

Лекция №5

Нуклеиновые кислоты

План лекции

- 1. История открытия нуклеиновых кислот;
- 2. Функции и локализация нуклеиновых кислот внутри клеток;
- 3. Структурная организация
- 4. Репликация
- 5. Транскрипция (синтез РНК, типы, процессинг)
- 6. Трансляция (ген. код и его свойства)

В каждом живом организме присутствуют 2 типа нуклеиновых кислот: **рибонуклеиновая кислота (РНК)** и **дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)**.

Молекулярная масса самой "маленькой" из известных нуклеиновых кислот - транспортной РНК (тРНК) составляет примерно 25 кД. ДНК - наиболее крупные полимерные молекулы; их молекулярная масса варьирует от 1 000 до 1 000 000 кД.

История открытия

- 60 – е года 19 в. – швейцарский ученый Фридрих Мишер выделил из ядер клеток гноя вещество, названное им нуклеин (от греч. nucleus - ядро).
- 1944 г. – Эвери с сотрудниками установили, что ДНК отвечает за передачу наследственной информации.
- 1953 г. – Дж. Уотсоном и Ф. Криком была предложена модель пространственной структуры ДНК (Нобелевская премия по физиологии и медицине). Модель открыта с помощью рентгеноструктурного анализа. Рентгенограммы получала Р. Франклин, работавшая в команде Дж. Уотсона и Ф. Крика.



Иоганн Фридрих Мишер



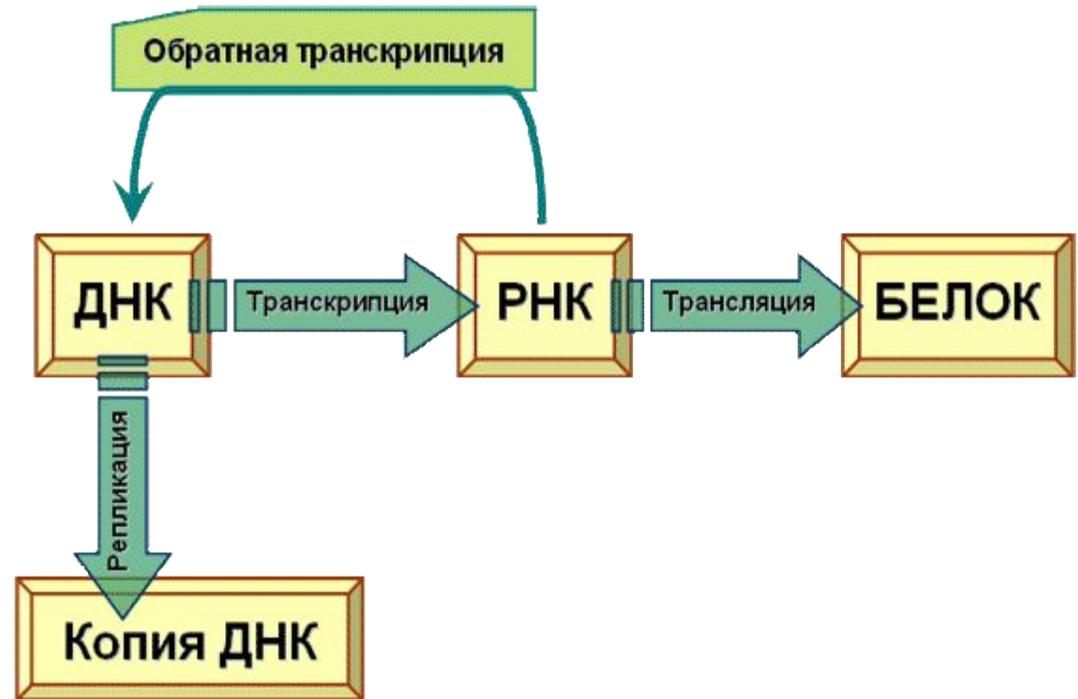
Джеймс Уотсон

Биологическая роль

- *Нуклеиновые кислоты служат для хранения и передачи генетической информации.*

ДНК – хранение и воспроизведение генетической информации;
РНК – реализация генетической информации (в ходе процессов транскрипции и трансляция).

Ген – участок ДНК, который кодирует одну или несколько полипептидных цепей.



Центральная догма биологии

Поток информации от ДНК через РНК на белок получил название "**центральная догма биологии**". Он характерен для всех живых организмов, за исключением некоторых РНК-содержащих вирусов.

- При образовании всех видов РНК, необходимых для синтеза белков, информация об их структуре "считывается" с определённых генов в молекулах ДНК. В синтезе новых молекул белков матрицей, содержащей информацию об их строении, являются мРНК. При размножении РНК-содержащих вирусов в клетках эукариотических организмов новые молекулы ДНК могут синтезироваться с помощью процесса, в ходе которого РНК служит матрицей для синтеза комплементарной ДНК, которая может включаться в геном высших организмов (**обратная транскрипция**).

- **Репликация** – синтез дочерней молекулы двухцепочечной ДНК, идентичной родительской двухцепочечной ДНК (матрица – нити родительской ДНК).
- **Транскрипция** – ферментативный процесс, при котором генетическая информация, содержащаяся в одной цепи ДНК, используется для синтеза комплементарной нуклеотидной последовательности в цепи мРНК (матрица – одна из цепей ДНК).
- **Трансляция** – процесс, при котором генетическая информация, содержащаяся в молекуле мРНК, направляет синтез соответствующей аминокислотной последовательности в белке (матрица – мРНК).
- **Репарация** – исправление ошибок в структуре ДНК, возникающих под воздействием факторов внешней и внутренней среды (матрица – участок неповрежденной нити ДНК)

Локализация в клетке

- Основная часть ДНК находится в ядре клетки – в составе хроматина. 0, 25 % - митохондриях (мДНК), также имеется в хлоропластах у растений. РНК обнаружена во всех частях клетки.
- Нуклеиновые кислоты в клетке находятся не в свободном виде, а в комплексе с белками.

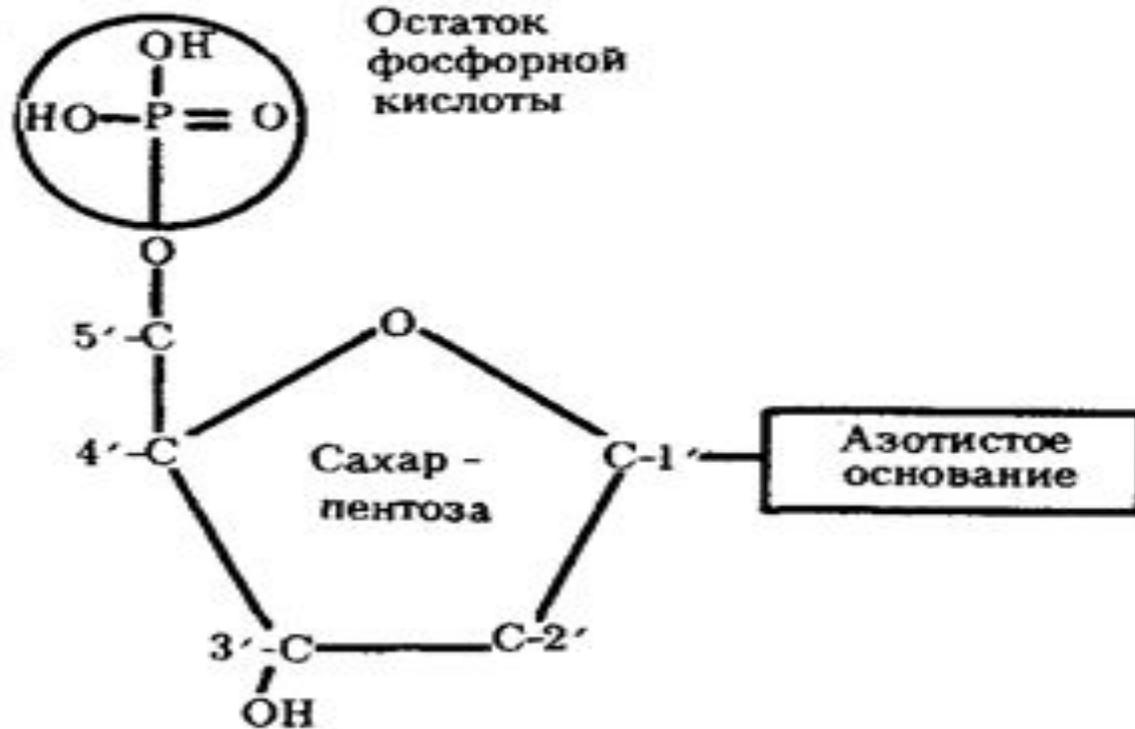
МТДНК

- Митохондрии - важнейшие органеллы клеток, осуществляющие синтез АТФ за счёт окисления субстратов. Митохондрии имеют собственный уникальный геном, наследуемый по материнской линии, так как он происходит из цитоплазмы яйцеклетки. Геном митохондрий сперматозоидов не попадает в оплодотворённую яйцеклетку.
- Митохондриальный геном человека представлен одной кольцевой молекулой ДНК из 16 569 нуклеотидных пар. Он кодирует 13 белков, используемых на построение структурно-функциональных компонентов митохондрий.
- В митохондриях отсутствуют ферменты, ответственные за репарацию, поэтому митохондриальный геном содержит немало ошибок. Митохондрии эукариотов имеют очень маленькие рибосомы с константой седиментации 55S, тогда как рибосомы прокариотов - 70S.

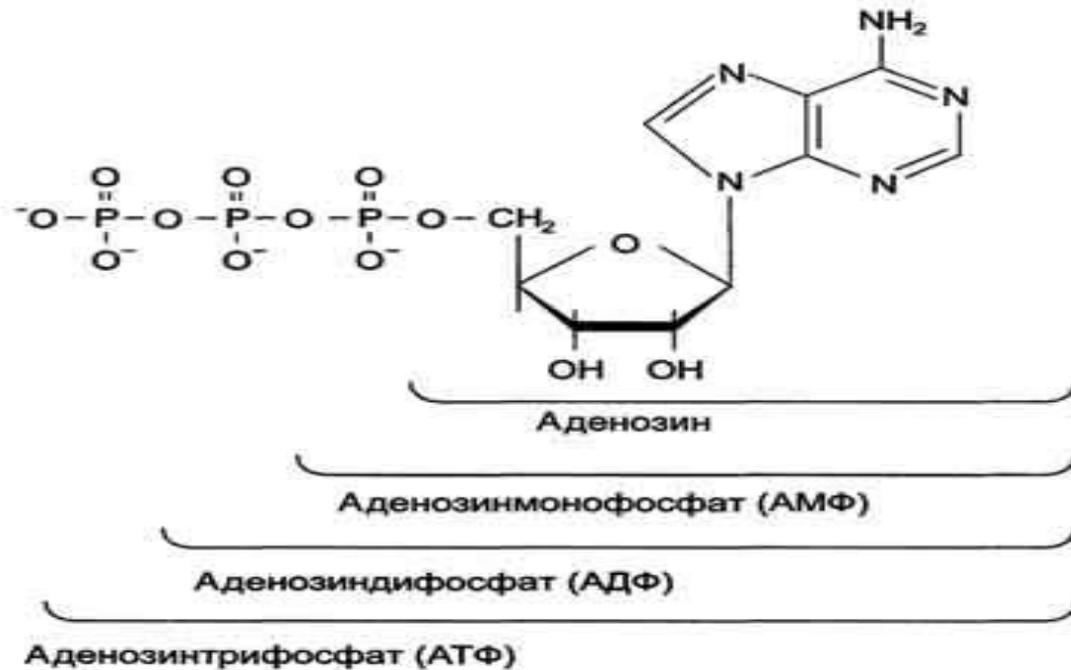
Структурная организация

- *НК – полимеры, мономерами которых являются нуклеотиды и выполняющие в клетке функции хранения, передачи и реализации генетической информации.*

