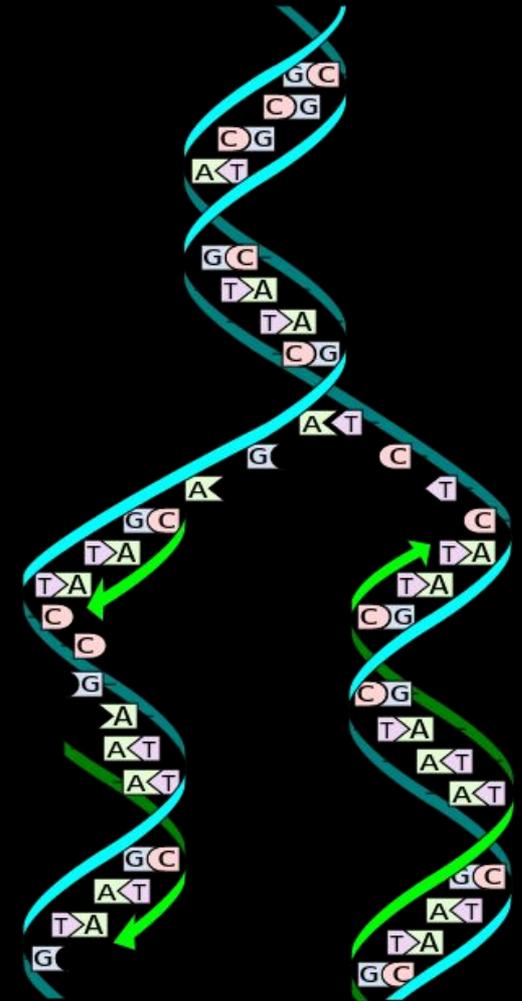
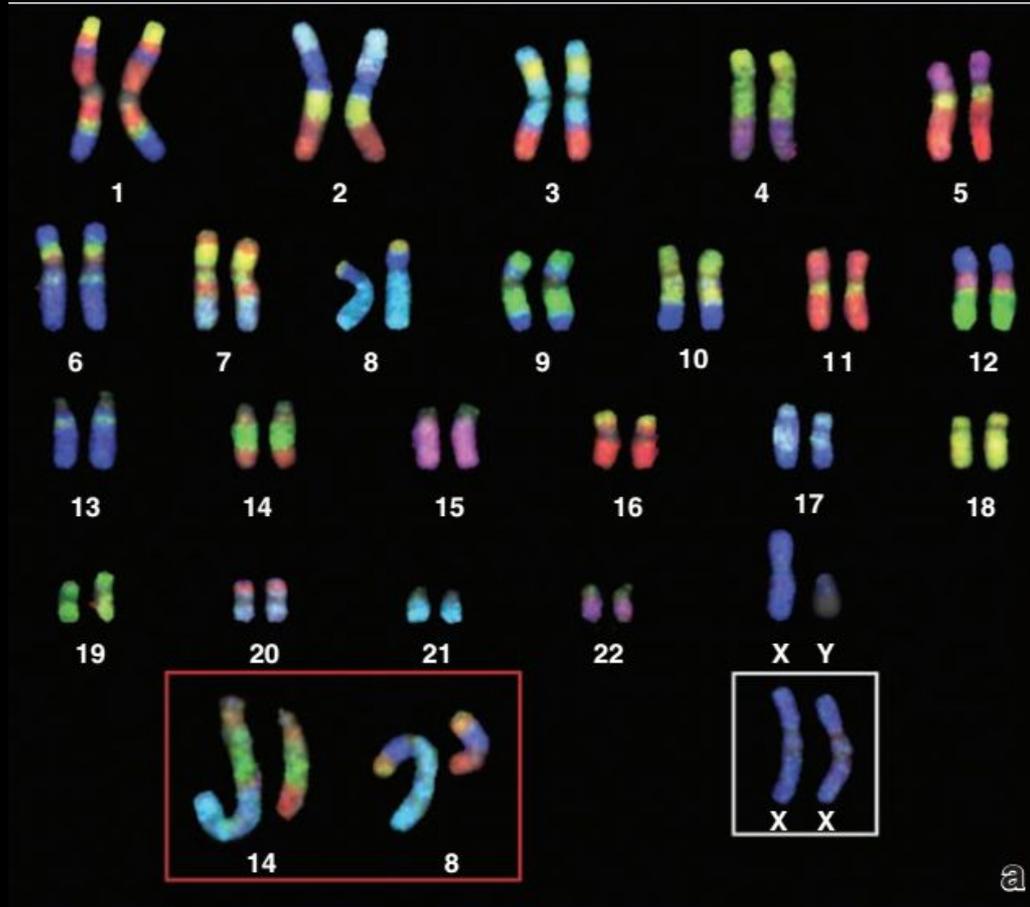


Матричные биосинтезы



Доц. каф. химии и биохимии ЧГМА Бондаревич Е.А.

План занятия

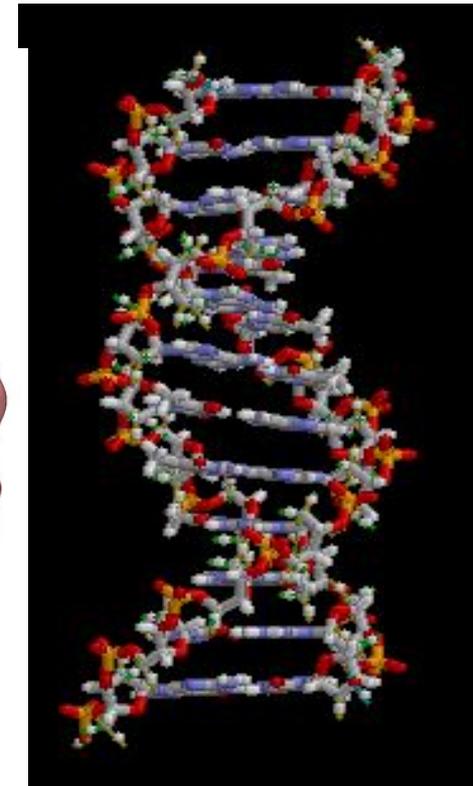
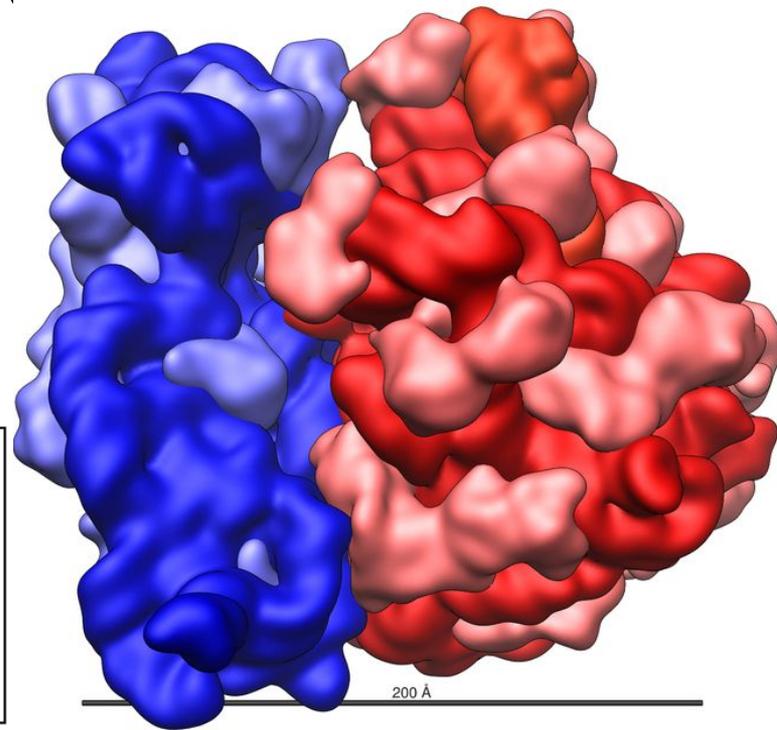
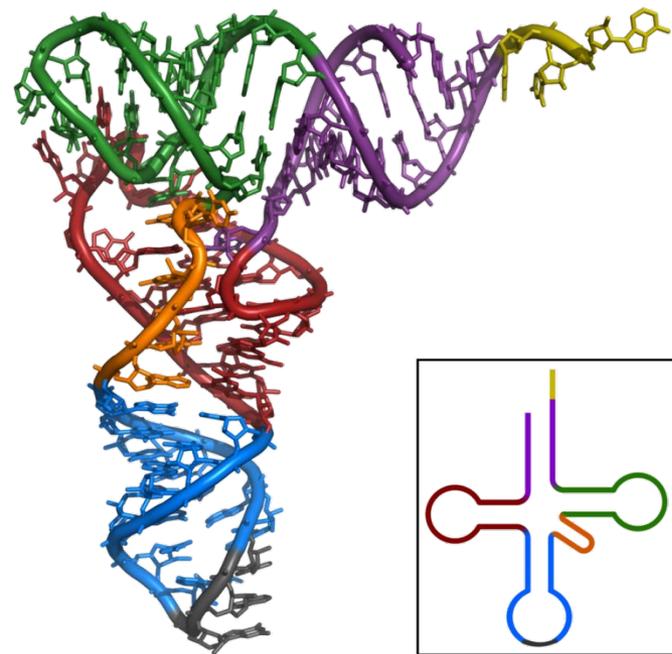
2

1. Нуклеиновые кислоты – строение, биологическая роль;
2. Методы исследования нуклеиновых кислот (самостоятельная работа)
3. Репликация ДНК;
4. Повреждение ДНК и репарация;
5. Транскрипция РНК;
6. Посттранскрипционная модификация РНК;
7. Обратная транскрипция у РНК-вирусов (самостоятельная работа);
8. Биосинтез белка (трансляция);
9. Фолдинг и посттрансляционная модификация

Виды нуклеиновых кислот

3

- Дезоксирибонуклеиновые кислоты (ДНК): ядерная и митохондриальная (кольцевая);
- Рибонуклеиновые кислоты: мРНК, тРНК, рРНК, мяРНК



Функции ДНК

4

1. Хранение запаса генетической информации, необходимой для кодирования структуры всех белков и РНК каждого вида организма;
2. Регуляция во времени и пространстве биосинтеза компонентов клеток и тканей;
3. Определение деятельности организма в течение его жизненного цикла;
4. Обеспечение индивидуальности данного организма.

Функции РНК

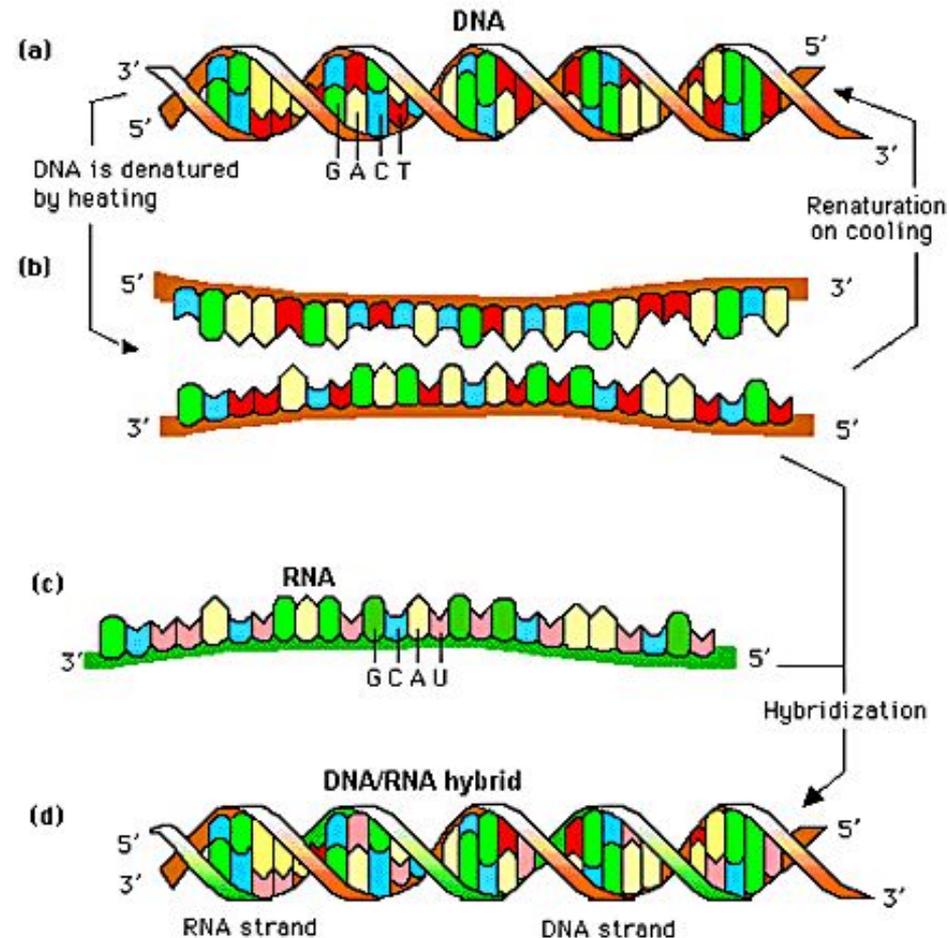
5

- Перевод языка нуклеотидов в язык аминокислот белковых молекул;
- Формируют нуклеопротеидный комплекс рибосом;
- Регулируют метаболизм клеток и специфичность образования определённых белков при протекании альтернативного сплайсинга;
- Участвуют в поддержании целостности теломер.

Структура нуклеиновых кислот

6

- Первичная – одноцепочечные молекулы;
- Вторичная – спирализованные структуры, состоящие из двух молекул (ДНК или ДНК-РНК-гибрид), или из одной молекулы, спирализующейся в определённых участках в форме «шпилек».



Вторичная структура ДНК

7

Правила Эрвина Чаргаффа (1949-1951 гг.):

- Число пуриновых оснований равно количеству пиримидиновых: $\frac{A+G}{C+T} = 1$ или $A + G = C + T$;
- Количество А и Ц равно количеству Г и Т: $\frac{A+C}{G+T} = 1$ или $A + C = G + T$;
- Количество А равно количеству Т, а количество Г равно количеству Ц: $\frac{A}{T} = 1$; $\frac{G}{C} = 1$.
- Коэффициент специфичности, который отражает соотношение $\frac{A+G}{C+T}$ у эукариот ниже единицы (0,54 – 0,94) у прокариот – выше единицы.

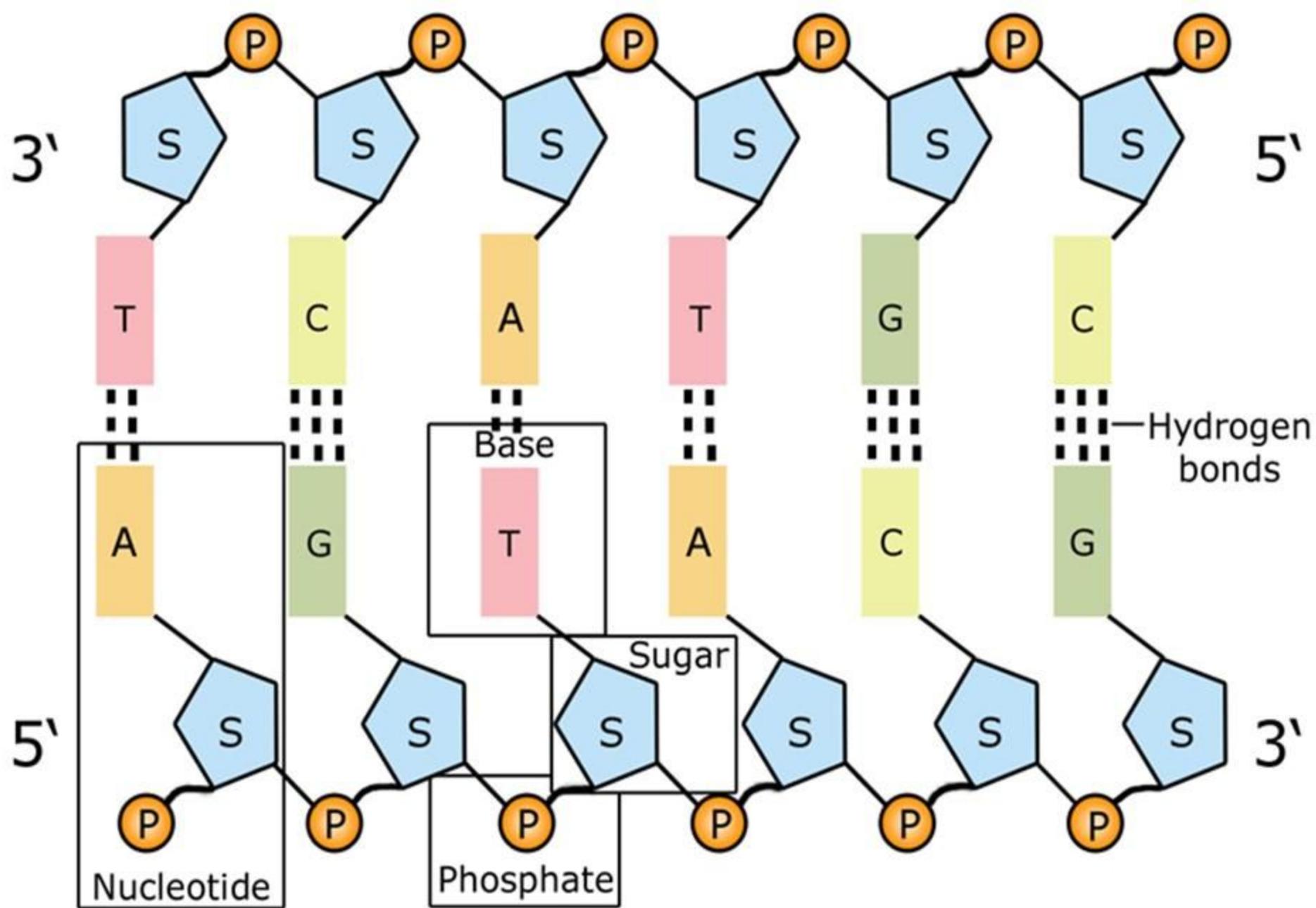
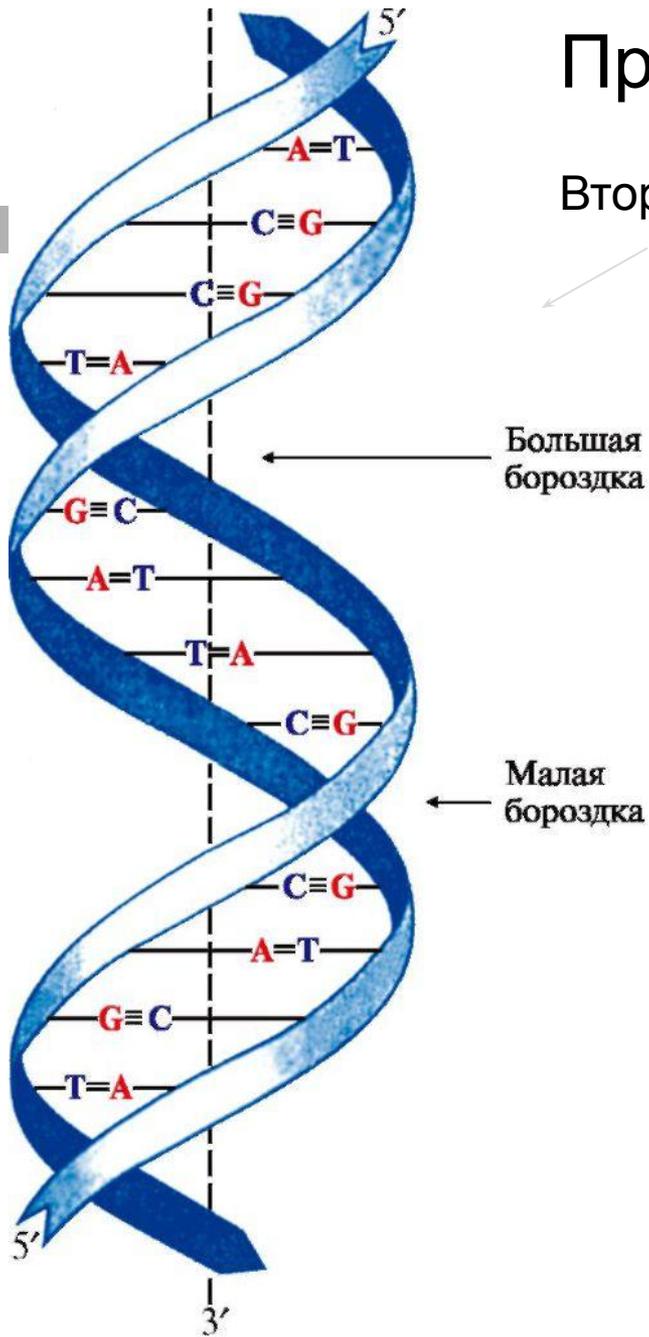


