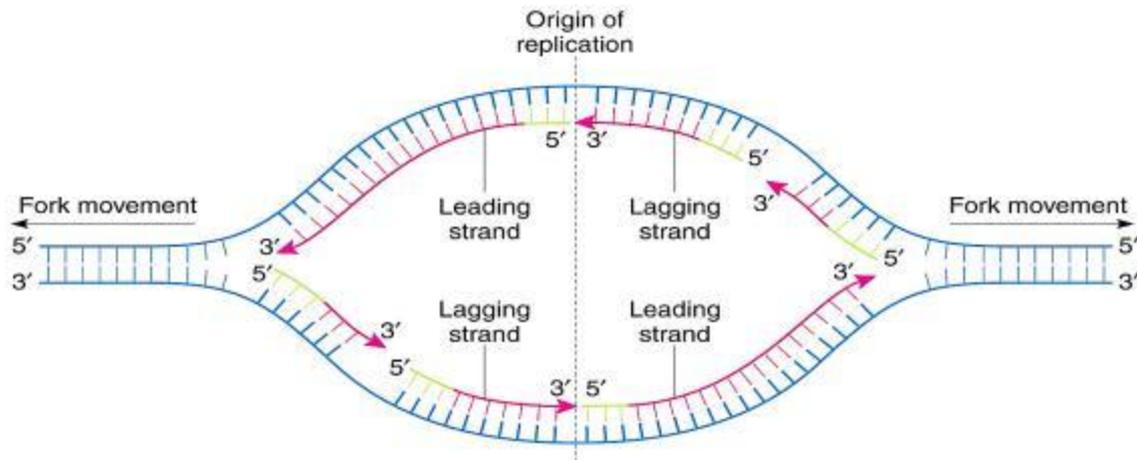
Инициация

Для того чтобы каждая из двух цепей ДНК стала матрицей, для синтеза новой цепи, необходимо, чтобы нити ДНК раскрутились и отошли друг от друга. Установлено, что цепи ДНК раскручиваются не по всей длине, а на коротком участке. Здесь образуется вилка репликации - место удвоения. Репликация ДНК эукариотической хромосомы осуществляется посредством разделений ее на множество отдельных репликонов и репликативных вилок. Остановка продвижения вилки происходит только при столкновении с другой вилкой, движущейся во встречном направлении. ДНК. Бактериальная хромосома представляет собой чаще всего 1 репликон.

При расплетении ДНК происходит вращение молекулы - изменение вторичной и третичной структур. Эти процессы катализирует группа ферментов, называемых *топоизомеразами*. Они вносят одно и двуцепочечные разрывы в ДНК, что позволяет молекуле нуклеиновой кислоты вращаться и становиться матрицей.

На расплетенный участок родительской молекулы ДНК, с которого начинается репликация и который называется точкой начала репликации (или ориджином, *oriC*) «салятся» инициаторные белки. Фермент **Хеликаза** обеспечивает разрыв водородных связей между азотистыми основаниями в двойной цепи ДНК, приводя к ее денатурации, т.е. расхождению нитей. Все возможные нарушения в структуре одиночных цепей исключаются благодаря действию **белков SSB** (single-strand DNA-binding proteins или helix-destabilizing proteins), которые, связываясь с, одиночными цепями ДНК, препятствуют их слипанию.

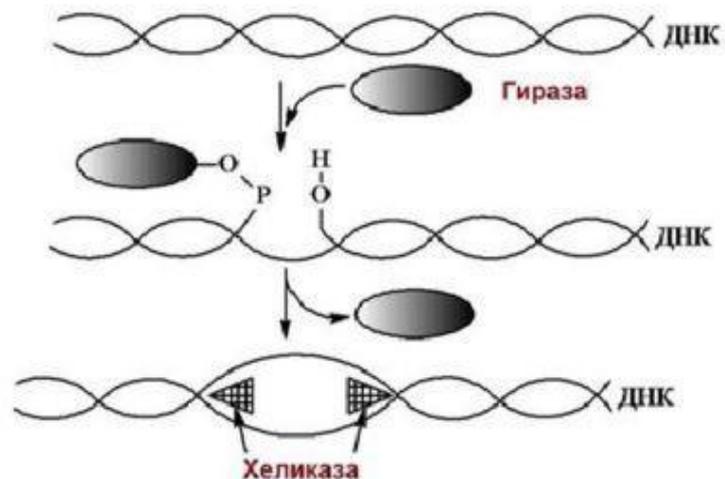
Репликация может начинаться не с любого участка ДНК, а со строго определённого, называемого **точка начала репликации** или **точки ori** (ориджин). Синтез новых одноцепочечных молекул ДНК будет происходить только при расхождении родительских цепей. В **точке ori** начинается локальная денатурация ДНК, цепи расходятся и образуются репликативный глазок - две **репликативные вилки**, движущиеся в противоположных направлениях. **Репликон** — это участок ДНК, который содержит сайт инициации репликации и реплицируется после начала синтеза ДНК с этого сайта. **Репликационный глазок** — участок хромосомы, где ДНК уже реплицирована, ...



Этапы репликации ДНК:

1. Инициация

1. **Топоизомераза** (ДНК-гираза) находит точку начала репликации (**ori**), гидролизует одну фосфодиэфирную связь и дает возможность компонентам репликативной системы разомкнуть нити ДНК и образовать «репликативную вилку», а затем вновь соединяет связь между мононуклеотидами;
2. **Хеликаза** разрывает водородные связи между нитями ДНК - образуется «репликативный глазок»;

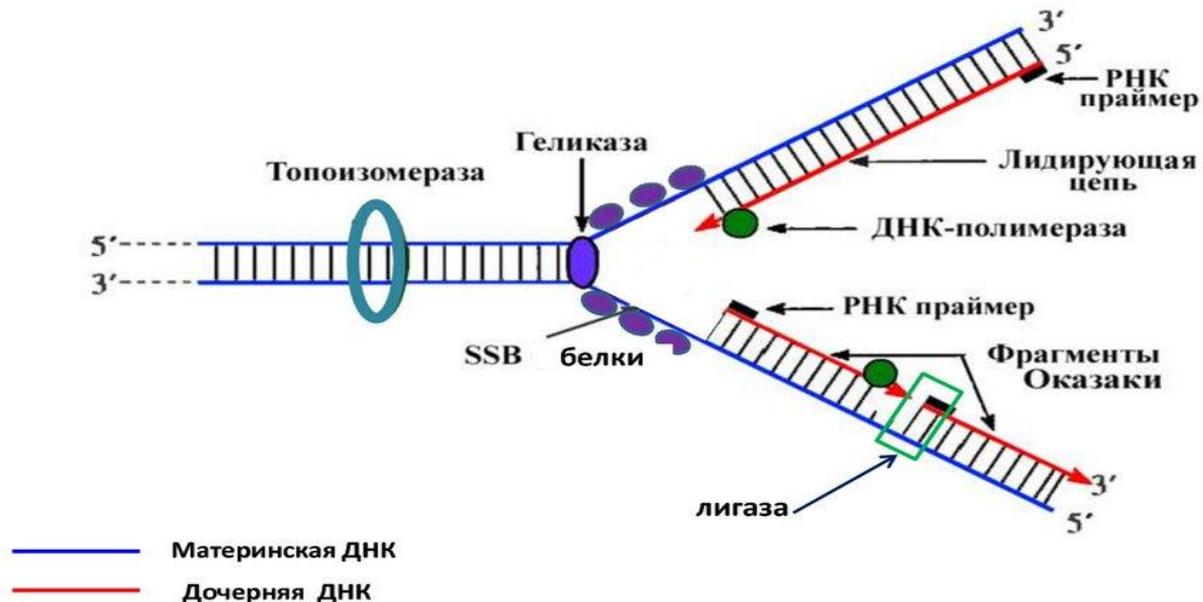


Элонгация

ДНК-полимеразы не могут начинать синтез ДНК на матрице «с нуля», а способны только добавлять новые дезоксирибонуклеотиды к 3'-концу уже имеющейся полинуклеотидной цепи. Такую ранее образованную небольшую цепь, к которой добавляются нуклеотиды, называют «затравкой» или праймером, она состоит из рибонуклеотидов (это короткая молекула РНК). Праймер синтезирует из рибонуклеотидтрифосфатов фермент **РНК-праймаза**. РНК-праймеры удлиняются **ДНК-полимеразой**, которая, вытесняя SSB, начинает строить новую цепь ДНК, последовательно присоединяя к праймеру дезоксирибонуклеотиды. Полимеризация протекает путем присоединения мононуклеотидов к 3'-ОН-группе затравки. Матрица (материнская ДНК) определяет выбор ферментом нуклеотида соответственно правилам комплементарности: А спаривается с Т, Г - с Ц. **Рост цепи происходит в направлении 5'—3'**. Поэтому на одной из родительских цепей цепь синтезируется непрерывно в направлении 5'-3', что совпадает с движением вилки репликации. Это *лидирующая (или ведущая) цепь*. Другая цепь - отстающая (запаздывающая) - растет за счет синтеза ДНК-полимеразой коротких фрагментов также от 5' к 3', однако они синтезируются в направлении, противоположном движению вилки, причем синтез каждого начинается с построения отдельного праймера. Длина фрагментов составляет 1000-2000 пн. Они названы «фрагментами Оказаки» по имени открывшего их ученого.

Фрагменты Оказаки отстающей цепи сшиваются, образуя непрерывную цепь. Это требует активности двух ферментов: ДНК-полимеразы и ДНК-лигазы. На отстающей цепи **ДНК-полимераза** продолжает синтез ДНК после отделения ДНК-полимеразы III в направлении 5'-3' одновременно удаляя праймер. После замены всех нуклеотидов РНК на нуклеотиды ДНК между двумя фрагментами ДНК остается разрыв, который зашивается **ДНК-лигазой**.

Репликативная вилка



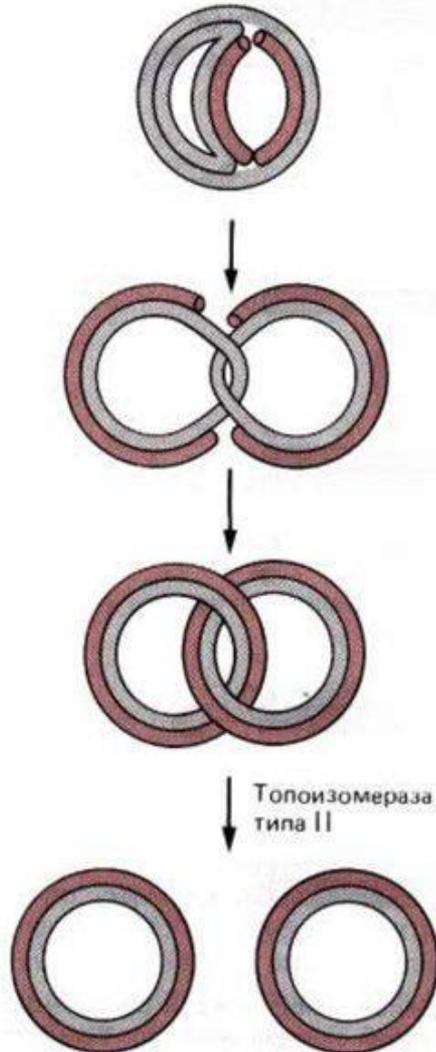
Терминация репликации

Завершение репликации у прокариот происходит в соответствующей точке генома (сайте терминации) и чаще всего обуславливается встречей репликационных вилок, так как молекула ДНК имеет замкнутую кольцевую форму. В результате непрерывного синтеза происходит соединение 3' и 5' -концов каждой цепи. При однонаправленной репликации точка совмещения совпадает с сайтом инициации (OriC). В таком случае, синтезируемая цепь как бы огибает кольцевую молекулу, возвращаясь к исходной точке и встречаясь с 5' -концом самой себя. При двунаправленной репликации (синтез идет одновременно в двух направлениях от точки OriC) встреча вилок и соединение концов происходит в середине кольцевой молекулы.

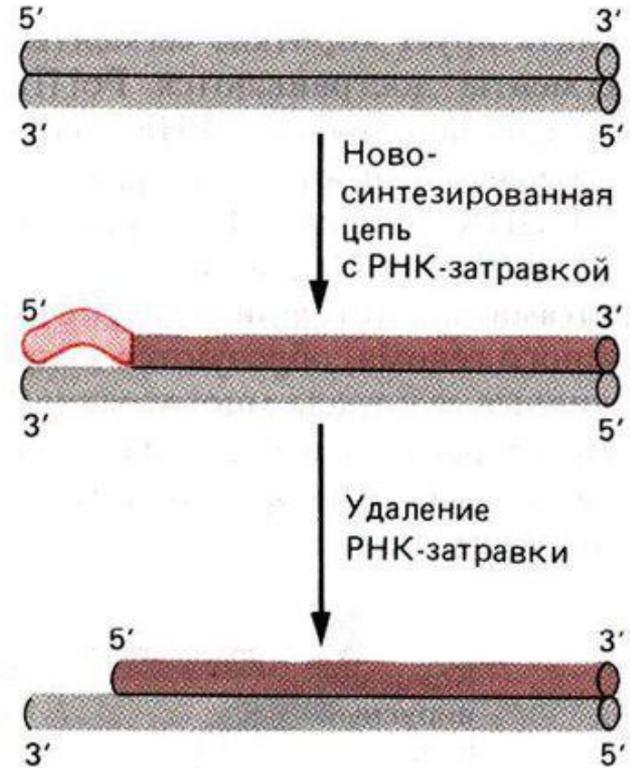
У эукариот одна хромосома содержит несколько точек инициации репликации, а терминация происходит в двух случаях: при столкновении вилок, движущихся в противоположных направлениях; в случае достижения конца хромосомы. По окончании процесса разделенные молекулы ДНК связываются с хромосомными белками и упорядоченно распределяются по дочерним клеткам.

ТЕРМИНАЦИЯ РЕПЛИКАЦИИ

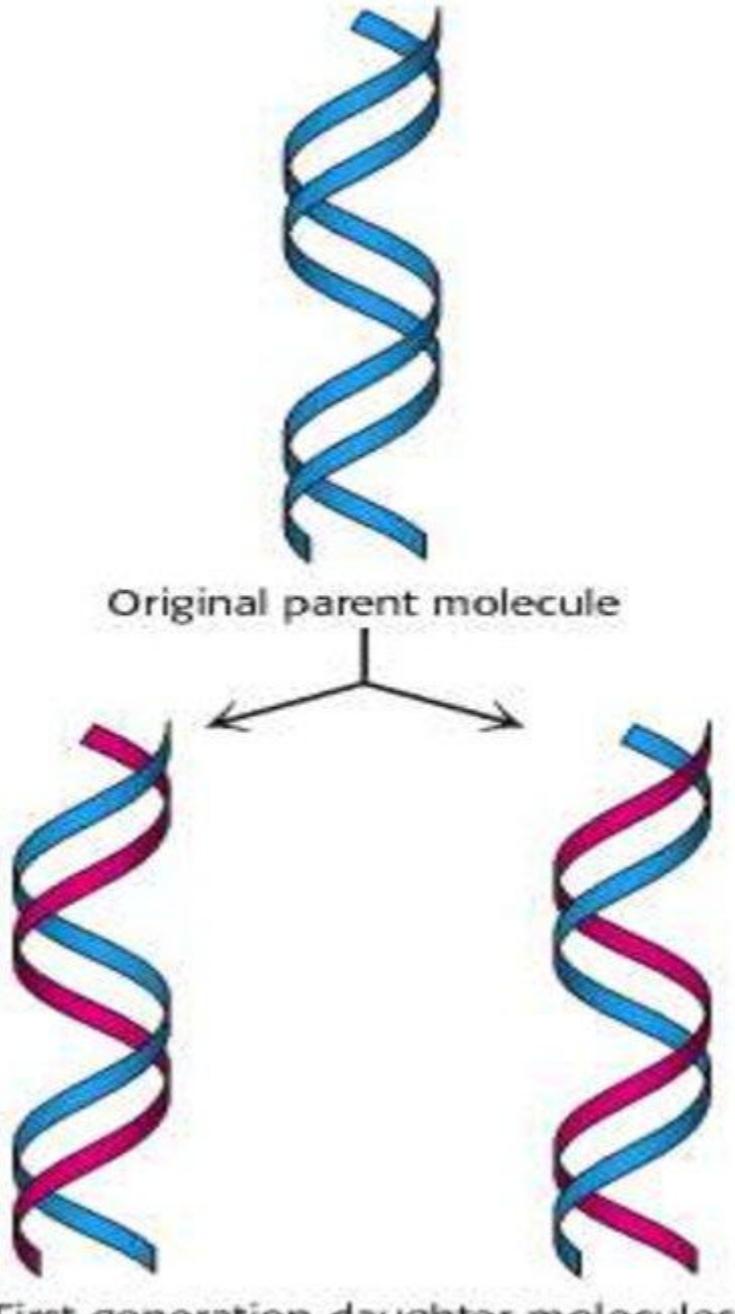
Репликация замкнутой кольцевой
дуплексной ДНК и расхождение
цепей



Завершение репликации
линейных ДНК



Полуконсервативный механизм репликации



- В основе процесса репликации лежит принцип копирования материнской цепи ДНК с образованием 2-х одинаковых дочерних молекул ДНК
- Каждая дочерняя молекула ДНК содержит одну старую и одну новую полинуклеотидную цепь

Репарация ДНК

Репарацией называется процесс устранения повреждений нуклеотидной последовательности ДНК. Осуществляется особыми ферментными системами клетки (**ферменты репарации**).