Строение нуклеотида

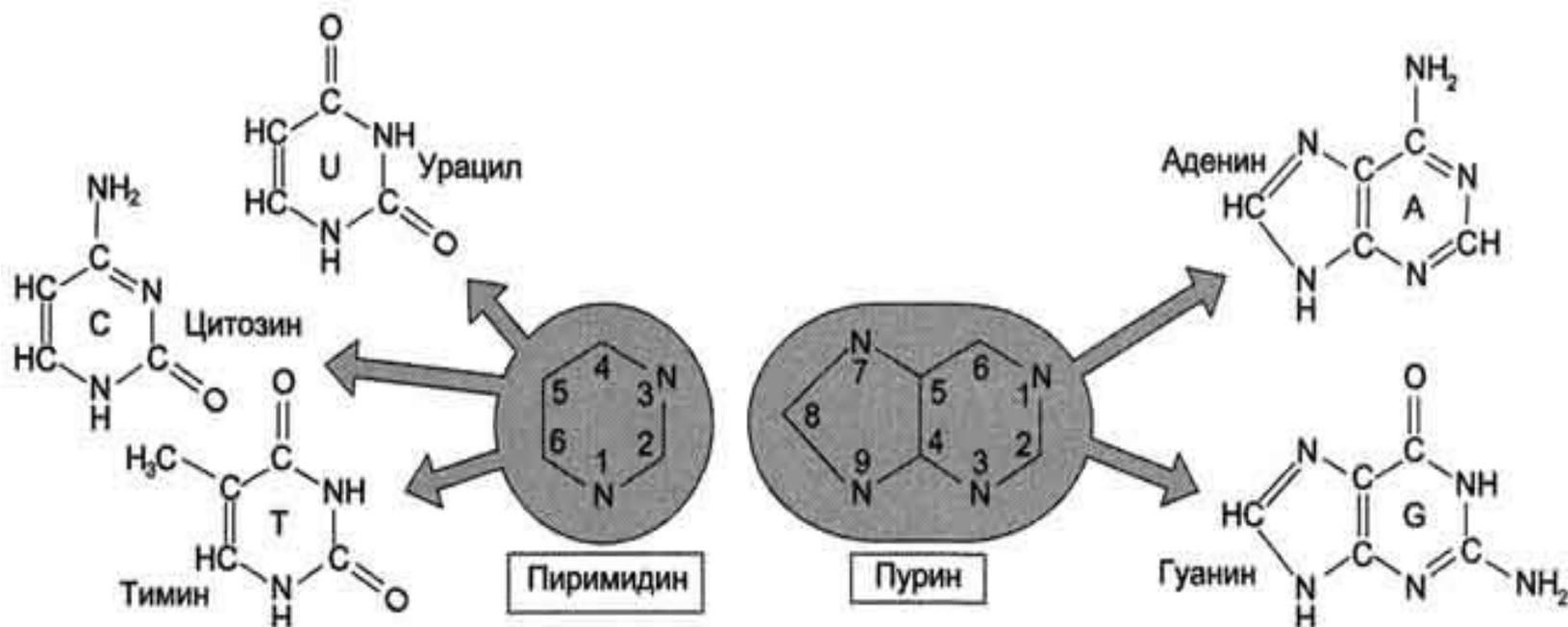


- Нуклеотиды - фосфорные эфиры нуклеозидов. Остаток фосфорной кислоты присоединён к 5'-углеродному атому пентозы (5'-фосфоэфирная связь).

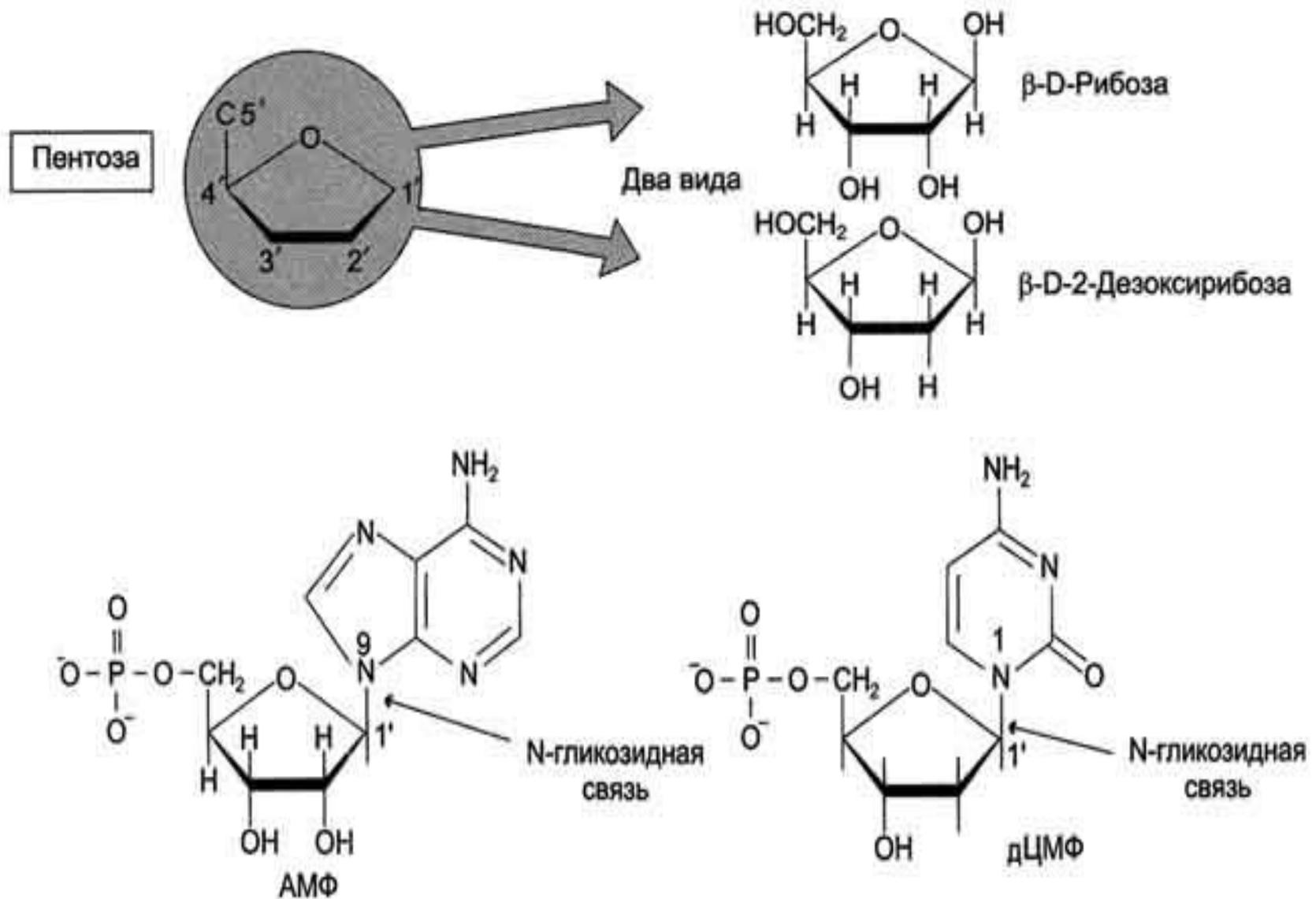


Азотистые основания

- Ароматические гетероциклические соединения, производные пириимидина и пурина.

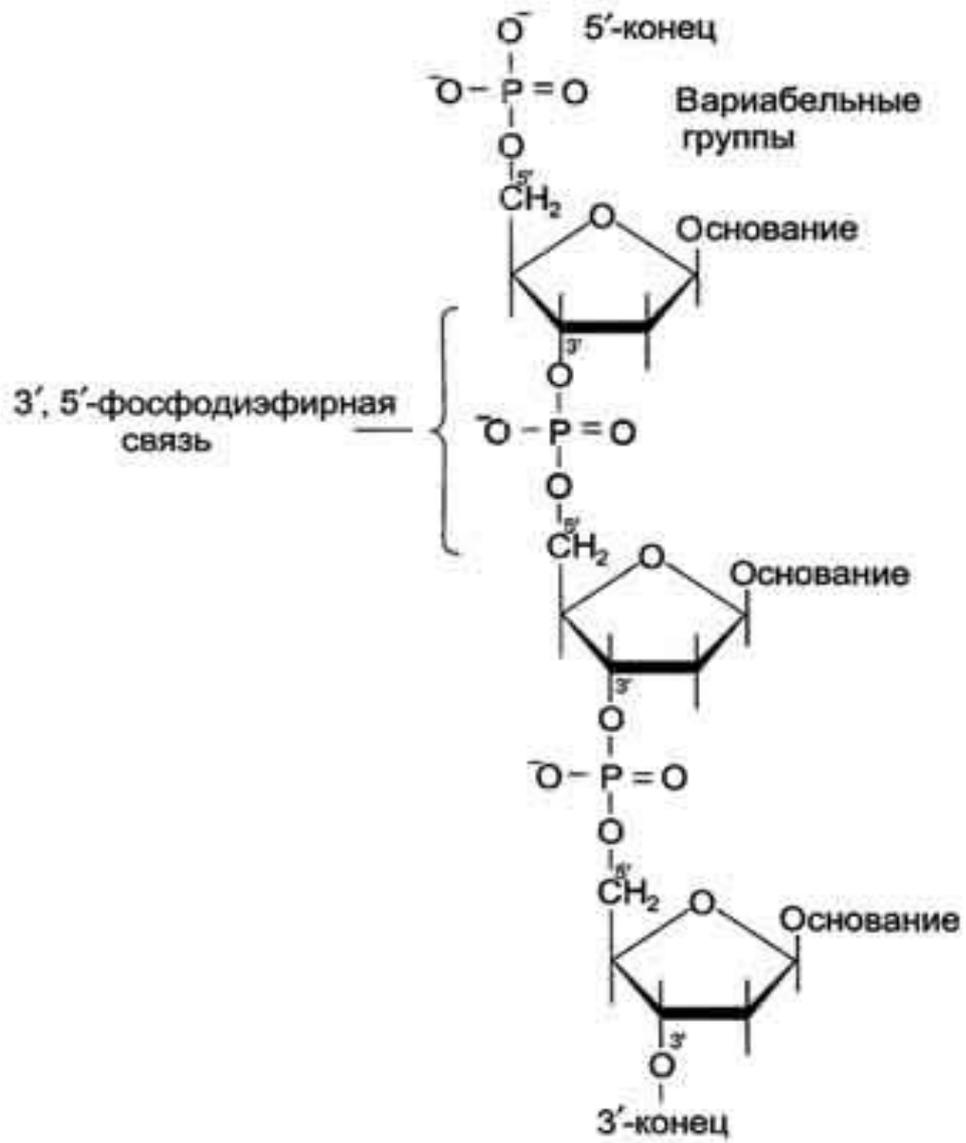


Пентоза



Структура ДНК

- *Первичная структура ДНК* – порядок чередования дезоксирибонуклеозидмонофосфатов (дНМФ) в полинуклеотидной цепи.
- Связь между нуклеотидами – *3', 5' – фосфодиэфирная связь* (между фосфатной группой и 3' и 5' - углеродными атомами двух соседних дезоксирибоз).