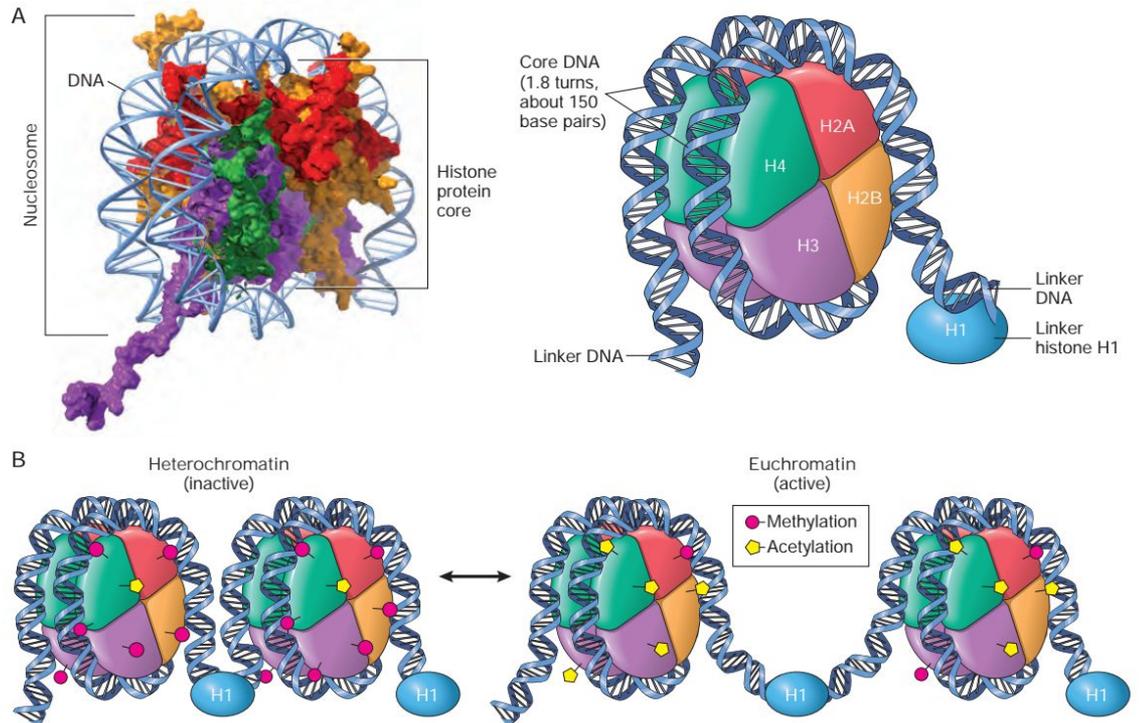
Image adapted from: National Human Genome Research Institute.

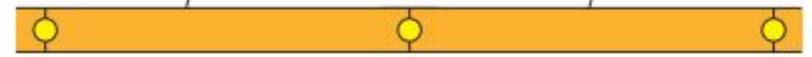
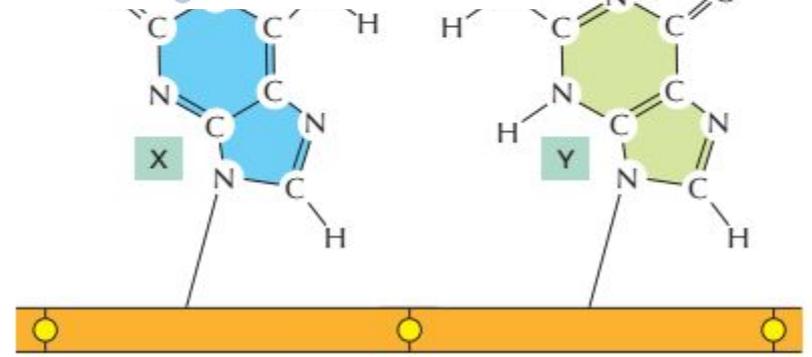
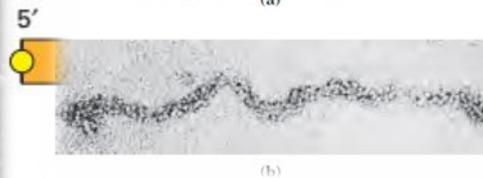
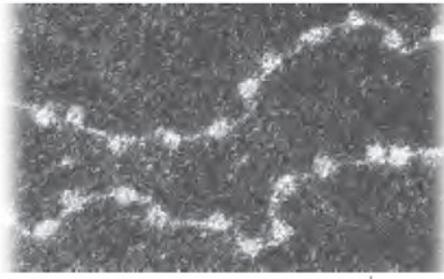
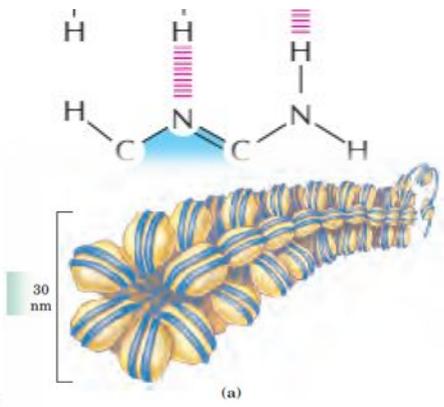
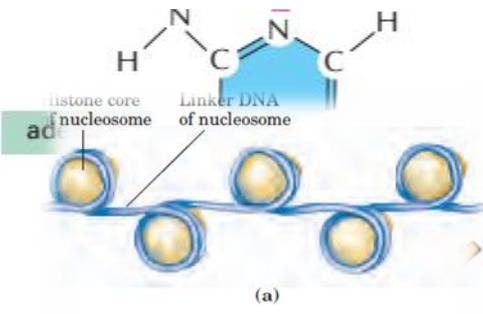
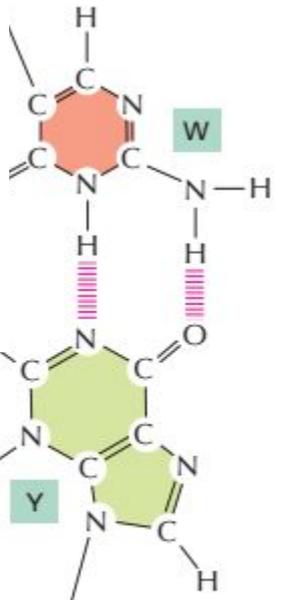
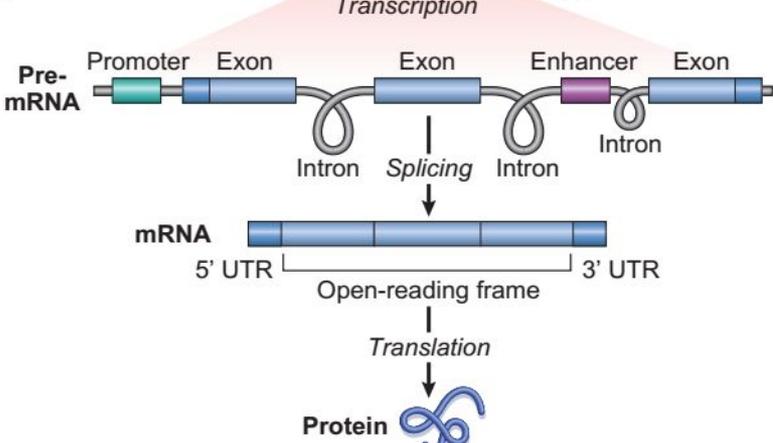
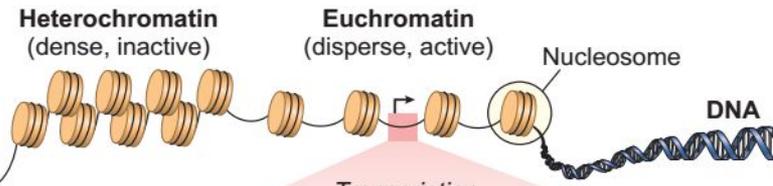
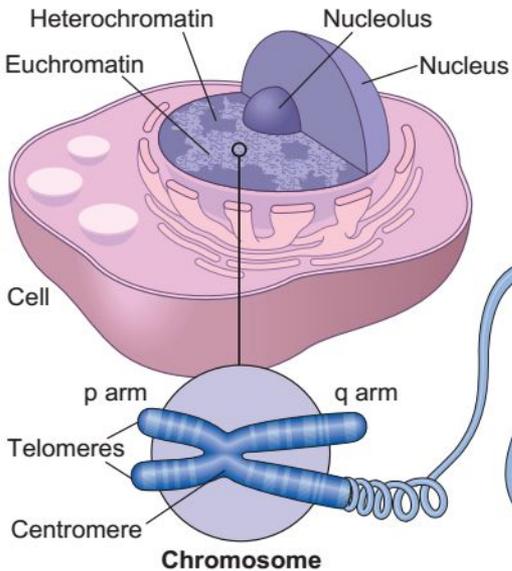
Пространственная структура ДНК

Вторичная структура ДНК



Нуклеосома

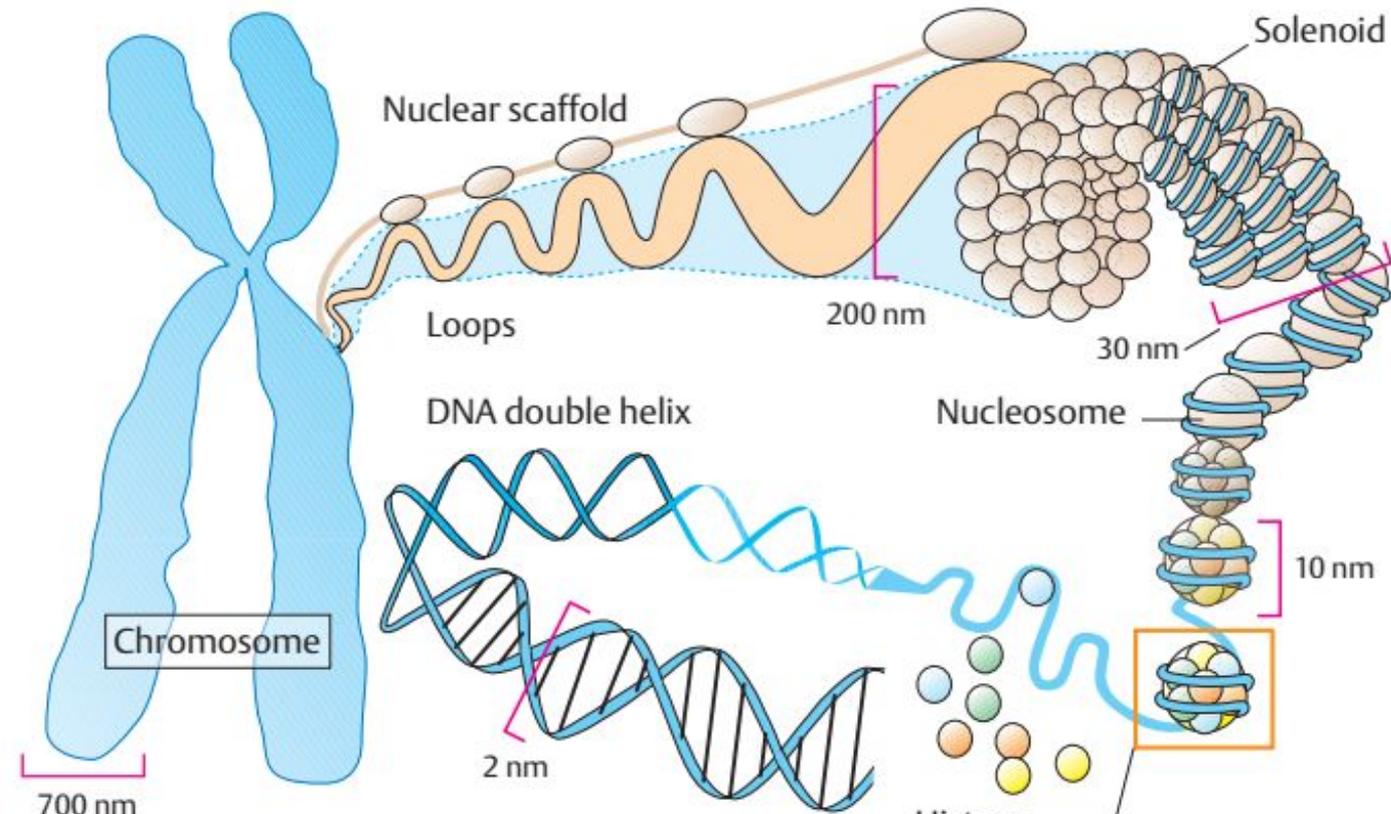




Третиичная структура ДНК

- ДНК в клетке имеет длину 1,74 м, однако молекула упакована в хромосомы, которые занимают только часть часть объема ядра клетки.
- Хромосомы состоят из хроматина – комплекс ДНК с РНК и белками.
- Транскрипционно-неактивных хроматин – гетерохроматин;
- Транскрипционно-активный хроматин – эухроматин.

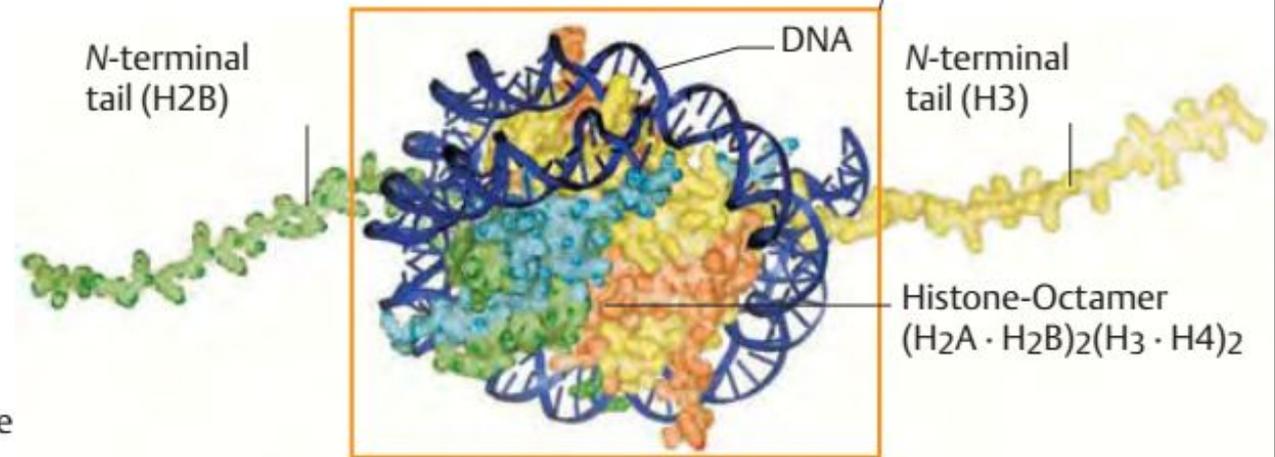
A. Chromatin



1. Organization of chromatin

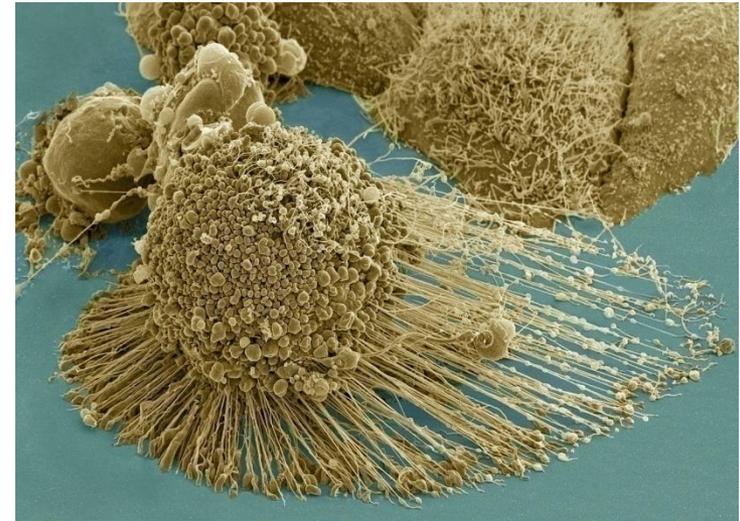
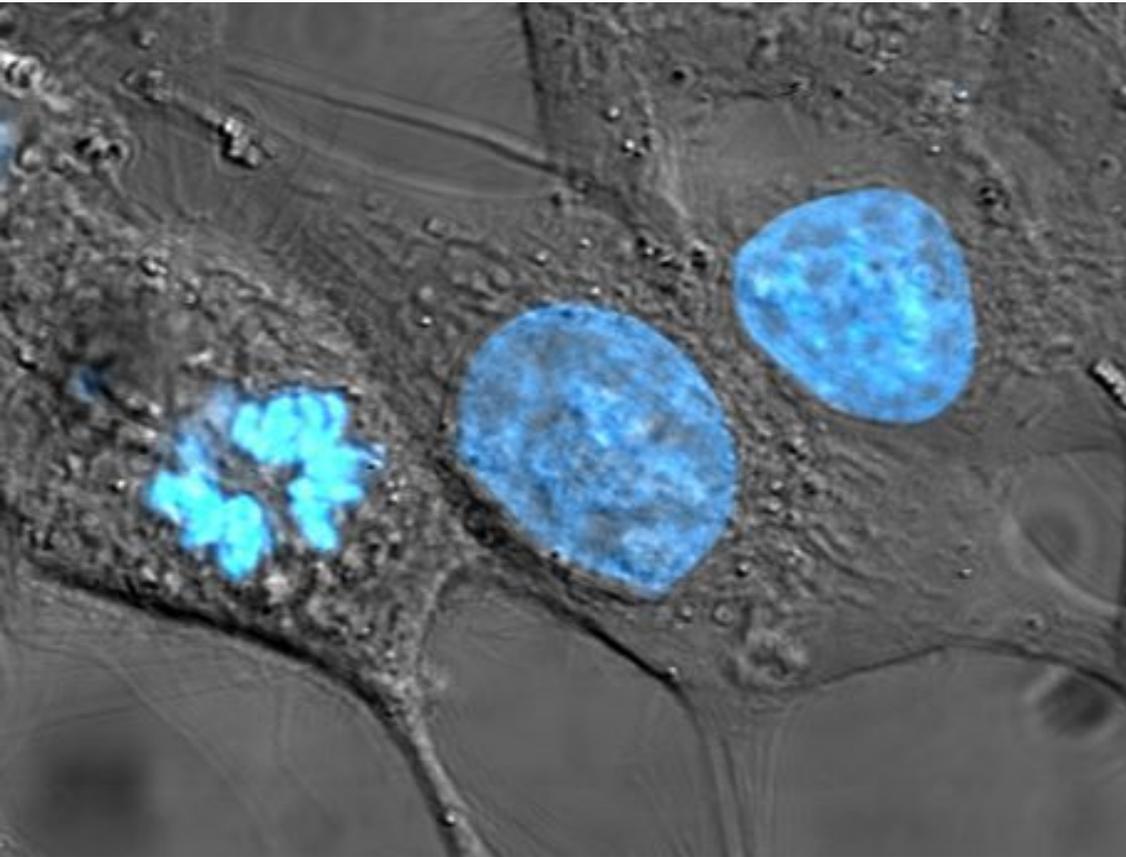
-  H₂A
-  H₂B
-  H₃
-  H₄

2. Nucleosome



Клетки HeLa, ДНК окрашена синим красителем Hoechst. Центральная и правая клетка находятся в интерфазе, и у них окрашено всё ядро. Левая клетка претерпевает митоз, поэтому ДНК конденсирована и окрашено не всё ядро

13



HeLa - линия «бессмертных» клеток. Получена 8.02.1951 года из раковой опухоли шейки матки пациентки по имени Генриетта Лакс (англ. Henrietta Lacks), умершей от этого заболевания 4 октября того же года.