процессе восстановления структуры ДНК можно выделить следующие этапы:

1) **ДНК-репарирующие нуклеазы** распознают и удаляют поврежденный участок, в результате чего в цепи ДНК образуется разрыв;

2) **ДНК-полимераза** заполняет этот разрыв, копируя информацию со второй («хорошей») цепи;

3) **ДНК-лигаза** «сшивает» нуклеотиды, завершая репарацию.

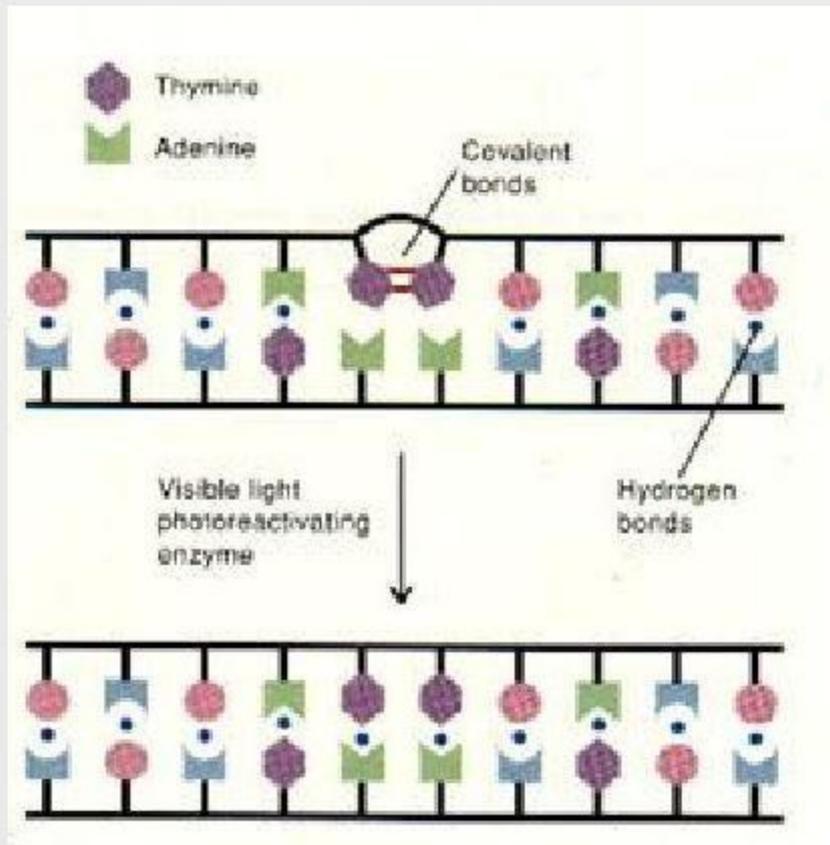
Репарация

Репарация – исправление повреждений ДНК. Обеспечивает сохранение генетической информации.

Виды репарации:

1. Прямая репарация
2. Эксцизионная репарация
3. Рекомбинационная репарация
4. SOS-репарация

Репарация ДНК

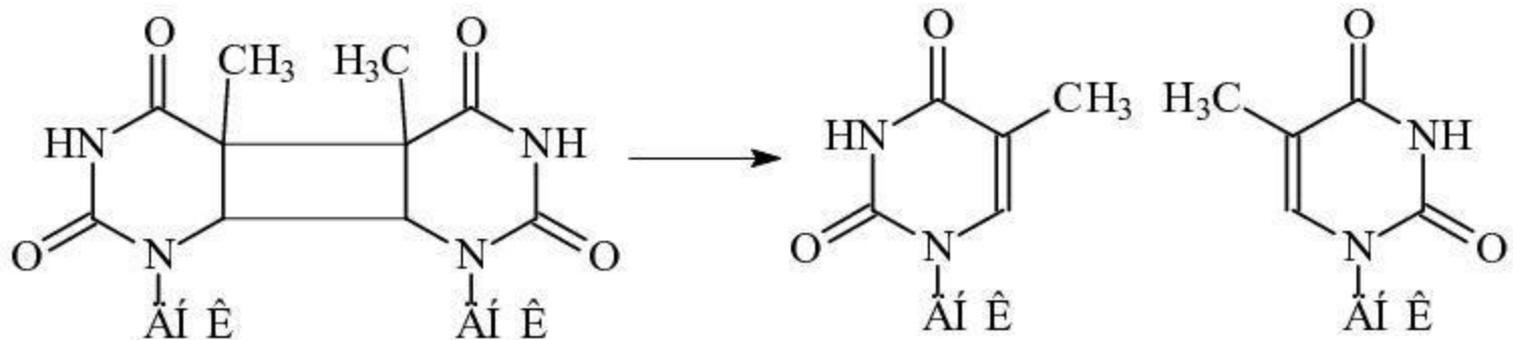


Выделяют виды репараций:
фотореактивация, темновая и SOS-реактивация.

Фотореактивация защищает клетку от негативного действия ультрафиолетовой радиации, которая вызывает образование тиминовых димеров. На солнечном свете (образуются особенные ферменты, которые разрушают связи между пиримидиновыми димерами).

Прямая репарация

- **Фотореактивация**
- **Фотолиаза, активированная светом, распознает пиримидиновыми димеры в ДНК, присоединяется к ним и разрывает возникшие между пиримидиновыми кольцами связи.**
- **После этого фотолиаза отходит от ДНК.**
- **Восстановление структуры ДНК на этом завершено.**

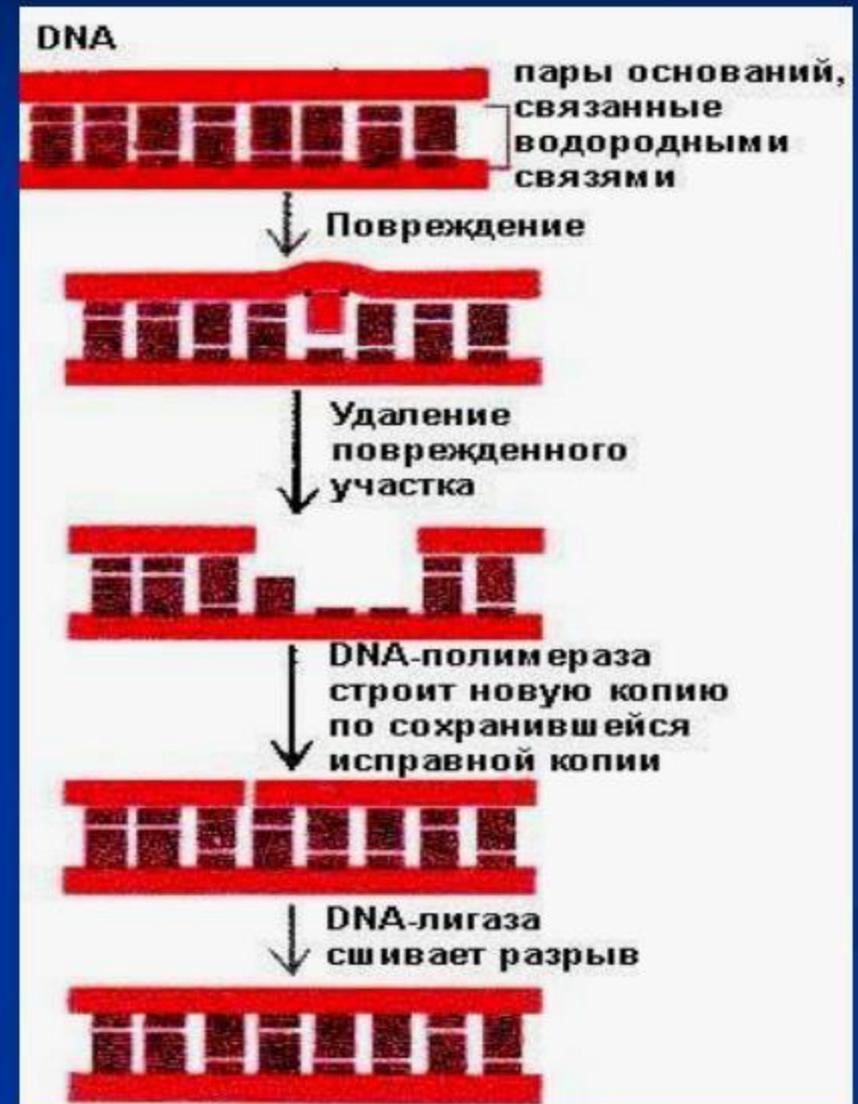


РЕПАРАЦИЯ

- **ФОТОРЕАКТИВАЦИЯ** или **СВЕТОВАЯ** репарация. В результате УФ - облучения целостность молекул ДНК нарушается, так как в ней возникают димеры, т. е. сцепленные между собой соединения в области пиримидиновых оснований. Фотореактивация катализируется ферментом фотолиазой, который активируется фотоном света и расщепляет димер на исходные составляющие.
- **ТЕМНОВАЯ** или **ЭКСЦИЗИОННАЯ** репарация. Осуществляется в пять этапов: 1 - нарушения узнаются специфическими белками; 2 - эндонуклеазы делают надрезы в поврежденной цепи; 3 - экзонуклеазы осуществляют вырезание поврежденного участка; 4 - синтез нового участка по принципу комплементарности взамен удаленного фрагмента, с помощью ДНК-полимеразы; 5 - ДНК-лигаза соединяет концы старой цепи и восстановленного участка.

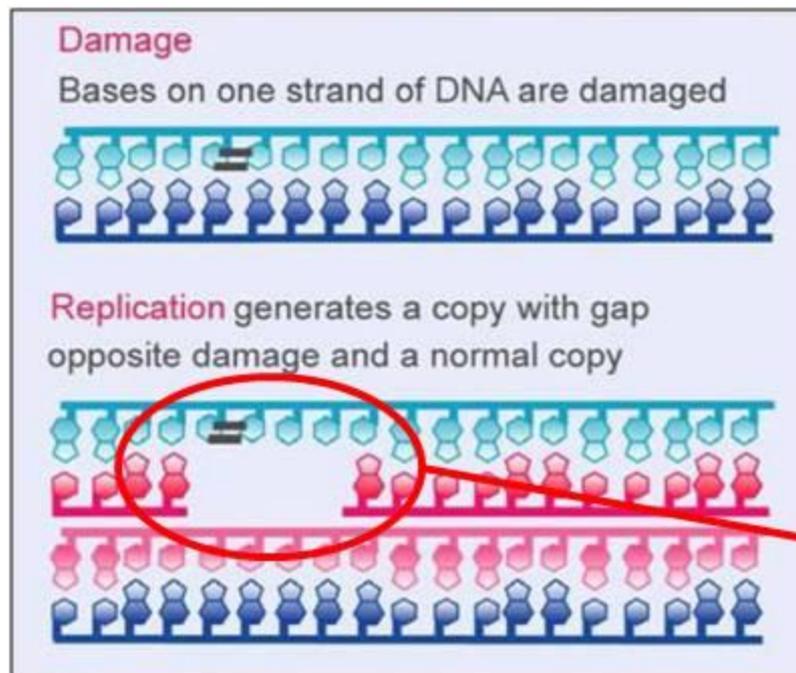
Этапы эксцизионной репарации

- 1. Узнавание повреждения ДНК эндонуклеазой
- 2. Инцизия (надрезание) цепи ДНК ферментом по обе стороны от повреждения
- 3. Эксцизия (вырезание и удаление) повреждения при помощи геликазы
- 4. Ресинтез: ДНК-П застраивает брешь и лигаза соединяет концы ДНК



Рекомбинационная репарация

Рекомбинационная репарация необходима в случае, когда повреждены обе цепи ДНК, что может быть результатом:



1. Наличия повреждений в ДНК, которые не были устранены до начала раунда репликации. Работа ДНК – полимеразы в таких участках будет затруднена. Полимераза может перепрыгивать через различно поврежденные основания в матричной цепи и возобновлять репликацию, оставляя за собой незаполненные нуклеотидами бреши. В результате образуется дуплекс с поврежденным основанием и протяженной одноцепочечной брешью в комплементарной цепи.
2. Действия сильной ионизирующей радиации, индуцирующей двухцепочечные разрывы ДНК.

Рекомбинационная репарация (пострепликативная репарация)

Происходит замещение поврежденного участка одной из нитей молекулы ДНК на неповрежденный в результате встраивания нити из гомологичной хромосомы или сестринской хроматиды.

Принимают участие белок **RecA**, ДНК-полимераза, полинуклеотидлигаза.

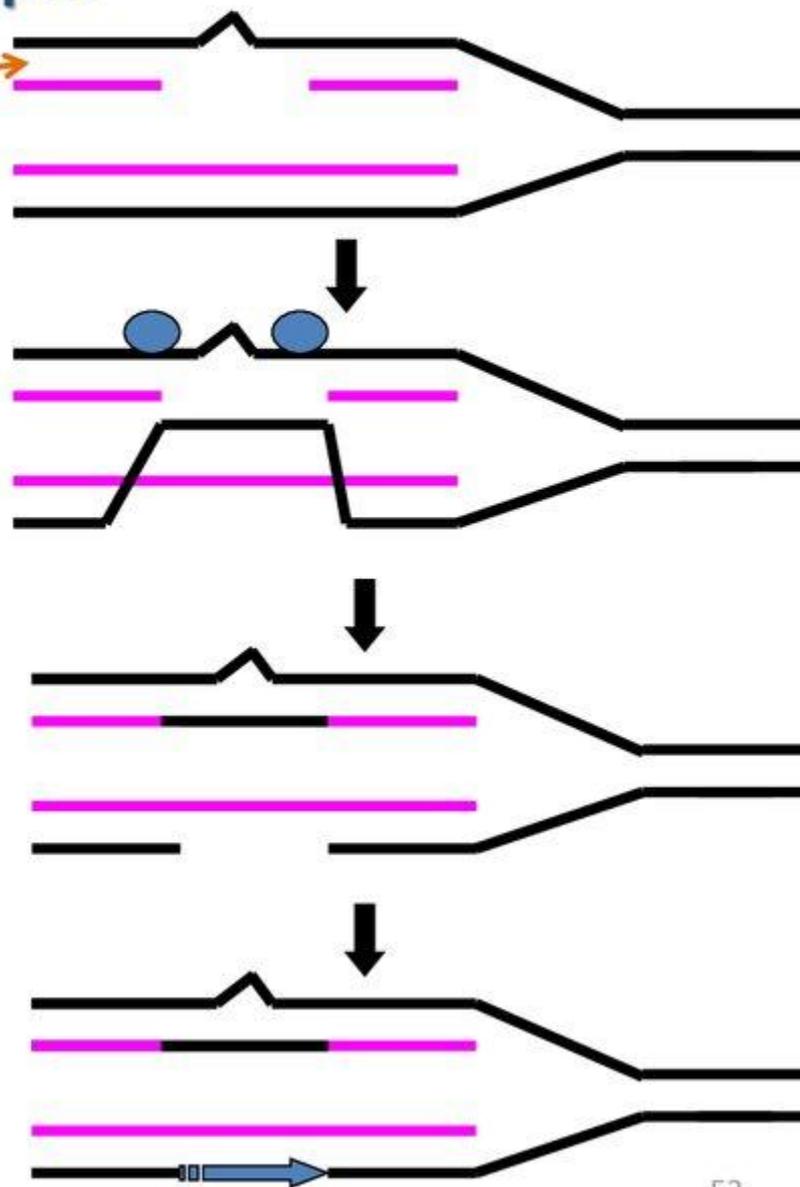
Пострепликативная репарация

а) рекомбинационная репарация

Синтез ДНК (ДНК-полимераза III) «проскакивает» участок, содержащий повреждение.