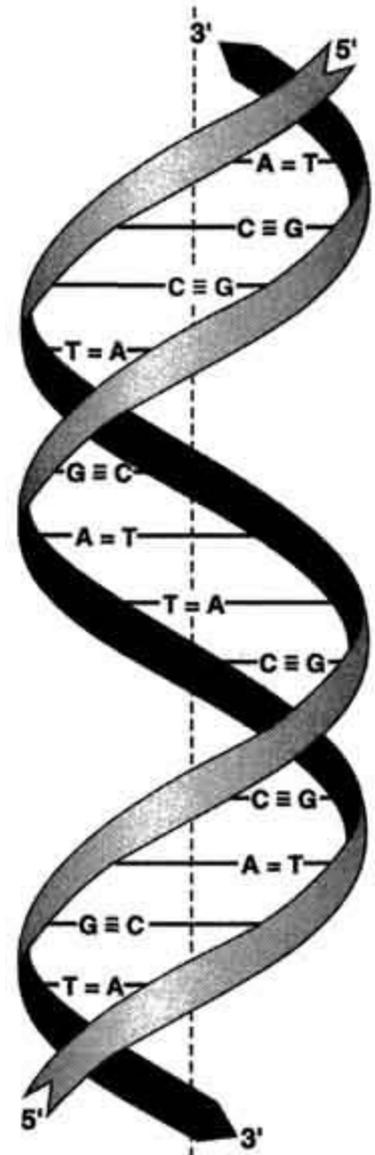
Фрагмент цепи ДНК

Вторичная структура ДНК.

В 1953 г. Дж. Уотсоном и Ф. Криком была предложена модель пространственной структуры ДНК. Согласно этой модели, молекула ДНК имеет форму спирали, образованную двумя полинуклеотидными цепями, закрученными относительно друг друга и вокруг общей оси. Двойная

спираль **правозакрученная**, полинуклеотидные цепи в ней **антипараллельны**, т.е. если одна из них ориентирована в направлении $3' \rightarrow 5'$, то вторая - в направлении $5' \rightarrow 3'$. Поэтому на каждом из концов молекулы ДНК расположены $5'$ -конец одной цепи и $3'$ -конец другой цепи.

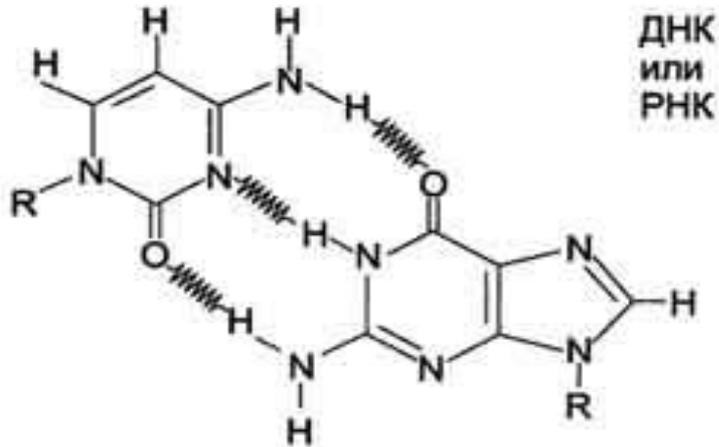
- Таким образом, **молекула ДНК состоит из двух антипараллельных цепей с комплементарной последовательностью нуклеотидов. Цепи закручены относительно друг друга в правозакрученную спираль так, что на один виток приходится примерно 10 пар нуклеотидов.**



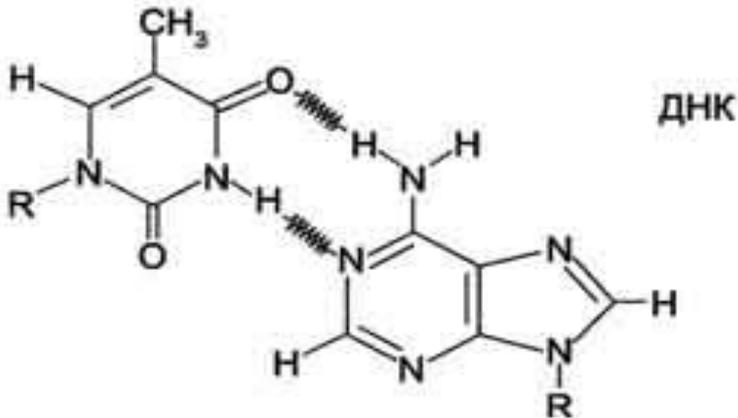
Связи, участвующие в образовании вторичной структуры ДНК

- **Водородные связи** между комплементарными азотистыми основаниями;
- Комплементарные основания уложены в стопку в сердцевине спирали. Между основаниями двухцепочечной молекулы в стопке возникают **гидрофобные взаимодействия**, стабилизирующие двойную спираль.

Цитозин ::: Гуанин
(три водородные связи)

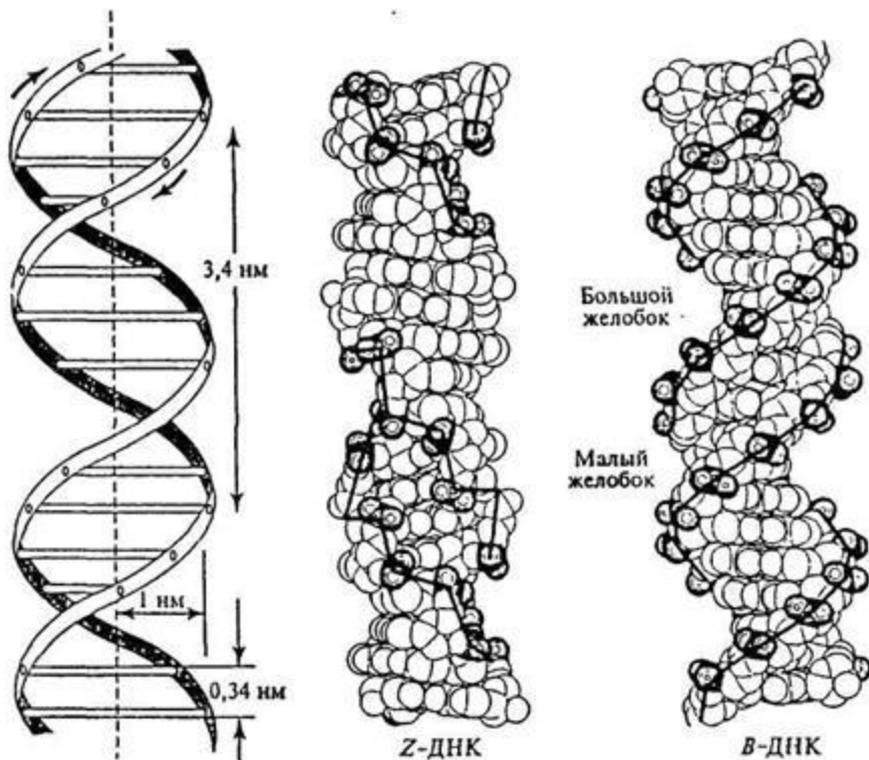


Тимин ::: Аденин
(две водородные связи)



*Правило Чаргаффа:
число пуриновых
оснований (A + G)
равно числу
пиримидиновых
оснований (T + C).*

Формы ДНК и их характеристики



- Для человека характерна **B - форма спирали**. Именно она и была описана Дж. Уотсоном и Ф. Криком.

| Тип | Закрученность спирали | Число пар оснований на виток | Расстояние между плоскостями оснований | Диаметр спирали |
|-----|-----------------------|------------------------------|--|-----------------|
| A | Правая | 11 | 0,256 нм | 2,3 нм |
| B | Правая | 10 | 0,338 нм | 1,9 нм |
| Z | Левая | 12 | 0,371 нм | 1,8 нм |

- *Третичная структура ДНК (суперспирализация ДНК).*

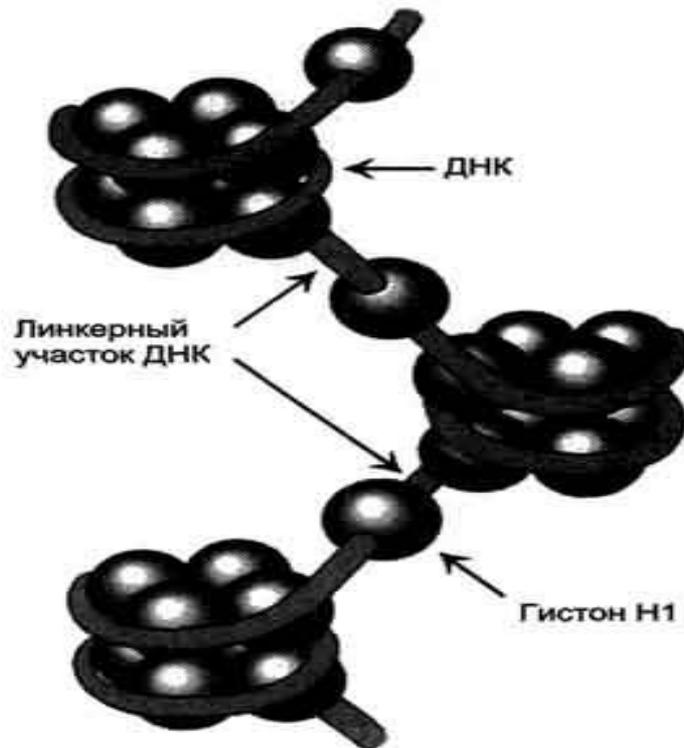
Компактизация и суперспирализация ДНК осуществляются с помощью разнообразных белков, взаимодействующих с определёнными последовательностями в структуре ДНК.

- Комплекс белков с ядерной ДНК клеток называют *хроматином*.

- Все связывающиеся с ДНК эукариотов белки можно разделить на 2 группы: **гисгоновые и негисгоновые белки.**
- **Гистоны** - белки с молекулярной массой 11-21 кД, содержащие много остатков аргинина и лизина. Благодаря положительному заряду гистоны образуют ионные связи с отрицательно заряженными фосфатными группами, расположенными на внешней стороне двойной спирали ДНК.

Структура нуклеосом.

- Восемь молекул гистонов (H2A, H2B, H3, H4)² составляют ядро нуклеосомы, вокруг которого ДНК образует примерно 1,75 витка.