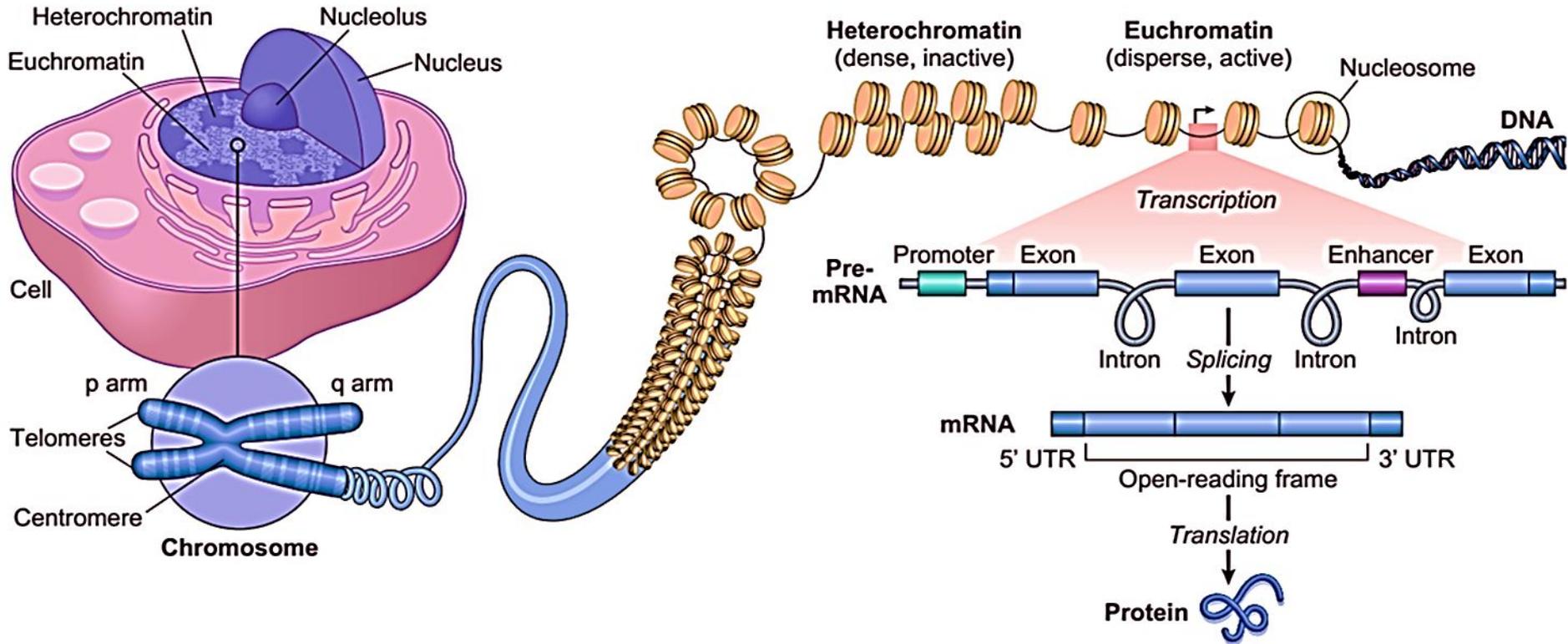
Методы изучения нуклеиновых кислот

14

- Рестрикционный анализ ДНК;
- Блоттинг: Саузерн- и нозерн-блоттинг технологии;
- Секвенирование ДНК;
- Синтез нуклеиновых кислот;
- Полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Центральная догма молекулярной биологии

15



Репликация



16

(от лат. *replicatio* - возобновление) - процесс синтеза дочерней ДНК на матрице родительской молекулы ДНК.

Синтез ДНК проходит по полуконсервативному механизму.

Репликация осуществляется в S-фазу клеточного цикла, которая предшествует делению клетки, удваивают содержание ДНК таким образом, что каждая дочерняя клетка после деления получает набор хромосом, идентичный родительской клетке.

Этапы репликации

17

1. Инициация – образование репликативных «пузыря» и вилок;
2. Элонгация – синтез дочерних цепей на матрице материнской цепи;
3. Терминация – удаление РНК-праймеров, завершение синтеза дочерних ДНК

Таблица 8.8. Основные ферменты и белки, участвующие в процессе репликации

Белок	Функция
DnaB белок	Главный белок праймосомы раскручивает ДНК в сайте <i>ori</i>
DnaC белок	Образует комплекс с DnaB
Белок Rep	Хеликаза (раскручивает ДНК в репликационной вилке)
Праймаза (dnaG)	Синтезирует РНК-затравку
ДНК-полимераза III	Полимераза, катализирующая репликацию
SSB	Связывается с одноцепочечной ДНК в репликативной вилке для предотвращения образования двойной спирали
ДНК-полимераза I	Удаляет РНК-затравку, заполняя пробел
ДНК-лигаза	Катализирует образование 3',5'-фосфодиэфирной связи, соединяя фрагменты Оказаки
Топоизомераза I	Ослабляет суперспирализацию ДНК
Топоизомераза II	Разделяет ДНК после репликации

Инициация (начало) репликации

19

- **ДНК-топоизомеразы**, находясь перед репликативной вилкой, разрезают молекулу ДНК для облегчения ее расплетания и раскручивания.
- **ДНК-хеликазы**, следуя за топоизомеразами, раскручивают и расплетают молекулу ДНК.

- **ДНК-связывающие белки** (*ssb-protein* от англ. *Single-strand binding protein*) связывают расплетённые нити ДНК и стабилизируют их, не допуская обратного "слипания" друг с другом.

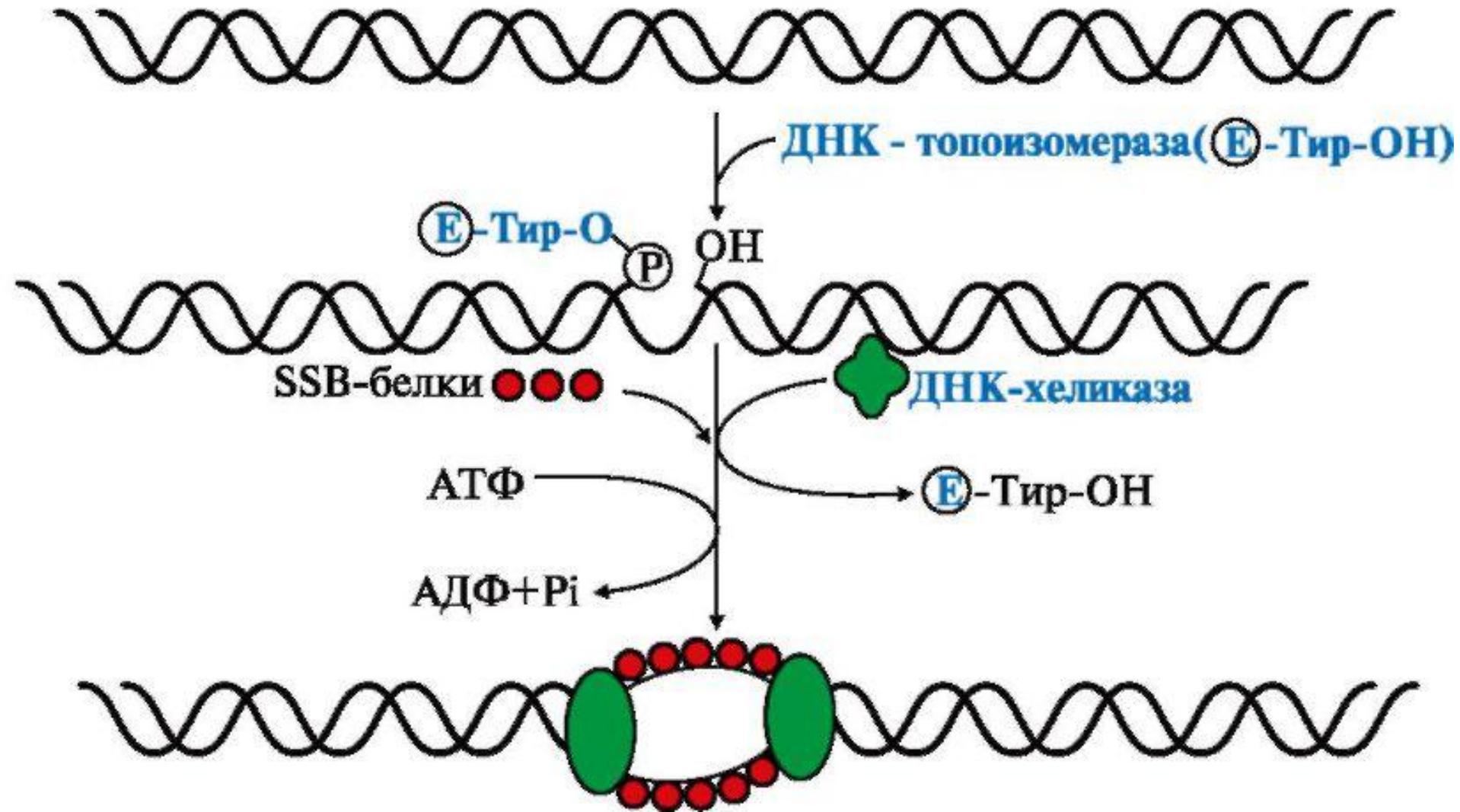
Важнейшие белки и ферменты, участники репликации ДНК

21

Белки, ферменты	Основная функция
ДНК-полимеразы	Полимеризация дезоксирибонуклеотидов
Хеликаза	Раскручивание цепей ДНК
Топоизомераза	Релаксация положительной сверхспирализации
Праймаза	Синтез РНК-праймера
Белки ssb (англ. <i>Single-strand binding protein</i>) Белки, связывающие одноцепочечную ДНК	Препятствуют обратной рекомбинации расплетенных цепей в двойной спирали
ДНК-лигаза	Соединяет фрагменты Оказаки на отстающей цепи

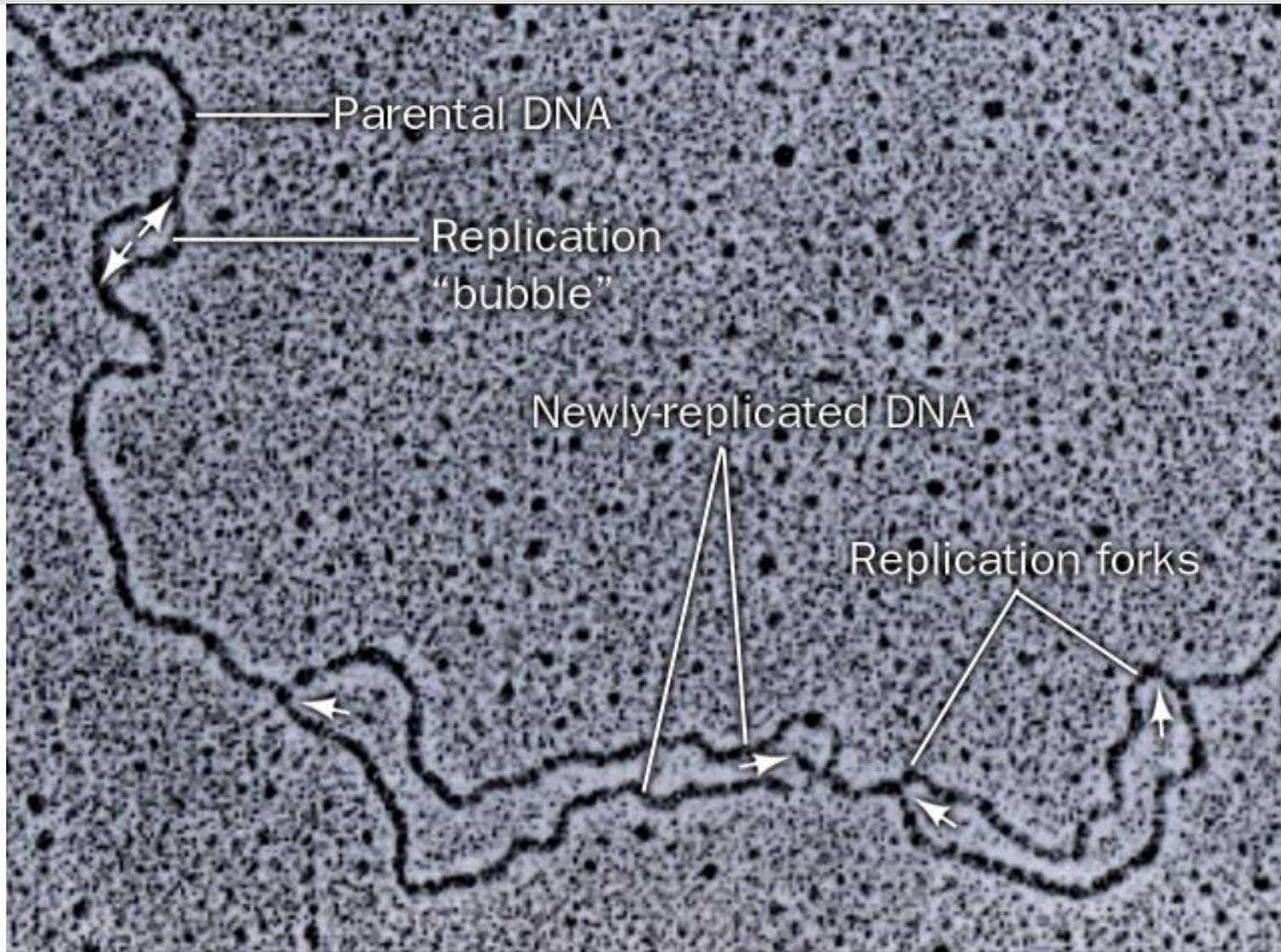
Образование репликативной вилки с участием ДНК-топоизомеразы и хеликазы

22

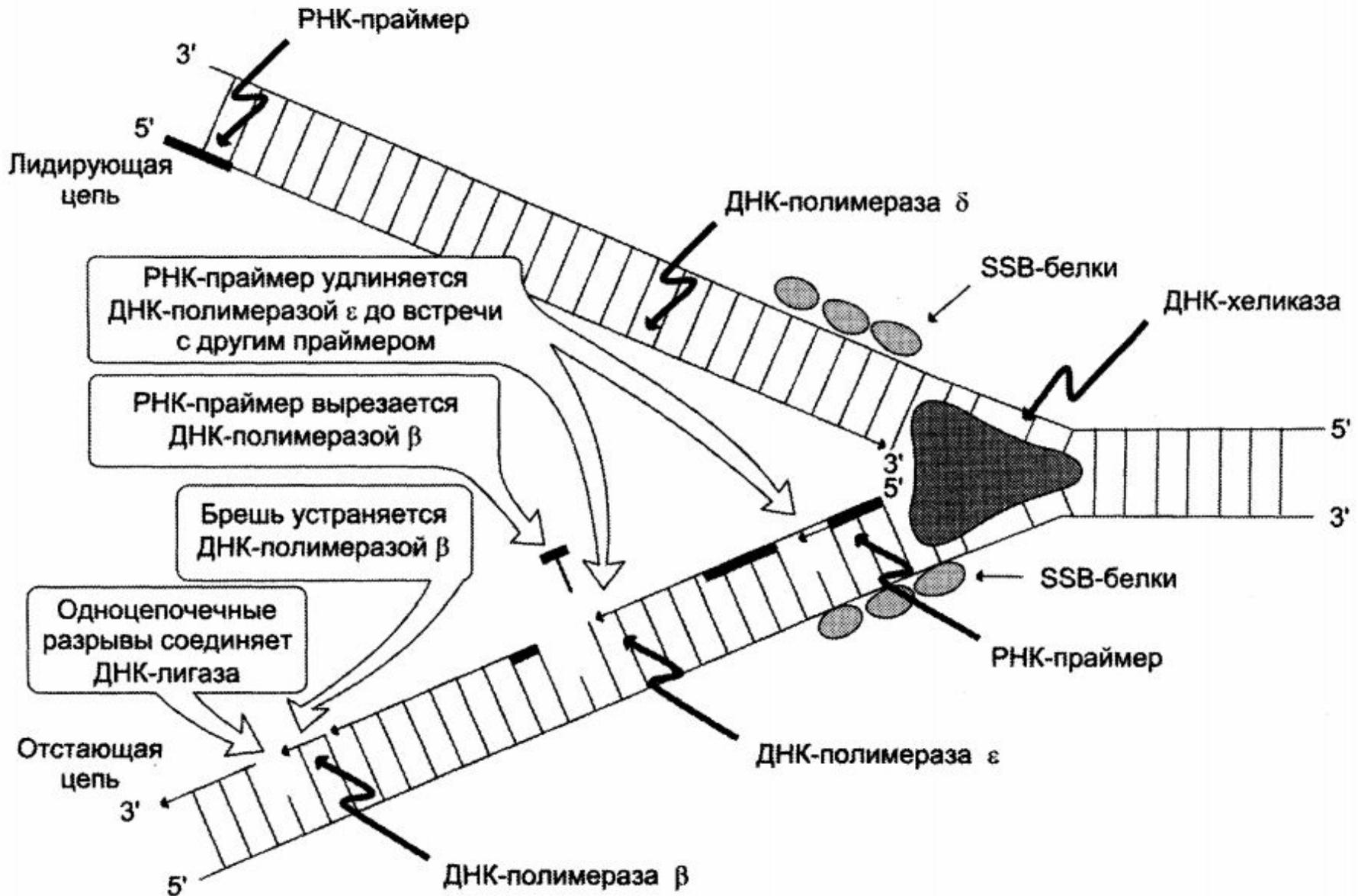


Репликативные вилка и «пузыри»