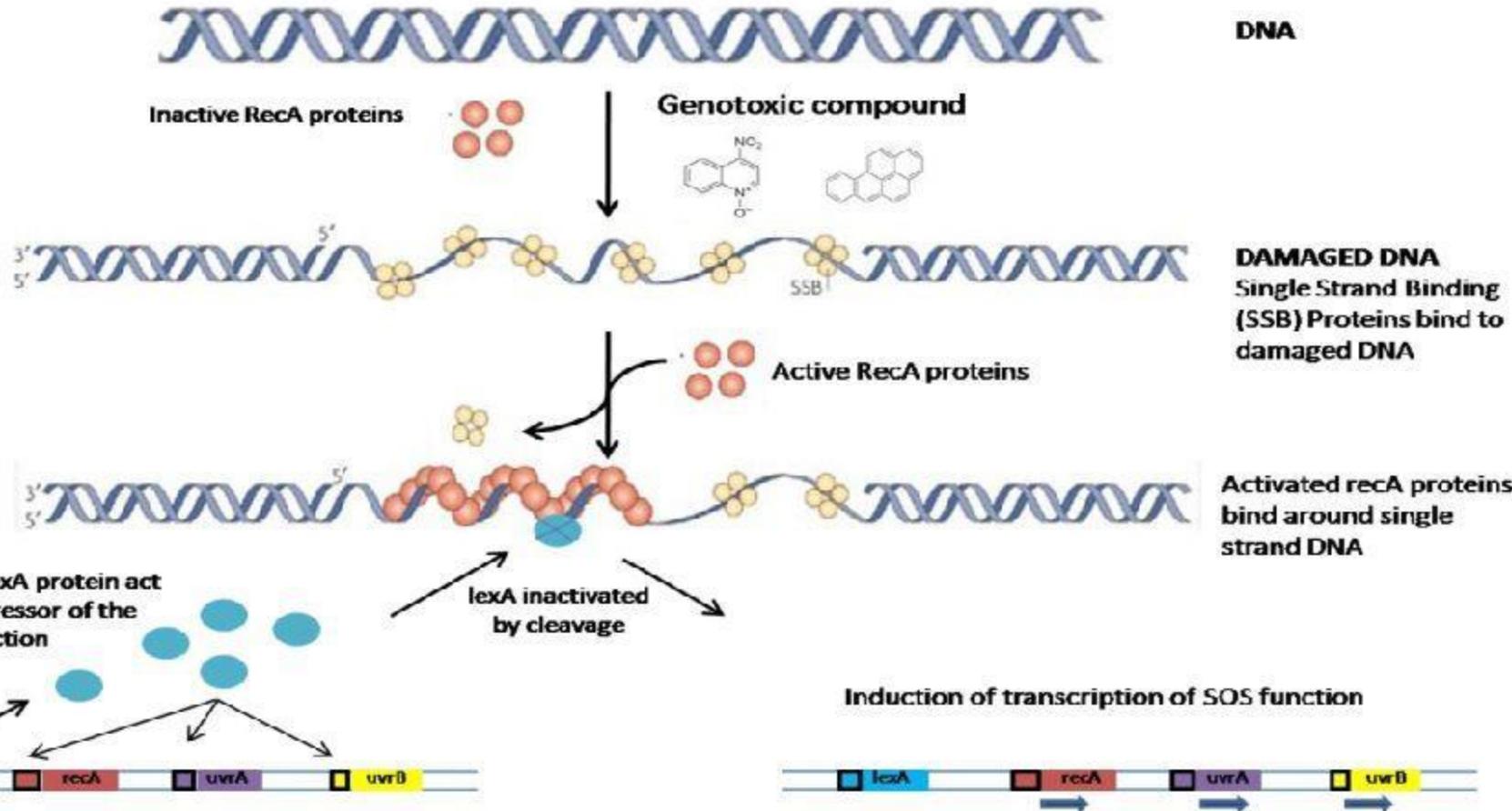
В результате участок дочерней цепи ДНК содержит брешь длиной до нескольких тысяч нуклеотидов.

Эта брешь репарируется с помощью рекомбинации.



SOS-репарация

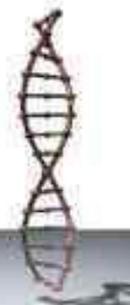
- Ключевая роль в SOS-индукции принадлежит белку RecA, который связывается с белком SSB и с однонитевой ДНК, что является сигналом, запускающим индукцию SOS-регулона (около 30 генов), продукты которых необходимы для выживания клетки при массовых повреждениях ДНК.
- Такая репликация является неточной, склонной к ошибкам, что приводит к повышению частоты мутаций.



SOS -репарация

- Обнаружена в 1974 г. М.Радманом. Он дал название, включив в него международный сигнал бедствия. Включается тогда, когда повреждений в ДНК настолько много, что они угрожают жизни клетки. Индуцируется синтез белков, которые присоединяются к ДНК-П комплексу и строят дочернюю цепь ДНК напротив дефектной матричной. В результате ДНК удваивается с ошибкой и может произойти клеточное деление. Но если были задеты жизненно важные функции клетка погибнет.

SOS-репарация (1974)



- Данный механизм занимает особое место среди клеточных репарирующих систем, ее еще называют "ошибочной" репарацией. У бактерии *E. coli* ферменты этой системы синтезируются только в ответ на действие на клетку ДНК-повреждающих агентов, например УФ-излучения
- Основная задача такой системы - модифицировать ДНК-полимеразу и поврежденный участок ДНК таким образом, чтобы не блокировалось действие ДНК-полимеразы.
- SOS-ответ представляет собой индуцируемую реакцию клетки на критическое состояние, приближающее ее к гибели.
- При наличии повреждений в клетке перед репликацией индуцируется синтез белков, которые присоединяются к ДНК-полимеразному комплексу и делают возможным строить дочернюю ДНК напротив дефектных звеньев матричной цепи. ДНК оказывается удвоенной, но с ошибкой.
- Сигналом к запуску служит накопление однонитевых разрывов, индуцирующих активность белка RecA, который специфически взаимодействует с белком LexA – репрессором для генов репарации.
- В результате работы репарационных систем происходит уменьшение одноцепочечных разрывов, белок RecA теряет активность и механизм SOS-репарации выключается.

При мутациях генов,
ответственных за репарацию,
возникают **болезни репарации**.

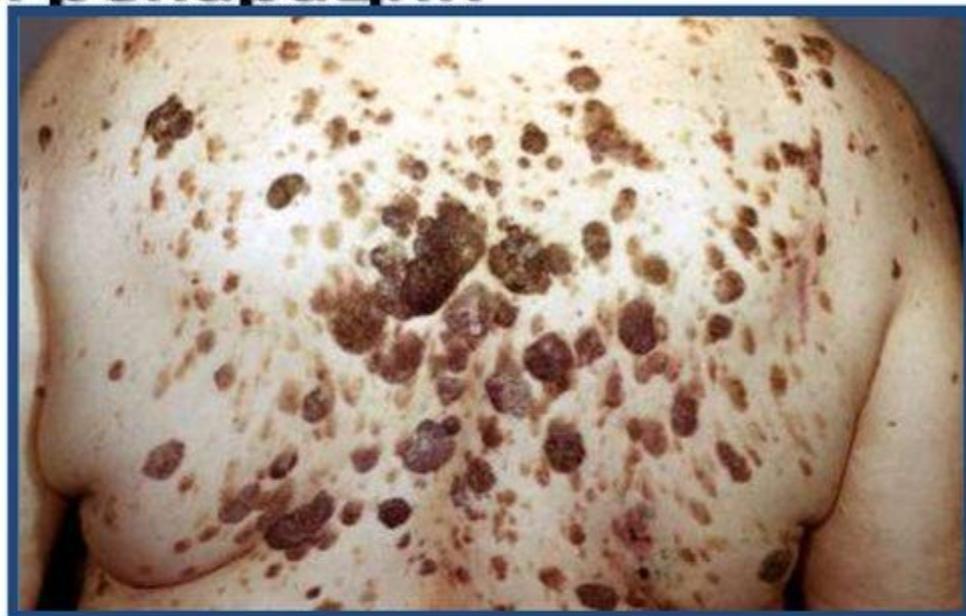
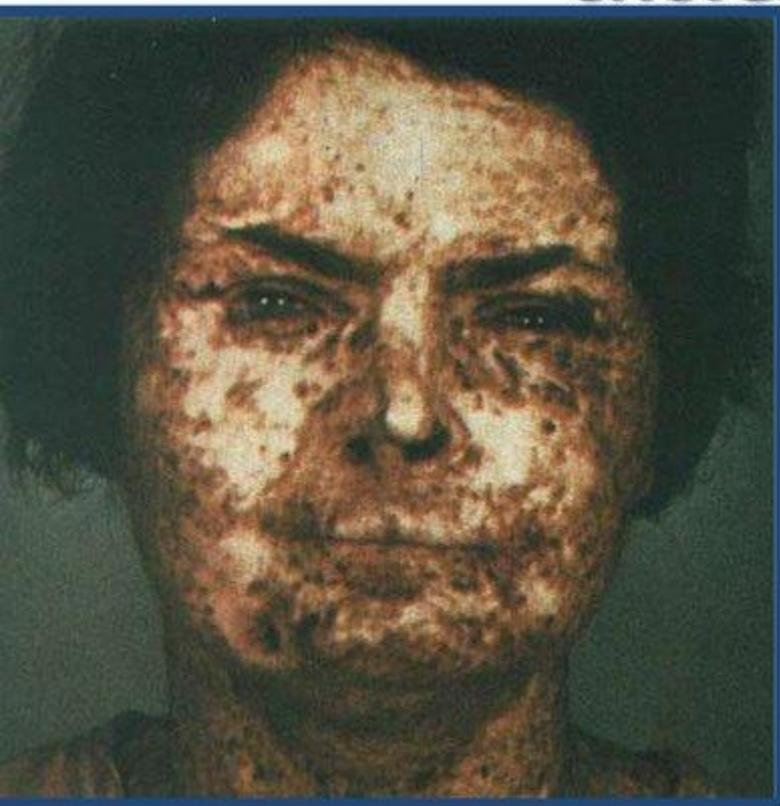
Самая известная из них –
пигментная ксеродерма.

При ней солнечный свет
повреждает ДНК в клетках кожи
и это приводит к раку.

Нарушения системы репарации ДНК - причина наследственных болезней

- Пигментная ксеродерма (XP) - мутации генов XPB и XPD приводят к нарушениям системы эксцизионной репарации ДНК после УФ-облучения (развитие рака кожи)
- Синдром Вернера - мутации гена WRN (8p12) приводят к неправильной репарации (быстрое старение, риск развития диабета и рака)
- Синдром Линча - мутации генов hMSH2 hMLH1 приводят к нарушениям системы репарации неспаренных нуклеотидов (развитие рака прямой кишки)
- *Нарушение системы репарации приводит к нестабильности генома и развитию онкологических заболеваний.

Заболевания, обусловленные дефектами системы репарации



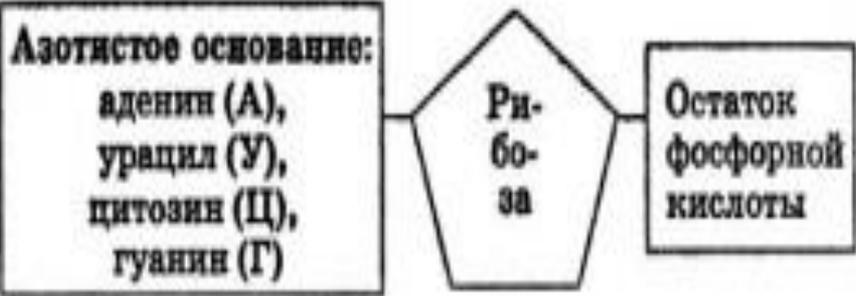
Пигментная ксеродерма

Нарушена эксцизионная репарация.

Клинические проявления:

- дерматозы под действием солнечного света
- рак кожи
- неврологические нарушения
- дефекты роста и развития
- преждевременное старение различных систем

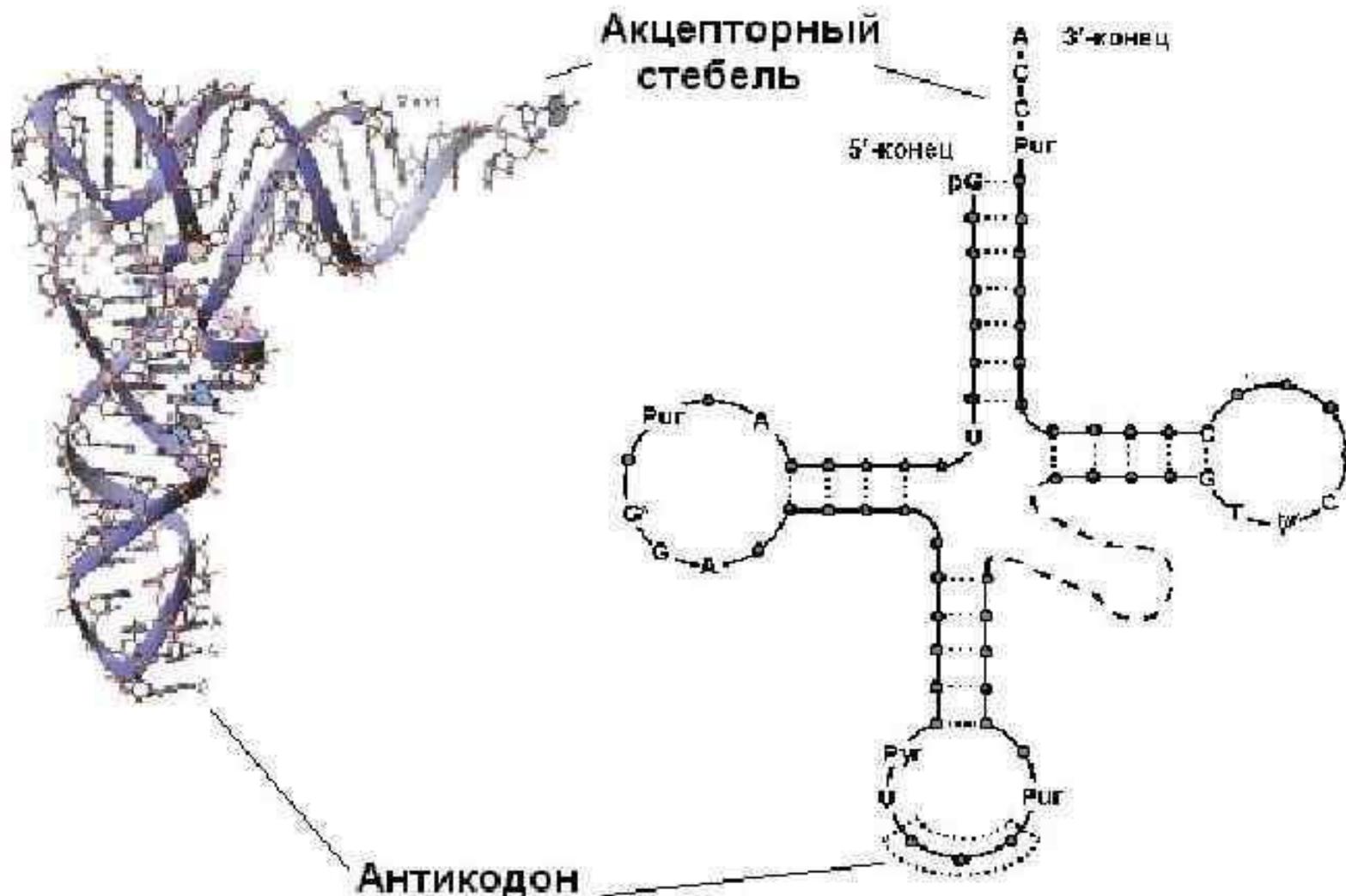
Таблица 7. Рибонуклеиновая кислота (РНК)

Состав, строение	Локализация в клетке, функции
<p>РНК — полимер, мономерами являются рибонуклеотиды, образующие одиночную полинуклеотидную цепочку.</p> <p style="text-align: center;">Схема строения рибонуклеотида</p> 	<p>Находится в ядрышке, рибосомах, цитоплазме, митохондриях, хлоропластах. По выполнению функций — несколько видов.</p> <p>Информационная, или матричная, РНК (иРНК) переносит закодированную информацию о первичной структуре белков из хромосом в рибосомы.</p> <p>Рибосомная РНК (рРНК) является составной частью рибосом.</p> <p>Транспортная РНК (тРНК) переносит аминокислоты к рибосомам</p>

Типы РНК

Тип РНК	Место работы	Функция
Информационная (м) РНК 	ядро	Переносчик наследственной информации от ДНК к рибосоме
Транспортная (тРНК) 	цитоплазма	Транспорт аминокислот к месту синтеза белка на рибосоме
Рибосомальная (рРНК) 	цитоплазма	Построение рибосомы

СТРУКТУРА тРНК



СТРУКТУРА ТРАНСПОРТНОЙ РНК (тРНК)

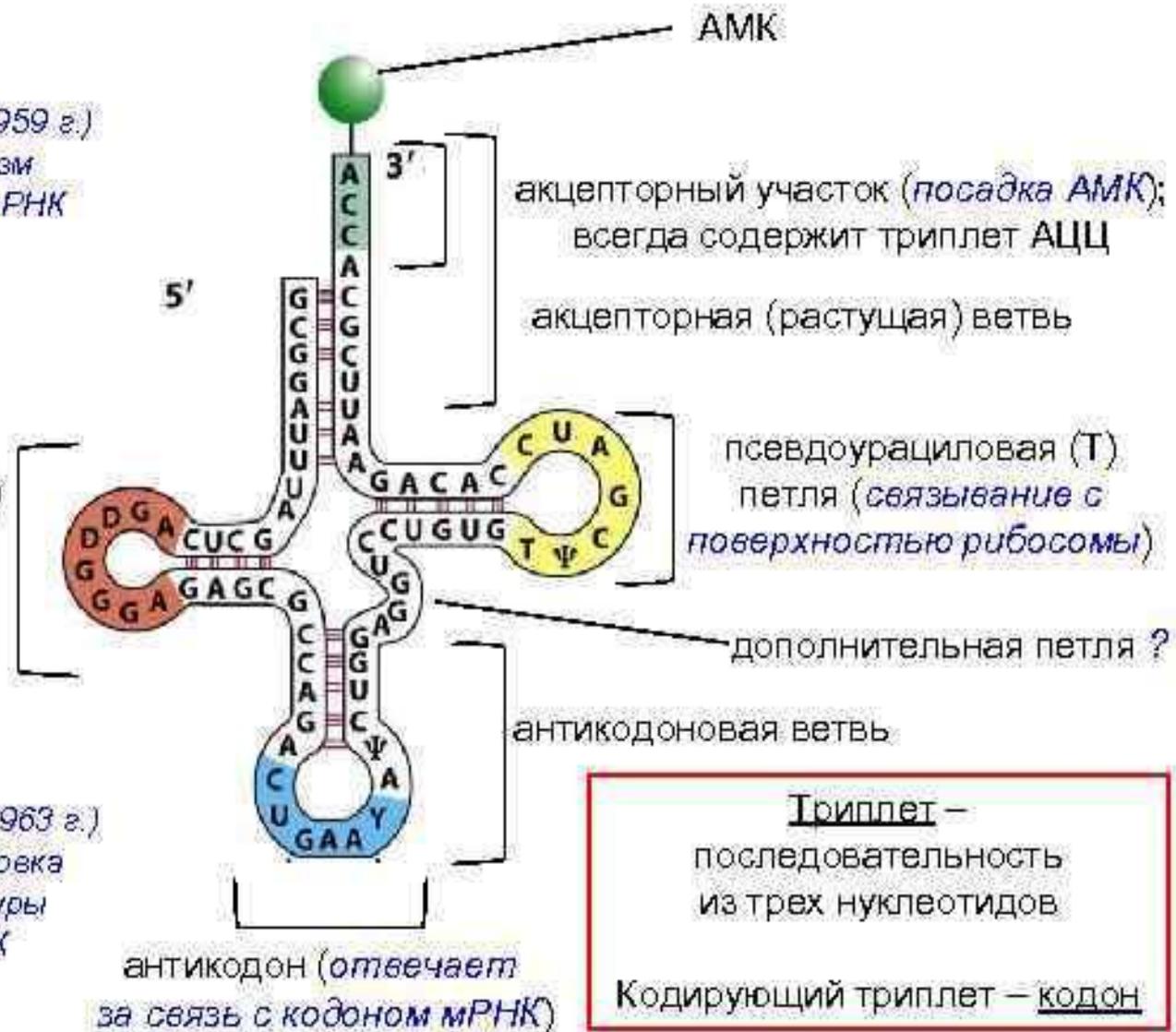


С. Очоа (1959 г.)
механизм
синтеза РНК

дигидроуридиновая (D)
петля (узнавание
амино-ацил-тРНК-
синтетазы)