РНК

- **Первичная структура РНК** - порядок чередования рибонуклеозидмонофосфатов (НМФ) в полинуклеотидной.
- **Вторичная структура РНК**
Молекула рибонуклеиновой кислоты построена из одной полинуклеотидной цепи. Отдельные участки цепи РНК образуют спирализованные петли - "шпильки", за счёт водородных связей между комплементарными азотистыми основаниями А-У и G-С.
- **Третичная структура РНК**
Одноцепочечные РНК характеризуются компактной и упорядоченной третичной структурой, возникающей путём взаимодействия спирализованных элементов вторичной структуры.

Основные типы РНК

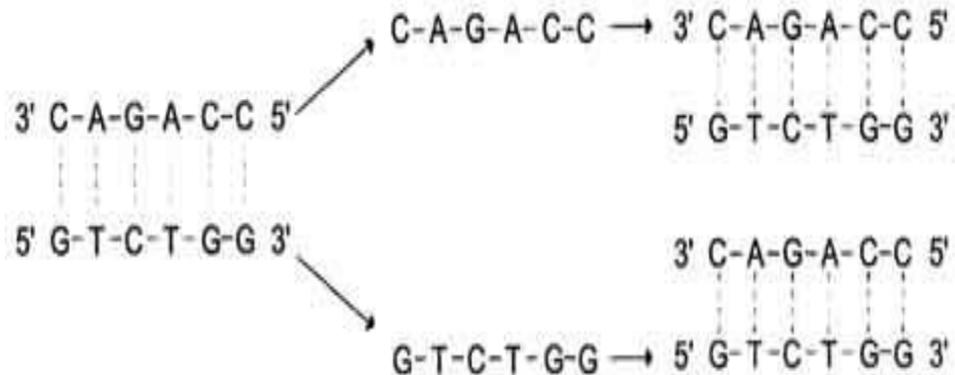
- ***Матричная (информационная) РНК (мРНК)***
- ***Рибосомальная РНК (рРНК)***
- ***Транспортная РНК***
- ***Малые ядерные РНК (мяРНК)***

Различия между ДНК и РНК

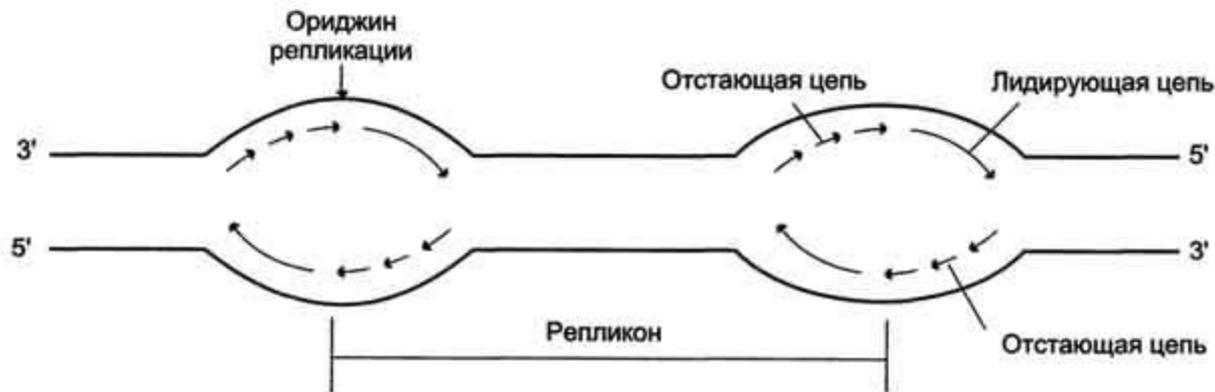
| ДНК | РНК |
|--|---|
| Пентоза в составе нуклеотида представлена дезоксирибозой | Пентоза в составе нуклеотида представлена рибозой |
| Азотистые основания: аденин, гуанин, цитозин, тимин | Азотистые основания: аденин, гуанин, цитозин, урацил |
| Правила Чаргаффа: число пуриновых оснований (А + Г) равно числу пиримидиновых (Ц + Т) | Содержание аденина не обязательно равно содержанию урацила , содержание гуанина не обязательно равно содержанию цитозина |
| Двухцепочечная молекула (спираль) | Одноцепочечная молекула |
| Хранение, воспроизведение ген. информации. | Реализация ген. информации (транскрипция, трансляция) |

Репликация

- При репликации каждая цепь родительской двухцепочечной ДНК служит матрицей для синтеза новой комплементарной цепи. Вновь образованная двойная спираль имеет одну исходную (родительскую) и одну вновь синтезированную (дочернюю) цепь. Такой механизм удвоения ДНК получил название "**полуконсервативная репликация**". Первичная структура дочерней цепи определяется первичной структурой родительской цепи, потому что в основе её образования лежит принцип комплементарности оснований ($G \equiv C$ и $A = T$).



- **Единица репликации у эукариот – репликон**
- **Точки начала репликации – ориджины (origin)**



1. Репликация — матричный процесс. Во время репликации каждая из 2 цепей ДНК служит матрицей для образования новой цепи.

2. Субстратами и источниками энергии для синтеза ДНК являются дезоксирибонуклеозидтрифосфаты — dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP).

3. Ферменты, катализирующие процесс репликации, объединены в мультиферментный комплекс. Основные этапы процесса (рис. 3.4):

I — формирование репликативной вилки;

II — синтез новых цепей ДНК;

III — исключение праймеров. Завершение формирования отстающей цепи ДНК.

4. Формирование репликативной вилки идет при участии:

ДНК-топоизомеразы, которая является обратимой нуклеазой. Сначала она разрывает цепь (3',5'-фосфодиэфирную связь) ДНК, а по окончании репликации зашивает временные надрезы. Такие временные разрывы цепи ДНК облегчают образование и продвижение репликативной вилки;

ДНК-хеликазы — ДНК-зависимой АТФазы, использующей энергию АТФ для расплетения двойной спирали ДНК;

белков, дестабилизирующих спираль (или SSB-белков — single strand binding). SSB-белки, не закрывая оснований, связываются с одноцепочечной ДНК и этим предотвращают образование «шпилек» и комплементарное скручивание матричных цепей.

5. **ДНК-полимераза δ** (дельта) не способна инициировать синтез новых цепей ДНК, она может лишь удлинять уже имеющуюся нуклеотидную цепь—затравку (праймер). Роль затравки выполняет РНК, синтезируемая специальным ферментом **ДНК-полимеразой α** (альфа). Каждый праймер состоит примерно из 10 нуклеотидов.

ДНК-полимераза δ , активируемая праймером, продолжает синтез новой непрерывной цепи в направлении от 5'- к 3'-концу по ходу раскручивания репликативной вилки (лидирующая цепь).

На другой матричной цепи **ДНК-полимераза α** и **ДНК-полимераза ϵ** (эпсилон) ведут синтез отстающей цепи (фрагментов Оказаки) против движения репликативной вилки. Каждый фрагмент Оказаки состоит примерно из 100 нуклеотидов.

6. Каждый фрагмент Оказаки содержит праймер, который удаляет ДНК-полимераза β (бета), постепенно отрезая от 5'-конца фрагмента по одному рибонуклеотиду. К 3'-концу фрагмента ДНК-полимераза β присоединяет дезоксирибонуклеотиды в количестве, равном вырезанному праймеру, заполняя образованную брешь. ДНК-лигаза соединяет фрагменты запаздывающей цепи ДНК.

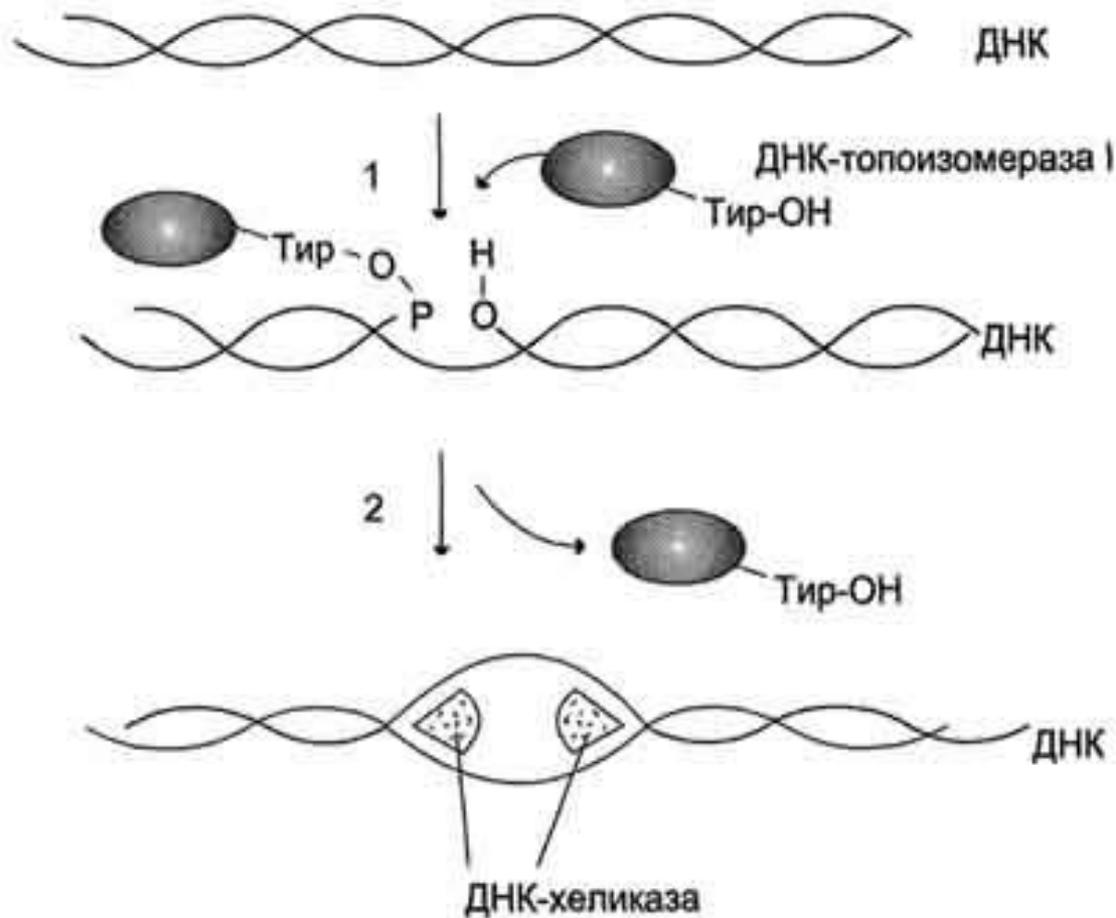
7. В активном центре всех ДНК- и РНК-полимераз находится ион Zn^{2+} (кофактор фермента). Для взаимодействия полимераз с субстратами необходимо присутствие также ионов Mg^{2+} . Mg^{2+} поляризует нуклеотиды, образуя с ними комплексы, и повышает их реакционную способность.

8. Молекула ДНК человека имеет очень большие размеры, репликация такой большой молекулы (скорость 50 нуклеотидов в минуту) шла бы в течение примерно 800 ч. Поэтому инициация синтеза ДНК происходит в нескольких точках хромосомы, которые называются точками инициации репликации, или **ориджинами (origin) репликации** (рис. 3.5). Ориджины репликации имеют определенную нуклеотидную последовательность. Единица репликации у эукариотов называется **репликоном**. На ориджинах иницируется двунаправленная репликация, т.е. образуются 2 репликативные вилки, перемещающиеся в противоположных направлениях до тех пор, пока не встретятся со следующим репликоном.