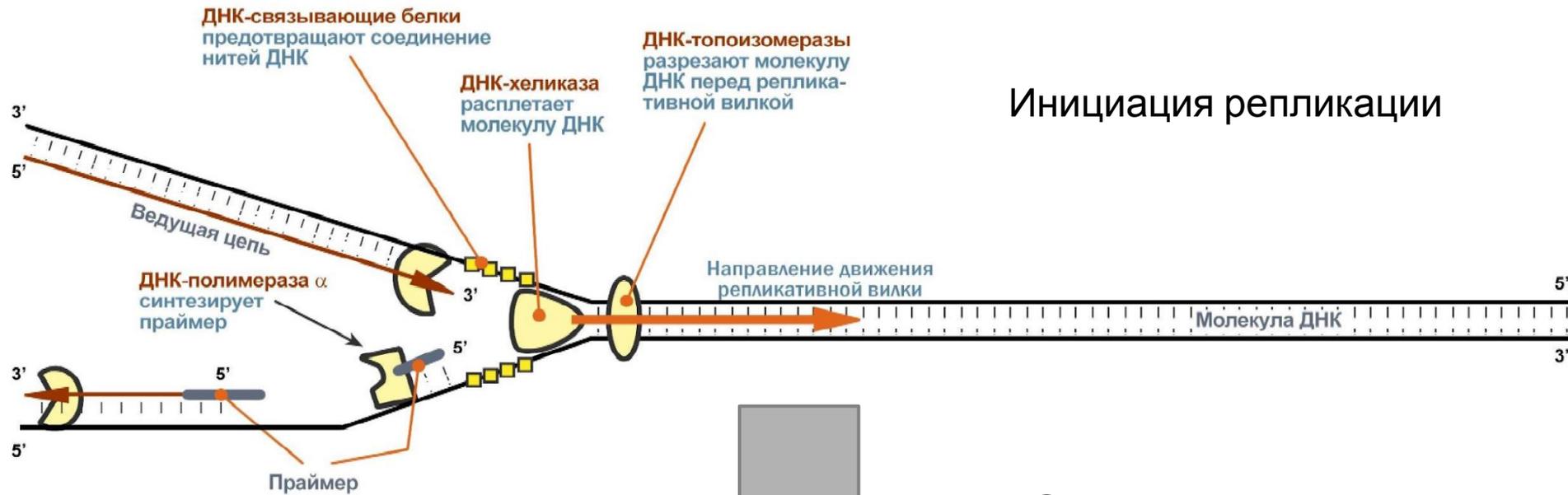
23



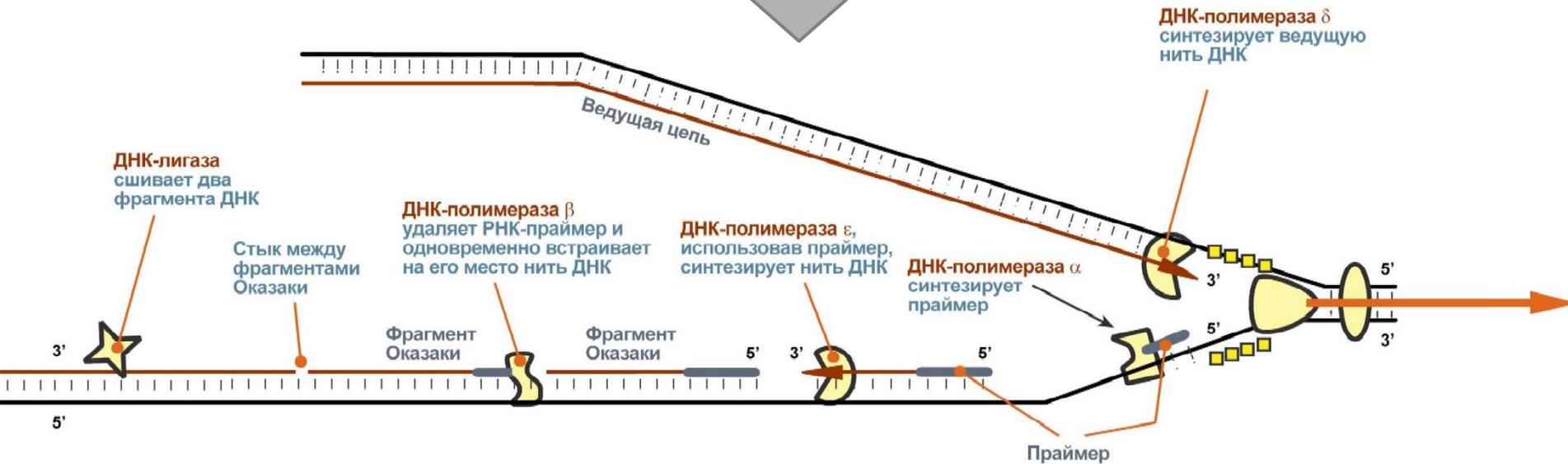
Элонгация

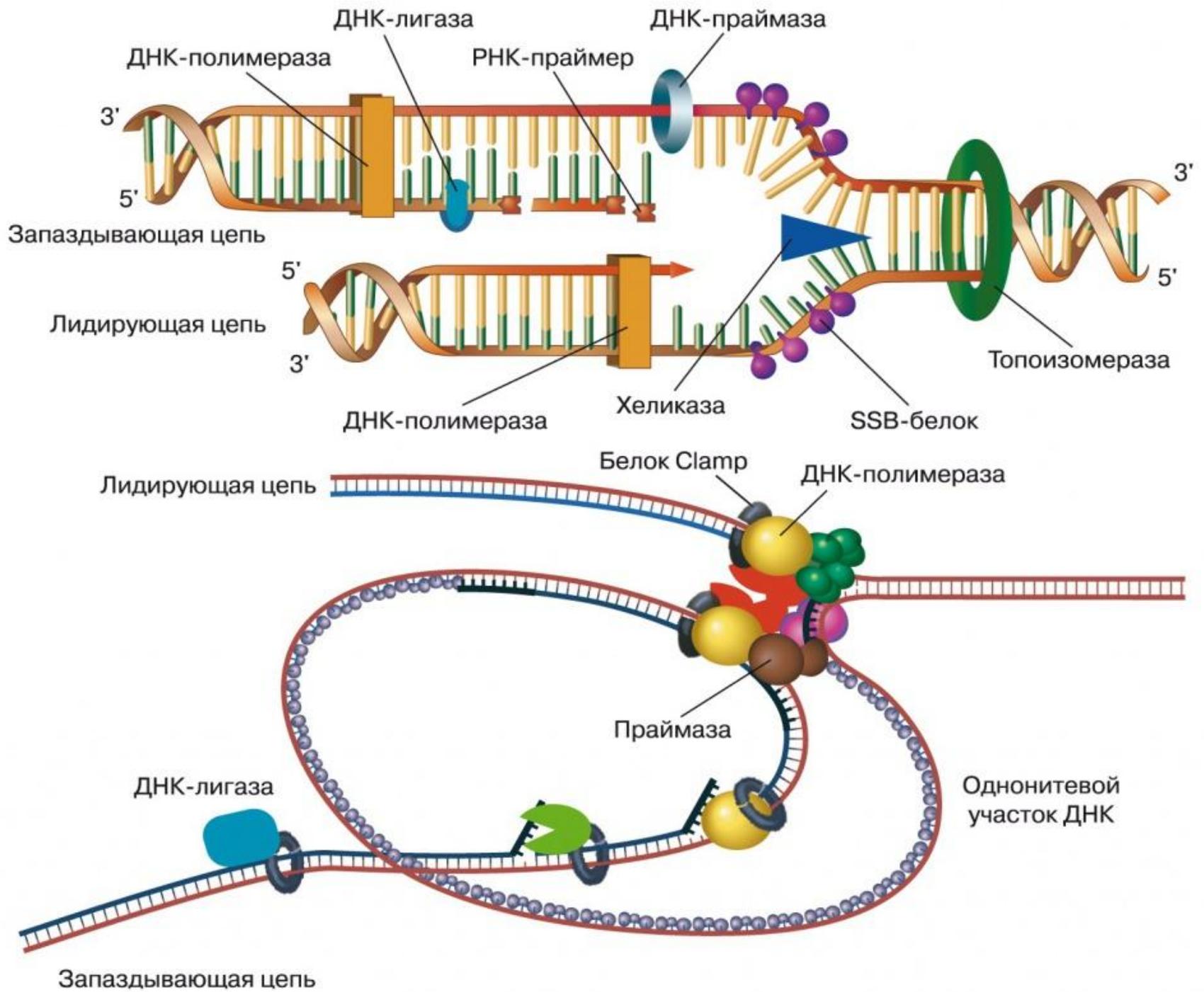


Инициация репликации



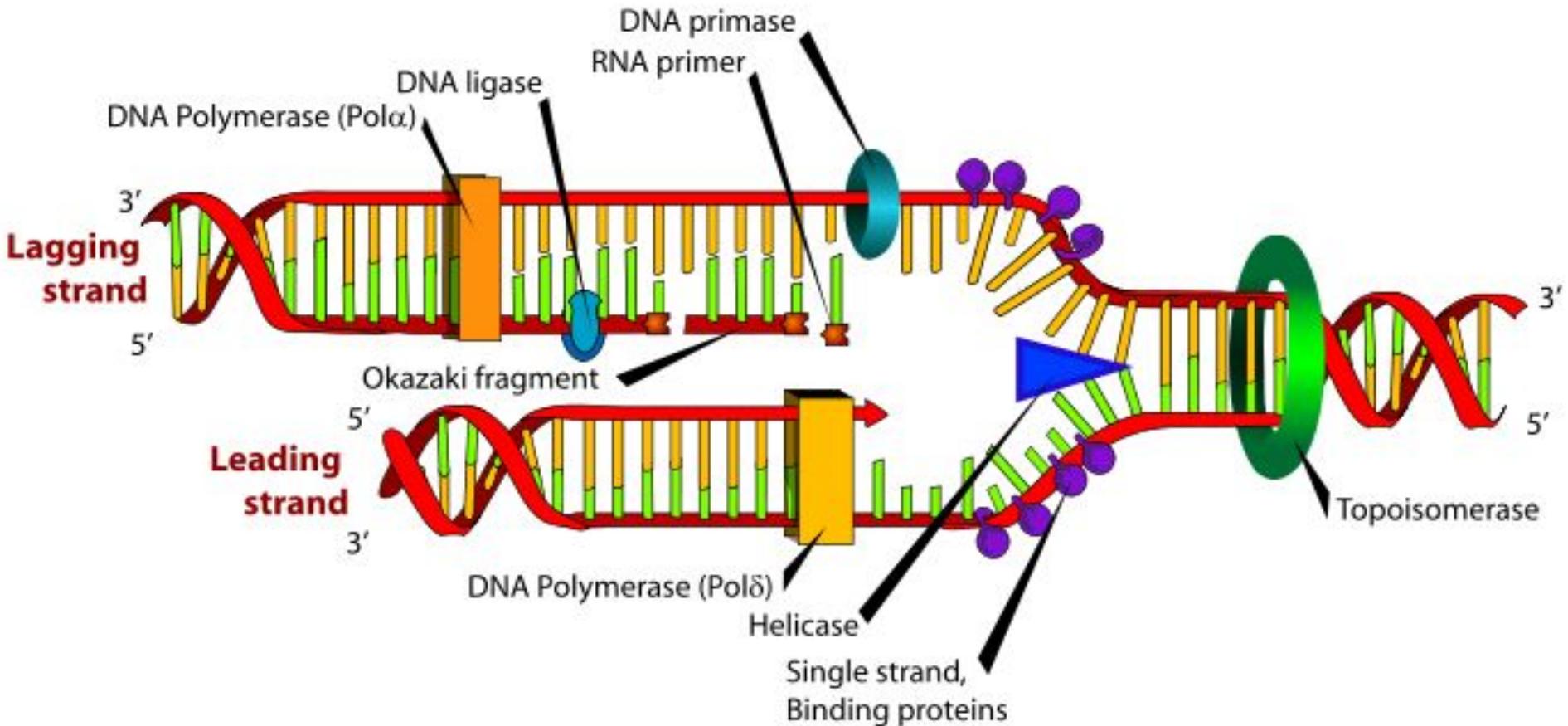
Элонгация репликации





Праймаза синтезирует олигорибонуклеотид (праймер или затравку), с которого начинается синтез ДНК с участие ДНК-полимеразы

27

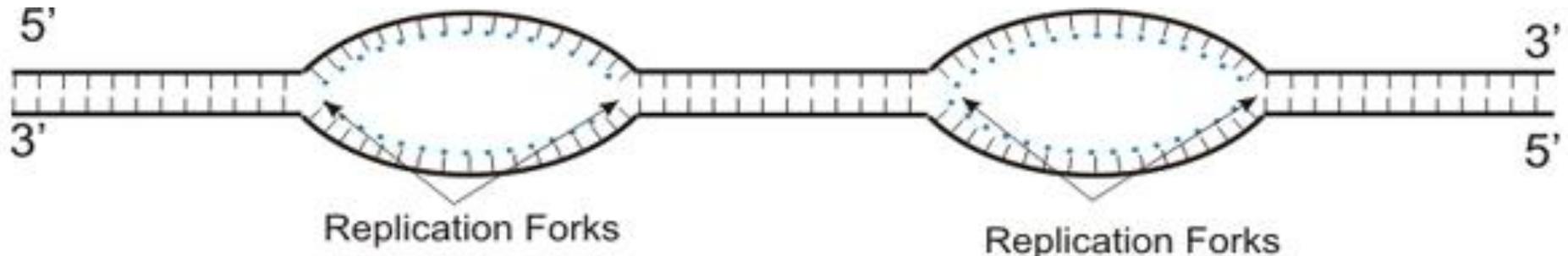


- В отстающей нити праймер удаляется эндонуклеазой или **РНКазой**. Затем **ДНК-полимераза β** заполняет образованную «брешь». Связывание 3'-ОН-группы одного фрагмента с 5'-фосфатом предыдущего фрагмента и образование фосфодиэфирной связи катализирует **ДНК-лигаза**. Фермент, используя энергию АТФ, из множества фрагментов **Оказаки** образует

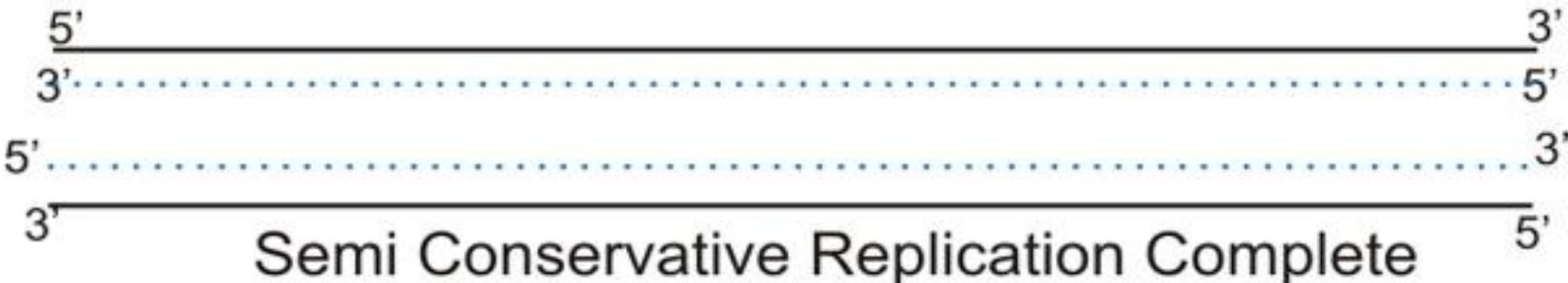
Терминация

29

- Репликация прекращается, когда встречаются две репликативные вилки.