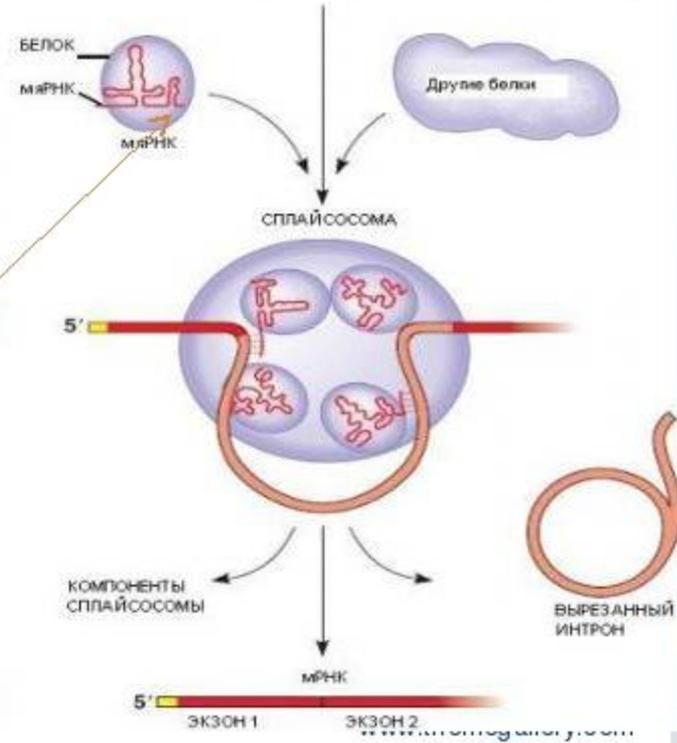
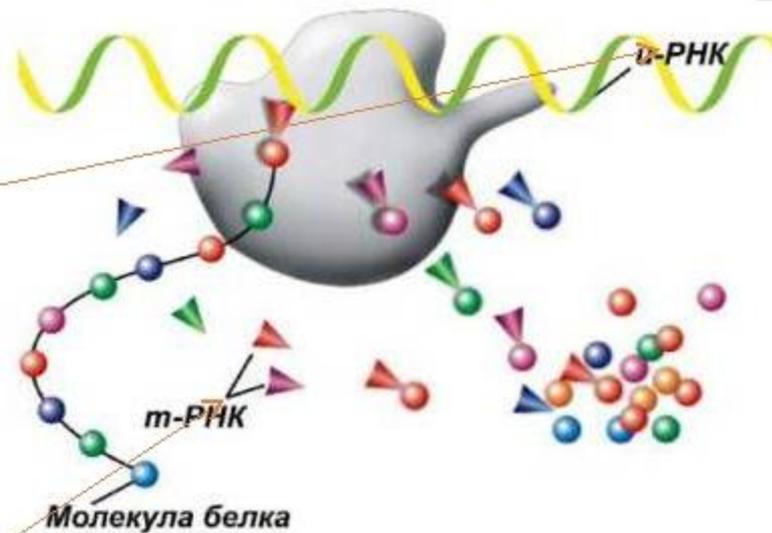


Р. Холли (1963 г.)
расшифровка
структуры
тРНК

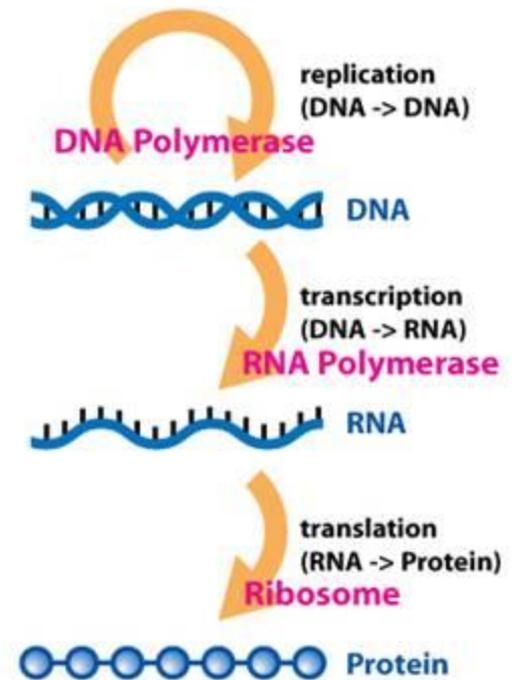
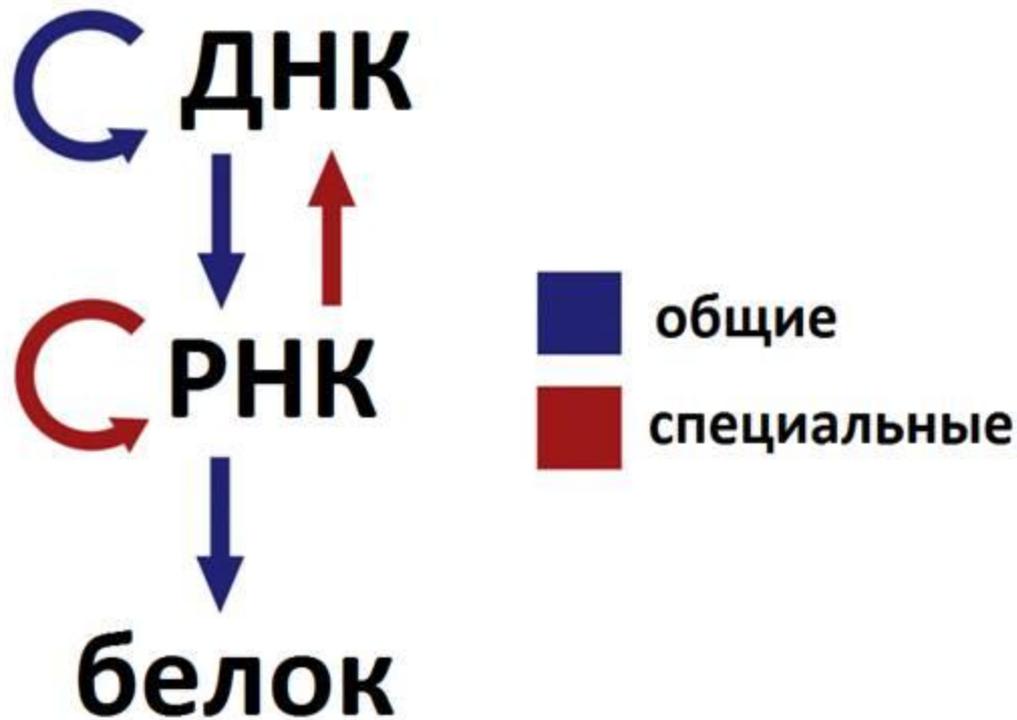


2) Виды РНК

- ❖ **1. Информационная/матричная РНК** – содержит от нескольких 100-1000 нуклеотидов, она собой представляет незамкнутую цепочку, переносит информацию о структуре белка с ДНК на рибосому.
- ❖ **2. Рибосомальная РНК** – входит в состав рибосом и выполняет структурную функцию, принимает участие в синтезе полипептидной цепочки, составляет 85% всей РНК, клетки прокариот содержат 3 вида р-РНК, а эукариоты 4 вида.
- ❖ **3. Транспортная РНК** – переносит аминокислоты к месту синтеза белков на рибосомы, каждая молекула т-РНК содержит 80 нуклеотидов. Ее специфичность определяется структурой антикодона – это участок соединения с конкретным триплетом и-РНК.
- ❖ **4. Гетерогенная ядерная РНК (гя-РНК)** – является предшественником и-РНК у эукариот и превращается в и-РНК в результате процессинга. Обычно гя-РНК длиннее чем и-РНК.
- ❖ **5. Малая ядерная РНК (мя-РНК)** – принимает участие в процессе преобразования гя-РНК
- ❖ РНК-праймер – это крошечная РНК состоящая всего из 10 нуклеотидов и участвующая в процессе репликации ДНК.



Центральная догма молекулярной биологии



<http://en.wikipedia.org>

Правило сформулировано
Френсисом Криком в 1958 году

Центральная догма молекулярной биологии

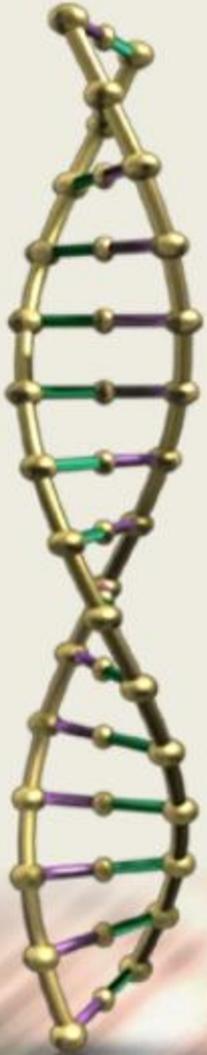
Центральная догма молекулярной биологии, в первоначальном виде сформулирована [Фрэнсисом Криком](#).

В общем случае она гласит, что генетическая информация при реализации передается от нуклеиновых кислот к белку, но не наоборот. А точнее, возможна передача ДНК → ДНК ([репликация](#)), ДНК → РНК ([транскрипция](#)) и РНК → белок ([трансляция](#)).

Так же существуют значительно реже реализуемые пути, свойственные некоторым вирусам: РНК → ДНК ([обратная транскрипция](#)) и РНК → РНК (*репликация РНК*).

Белки состоят из аминокислотных остатков, последовательность которых закодирована в [генетическом коде](#) организма. Свойства кода: триплетность, вырожденность, неперекрываемость и универсальность.

ГЕН



- Ген- это участок ДНК (или РНК у вирусов), несущий информацию о первичной структуре одного полипептида, одной молекулы т-РНК или одной молекулы р-РНК.
- В ДНК гены располагаются линейно.

Свойства генетического кода

1. Триплетность
2. Однозначность (1 триплет- кодон- соответствует 1 аминокислоте)
3. Вырожденность (избыточность) одну аминокислоту кодируют несколько кодонов
4. Универсальность
5. Неперекрываемость (жил был кот тих был сер мил мне тот кот)
6. Кодирующие, терминирующие (УАА,УГА,УАГ), инициатор (метиониновый)

Основные этапы биосинтеза белка:

БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

```
graph TD; A[БИОСИНТЕЗ БЕЛКА] --> B[ТРАНСКРИПЦИЯ]; A --> C[ТРАНСЛЯЦИЯ]; B --> D[Процесс синтеза РНК.]; D --> E[В ядре клетки.]; C --> F[Процесс синтеза белка.]; F --> G[В цитоплазме клетки с помощью рибосом.]
```

ТРАНСКРИПЦИЯ

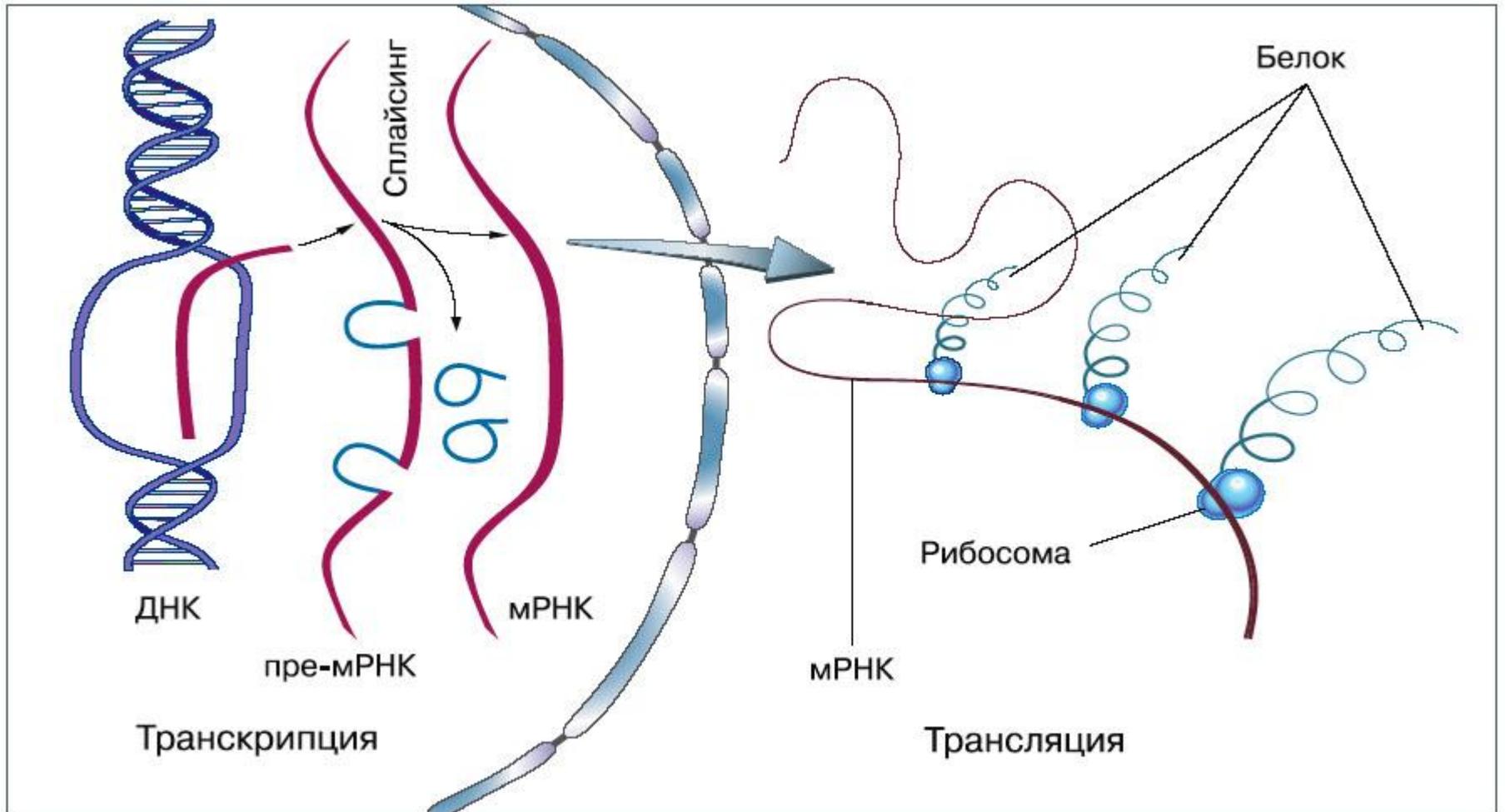
Процесс синтеза РНК.

В ядре клетки.

ТРАНСЛЯЦИЯ

Процесс синтеза белка.

В цитоплазме клетки с помощью рибосом.



Первый этап биосинтеза белка – транскрипция

Транскрипция – это переписывание информации с последовательности нуклеотидов ДНК в последовательность нуклеотидов РНК.

Что необходимо:

1. Цепь ДНК – матрица.
2. Ферменты (РНК-полимераза).
3. Свободные дезоксирибонуклеозидфосфаты (АТФ, УТФ, ГТФ, ЦТФ).