9. По завершении репликации образуются 2 молекулы двухспиральной ДНК, каждая из которых содержит одну материнскую и одну дочернюю, вновь синтезированную нить (**полуконсервативный механизм**). В результате митоза они поступают в дочерние клетки. Таким образом репликация обеспечивает воспроизведение генотипа в новых поколениях.

Процессы и участники стадии инициации

- **Точка начала репликации** - определённый сайт (**точка начала репликации**), где происходит локальная денатурация ДНК, цепи расходятся и образуются две **репликативные вилки**, движущиеся в противоположных направлениях.
- **ДНК-топоизомераза I** - разрывает фосфоэфирную связь в одной из цепей двойной спирали и ковалентно присоединяется к 5'-концу в точке разрыва. По окончании формирования репликативной вилки фермент ликвидирует разрыв в цепи и отделяется от ДНК.
- **ДНК-хеликаза** – осуществляет разрыв водородных связей в двухцепочечной молекуле ДНК.
- **SSB-белки** - т.е. белки, связывающиеся с одноцепочечными нитями ДНК. SSB-белки, не закрывая азотистых оснований, связываются с одноцепочечной ДНК по всей длине разделившихся цепей и таким образом предотвращают их комплементарное скручивание и образование "шпилек".



1 - фермент расщепляет одну цепь ДНК; между остатком тирозина молекулы фермента и фосфорным остатком цепи образуется ковалентная связь;

2 - происходит локальное раскручивание двойной спирали при участии ДНК-хеликазы; ДНК-топоизомераза I восстанавливает фосфоэфирную связь.

Элонгация

- В синтезе эукариотических ДНК принимают участие 5 ДНК-полимераз (α , β , γ , δ , ϵ). **ДНК-полимеразы** различают по числу субъединиц, молекулярной массе, ассоциации с различными вспомогательными белками, ускоряющими процесс биосинтеза ДНК, и функциональному назначению. ДНК-полимеразы α (альфа), β (бета), δ (дельта), ϵ (эпсилон) участвуют в синтезе ДНК в ядре клеток, ДНК-полимераза γ (гамма) - в репликации митохондриальной ДНК.

- **Субстратами и источниками энергии для синтеза продукта служат 4 макроэргических соединения - дезоксирибонуклеозидтрифосфаты дАТФ, дГТФ, дЦТФ и дТТФ, для активации которых необходимы ионы магния.**
- **Синтез цепей ДНК происходит в направлении 5'→3' растущей цепи**, т.е. очередной нуклеотид присоединяется к свободному 3'-ОН-концу предшествующего нуклеотидного остатка. Синтезируемая цепь всегда антипараллельна матричной цепи. В ходе репликации образуются 2 дочерние цепи, представляющие собой копии матричных цепей.

- **Иницирует репликацию ДНК-полимераза α** , которая комплементарна определённому сайту одноцепочечной ДНК. Присоединяясь к нему, **ДНК-полимераза α синтезирует небольшой фрагмент РНК – праймер** состоящий из 8-10 рибонуклеотидов. ДНК-полимераза α состоит из четырёх субъединиц. Каждая из субъединиц фермента выполняет определённую функцию: "узнавание" сайта репликации, синтез праймера (8-10 рибонуклеотидов), синтез фрагмента цепи ДНК, около 50 дезоксирибонуклеотидов. Таким образом, ДНК-полимераза α синтезирует олигонуклеотид, содержащий примерно 60 нуклеотидных остатков; первые 8-10 представлены рибонуклеотидами (праймер), а остальные - дезоксирибонуклеотидами.

- .

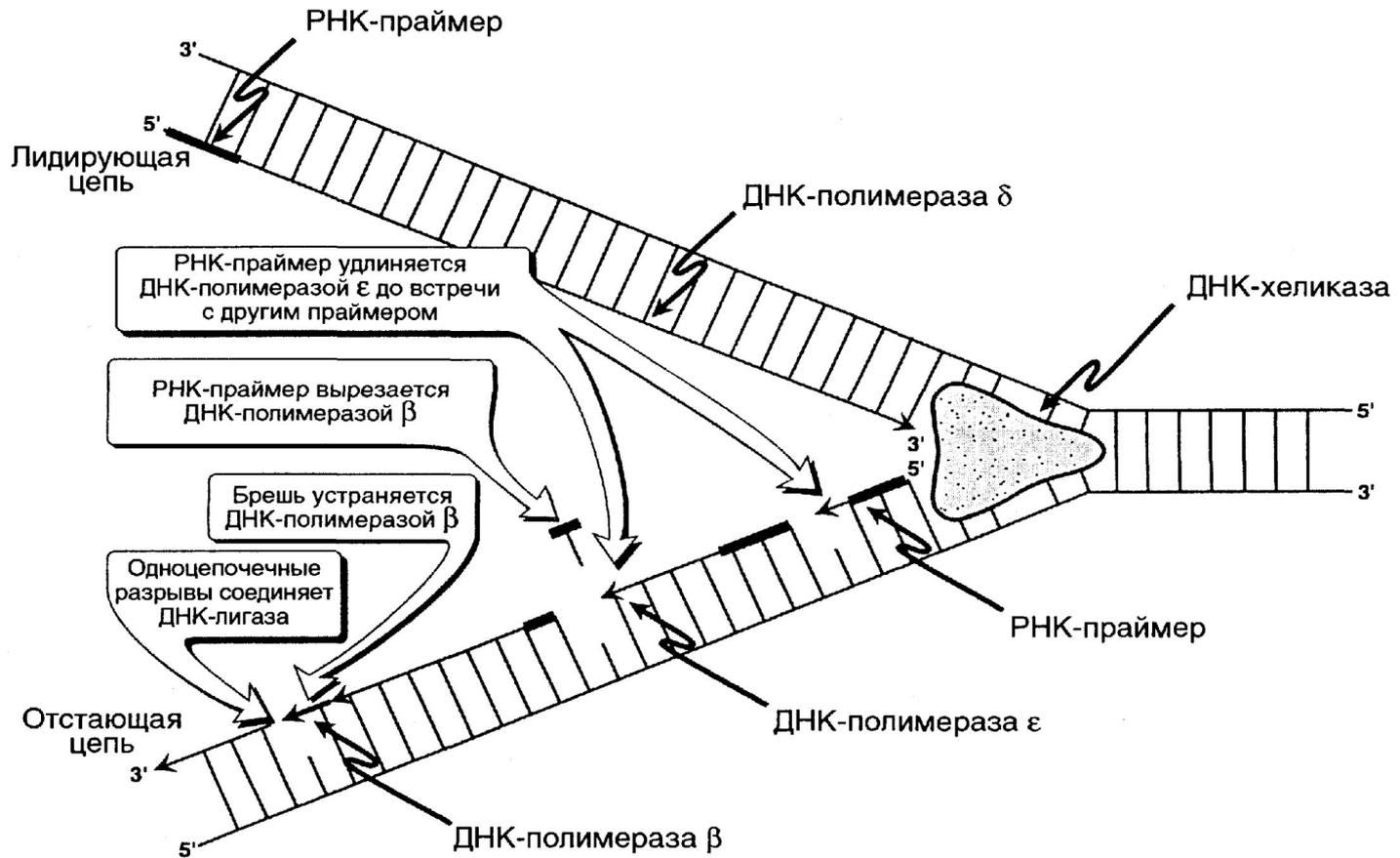
- Далее в работу вступает **ДНК-полимераза δ**.
- Олигонуклеотид, синтезированный ДНК-полимеразой α и образующий небольшой двухцепочечный фрагмент с матрицей, позволяет присоединиться ДНК-полимеразе δ и продолжить синтез новой цепи в направлении от 5'- к 3'-концу по ходу раскручивания репликативной вилки.
- **ДНК-полимераза δ последовательно наращивает цепь, шаг за шагом присоединяя к ней соответствующие дезоксинуклеотиды. Выбор ДНК-полимеразой δ очередного нуклеотида определяется матрицей.** Включение дезоксирибонуклеозидмонофосфатов в растущую цепь ДНК сопровождается гидролизом макроэргических связей соответствующих нуклеозидтрифосфатов и отщеплением пирофосфата ($H_4P_2O_7$). Энергия макроэргических связей расходуется на образование 3',5'-фосфодиэфирной связи между последним нуклеотидом растущей цепи ДНК и присоединяемым нуклеотидом.
- ДНК-полимеразы (α, β, γ, δ, ε) могут синтезировать нуклеотидную цепь только в направлении 5'→3', матричная цепь всегда считывается в направлении 3'→5'.

- В каждой репликативной вилке идёт одновременно синтез двух новых (дочерних) цепей. Направление синтеза цепи ДНК совпадает с направлением движения репликативной вилки лишь для одной из вновь синтезируемых цепей (**лидирующая цепь**). На второй матричной цепи синтез дочерней ДНК осуществляется двумя ферментами: ДНК-полимеразой α и ДНК-полимеразой ϵ в направлении $5' \rightarrow 3'$, но против движения репликативной вилки. Поэтому вторая цепь синтезируется прерывисто, короткими фрагментами, которые называют **"фрагменты Оказаки"** (по имени открывшего их исследователя). Дочерняя цепь ДНК, синтез которой происходит фрагментами, называют отстающей цепью. Каждый фрагмент Оказаки, примерно 100 нуклеотидных остатков, содержит праймер. Праймеры удаляет ДНК-полимераза β , постепенно
- 152
- отщепляя с 3'-конца фрагмента по одному рибонуклеотиду. К ОН-группе на 3'-конце предыдущего фрагмента ДНК-полимераза β присоединяет дезоксирибонуклеотиды в количестве, равном вырезанному праймеру и таким образом заполняет брешь, возникающую при удалении рибонуклеотидов.
- Фермент ДНК-лигаза катализирует образование