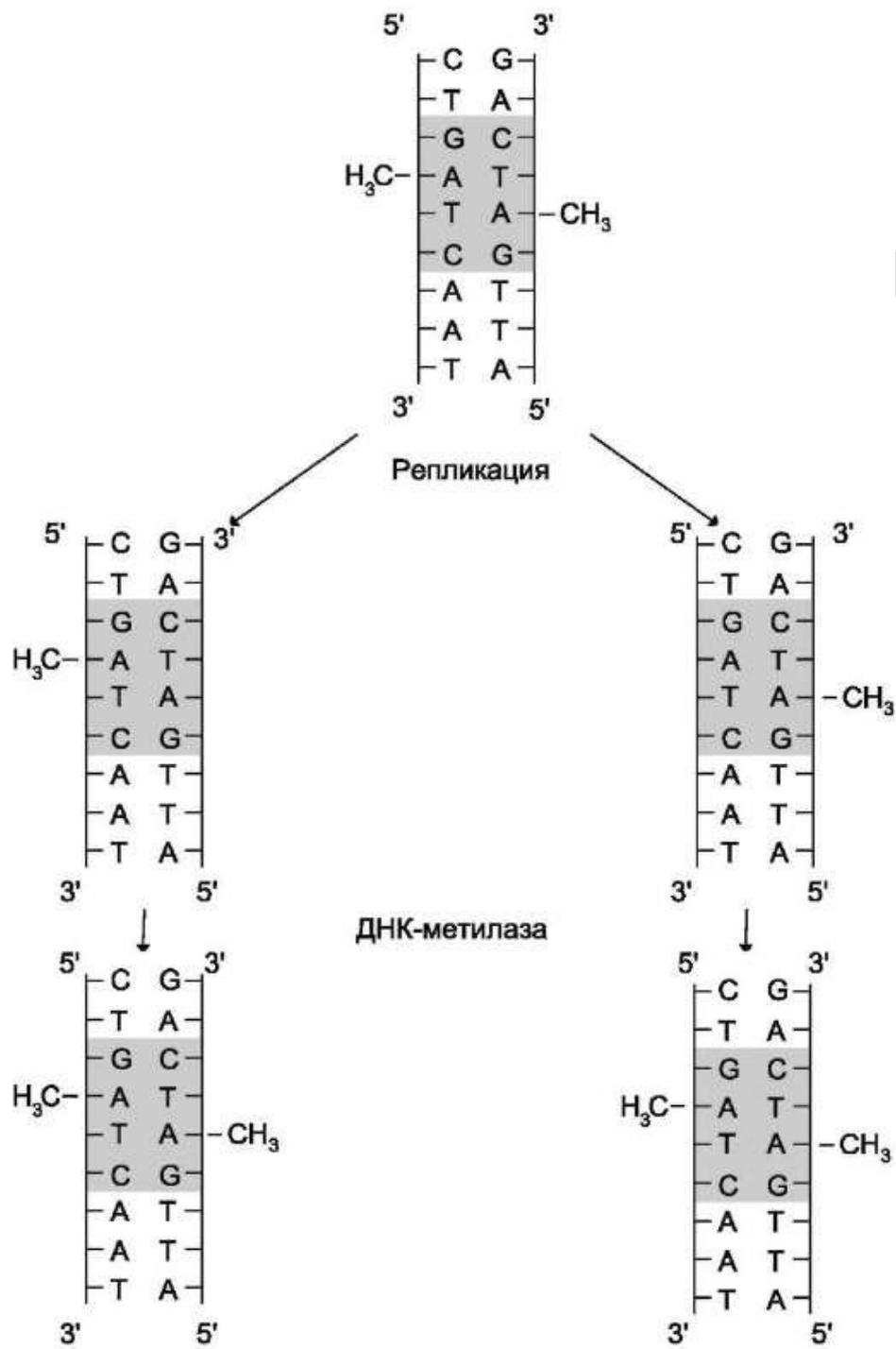
Replication bubbles form in DNA



Процессинг

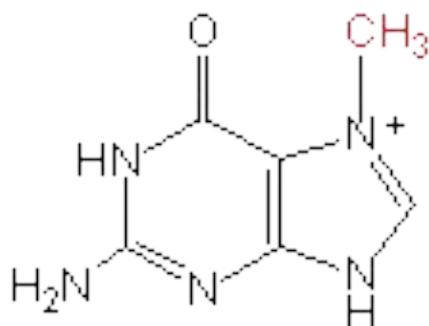
30

- Химическая модификация: метильные группы к остаткам аденина в последовательности -GATC- образуются в процессе репликации. Метилирование цитозина в последовательности -CpG- образует метильные группы к остаткам цитозина.
- Наличие метильных групп в последовательности -GATC- нарушает комплементарность пар оснований, что приводит к образованию структур х-формирования структуры х-регуляции транскрипции генов.
- Непродолжительное время существования последовательности -GATC- только в матричной, но не в вновь синтезированной ДНК. Вновь синтезированная ДНК не используется ферментами для метилирования, что приводит к ошибкам, которые могут возникнуть.

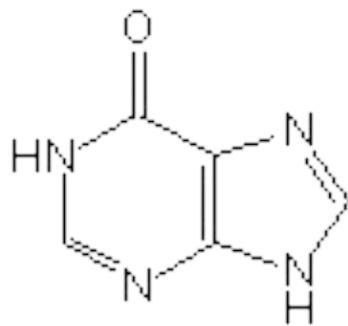


Минорные азотистые основания

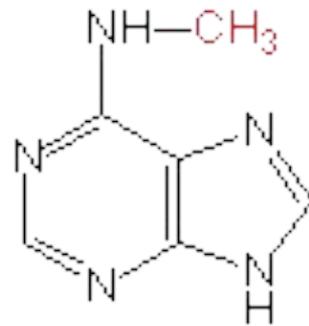
31



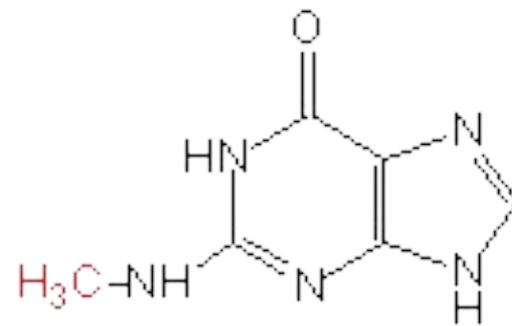
7-метилгуанин



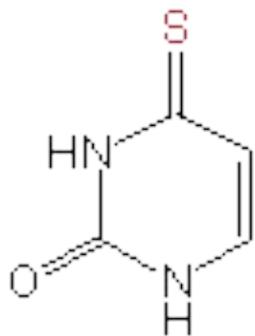
хипоксантин



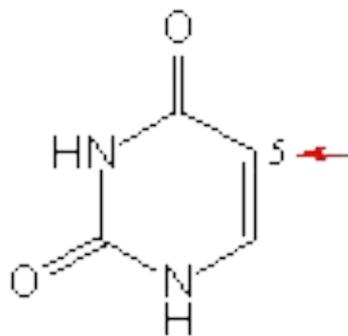
N⁶-метиладенин



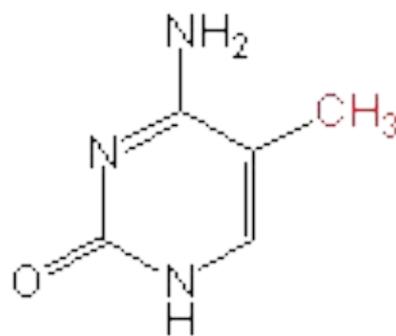
N²-метилгуанин



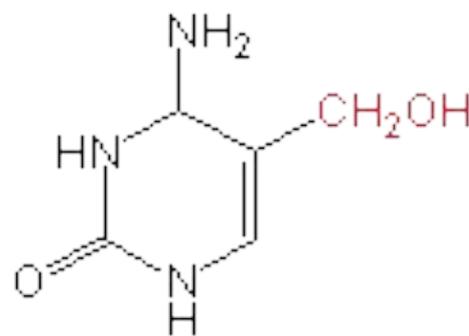
4-тиоурацил



псевдоурацил



5-метилцитозин



5-гидроксиметилцитозин

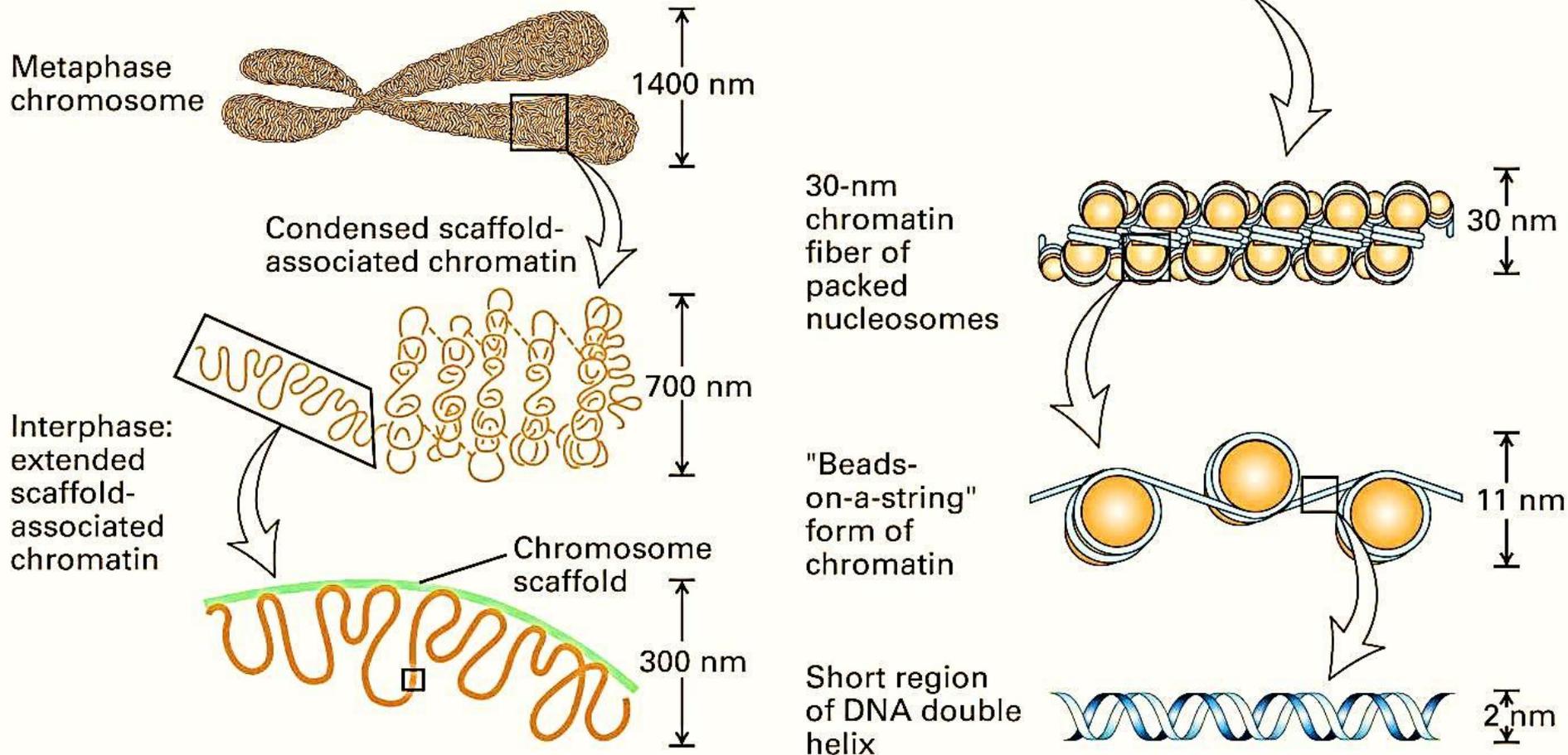
Процессинг

32

- Спирализация – образование двухспиральной структуры;
- Суперспирализация – формирование хроматина;
- Стабилизация – формирование хромосом с участками гетеро- и эухроматина.

Суперскрученность ДНК

33



Теломеры

- концевые участки хромосом. Теломерные участки хромосом характеризуются отсутствием способности к соединению с другими хромосомами или их фрагментами и выполняют защитную функцию.
- Теломера нормальной человеческой клетки имеет длину 5-15 тысяч пар нуклеотидов и не несёт никакой генетической информации.

- У человека теломера состоит из многократно повторяющейся нуклеотидной последовательности ДНК – ТТАГГГ. Такие повторы идут на протяжении всей теломеры. С каждым клеточным делением концы хромосом укорачиваются в среднем на 200 пар нуклеотидов. Это связано с неполным копированием концов цепей ДНК ферментом ДНК-полимеразой и удалением концевых РНК-праймеров (проблема концевой репликации). При этом 3'-конец цепи остаётся выступающим, так как синтез ДНК со свободных 5'-концов невозможен

Теломеры

- Теломеры принимают участие в поддержании жизненно важных процессов в клетке: защищают хромосомы от деградаци и служат механизмом, контролирующим число делений клетки и её запрограммированную гибель (апоптоз).
- Фермент, способный увеличивать длину теломерных последовательностей ДНК – теломераза (класс трансферазы).
- Активность теломеразы в клетке наблюдается при репликации ДНК.

КАК РАБОТАЕТ ТЕСТ

Теломеры рассматриваются, как яркие точки на конце хромосомы

Клетка

Ядро

Хромосома

Теломер

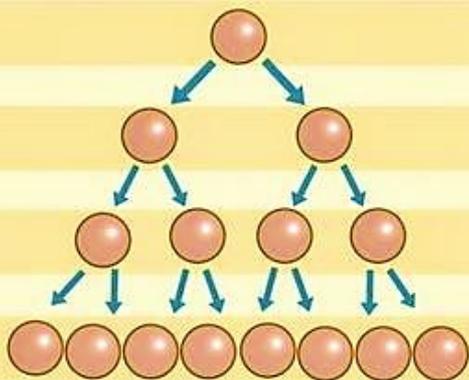
Теломеры состоят из катушек ДНК

Теломер

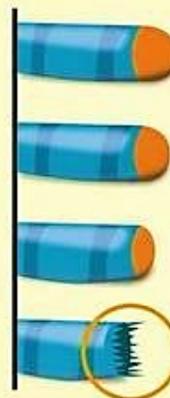
Теломеры расположены на концах всех хромосом, которые с возрастом постепенно становятся короче. Короткие теломеры связаны с преждевременным старением и многими болезнями. Измерив длину теломер, ученые могут увидеть, как быстро человек стареет, и вычислить его биологический возраст. Эти данные могут быть использованы для прогнозирования продолжительности жизни.

КАК СОКРАЩАЮТСЯ ТЕЛОМЕРЫ

ДЕЛЕНИЕ КЛЕТОК ТЕЧЕНИЕМ ВРЕМЕНИ



ТЕЛОМЕРЫ СОКРАЩАЮТСЯ С ВОЗРАСТОМ

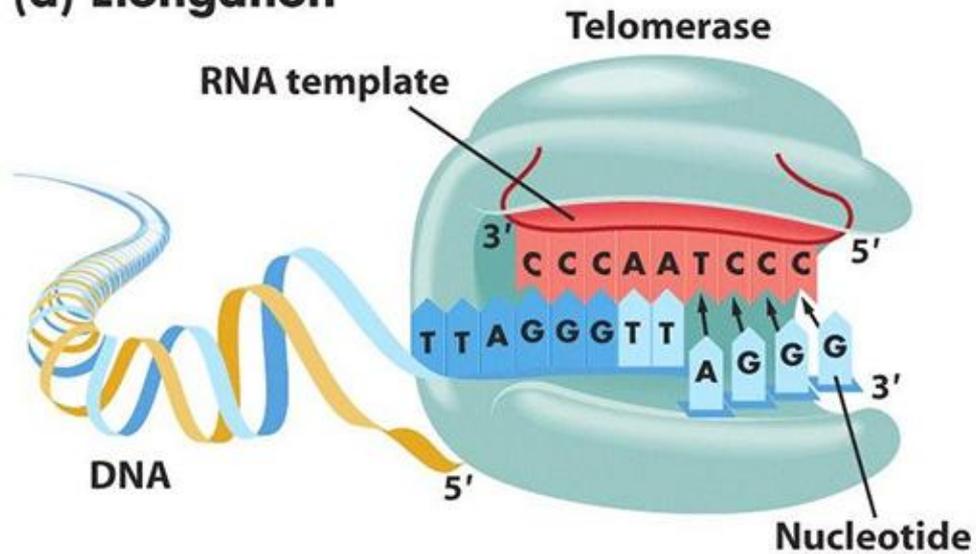


При каждом делении клетки теломеры укорачиваются - признак старения - в конце концов они стираются. Когда хромосомы повреждены, клетка умирает.