Транскрипция

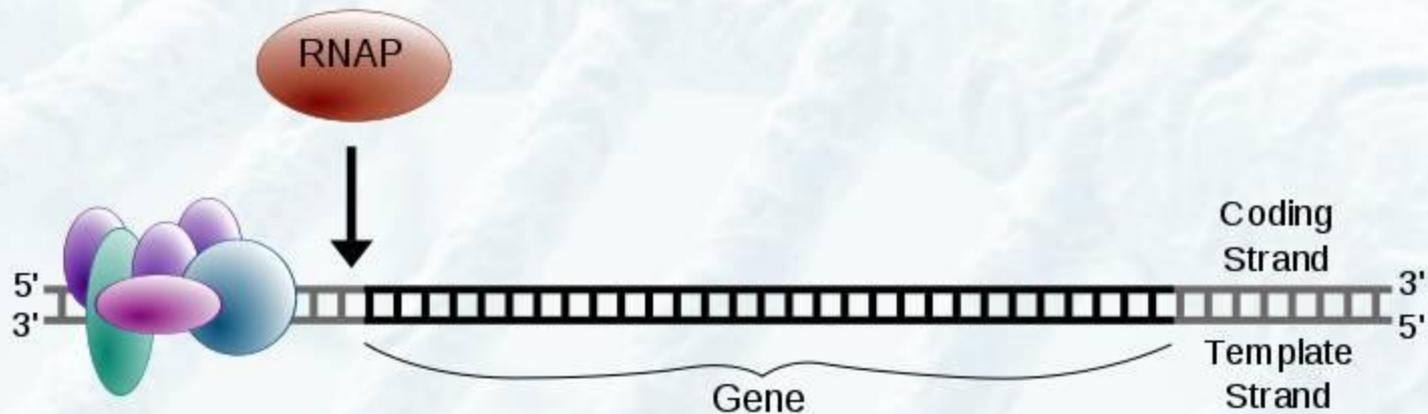
- **Транскрипция** – это процесс переписывания информации с молекул ДНК на и-РНК с помощью фермента РНК-полимеразы по принципу комплементарности.

- **Этапы транскрипции:**

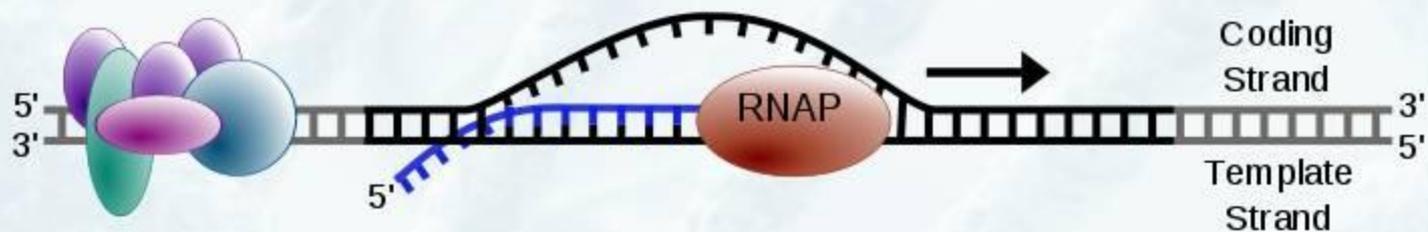
1. Связывание РНК-полимеразы с промотором
2. Инициация – начало синтеза
3. Элонгация – рост цепи РНК
4. Терминация – завершение синтеза и-РНК.

Транскрипция

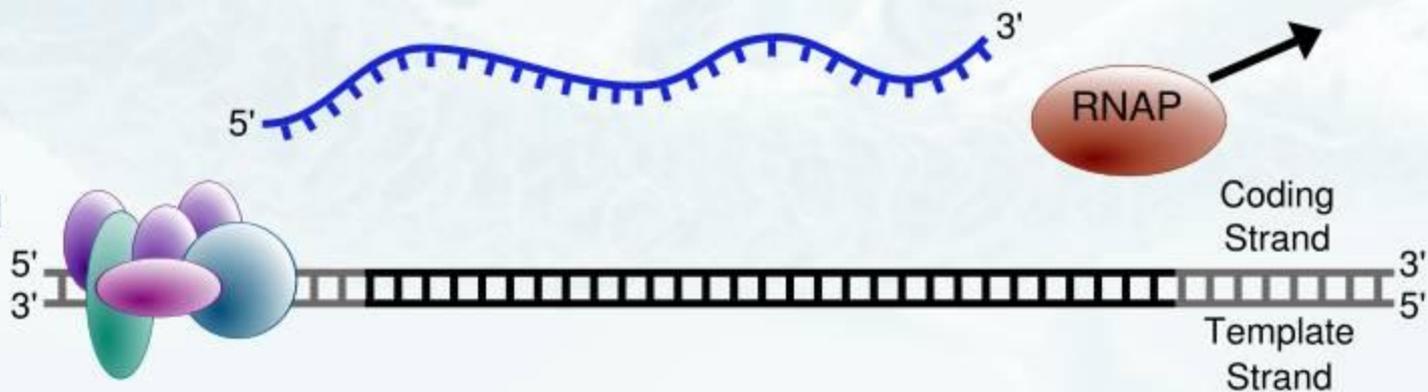
- инициация



- элонгация



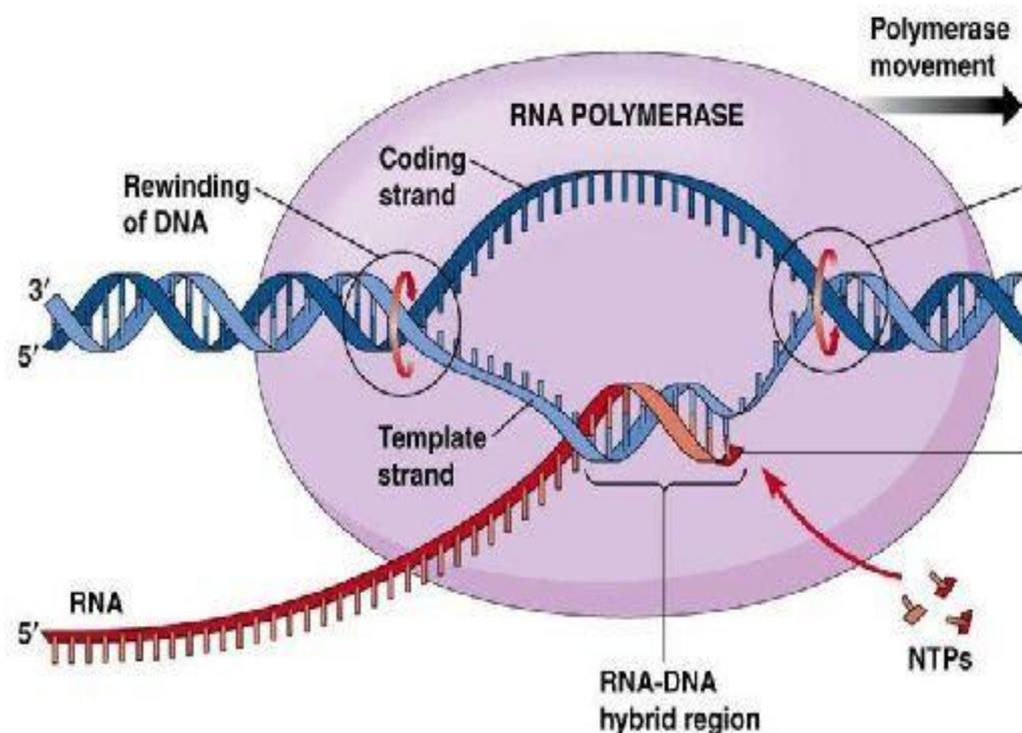
- терминация



Транскрипция ДНК

Принципы транскрипции

- Комплементарность- РНК-полимераза синтезирует комплементарную реплику с транскрибируемого участка ДНК (А-У, G-C, C-G, T-A).
- Антипараллельность- синтезируемая цепь РНК направлена антипараллельно транскрибируемому участку.
- Ассиметричность- транскрибируется лишь одна из цепей ДНК- матричная цепь, смысловая цепь не транскрибируется.
- Униполярность- синтез нуклеотидной цепи всегда направлен 5'-> 3'
- Отсутствие потребности в затравке- транскрипция начинается с нуклеотидтрифосфата и не требует затравочных олигонуклеотидов.

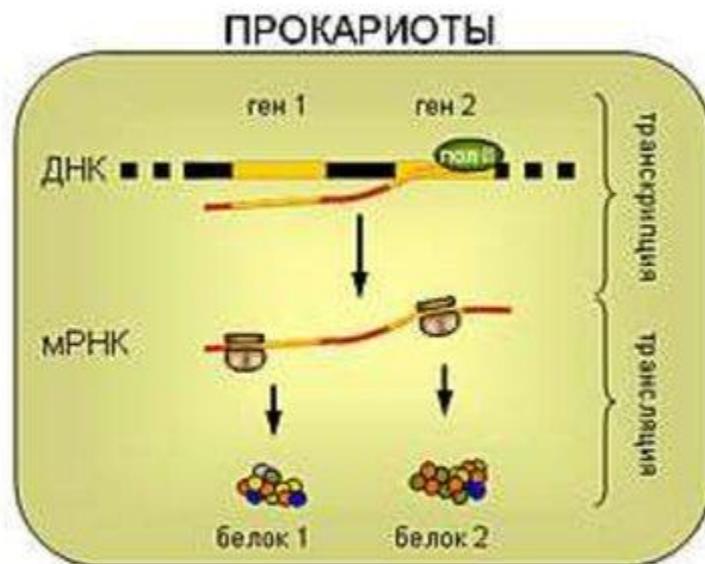


Сопряжение транскрипции и трансляции

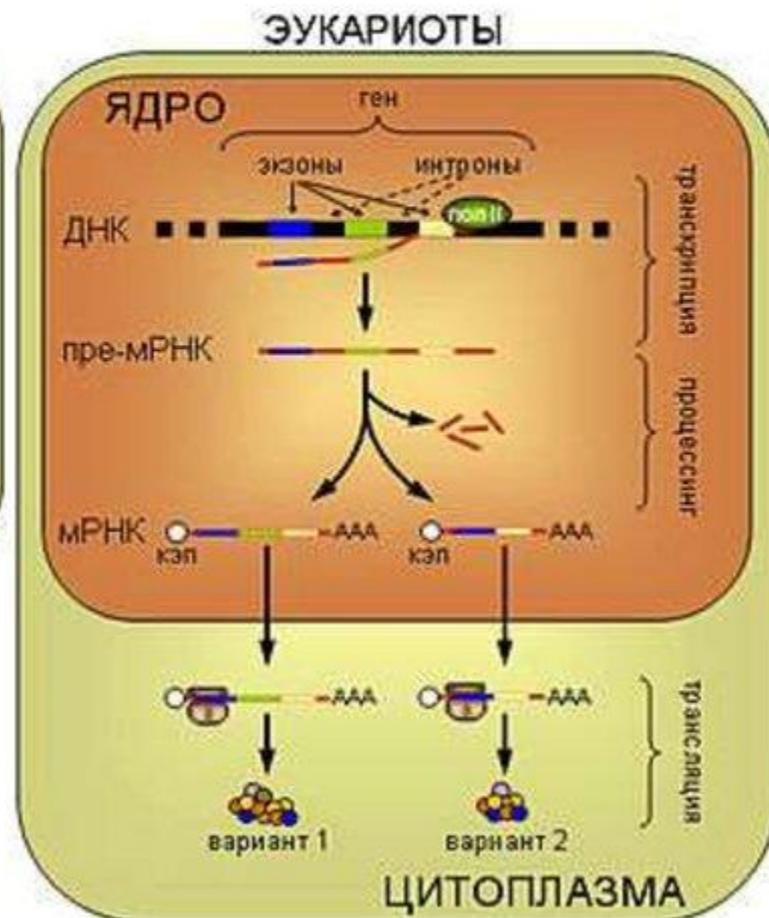
БАКТЕРИИ

АРХЕИ

ЭУКАРИОТЫ



(wikipedia)



ЕСТЬ, РНК СРАЗУ ГОТОВА

НЕТ, РНК СОЗРЕВАЕТ

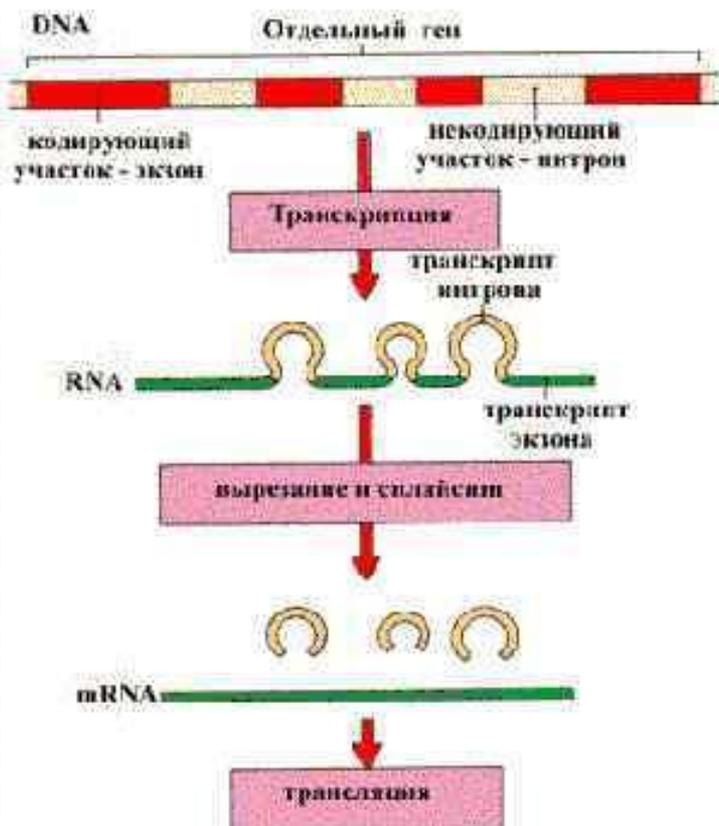
ПРОЦЕССИНГ РНК

Процессингом РНК называют комплекс посттранскрипционных модификаций РНК (созревание молекулы РНК).

Этапы процессинга мРНК:

1. Модификация 5'-конца
2. Модификация 3'-конца
3. Сплайсинг

Модификация – процессинг молекулы РНК

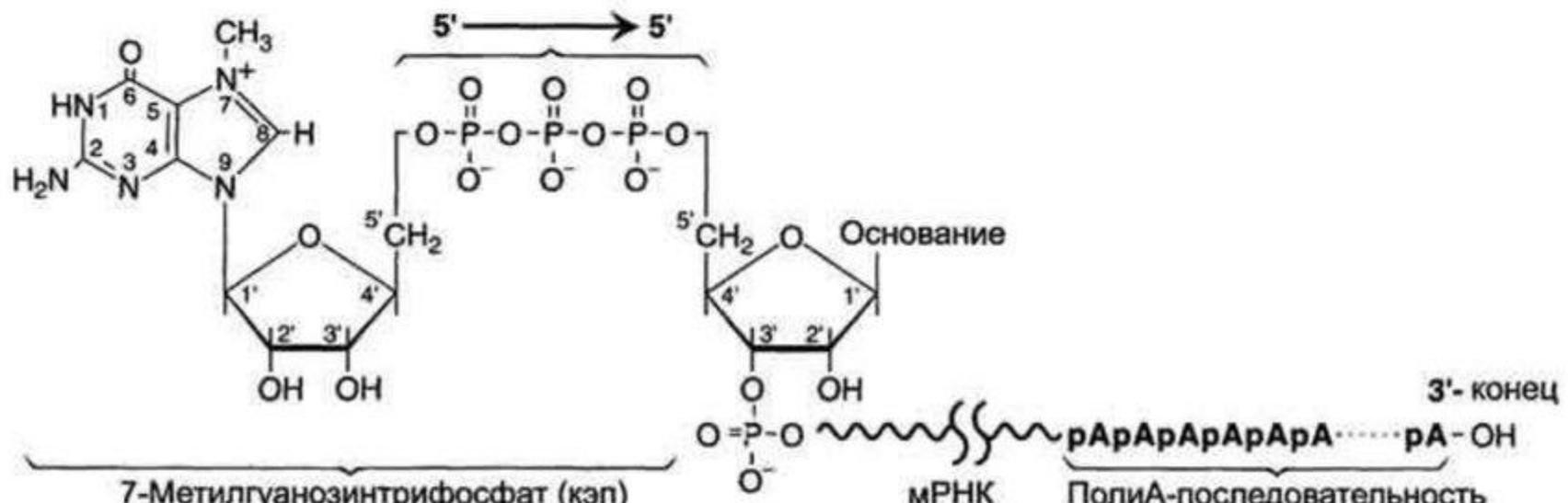


- **Процессинг** – это созревание первичного транскрипта (пре-мРНК до м-РНК), в ходе которого происходят следующие модификации:
- 1. **Кэпирование** – химическая модификация 5'конца идет на уровне элонгации – присоединение кэп-структуры (шапочки, которая образована ГТФ)
- 2. **Полиаденирование** – модификация 3'конца пре-мРНК. С помощью фермента поли А-полимеразы формируется поли А-последовательность, что облегчает выход м-РНК из ядра.
- 3. **Сплайсинг** – вырезание протяженных внутренних участков м-РНК – интронов, и ковалентное воссоединение (сшивание) оставшихся фрагментов – экзонов через обычную фосфо-диэфирную связь.