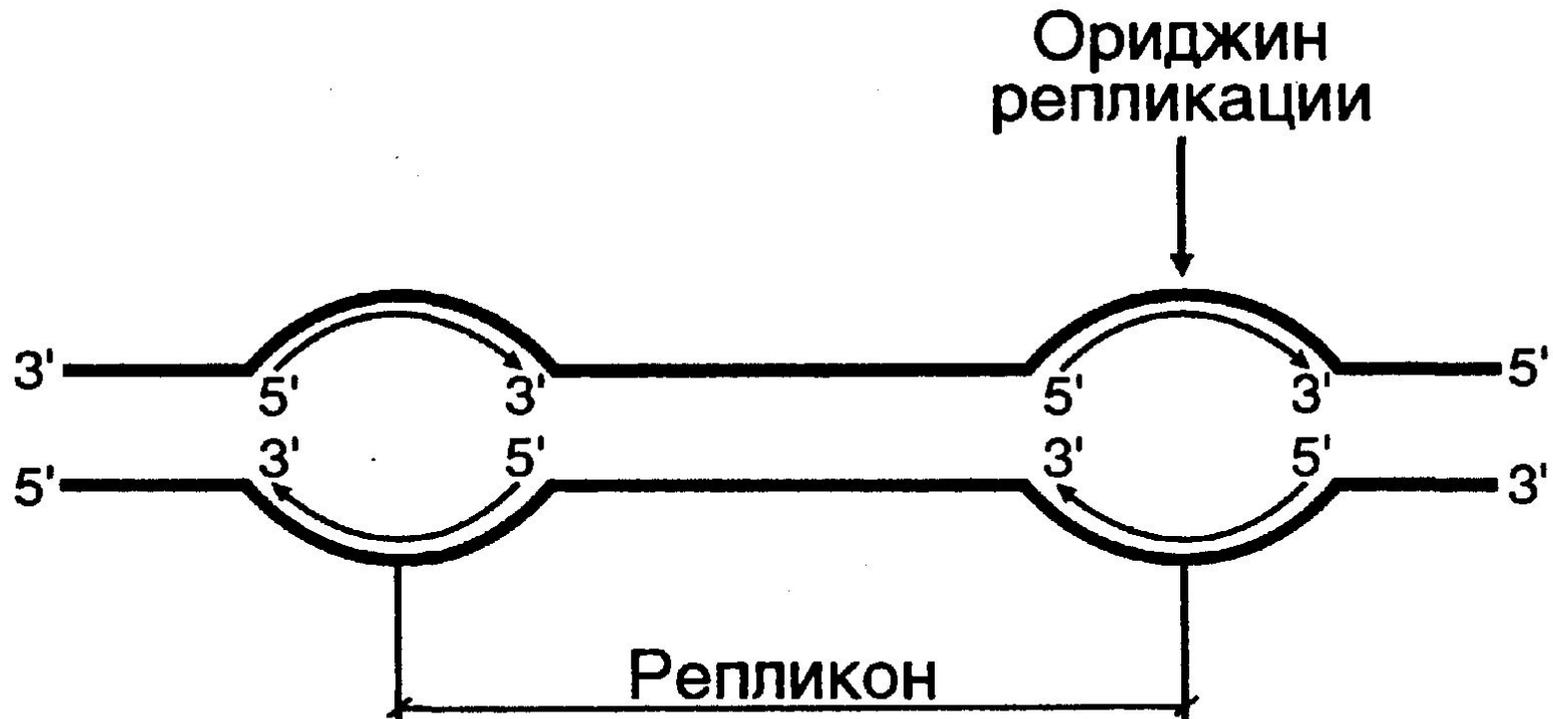
Терминация – удаление праймеров, завершение формирования отстающей цепи ДНК.

- **Праймеры удаляет ДНК-полимераза β** , постепенно отщепляя с 3'-конца фрагмента по одному рибонуклеотиду. К ОН-группе на 3'-конце предыдущего фрагмента ДНК-полимераза β присоединяет дезоксирибонуклеотиды в количестве, равном вырезанному праймеру и таким образом заполняет брешь, возникающую при удалении рибонуклеотидов.
- **Фермент ДНК-лигаза** катализирует образование фосфодиэфирной связи между 3'-ОН-группой дезоксирибозы одного фрагмента цепи ДНК и 5'-фосфатом следующего фрагмента. Реакция протекает с затратой энергии АТФ. Таким образом, из множества фрагментов Оказаки образуется непрерывная цепь ДНК.

Общая схема репликации



Репликон



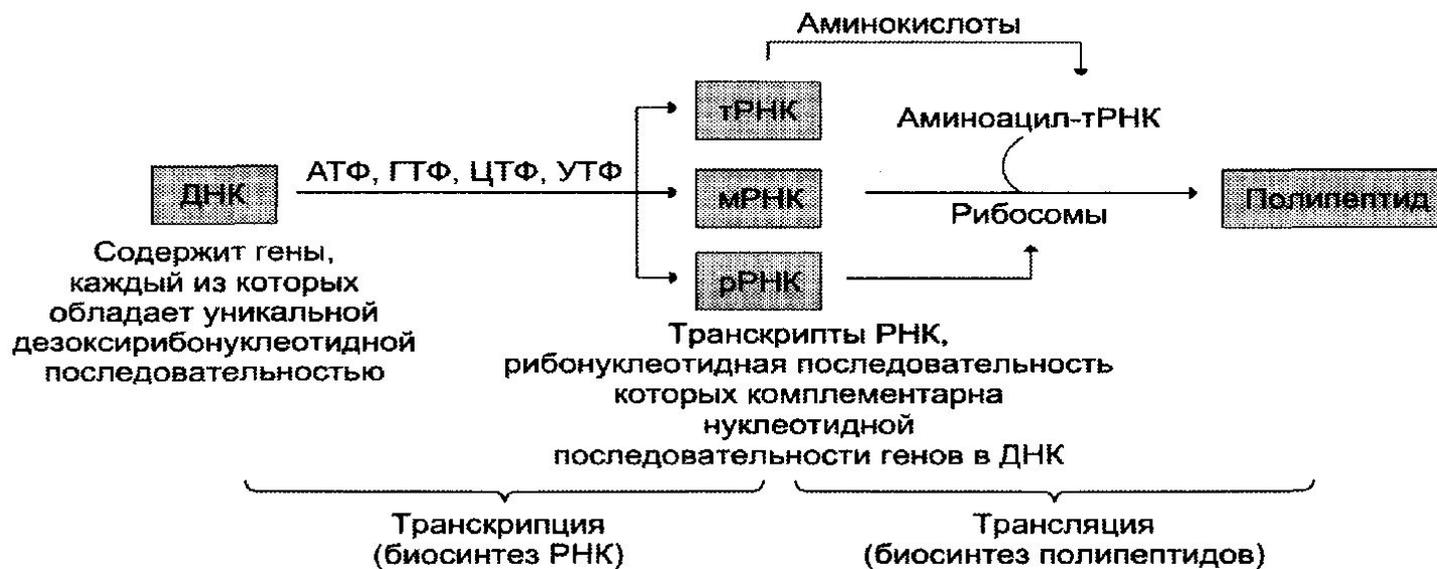
Метилирование ДНК

- После завершения репликации происходит метилирование нуклеотидных остатков вновь образованных цепей ДНК. Метальные группы присоединяются ко всем остаткам аденина в последовательности **-GATC-**, при этом образуется N₆-метиладенин, а также возможны метилирование цитозина в последовательности **-GC-** и образование N₅-метилцитозина. Количество метилированных оснований равно примерно 1-8%. Модификация происходит при участии ферментов, использующих в качестве источника метальных групп S-аденозилметионин (SAM). Присоединение метальных групп к остаткам аденина и цитозина не нарушает комплементарности цепей .
- Наличие метальных групп в цепях ДНК необходимо для формирования структуры хромосом, а также для регуляции транскрипции генов.

Транскрипция – синтез РНК

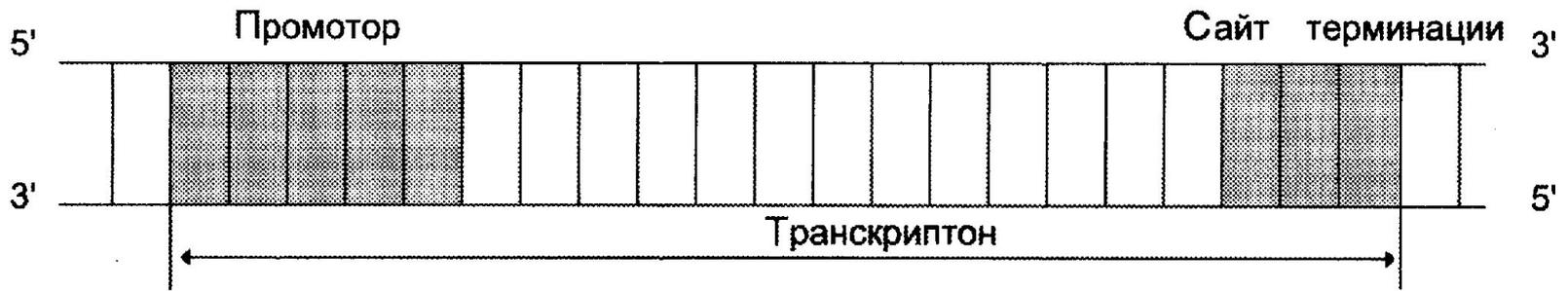
- **Транскрипция** – ферментативный процесс, при котором генетическая информация, содержащаяся в одной цепи ДНК, используется для синтеза комплементарной нуклеотидной последовательности в цепи мРНК (матрица – одна из цепей ДНК).

Транскрипция — первая стадия реализации генетической информации в клетке. В ходе процесса образуются молекулы мРНК, служащие матрицей для синтеза белков, а также транспортные, рибосомальные и другие виды молекул РНК, выполняющие структурные, адапторные и каталитические функции (рис. 4-26).



РНК-полимеразы

Биосинтез РНК осуществляется ДНК-зависимыми РНК-полимеразами. В ядрах эукариотов обнаружены 3 специализированные РНК-полимеразы: **РНК-полимераза I**, синтезирующая пре-рРНК; **РНК-полимераза II**, ответственная за синтез пре-мРНК; **РНК-полимераза III**, синтезирующая пре-тРНК. РНК-полимеразы — олигомерные ферменты, состоящие из нескольких субъединиц — 2α , β , β' , σ . Субъединица σ (сигма) выполняет регуляторную функцию, это один из факторов инициации транскрипции. РНК-полимеразы I, II, III, узнающие разные промоторы, содержат разные по строению субъединицы σ .