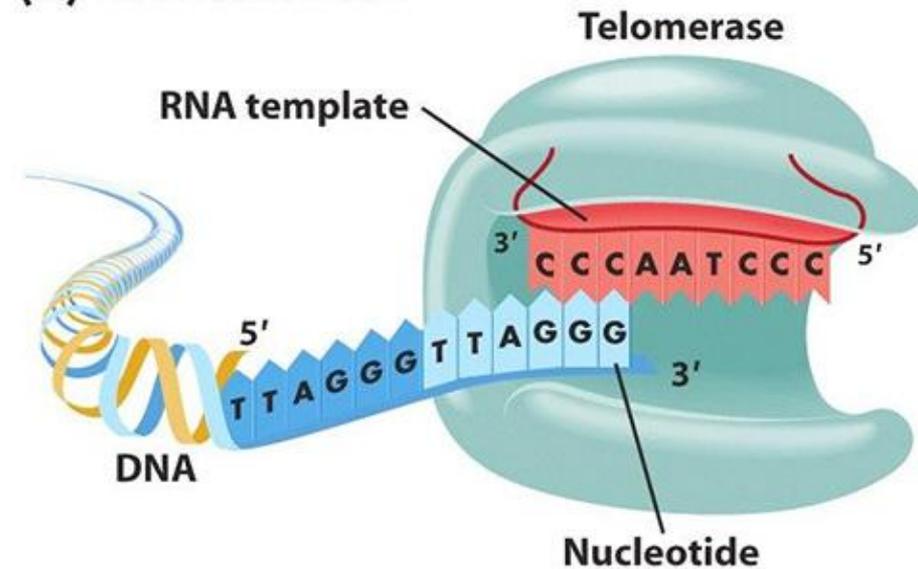
Работа теломеразы

38

(a) Elongation



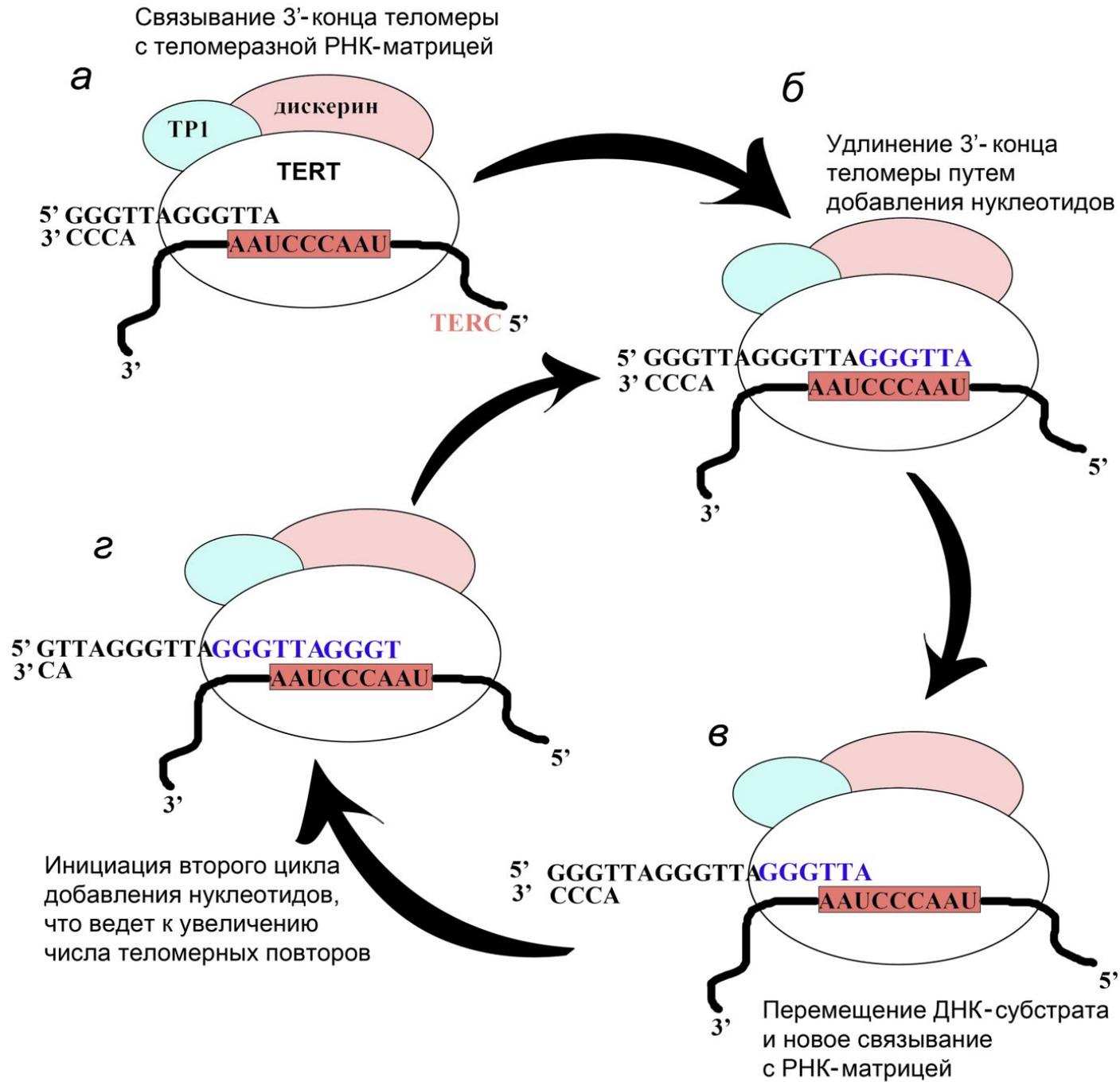
(b) Translocation

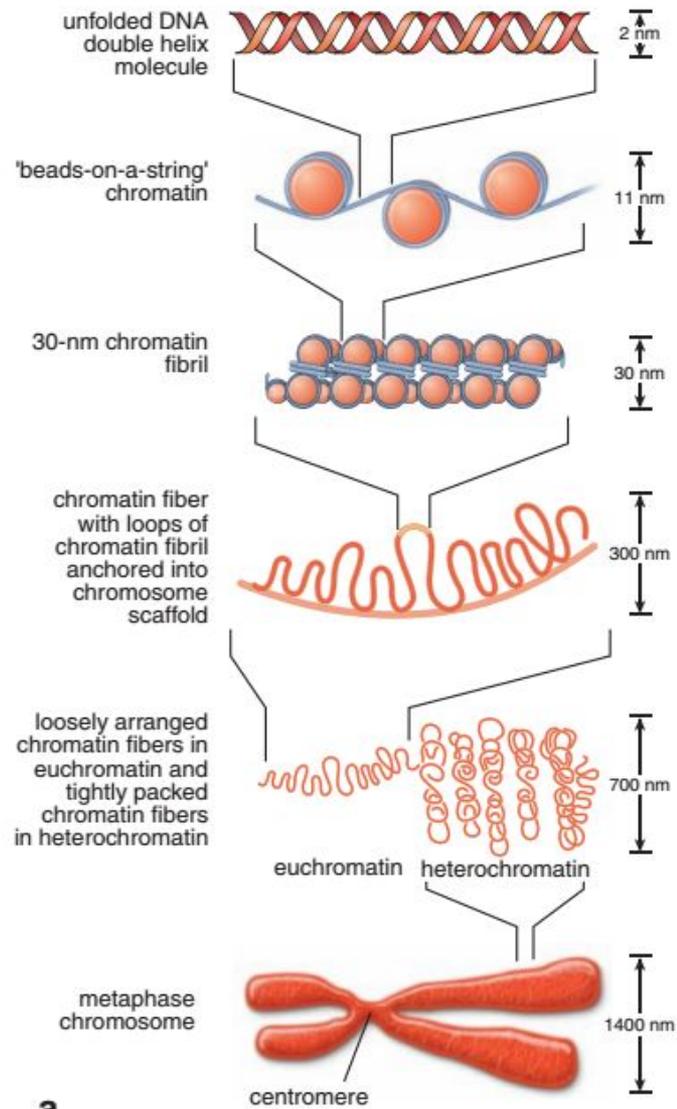


Синтез теломерного повтора происходит в 3 этапа:

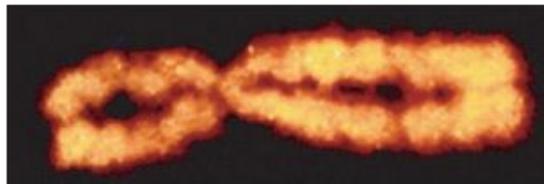
39

1. Связывание. Удлиняемый 3'-конец теломеры комплементарно соединяется с РНК-матрицей теломеразы.
2. Элонгация. Осуществляется достройка 3'-конца теломеры на матрице РНК. В результате синтезируется новый теломерный повтор. Эта реакция катализируется каталитической субъединицей теломеразы.
3. Транслокация. Фермент перемещается по теломерной ДНК. При этом свободная часть матричного участка РНК оказывается впереди 3'-конца теломеры. Далее стадии повторяются, в результате чего 3'-конец теломерной ДНК удлиняется на определенное число теломерных повторов.





a



b

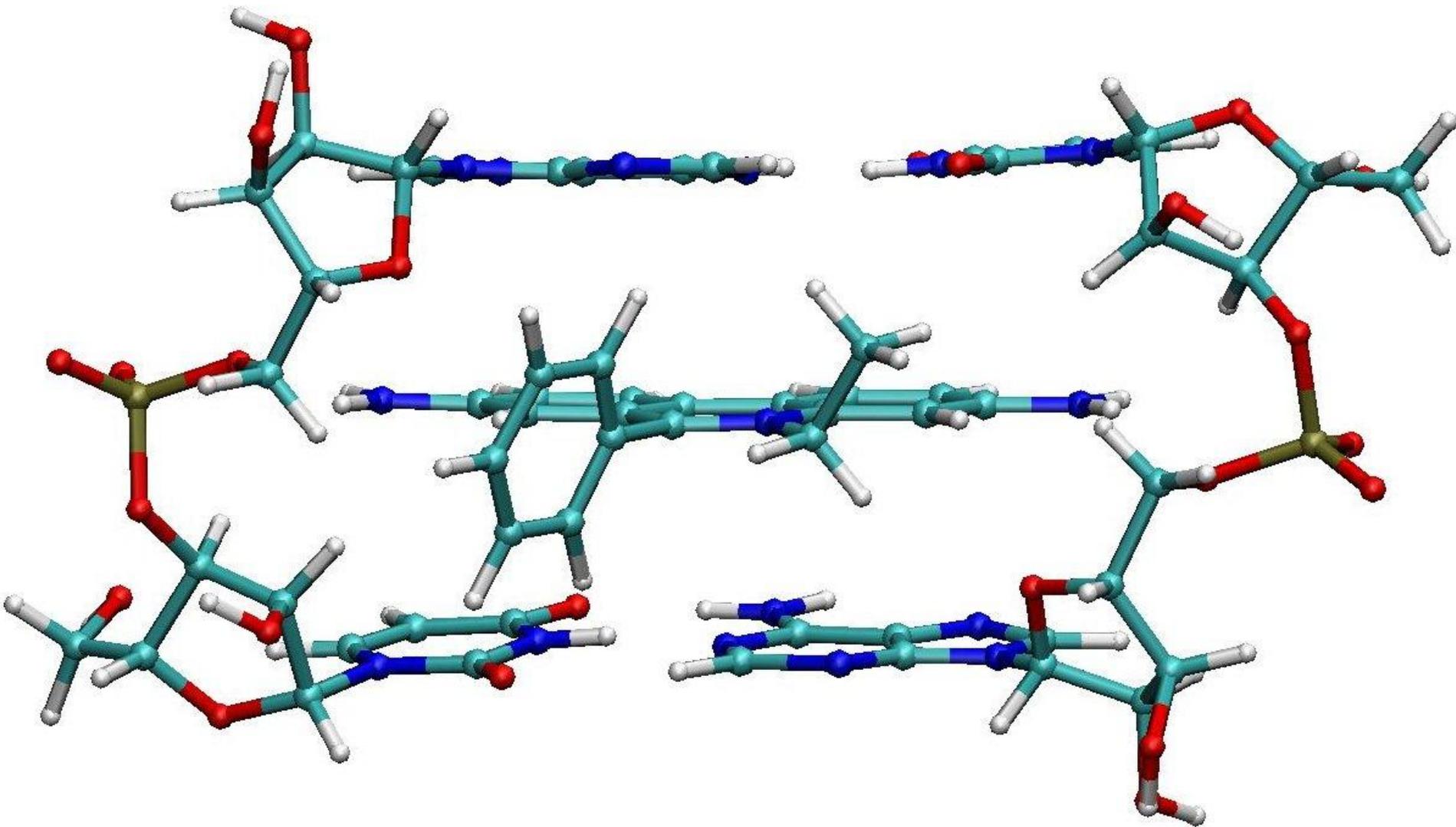
Репарация ДНК

42

- Повреждения ДНК:
 1. Гидролитическое отщепление NH_2 -групп от цитозина, аденина и гуанина с образованием урацила, гипоксантина и ксантина соответственно.
 2. Оксидативные повреждения – действие АФК. Факторы – УФ, высокоэнергетические излучения (рентген).
 3. Неферментное метилирование с образованием токсичного 7-метилгуанина, блокирующего репликацию.

Интеркаляция

43



Повреждение ДНК и вызывающие их факторы

44

Повреждение ДНК	Примеры причин
Отсутствие азотистого основания	Депуринизация (5000 пуринов в сутки на 1 клетку), удаление урацила (лезаминирование Ц – 100 за сутки на 1 клетку)
Измененное основание	Ионизирующая радиация, алкилирующие реактивы
Неправильное основание	Мутация, вызванная неправильной коррекцией ошибочно включенного основания
Интеркаляция - обратимое включение молекулы или группы между другими молекулами или группами	Ароматические соединения, вызывающие делеции и вставки
Димеры пиримидинов	Тиминовые димеры, образующиеся при действии УФ
Одноцепочечные разрывы ДНК	Разрыв ионизирующей радиацией или хим. Реагентами (напр., блеомицином)
Двухцепочечные разрывы	Разрыв молекул свободными радикалами
Поперечные сшивки между цепями	Ковалентное связывание цепей бифункциональными алкилирующими веществами (напр., митомицином)

Аминокислота	N-Фен	АРГ	Три	Иле	Ала	Асн-С
mРНК	5'-UUU	CGA	UGG	AUA	GCC	AAU-3'
ДНК	3'-AAA	GST	ACC	TAT	CGG	NNF 5'
	5'-TTT	CGA	TGG	ATA	GCC	AAT 3'

Миссенс-мутация

3'-AAT GCT ACC TAT CGG TTA-5'
 3'-TTA SGA TGG ATA GCC AAT-3'

N-Лей АРГ Три Иле Ала Асн-С

Нонсенс-мутация

3'-AAA GCT ATC TAT CGG TTA-5'
 3'-TTT CGA TAG ATA GCC AAT-3'

N-Фен АРГ Терм

Сдвиг рамки считывания (вставка)

3'-AAA GCT ACC ATA TCG GTT A-5'
 3'-TTT CGA TGG TAT AGC CAA T-3'

N-Phe Arg Trp Tyr Ser Gln

Сдвиг рамки считывания (делеция)

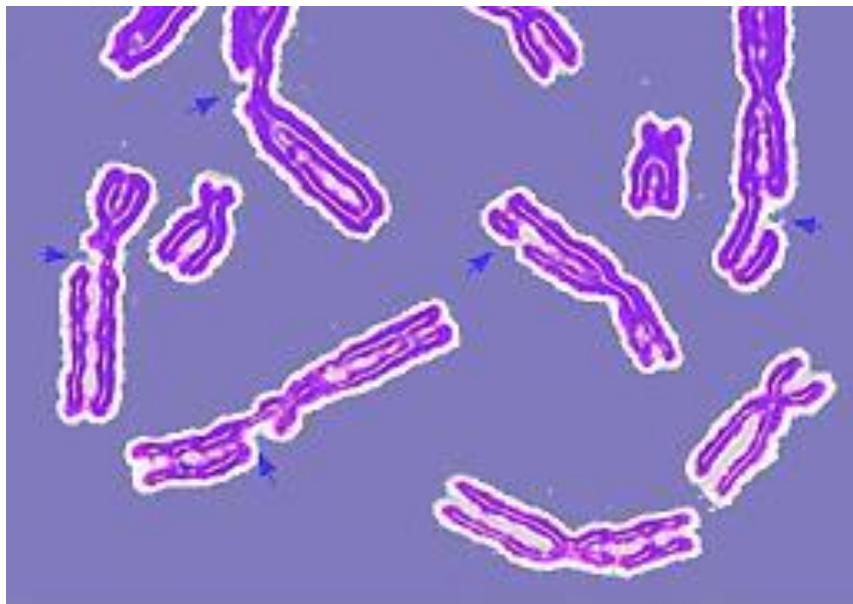
GCTA
 CGAT

3'-AAA CCT ATC GGT TA-5'
 3'-TTT GGA TAG CCA AT-3'

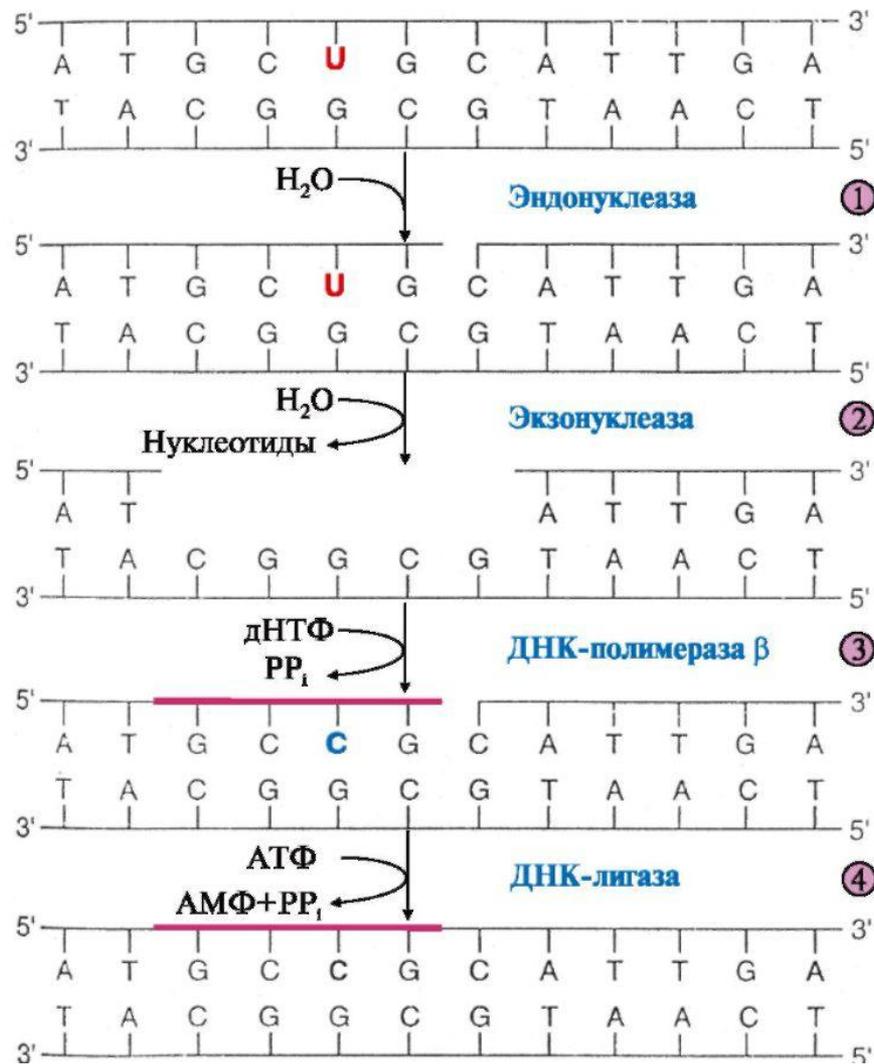
N-Фен Гли Терм

Схема репарации ДНК по типу «вырезания – вставки»

46



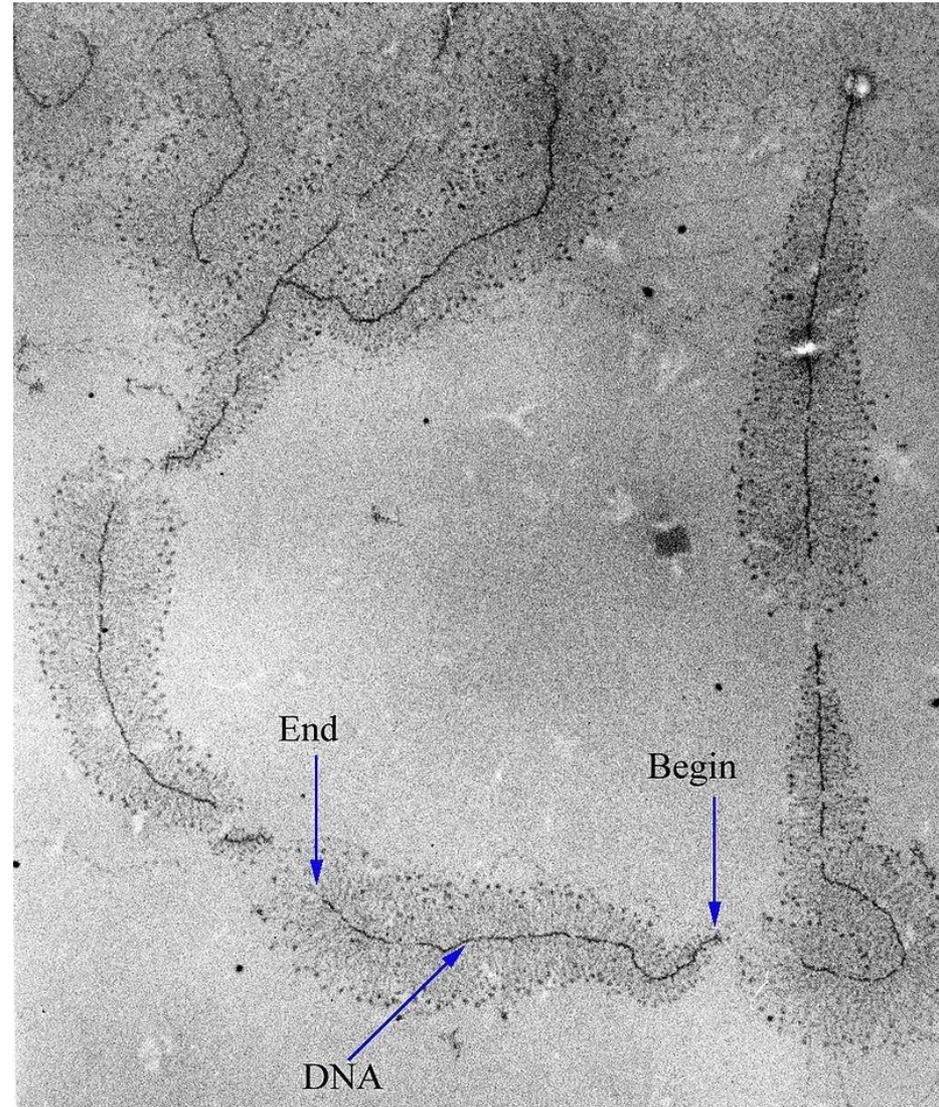
Повреждённые хромосомы



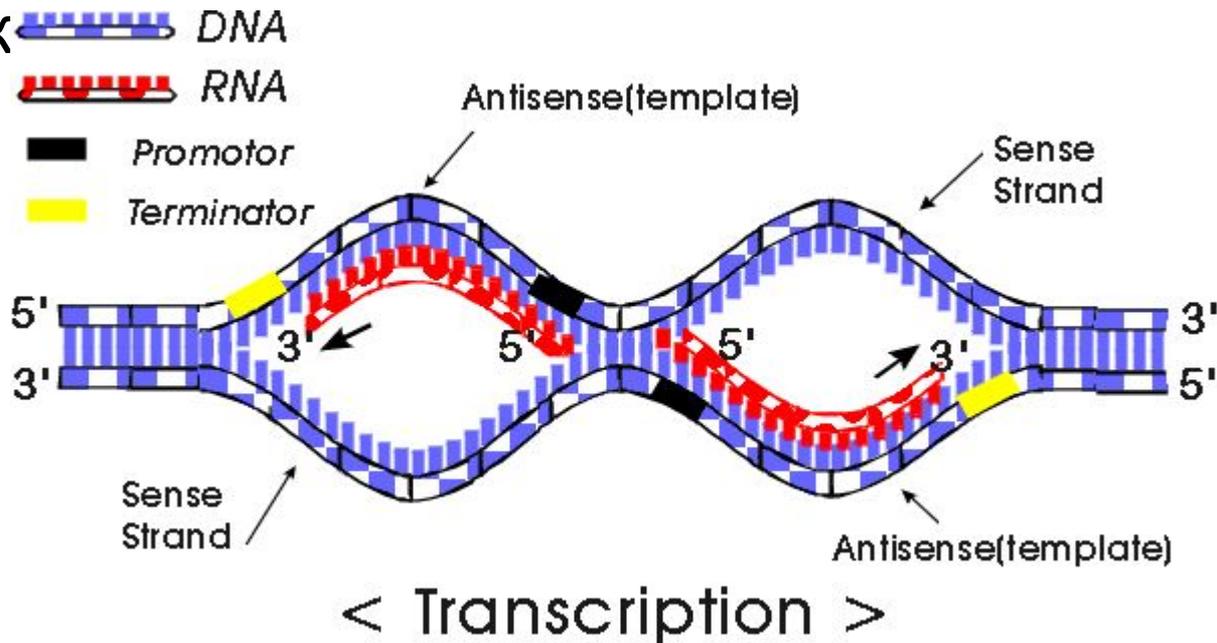
Транскрипция РНК

47

- Процесс синтеза РНК на матрице ДНК.
- Транскрипция осуществляется только с одной из цепей ДНК, после их частичной деспирализации.
- Источники энергии – рибонуклеозидтрифосфаты (ЦТФ, УТФ, АТФ, ГТФ).