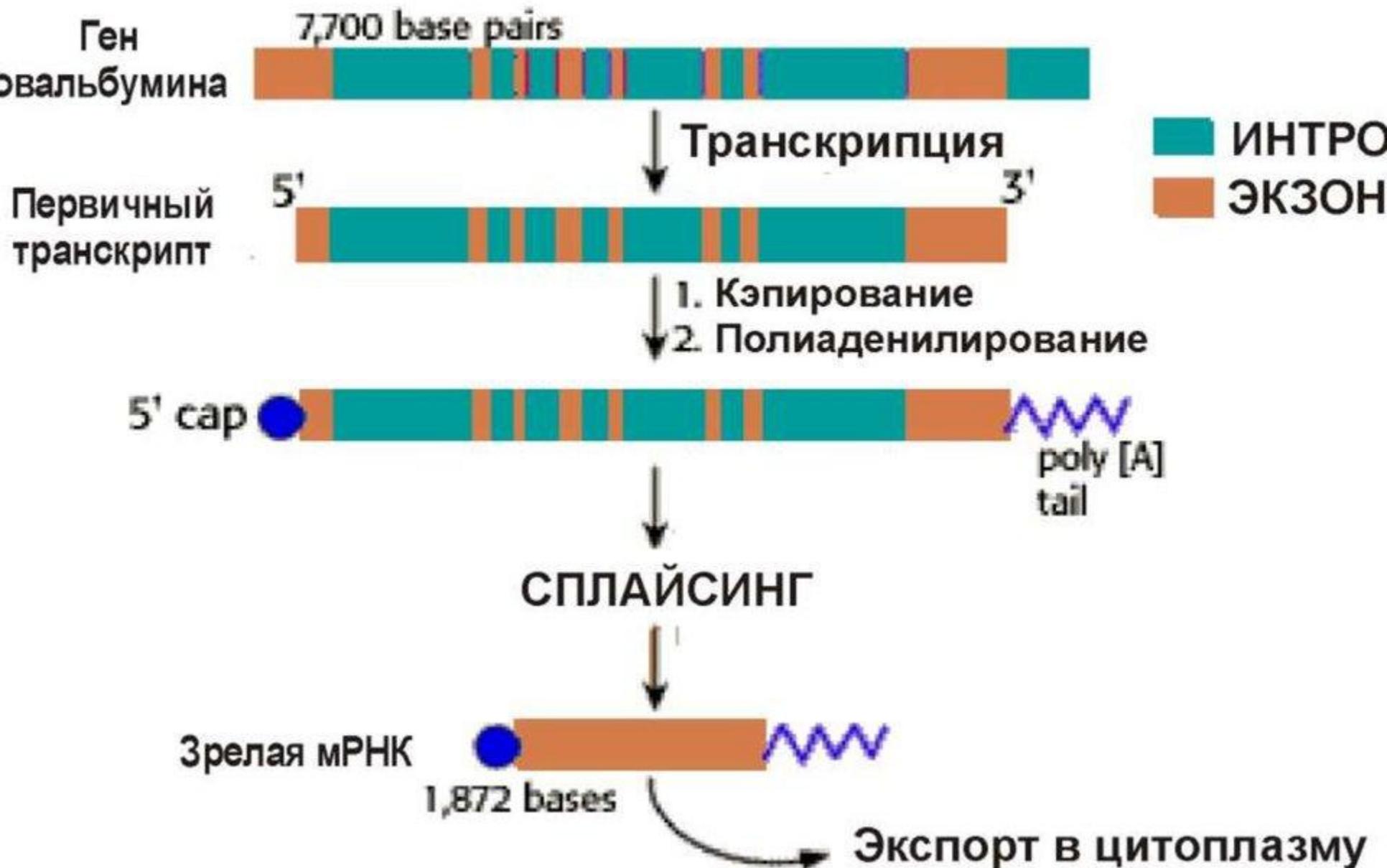
Процессинг матричной РНК

Модификация 5'-конца

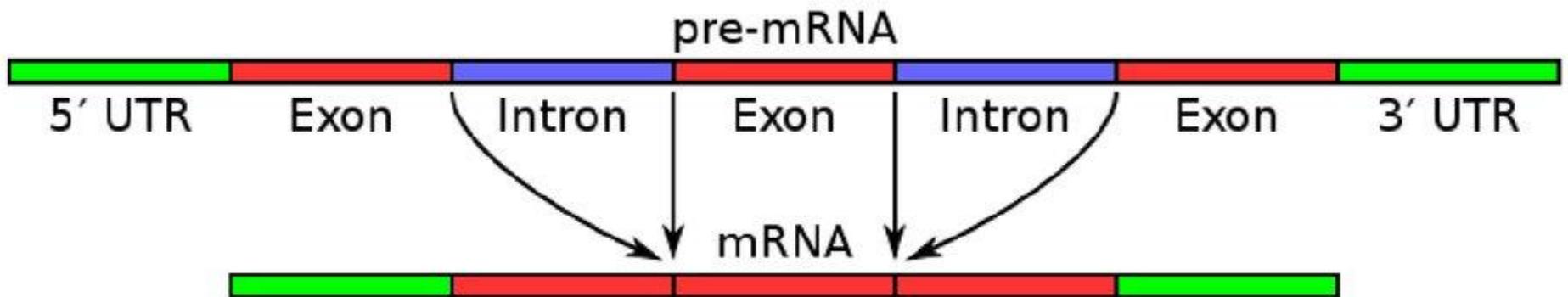
- Модифицированный 5'-конец обеспечивает инициацию трансляции, удлиняет время жизни мРНК, защищая её от действия 5'-экзонуклеаз в цитоплазме.
- Кэпирование необходимо для инициации синтеза белка, так как иницирующие триплеты AUG, GUG распознаются рибосомой только если присутствует кэп. Наличие кэпа также необходимо для работы сплайсосомы, обеспечивающей удаление интронов.



Процессинг РНК



СПЛАЙСИНГ

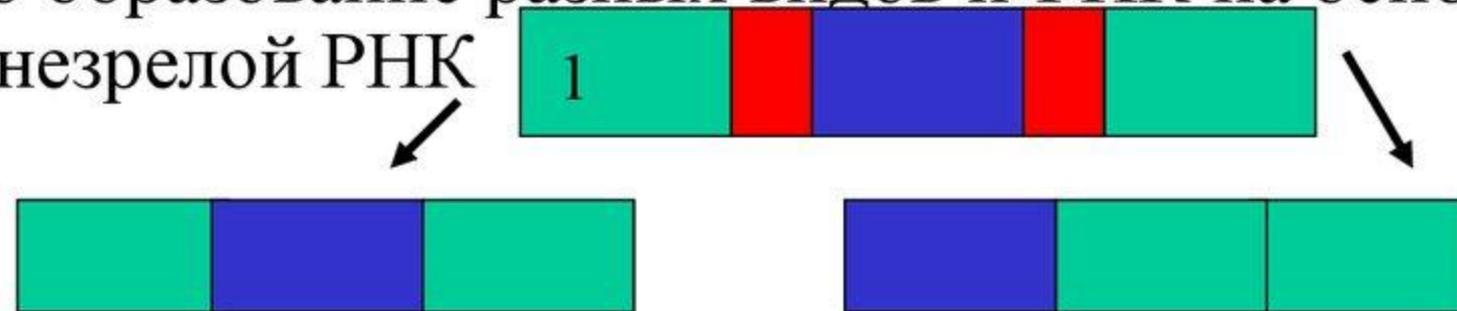


Большинство генов эукариот состоят из **ЭКЗОНОВ** и **ИНТРОНОВ**. В процессе сплайсинга интроны вырезаются, а экзоны сшиваются, образуя зрелую РНК.

Процесс удаления из пре-РНК интронов и соединение в одну последовательность экзонов называется **сплайсингом**

Альтернативный сплайсинг —

то образование разных видов и-РНК на основе одной незрелой РНК



Примеры:

- 1) Один и тот же ген в клетках щитовидной железы отвечает за синтез **кальцитонина**, а в нервной ткани — за синтез **нейропептида**.
- 2) Альтернативный сплайсинг характерен в системе генов **иммуноглобулинов** у млекопитающих. Он позволяет формировать на основе одной незрелой РНК несколько видов и-РНК для синтеза разных видов антител.

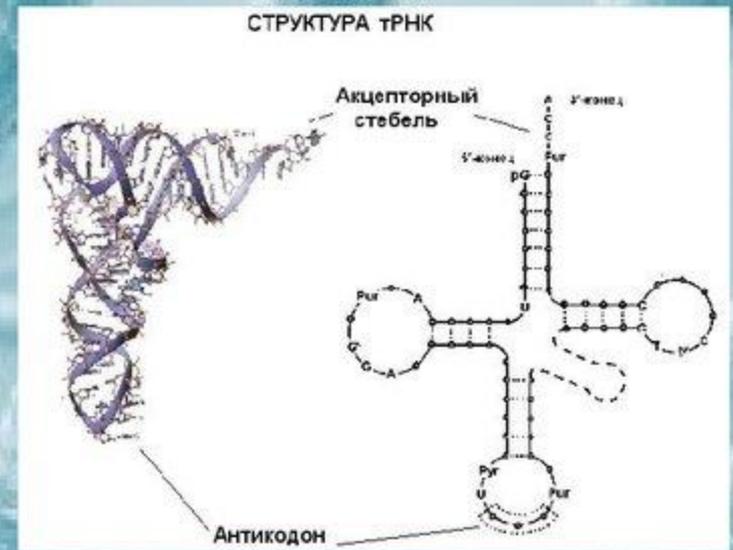
Трансляция (синтез белка)

1 этап (подготовительный) - **рекогниция.**

Осуществляется ферментом **аминоацил-tРНК-синтетазой** (кодазой).

Состоит из двух стадий:

- Активирование аминокислоты.
- Присоединение аминокислоты к tРНК (аминоацилирование).



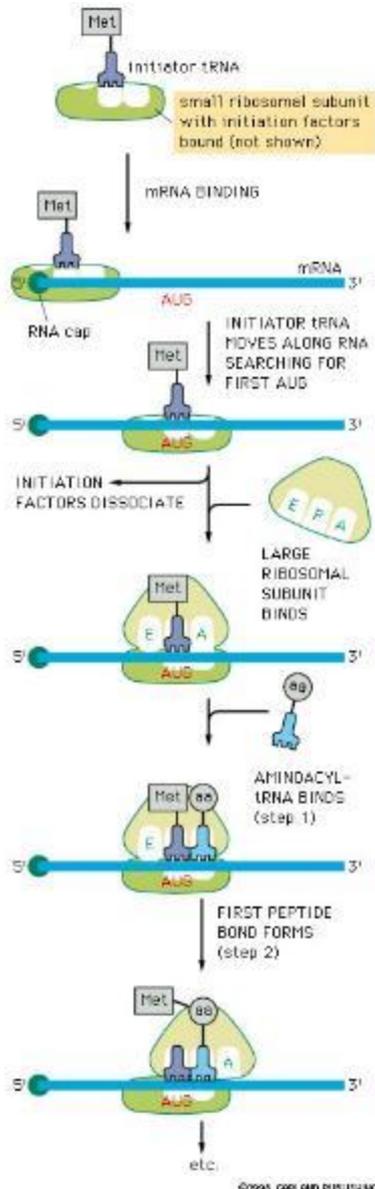
2 этап. Собственно синтез полипептидов.

Трансляция

Различают три этапа в биосинтезе белка:
инициацию, элонгацию и терминацию.

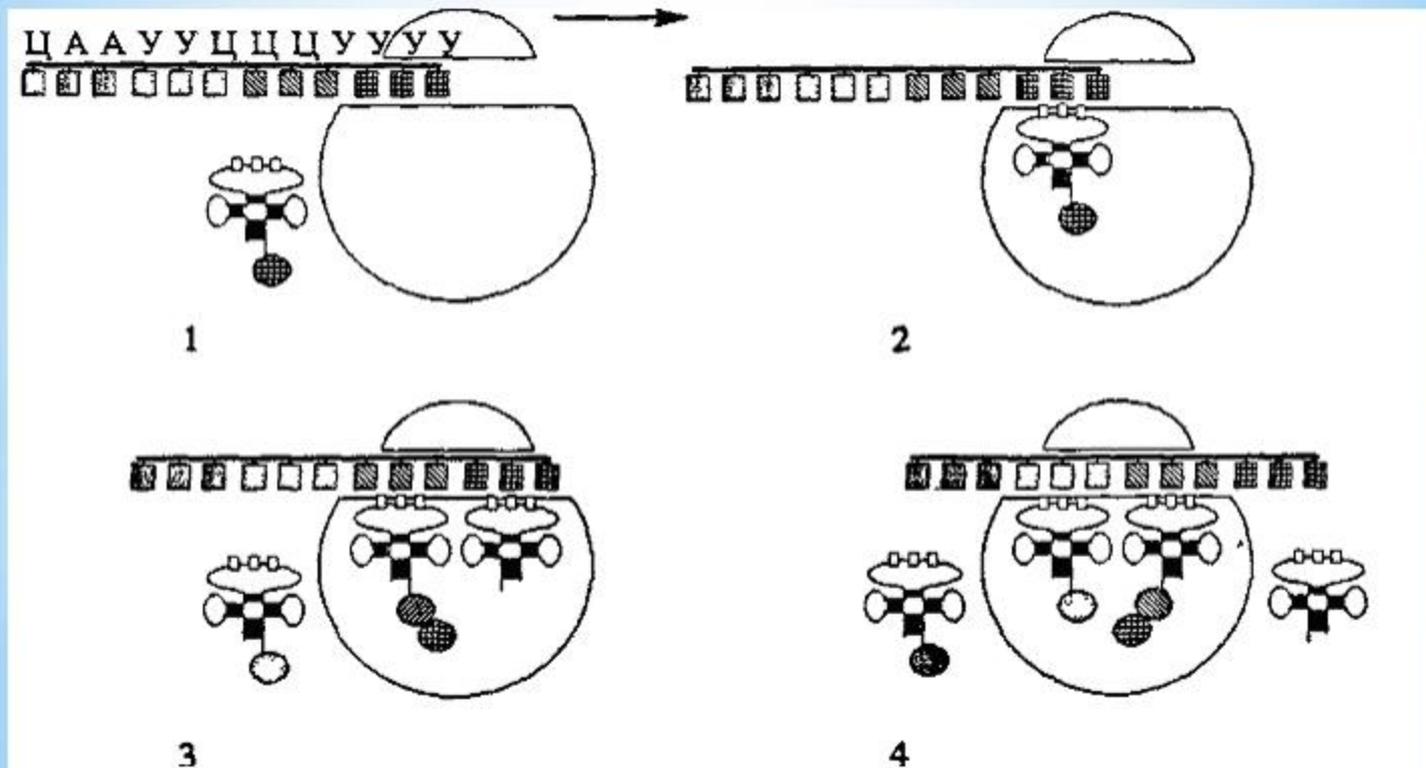
В малой субъединице рибосомы расположен **функциональный центр рибосомы** (ФЦР) с двумя участками — **пептидильным (Р-участок)** и **аминоацильным (А-участок)**. В ФЦР может находиться шесть нуклеотидов иРНК, три - в пептидильном и три - в аминоацильном участках.

Инициация. Синтез белка начинается с того момента, когда к 5'-концу иРНК присоединяется малая субъединица рибосомы, в Р-участок которой заходит **метиониновая тРНК**.



* Трансляция. Инициация.

* Трансляция начинается в тот момент, когда и-РНК, несущая метионин (кодирует начало синтеза) присоединяется к малой субъединице. Затем присоединяется большая субъединица и в ФЦР поступает следующая аминокислота. Процесс инициации обеспечивается специальными белками — факторами инициации.



ИНИЦИАЦИЯ

Инициация трансляции представляет собой процесс, в ходе которого происходит образование комплекса, включающего иницирующую метионил-тРНК (мет-тРНК), и-РНК и рибосому. Происходит сборка 2 субъединиц рибосомы около и-РНК (данные процессы происходят за счет энергии гидролиза ГТФ). При этом формируются А (аминоацильный) и Р (пептидильный) центры рибосомы, причем в Р-центре оказывается кодон АУГ с присоединенной к нему мет-тРНК.

Элонгация

На данном этапе полипептидная цепь удлиняется за счет ковалентного присоединения последующих аминокислот, каждая из которых доставляется к рибосоме и встраивается в определенное положение с помощью соответствующей тРНК.

Это самый продолжительный этап белкового синтеза. В начале данного этапа в Р-центре находится иницирующий кодон с присоединенной к нему мет-тРНК, а в А-центре – триплет, кодирующий включение следующей аминокислоты синтезируемого белка. Включение каждой аминокислоты происходит в 3 стадии.

aa-тРНК следующей входящей в белок аминокислоты связывается с А-центром рибосомы. Включение aa-тРНК в рибосому происходит за счет энергии гидролиза ГТФ при участии белкового фактора элонгации.

Метионин от метионил-тРНК, находящейся в Р-центре, присоединяется к NH₂-группе аминоацильного остатка aa-тРНК А-центра с образованием пептидной связи. Эта реакция называется реакцией **транспептидации** и катализируется 28S рРНК большой субъединицы. Это один из примеров РНК, обладающих свойствами ферментов (рибозимов).

Свободная от метионина тРНК покидает рибосому Удлиненная на один аминокислотный остаток дипептидил-тРНК перемещается из А-центра в Р-центр в результате **транслокации** рибосомы. Процесс происходит за счет энергии гидролиза ГТФ и с участием ещё одного фактора элонгации, а в область А-центра попадает следующий кодон.

По завершении третьей стадии элонгации рибосома в Р-центре имеет дипептидил-тРНК, а в А-центр попадает триплет, кодирующий включение в полипептидную цепь новой аминокислоты. Начинается следующий цикл элонгации, в ходе которого на рибосоме снова проходят описанные выше события. Повторение этих циклов по числу смысловых кодонов мРНК завершает весь этап элонгации.