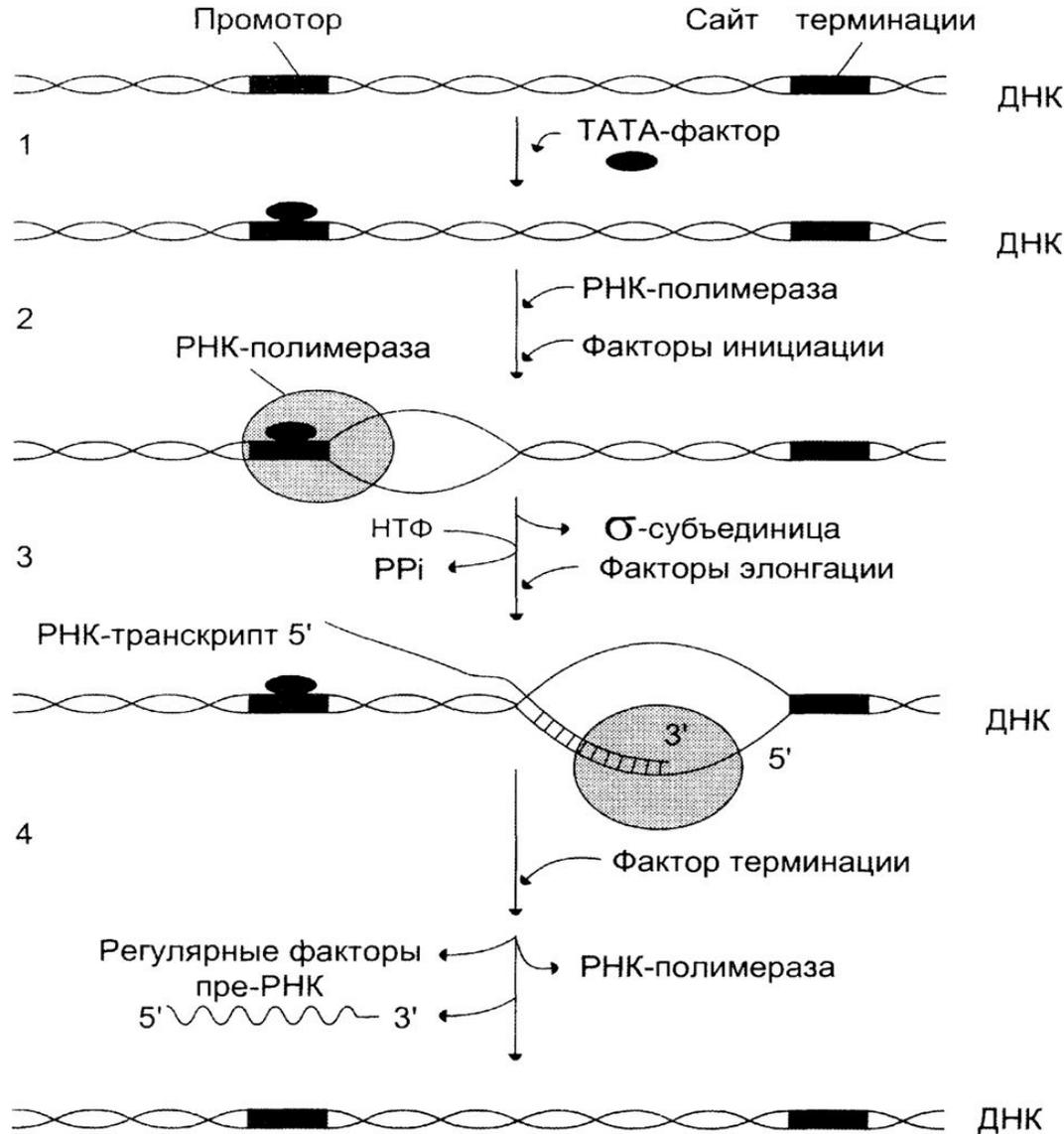
Промотор – область связывания РНК – полимеразы с матрицей.

Сайт терминации- терминирующая последовательность, достигая которую РНК – полимеразы завершает синтез РНК.

Транскриптон – участок ДНК ограниченный промотором и сайтом терминации, представляет собой единицу репликации.

Транскрипционные факторы — белки, взаимодействующие с определёнными регуляторными сайтами и ускоряющие или замедляющие процесс транскрипции. Соотношение информативной и неинформативной частей в транскриптонах эукариотов составляет в среднем 1:9 (у прокариотов 9:1).

В процессе транскрипции различают 3 стадии: инициацию, элонгацию и терминацию.



Инициация

- **Активация промотора происходит с помощью большого белка - ТАТА-фактора**, называемого так потому, что он взаимодействует со специфической последовательностью нуклеотидов промотора - ТАТААА- (ТАТА-бокс) (см. предыдущий слайд).
- Присоединение ТАТА-фактора облегчает **взаимодействие промотора с РНК-полимеразой**. Факторы инициации вызывают изменение конформации РНК-полимеразы и обеспечивают раскручивание примерно одного витка спирали ДНК, т.е. образуется транскрипционная вилка, в которой матрица доступна для инициации синтеза цепи РНК.
- После того как синтезирован олигонуклеотид из 8-10 нуклеотидных остатков, σ -субъединица отделяется от РНК-полимеразы, а вместо неё к молекуле фермента присоединяются несколько факторов элонгации.

Элонгация

- Факторы элонгации повышают активность РНК-полимеразы и облегчают расхождение цепей ДНК. **Синтез молекулы РНК идёт от 5'- к 3'-концу комплементарно матричной цепи ДНК.** На стадии элонгации, в области транскрипционной вилки, одновременно разделены примерно 18 нуклеотидных пар ДНК. Растущий конец цепи РНК образует временную гибридную спираль, около 12 пар нуклеотидных остатков, с матричной цепью ДНК. По мере продвижения РНК-полимеразы по матрице в направлении от 3'- к 5'-концу впереди неё происходит расхождение, а позади - восстановление двойной спирали ДНК.

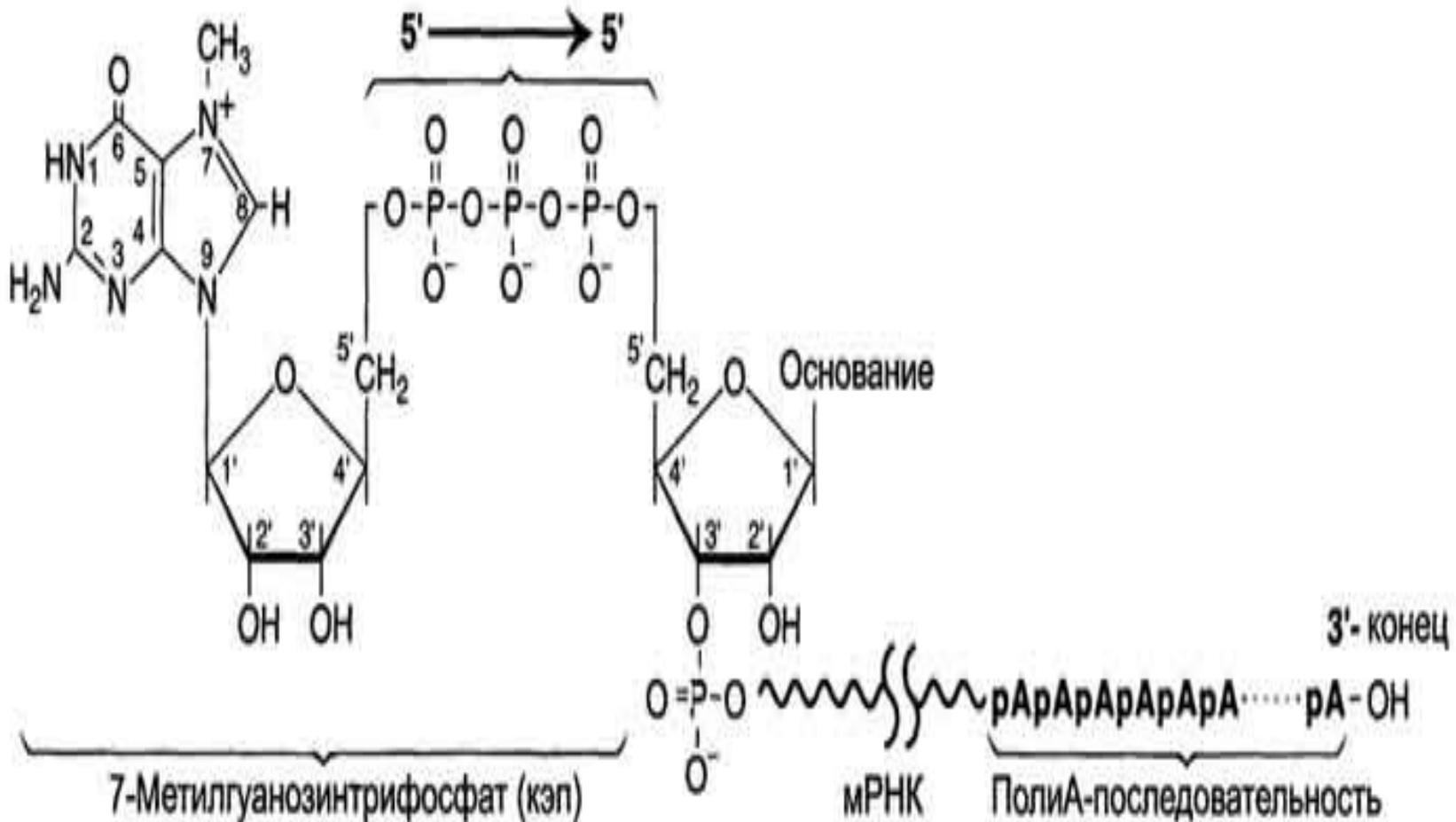
Терминация

- Раскручивание двойной спирали ДНК в области сайта терминации делает его доступным для фактора терминации. **Завершается синтез РНК в строго определенных участках матрицы - терминаторах (сайты терминации).** Фактор терминации облегчает отделение первичного транскрипта (пре-мРНК), комплементарного матрице, и РНК-полимеразы от матрицы. РНК-полимераза может вступить в следующий цикл транскрипции после присоединения субъединицы σ .
- **Первичные транскрипты мРНК**, синтезированные в ходе транскрипции, прежде чем будут использованы в ходе синтеза белка, подвергаются ряду **ковалентных модификаций (процессинг)**. Эти модификации необходимы для функционирования мРНК в качестве матрицы.

Процессинг мРНК

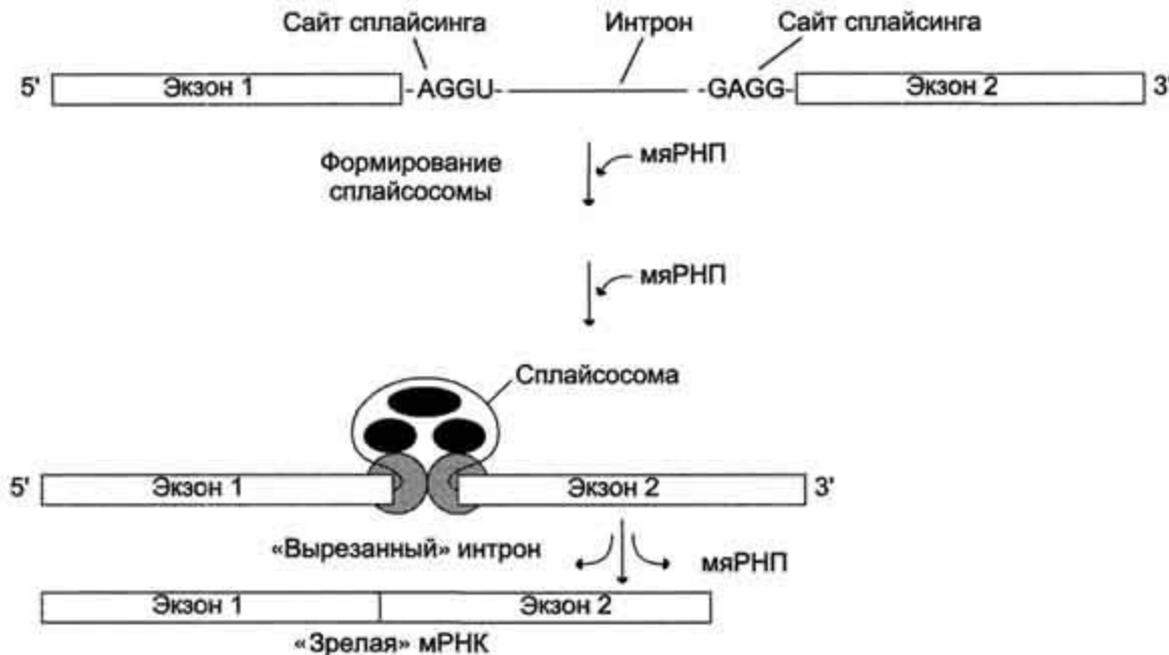
- Процессинг РНК – совокупность процессов в клетке, которые способствуют превращению первичных транскриптов (пре – мРНК) в зрелую РНК. Включает следующие процессы:
- **Кепирование** – присоединение к 5' концу пре – мРНК 7 – метилгуанозин – 5' – трифосфата (кеп).
- **Полиаденилирование** – присоединение к 3' концу пре – мРНК 100 – 200 остатков аденина.
- **Сплайсинг** - удаление интронов (участков, не кодирующих белок) и объединение экзонов (кодирующих участков).