- Синтез молекул РНК начинается в определённых последовательностях (сайтах) ДНК, которые называют **промоторы**, и завершается в терминирующих участках (**сайты терминации**). Участок ДНК, ограниченный промотором и сайтом терминации, представляет собой единицу транскрипции



Транскрипционные факторы

- белки , взаимодействующие с определёнными регуляторными сайтами и ускоряющие или замедляющие процесс транскрипции.
- Транскрипционные факторы выполняют свою функцию либо самостоятельно, либо в комплексе с другими белками. Они обеспечивают снижение (репрессоры) или повышение (активаторы) константы связывания РНК-полимеразы с регуляторными последовательностями регулируемого гена.

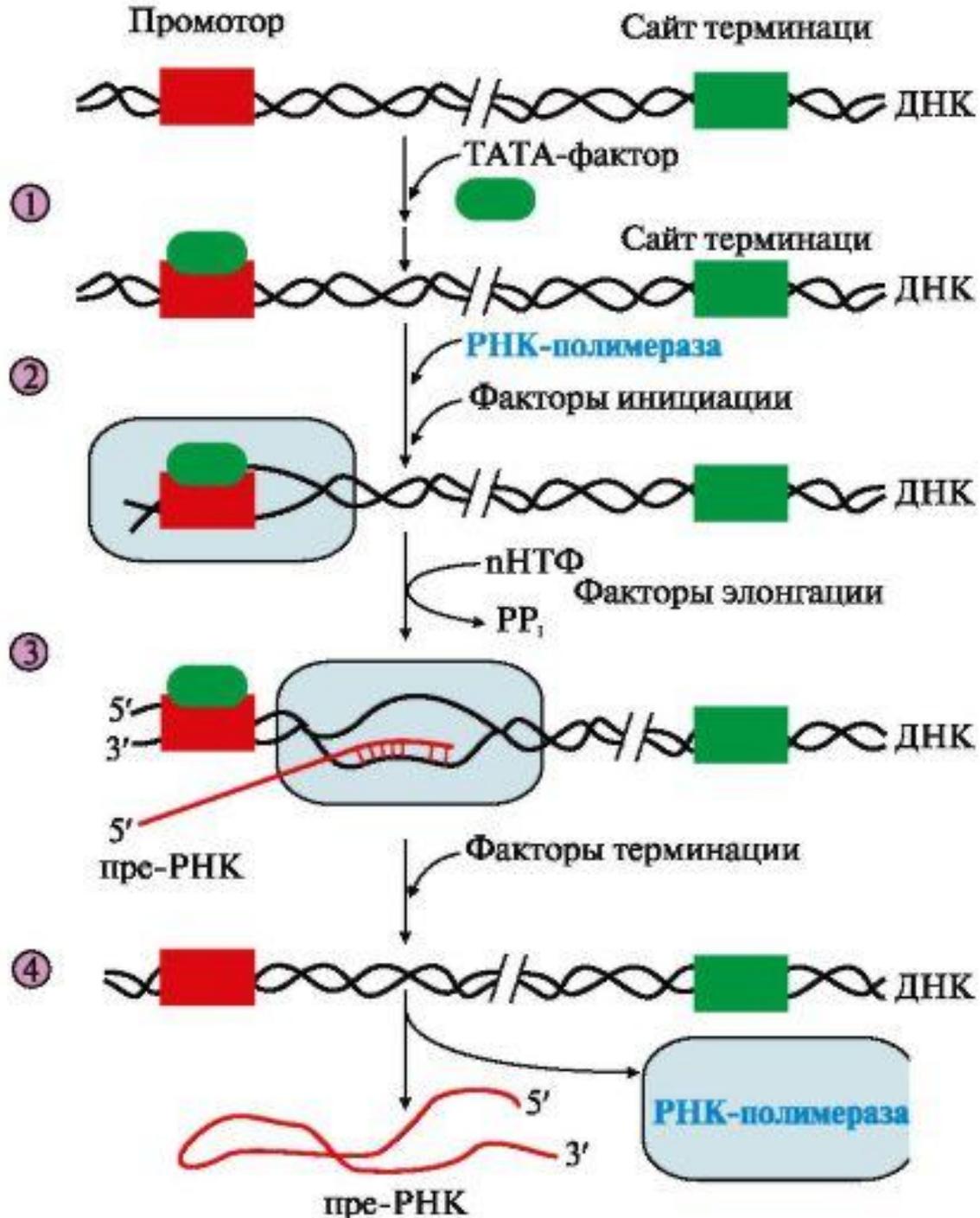
Инициация транскрипции РНК

50

- Активация промотора происходит с помощью большого белка - ТАТА-фактора, который присоединяется к некодирующей части гена, имеющую специфическую последовательность нуклеотидов промотора - ТАТААА- (ТАТА-бокс).
- ТАТА-фактор облегчает взаимодействие промотора с РНК-полимеразой и формирует транскрипционную вилку.
- Далее происходит присоединение РНК-полимеразы и синтезируется РНК-праймер (8-10 нуклеотидов). Фактор инициации (σ -субъединица) отделяется от РНК-полимеразы, и вместо неё к молекуле фермента присоединяются несколько факторов элонгации.

Элонгация - факторы элонгации обеспечивают движение РНК-полимеразы вдоль ДНК и расплетают её на протяжении примерно 17-18 нуклеотидных пар.

Растущий конец цепи РНК образует временную гибридную спираль 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 спирали ДНК.



Терминация транскрипции РНК

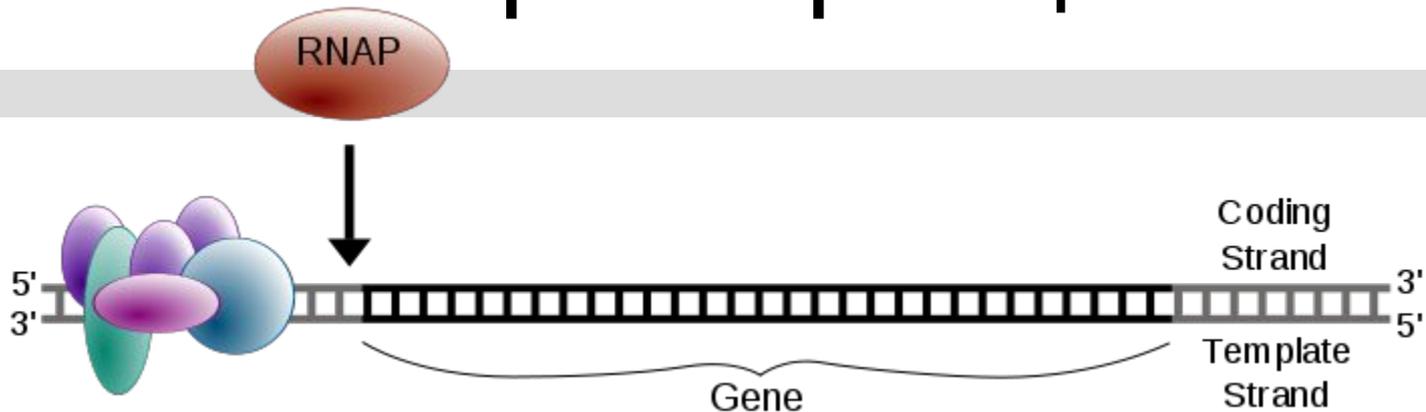
52

- Раскручивание двойной спирали ДНК в области сайта терминации делает его доступным для фактора 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 .

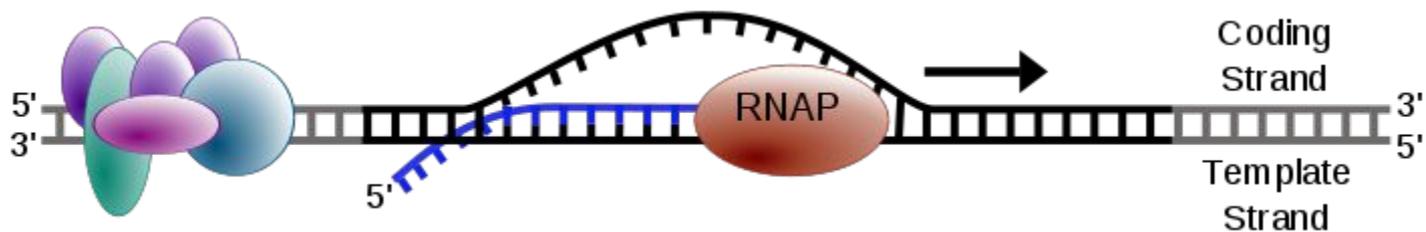
Схема этапов транскрипции

53

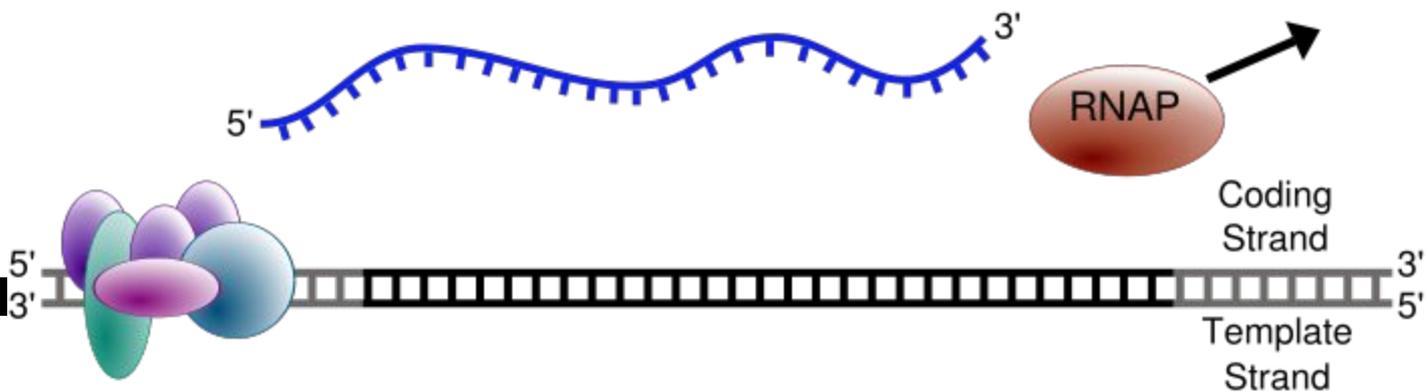
-
инициация

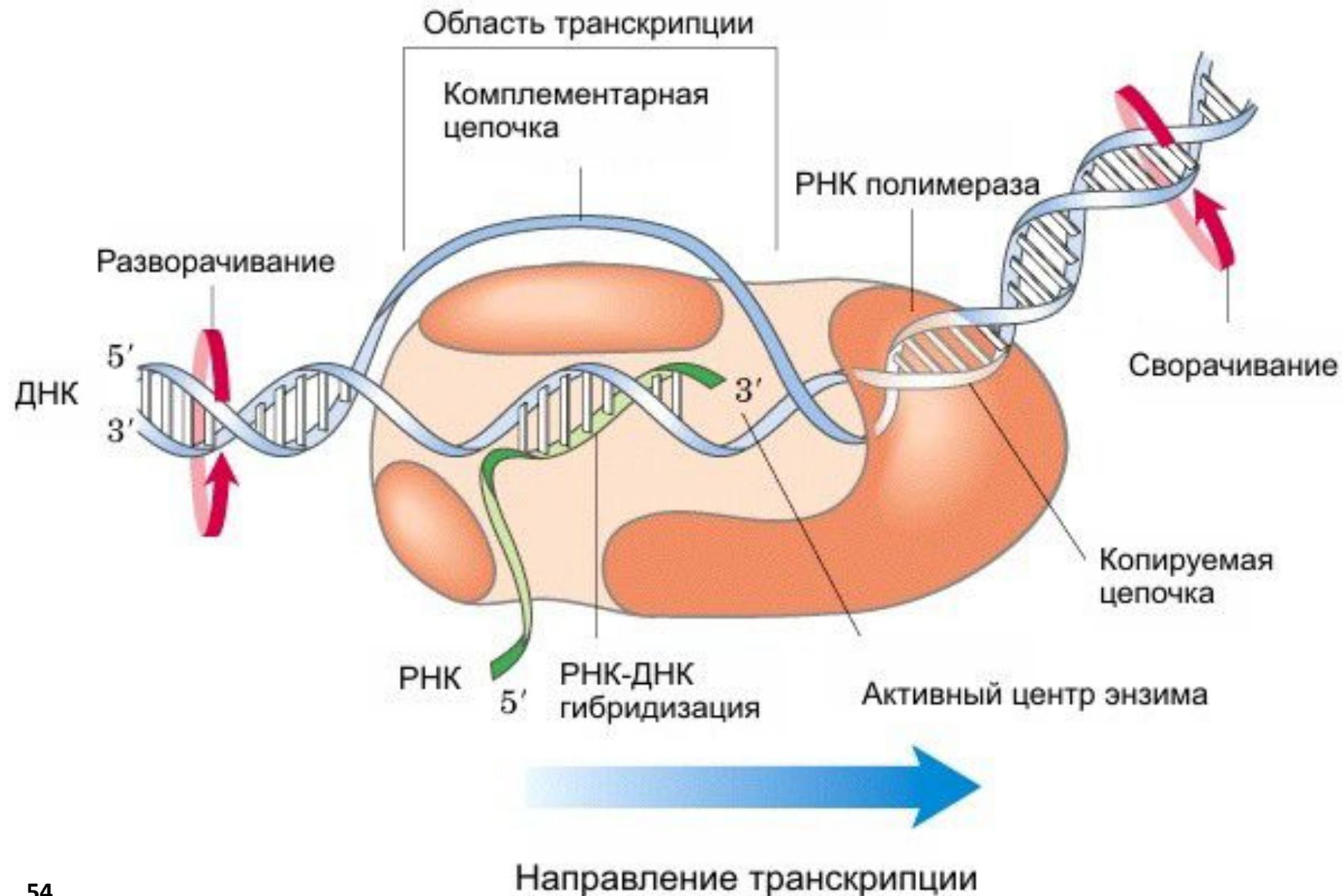


-
элонгация



-
терминация

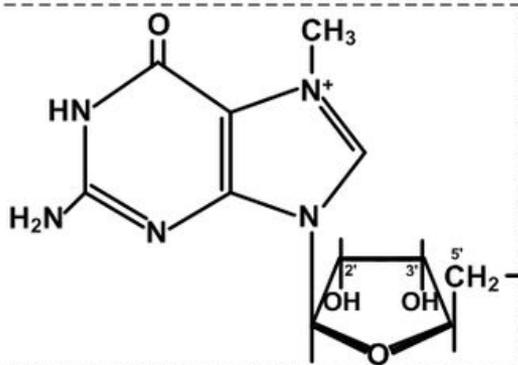




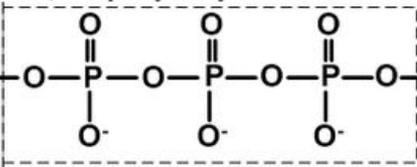
Посттрансляционные изменения (процессинг) РНК

55

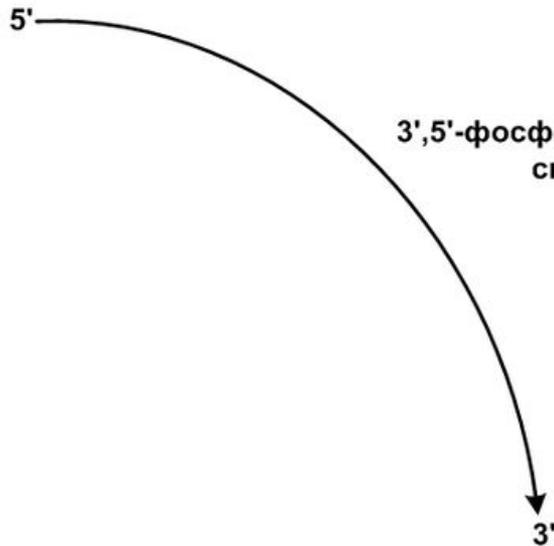
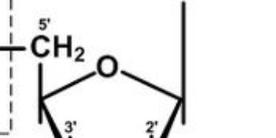
7-метилгуанозин



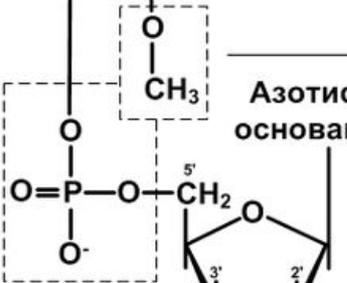
5',5'-трифосфатная связь



Азотистое основание 1

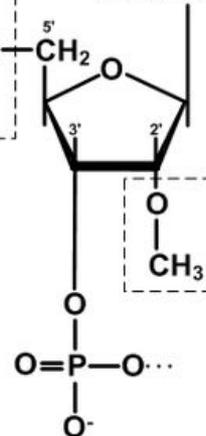


3',5'-фосфодиэфирная связь



Азотистое основание 2

2'-O-метилирование рибозы



Значение кэпирования

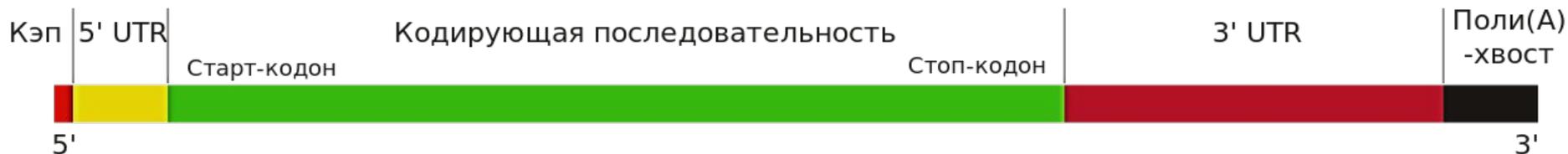
- Модифицированный 5'-конец обеспечивает инициацию трансляции, удлиняет время жизни мРНК, защищая её от действия 5'-экзонуклеаз в цитоплазме.
- Кэпирование необходимо для инициации синтеза белка, так как иницирующие триплеты AUG, GUG распознаются рибосомой только если присутствует кэп.
- Наличие кэпа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

Полиаденилирование 3'-конца

57

- Фермент полиА-полимераза формирует полиаденилатный «хвост» РНК.
- Наличие полиА-последовательности на 3'-конце облегчает выход мРНК из ядра и замедляет её гидролиз в цитоплазме.