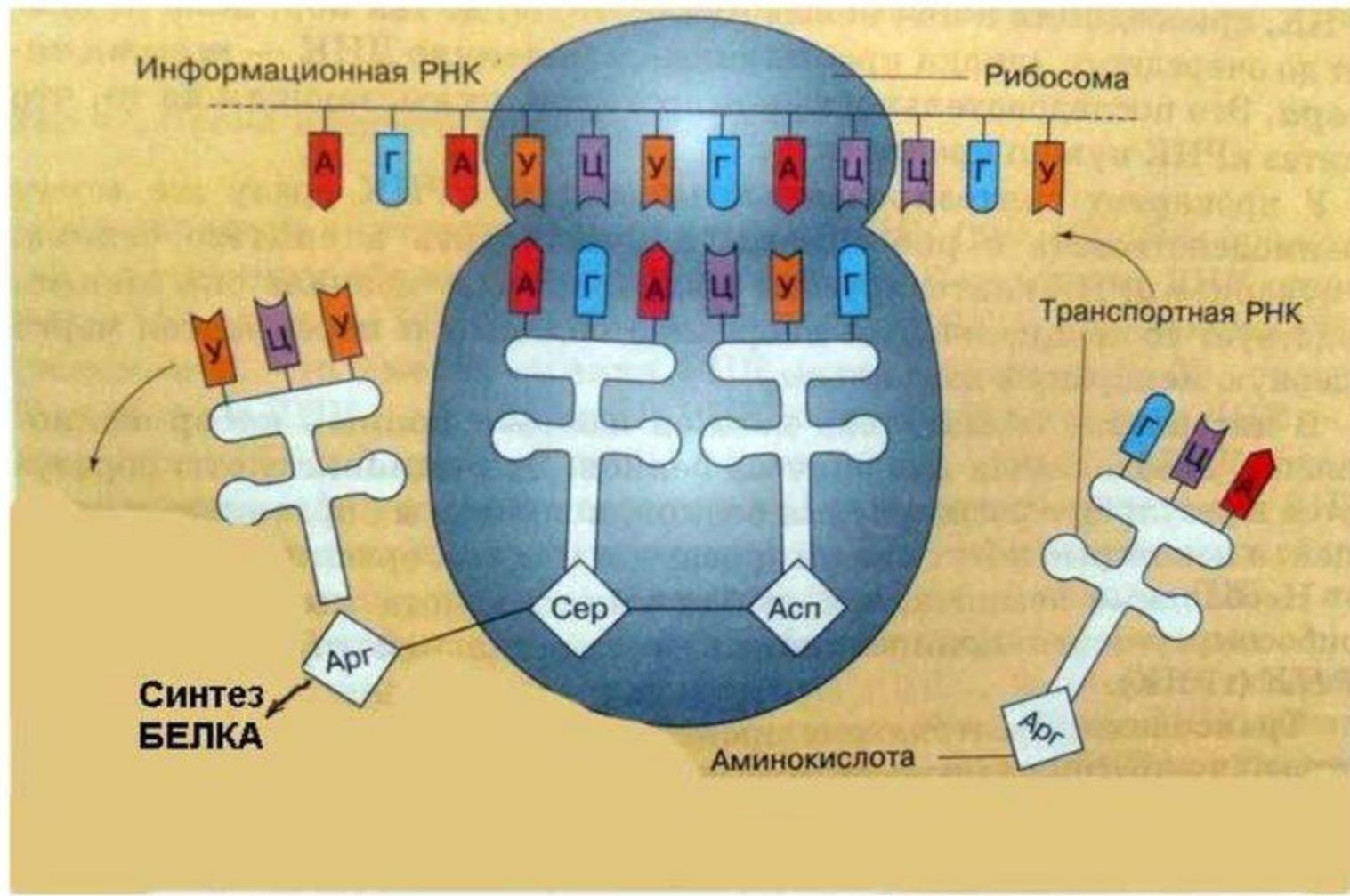
Элонгация

Пептидилтрансферазный центр большой субъединицы катализирует образование пептидной связи между метионином и второй аминокислотой. Отдельного фермента, катализирующего образование пептидных связей, не существует.



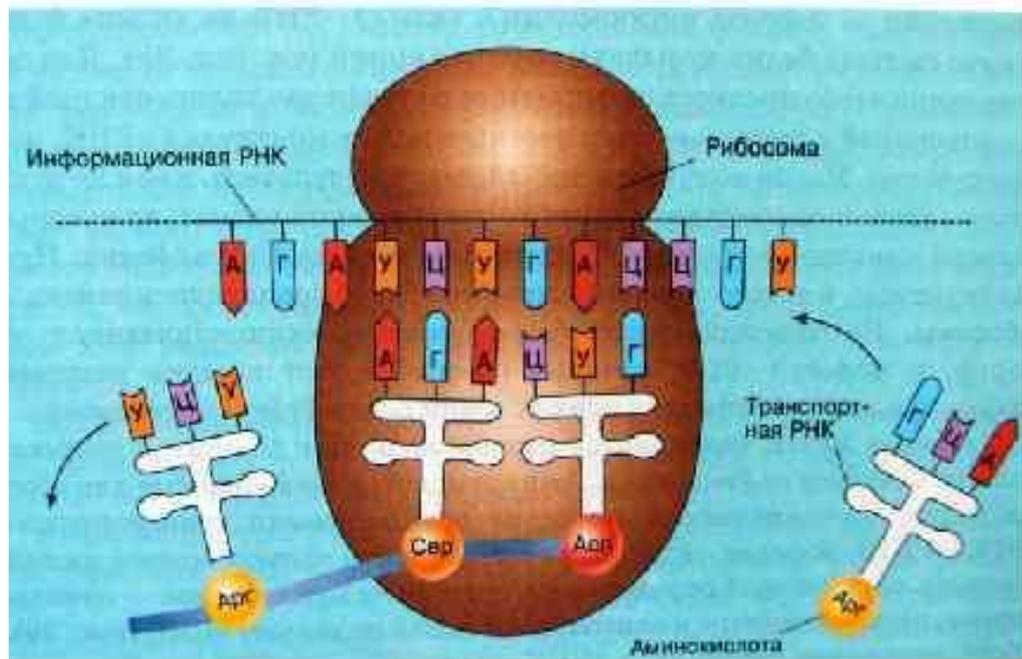
Биосинтез белка

(задействованы все виды РНК)

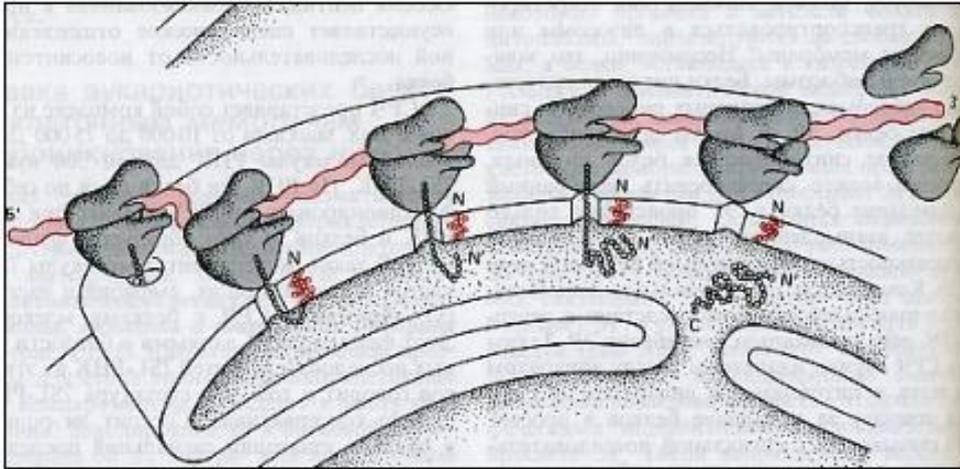


Трансляция.

- В активном центре рибосомы одновременно могут находиться 6 нуклеотидов, т.е. два триплета.
- Рибосома «прыгает» с триплета на триплет скачками, между которыми молекула белка удлиняется на одну АМК. Этот процесс занимает $1/5 - 1/6$ долю секунды, после чего рибосома совершает очередной скачок. Синтез белковой цепочки, состоящей из 200-300 АМК остатков, завершается в течение 1-2 мин.

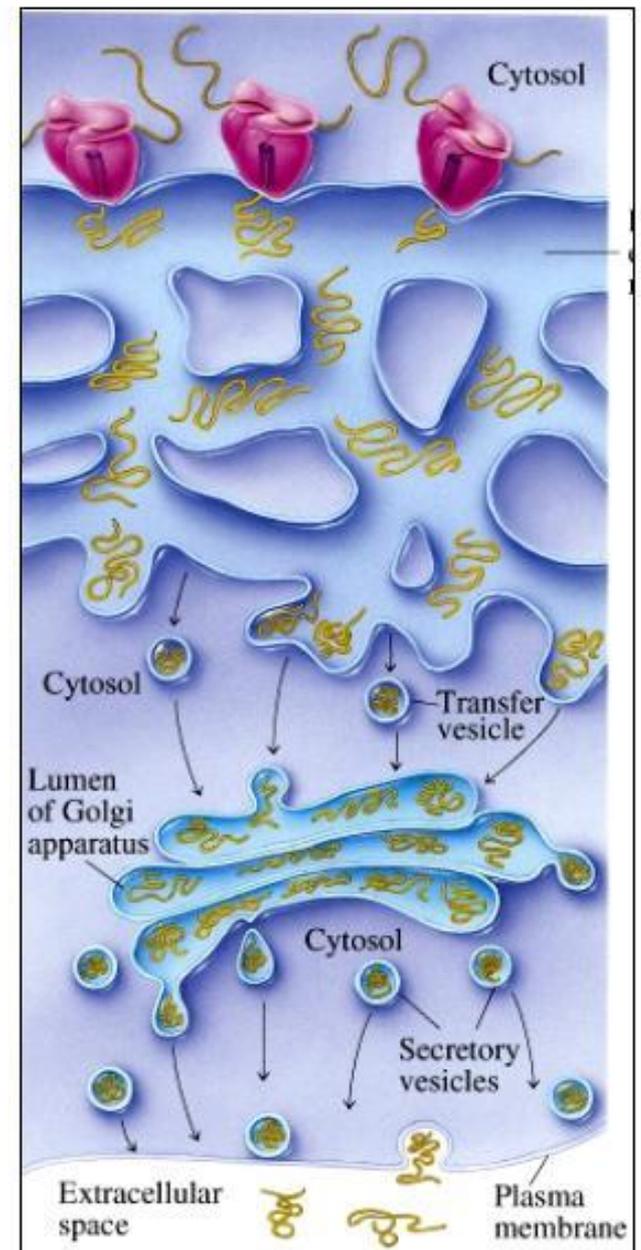


Трансляция

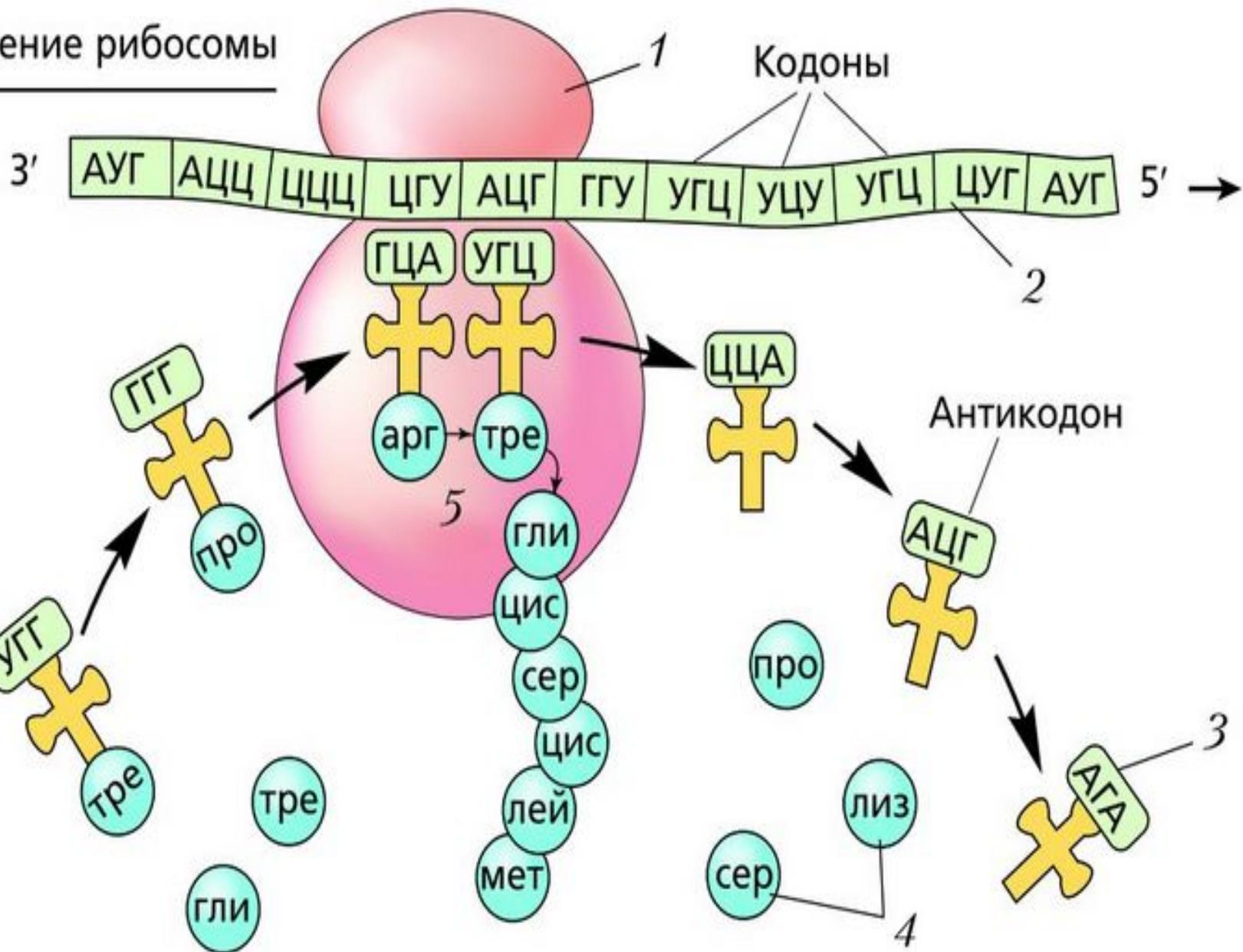


Для увеличения производства белка через иРНК могут одновременно проходить несколько рибосом, последовательно транслирующие один и тот же белок. Такую структуру, объединенную одной молекулой иРНК называют **полисомой**.

Белки «на экспорт» синтезируются на шероховатой ЭПС.



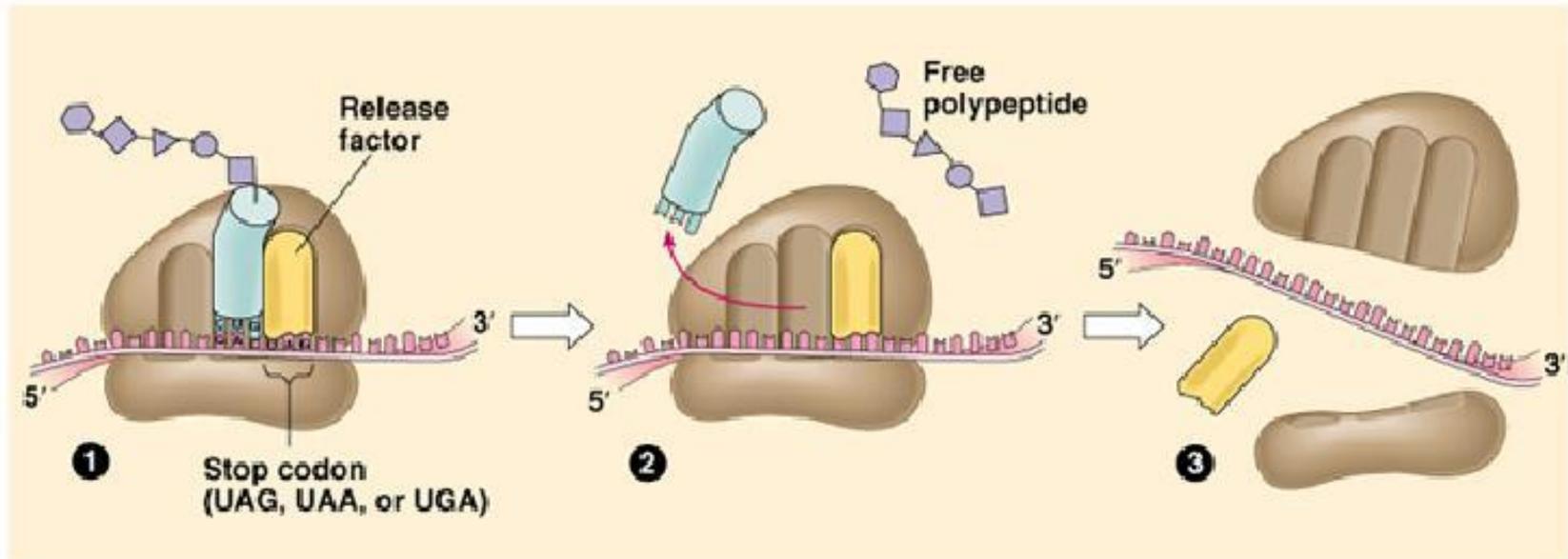
Движение рибосомы



Трансляция

Скорость передвижения рибосомы по иРНК — 5–6 триплетов в секунду, на синтез белковой молекулы, состоящей из сотен аминокислотных остатков, клетке требуется несколько минут.