Ковалентная модификация концевых нуклеотидных остатков первичного транскрипта мРНК.



Сплайсинг

- В процессе сплайсинга принимают участие различные малые ядерные рибонуклеопротеины (мяРНП), которые формируют **сплайсосому**. мяРНП, взаимодействуя с РНК и друг с другом, фиксируют и ориентируют реакционные группы первичного транскрипта. Каталитическая функция сплайсосом обусловлена РНК-составляющими; такие РНК называют **рибозимами**.



Разные варианты сплайсинга могут приводить к образованию разных изоформ одного и того же белка.

Например, ген тропонина состоит из 18 экзонов и кодирует многочисленные изоформы этого мышечного белка.

Разные изоформы тропонина образуются в разных тканях на определённых стадиях их развития.

Альтернативный сплайсинг мРНК на примере гена кальцитонина

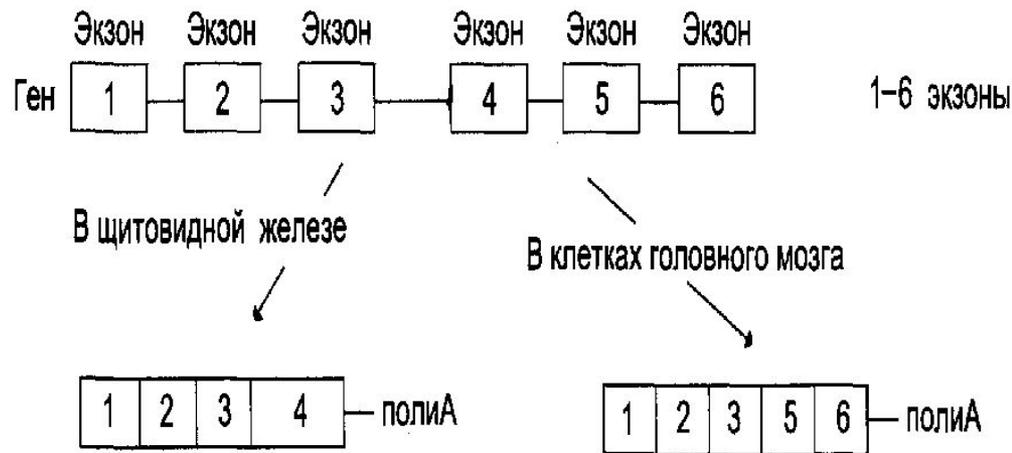
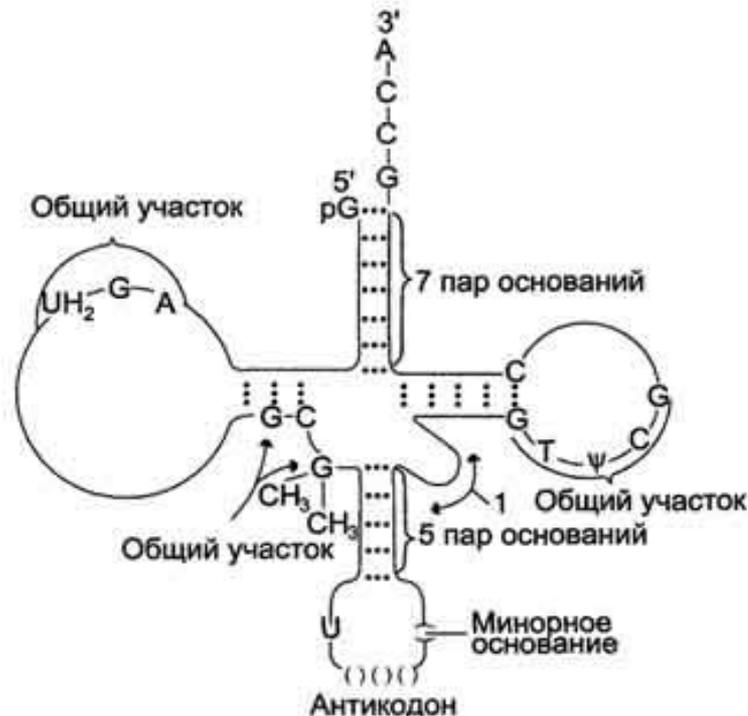


Рис. 4-33. Альтернативный сплайсинг гена кальцитонина. В клетках щитовидной железы сплайсинг первичного транскрипта приводит к образованию кальцитониновой мРНК, включающей 4 экзона и полиА-последовательность, которая образуется после расщепления транскрипта в первом участке сигнала полиаденилирования. В клетках мозга образуется мРНК, содержащая: экзоны 1, 2, 3, 5, 6 и полиА-последовательность, образованную после второго сигнала полиаденилирования.

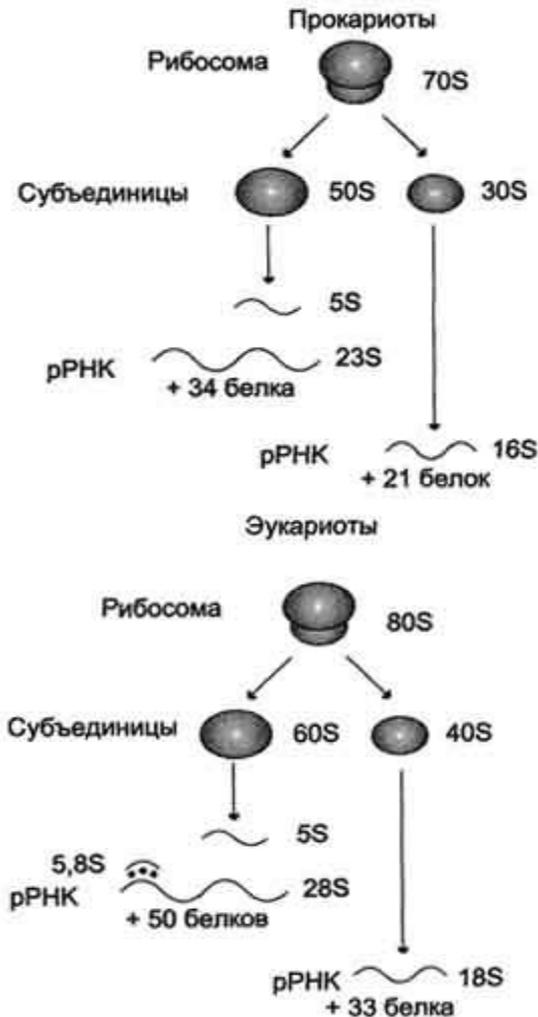
- Предшественники рРНК и тРНК – также как и мРНК подвергаются в ядре химической модификации (процессингу).

Процессинг первичного транскрипта тРНК

- Процессинг тРНК включает формирование последовательности -ССА на 3'-конце (акцепторный конец), к которому присоединяется соответствующая аминокислота, а также формирование структуры, называемой "антикодон", - триплета нуклеотидов, обеспечивающего взаимодействие тРНК с комплементарным кодоном мРНК в ходе синтеза белков.



Процессинг первичного транскрипта рРНК – формирование рибосом.



- Рибосомы – место синтеза белка. Представляют собой комплекс белков и рРНК. Локализованы в цитоплазме. Состоят из большой и малой субъединиц.
- Рибосомы эукариотов и прокариотов различаются по молекулярной массе субъединиц, количеству молекул рРНК, массе рРНК, количеству и разнообразию белков, способных связывать специфические лиганды.
- Величина S характеризует скорость оседания частиц при ультрацентрифугировании и пропорциональна их молекулярной массе. Рибосома прокариотов (70S) состоит из 50S и 30S субъединиц, эукариотов (80S) - состоит из субъединиц 60S и 40S.

Биосинтез белка (трансляция)

Перевод информации, заключённой в полинуклеотидной последовательности мРНК, в аминокислотную последовательность белка требует определённого способа кодирования или шифрования, т.е. существования определённого закона, по которому чередование четырёх нуклеотидов в мРНК задаёт специфическую последовательность аминокислот в белке.

- **Генетический (биологический) код** - способ записи аминокислотной последовательности белков через определенную последовательность нуклеотидов РНК. Для него характерны определённые свойства.

Свойства генетического кода

- **Триплетность** - кодирующими элементами в шифровании аминокислотной последовательности действительно являются тройки нуклеотидов, или триплеты, которые получили название "кодоны".
- **Специфичность** - каждому кодону соответствует только одна определённая аминокислота. В этом смысле генетический код строго однозначен.
- **Вырожденность** - в информационных молекулах (мРНК) включение в белок одной и той же аминокислоты определяют несколько кодонов. Это свойство биологического кода получило название вырожденности. У человека одним кодоном зашифрованы только 2 аминокислоты - Мет и Три, тогда как Лей, Сер и Арг - шестью кодонами, а Ала, Вал, Гли, Про, Тре - четырьмя кодонами (см. след. слайд).
- **Универсальность** - до недавнего времени считалось, что код абсолютно универсален, т.е. смысл кодовых слов одинаков для всех изученных организмов: вирусов, бактерий, растений, земноводных, млекопитающих, включая человека. Однако позднее стало известно одно исключение, оказалось, что митохондриальная мРНК содержит 4 триплета, имеющих другое значение, чем в мРНК ядерного происхождения.

Генетический код

Основные компоненты белоксинтезирующей системы

| Необходимые компоненты | Функции |
|--|--|
| 1. Аминокислоты | Субстраты для синтеза белков |
| 2. тРНК | тРНК выполняют функцию адапторов. Они акцепторным концом взаимодействуют с аминокислотами, а антикодоном — с кодоном мРНК. |
| 3. Аминоацил-тРНК синтетазы | Каждая aa-тРНК-синтаза катализирует реакцию специфического связывания одной из 20 аминокислот с соответствующей тРНК |
| 4. мРНК | Матрица содержит линейную последовательность кодонов, определяющих первичную структуру белков |
| 5. Рибосомы | Рибонуклеопротеиновые субклеточные структуры, являющиеся местом синтеза белков |
| 6. АТФ, ГТФ | Источники энергии |
| 7. Белковые факторы инициации, элонгации, терминации | Специфические вне ribосомные белки, необходимые для процесса трансляции (12 факторов инициации: eIF; 2 фактора элонгации: eEF1, eEF2, и факторы терминации: eRF) |
| 8. Ионы магния | Кофактор, стабилизирующий структуру рибосом |

Примечания: eIF (*eukaryotic initiation factors*) — факторы инициации; eEF (*eukaryotic elongation factors*) — факторы элонгации; eRF (*eukaryotic releasing factors*) — факторы терминации.

Схема реализации генетической информации в фенотипические признаки.

- Реализацию потока информации в клетке можно представить схемой ДНК-"РНК-"белок. ДНК-"РНК" обозначает биосинтез молекул РНК (транскрипцию); РНК-"белок" означает биосинтез полипептидных цепей (трансляцию).