Терминация. Когда в А-участок попадает кодон-терминатор (УАА, УАГ или УГА), с которым связывается особый белковый фактор освобождения, полипептидная цепь отделяется от тРНК и покидает рибосому. Происходит диссоциация, разъединение субъединиц рибосомы.

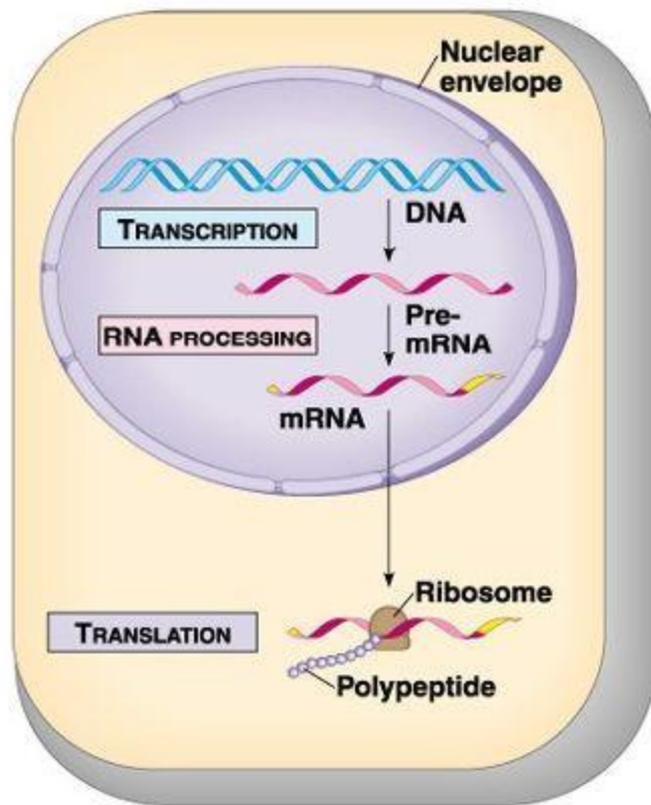


ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫЙ ЭТАП

Многие белки синтезируются в неактивном виде (предшественники) и после схождения с рибосом подвергаются постсинтетическим структурным модификациям. Эти конформационные и структурные изменения полипептидных цепей получили название посттрансляционных изменений. Они включают удаление части полипептидной цепи (*частичный протеолиз*), ковалентное присоединение одного или нескольких низкомолекулярных лигандов, связывание между собой субъединиц олигомерного белка, приобретение белком нативной конформации (**фолдинг**).

При **частичном протеолизе**, например, неактивные предшественники секретируемых ферментов – зимогены – образуют активный фермент после расщепления по определенным участкам молекулы. Наглядным примером последовательного протеолиза служит и образование активных форм инсулина или глюкагона из препрогормонов.

Транскрипция



Реакции матричного синтеза – особая категория химических реакций, происходящих в клетках живых организмов. Во время этих реакций происходит синтез полимерных молекул по плану, заложенному в структуре других полимерных молекул-матриц. На одной матрице может быть синтезировано неограниченное количество молекул-копий. *К этой категории реакций относятся репликация, транскрипция, трансляция и обратная транскрипция (образование на РНК ДНК).*

Центральная догма молекулярной биологии: ДНК → РНК → белок.

* 4. Регуляция экспрессии генов.

Экспрессия гена = экспрессия генетической информации
= работа гена или проявление гена.

КЛАССИФИКАЦИИ ГЕНОВ

1. По функциям гены подразделяются на структурные и функциональные.

Структурные гены несут информацию о белках-ферментах и гистонах, о последовательности нуклеотидов в различных видах РНК.

Среди функциональных генов выделяют:

1. **гены-модуляторы**, усиливающие или ослабляющие действие структурных генов (ингибиторы (супрессоры), интенсификаторы, интеграторы, модификаторы)
2. **гены, регулирующие работу структурных генов** (регуляторы и операторы)

Регуляция работы генов у прокариот

Схема регуляции транскрипции у прокариот была предложена Ф. Жакобом и Ж. Моно в 1961 г на примере лактозного оперона.

Группа структурных генов, управляемая одним геном-оператором, образует **оперон**. В состав оперона входит также небольшой участок ДНК — **промотор с инициатором** — место первичного прикрепления РНК-полимеразы — фермента, катализирующего реакции ДНК-зависимого синтеза и-РНК.

Ген-оператор включает и выключает структурные гены для считывания информации, следовательно, они активны непостоянно. Заканчивается оперон терминатором.

Ген-регулятор, находящийся обычно на некотором расстоянии от оперона, постоянно активен и на основе его информации синтезируется особый белок-репрессор.

Белок-репрессор обладает способностью блокировать ген-оператор, вступая с ним в химическое соединение, и тогда считывание информации со структурных генов не происходит, т.е. оперон «не работает».

Регуляция работы генов у прокариот

М. Жакоб, Ж. Ману, 1961 г.

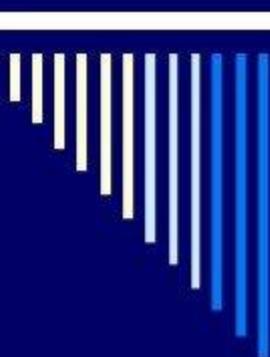


Единица регуляции транскрипции - **оперон**, в состав которого входят:

- Промотор-место прикрепления РНК-полимеразы
- Ген-оператор-регулирует доступ РНК-полимеразы к структурным генам, взаимодействуя с регуляторными белками
- Инициатор-место начала считывания генетической информации
- Структурные гены–определяют синтез белков-ферментов, обеспечивающие цепь последовательных биохимических реакций
- Терминатор–последовательность нуклеотидов завершающая транскрипцию

Регуляция экспрессии генов прокариот

У бактерий гены ферментов, катализирующих ряд последовательных реакций, объединяются в одну структурно-функциональную единицу – **оперон**.



Регуляция работы генов

Некоторые ферменты у дрожжей и бактерий образуются в клетках только при выращивании их на определенных питательных средах.

Например, при выращивании кишечной палочки на питательной среде, не содержащей лактозы, ее клетки содержат незначительное число (меньше пяти) молекул фермента лактазы, разлагающего лактозу на глюкозу и галактозу. При добавлении в питательную среду лактозы бактериальные клетки в течение 2-3 мин синтезируют большое количество лактазы (свыше 5 тыс. молекул). При удалении из среды лактозы синтез лактазы быстро прекращается.

Вещества, индуцирующие синтез ферментов, которые их разлагают, называются **индукторами** (в данном примере индуктором является лактоза).

Подобные механизмы используются клеткой для выключения синтеза нужных ей соединений при их наличии в питательной среде.

Например, аминокислота триптофан синтезируется при участии фермента триптофан-синтетазы. Однако, если в среде, на которой выращиваются бактерии, присутствует триптофан, синтез фермента немедленно прекращается.

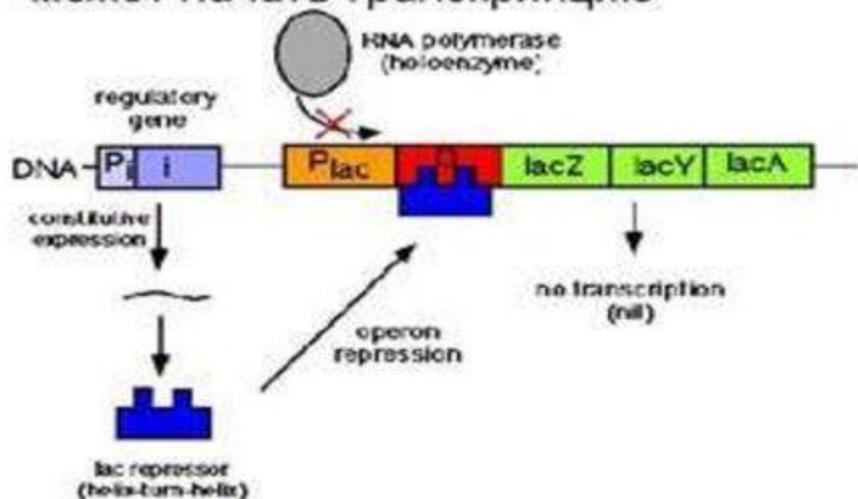
Это явление получило название **репрессии**, а вызывающий его фактор (в нашем примере - триптофан) - **корепрессором**.

Регуляция работы генов у прокариот

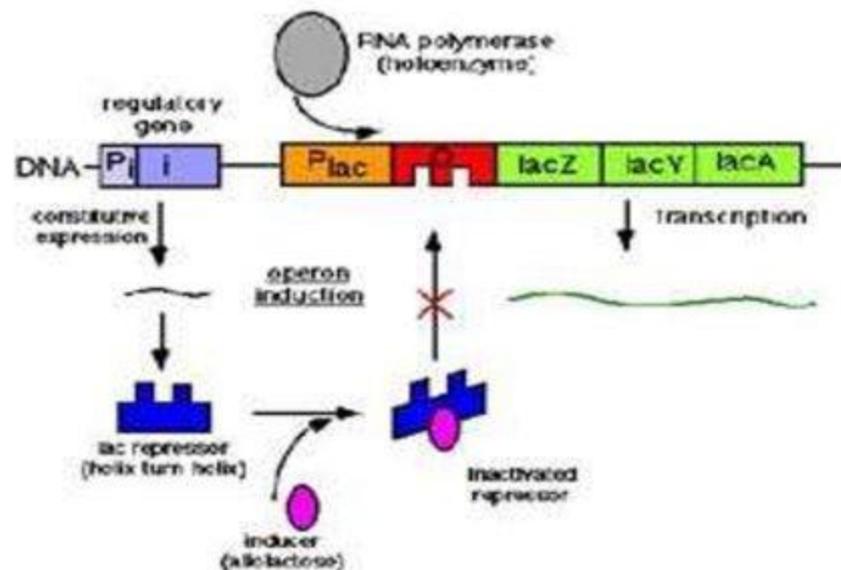
Регуляция активности генов: *lac*-оперон бактерии *E.coli*

гены метаболизма лактозы работают, когда лактоза есть в клетке

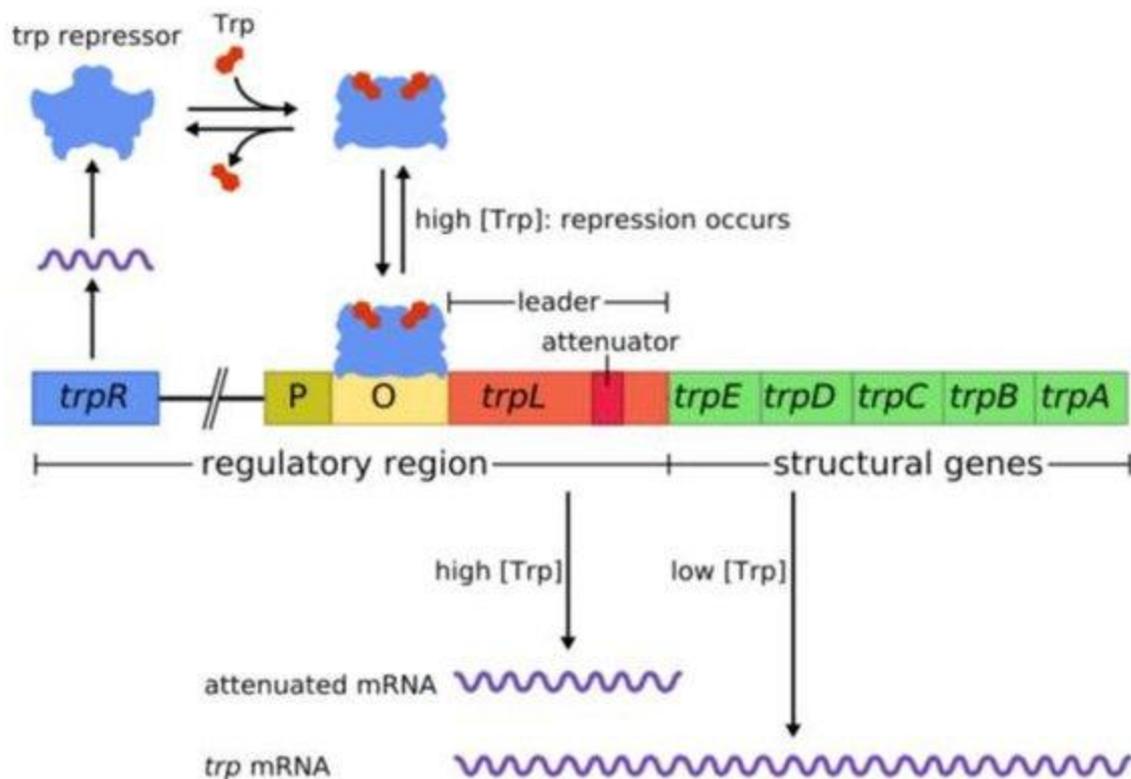
В отсутствии лактозы белок-репрессор связывается с оператором. РНК-полимераза не может начать транскрипцию



Лактоза инактивирует белок-репрессор и он теряет сродство к оперону. Транскрипция возможна.

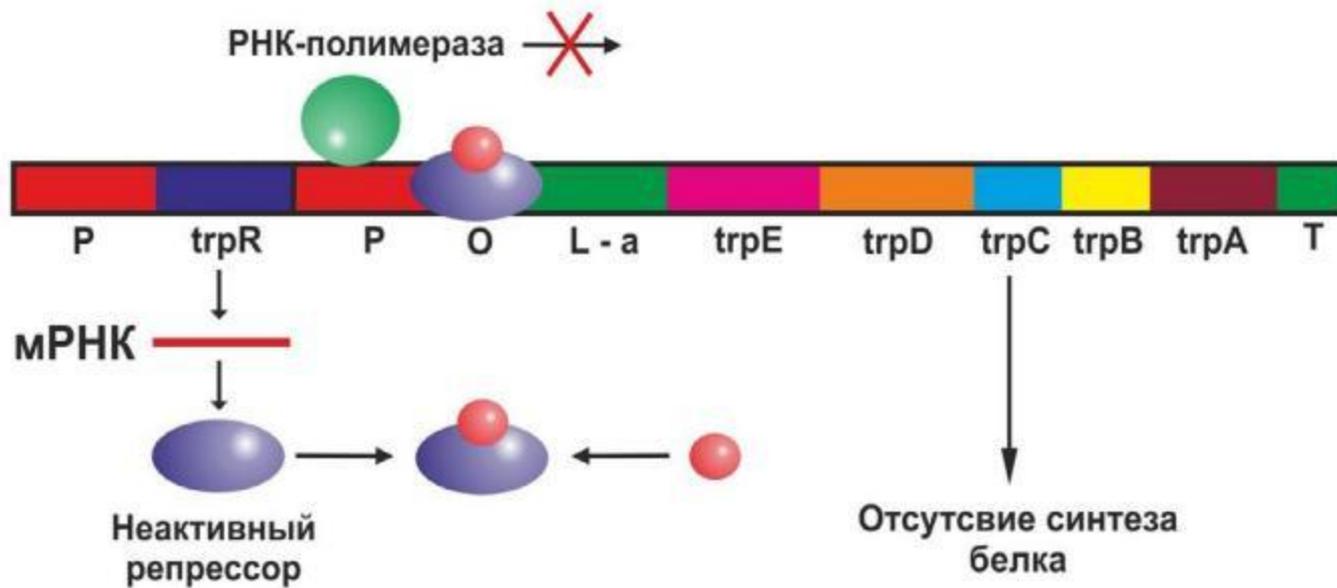


Регуляция экспрессии генов у прокариот (триптофановый оперон)



Триптофановый оперон подавляется триптофаном, на синтез которого направлена его экспрессия

Триптофановый оперон





Регуляция работы генов у эукариот

Схема регуляции транскрипции у эукариот разработана Г. П. Георгиевым (1972).

Принцип регуляции (обратная связь)

сохраняется, но механизмы ее более сложные.

Единица транскрипции у эукариот называется **транскриптом**. Он состоит из неинформативной (акцепторной) и информативной (структурной) зон.

Неинформативная зона начинается промотором с инициатором. Далее следуют группа генов-операторов, за которыми расположена информативная зона.

Информативная зона образована структурным геном, разделенным на экзоны (информативные участки) и **интроны** (неинформативные участки).

Заканчивается транскриптом **терминатором**.

Регуляция экспрессии генов эукариот идет на многих уровнях

- изменение плотности укладки хроматина – плотный не транскрибируется;
- изменение схемы метилирования ДНК – в результате меняется активность генов;
- блокирование промоторов (в том числе по цепочке: гормон – цАМФ – белок-регулятор), использование альтернативных промоторов;
- подавление экспрессии гена за счет синтеза антисенс-РНК на кодирующей цепи ДНК – двухцепочечная РНК-дуплекс транслироваться не будет;
- альтернативный сплайсинг и модификация концов иРНК (кэп на 5`-конце, поли-А на 3`), их задержка или ускорение;
- использование транссплайсинга – в процессе сплайсинга соединяются транскрипты с разных структурных генов;
- редактирование РНК – модификация нуклеотидов: превращение Ц в У или А в аналог гуанина – инозин, вставки нуклеотидов без ДНК-матрицы;
- уже после трансляции полипептид можно не активировать, можно отложить сплайсинг белка: вырезание из белка-предшественника интеинов и соединение экстеинов;
- количество полипептидов, транслированных с одной иРНК, напрямую зависит от длины поли-А, а ее можно менять.

Спасибо за внимание!!!