Строение типичной белоккодирующей человеческой мРНК

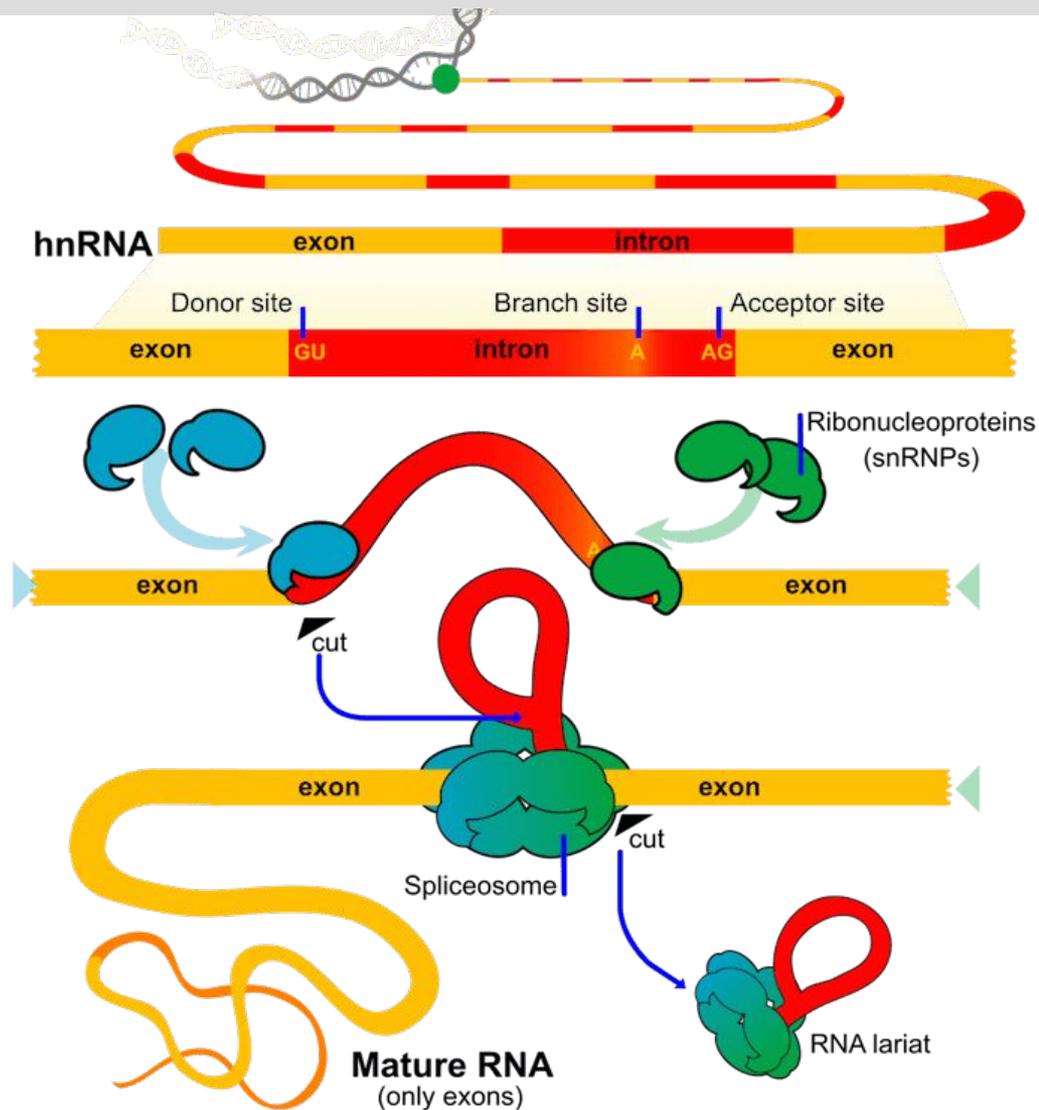


Сплайсинг

- процесс вырезания интронов из молекул пре-мРНК и соединения экзонов, в ходе процессинга РНК.
- Осуществляется **сплайсосомой** – РНК-белковый мультиэнзимный комплекс.
- Сплайсинг некоторых мРНК может иметь альтернативные пути. Это приводит к образованию разных мРНК и, соответственно, разных белков с одного первичного транскрипта.

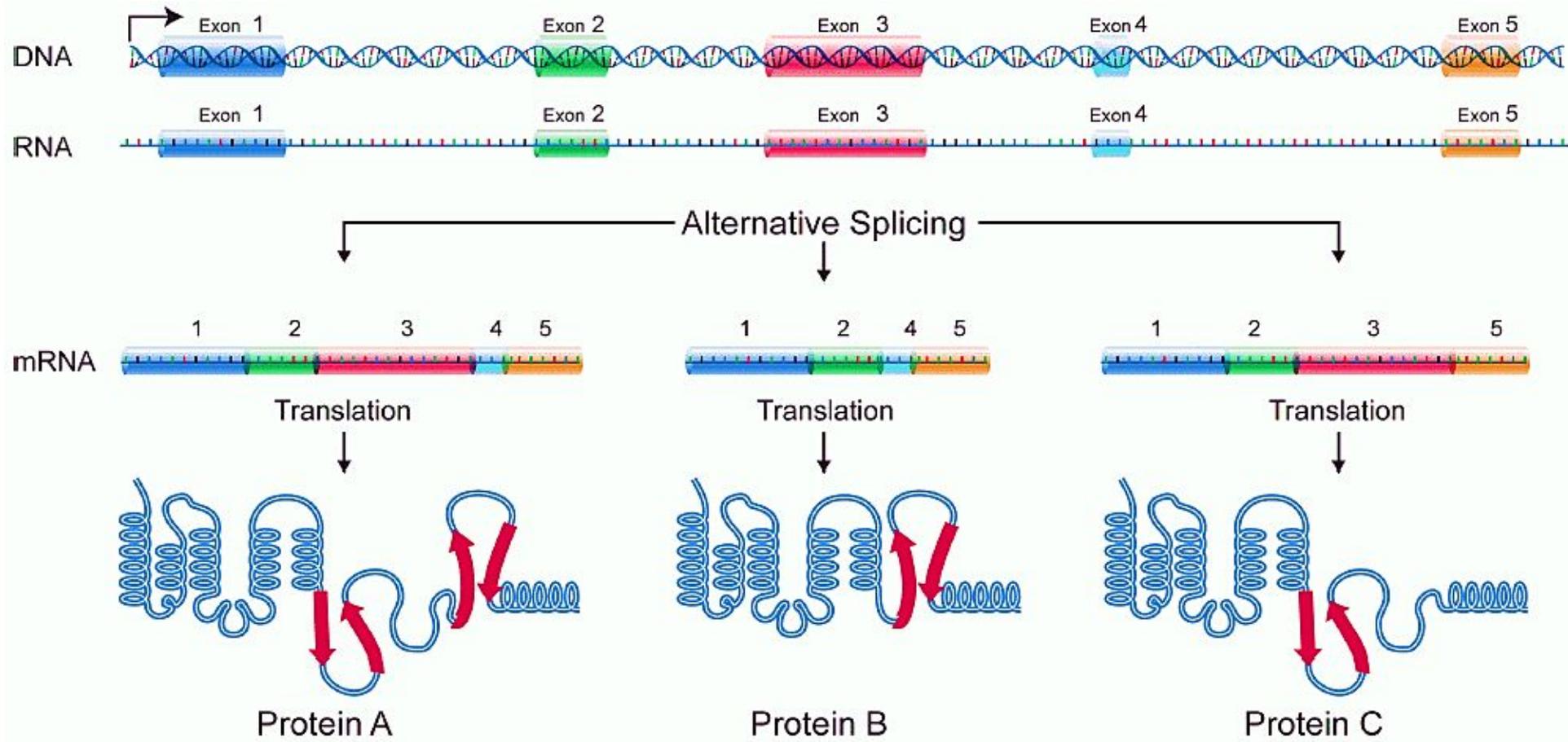
Механизм работы сплайсосомы

59

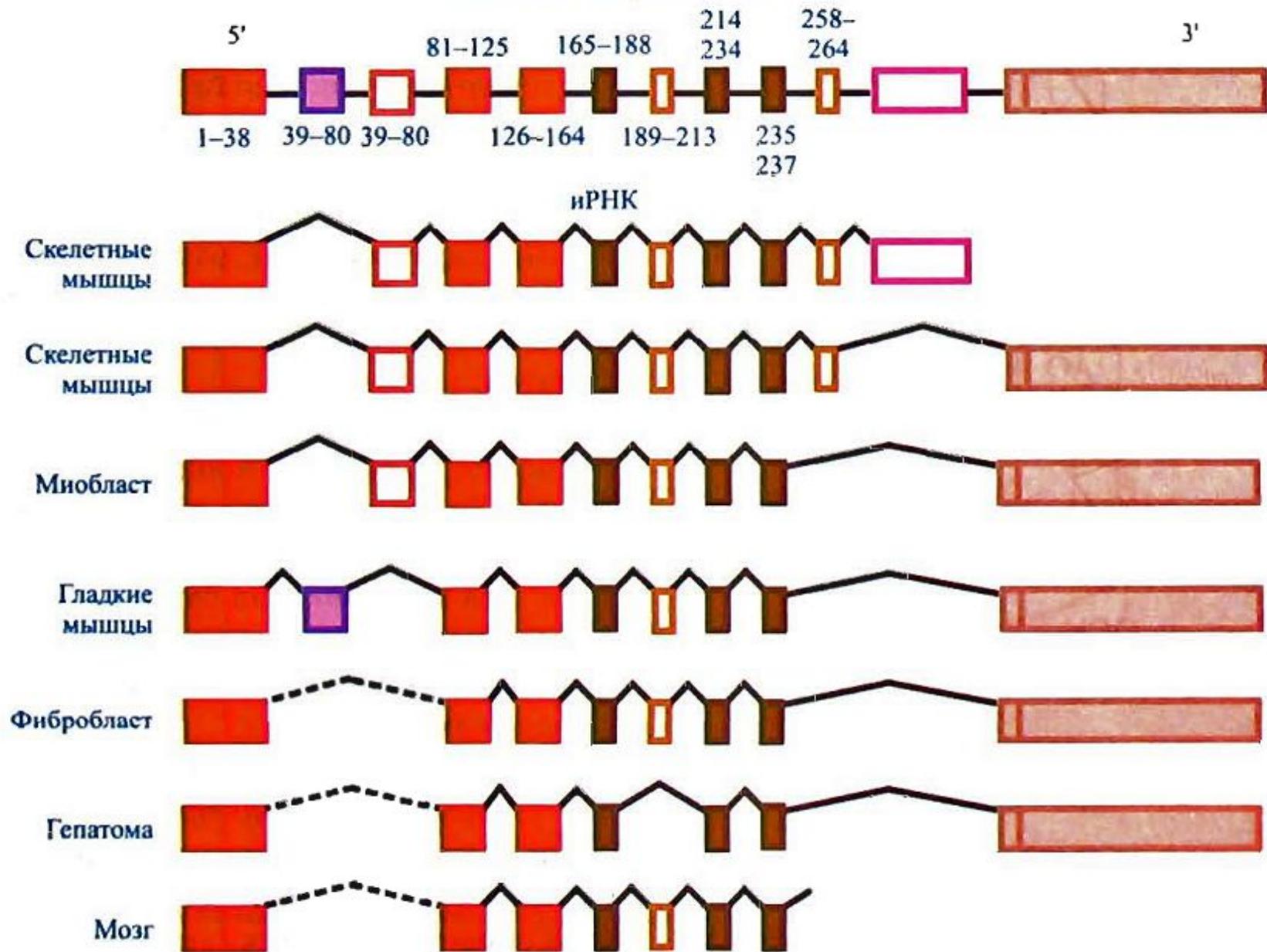


Альтернативный сплайсинг

60



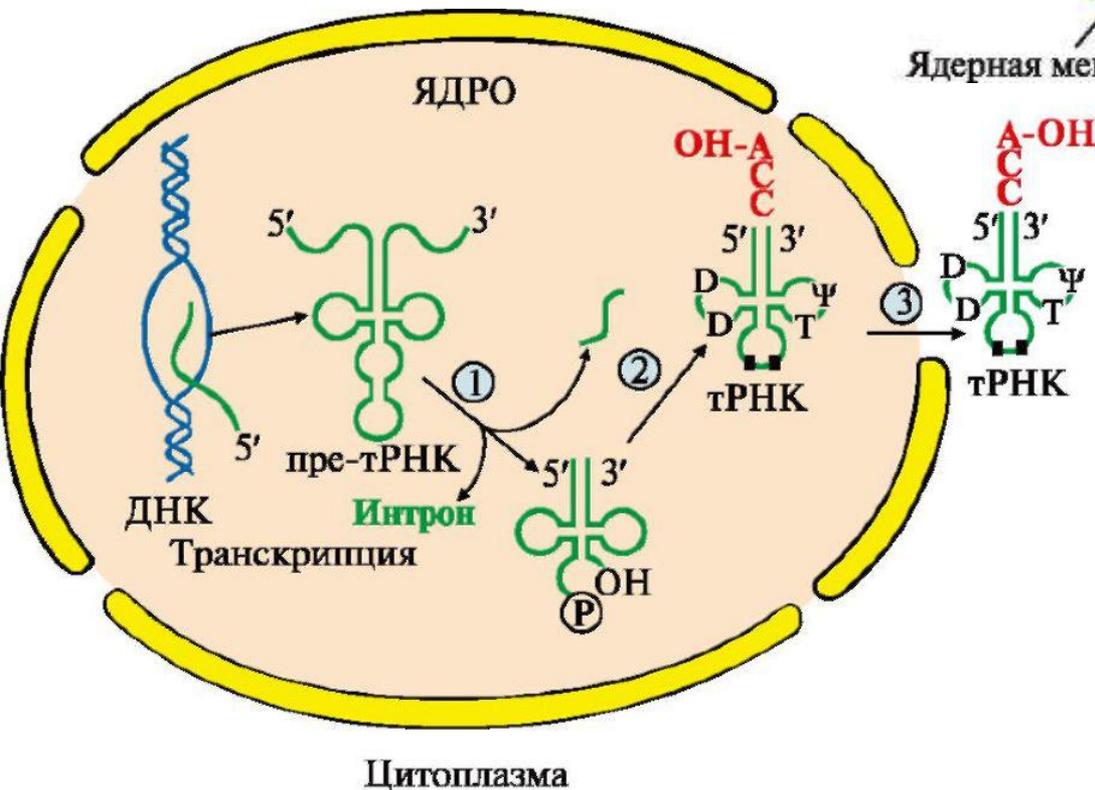
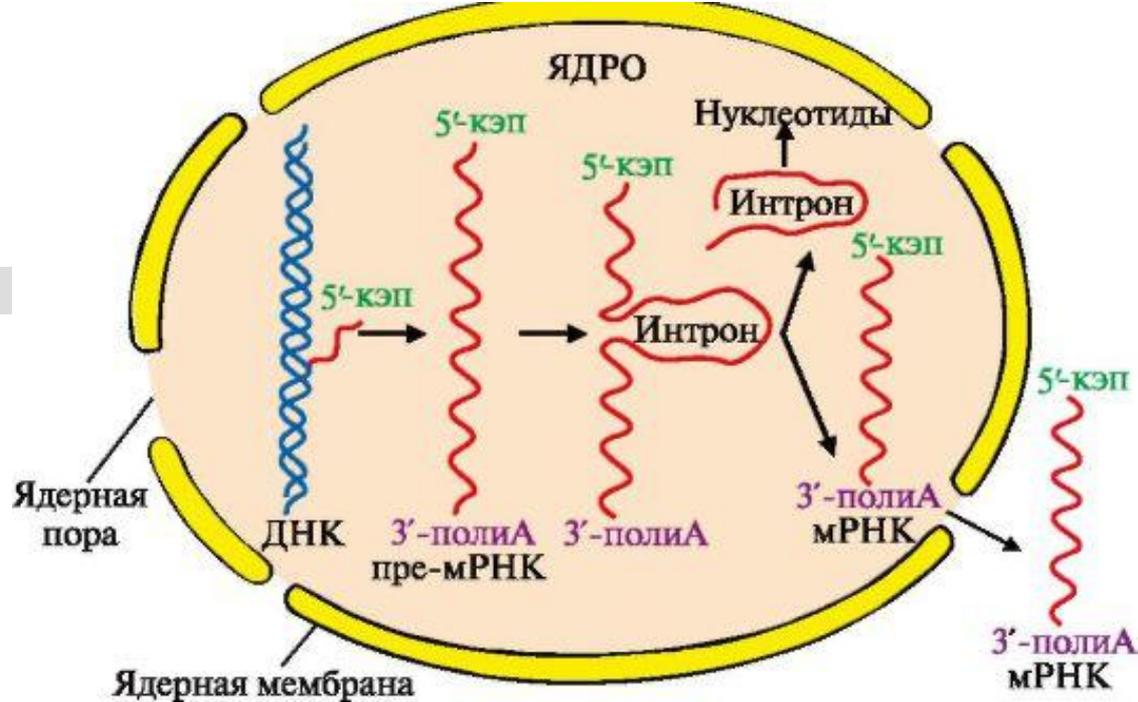
Экзоны гена α -тропомиозина



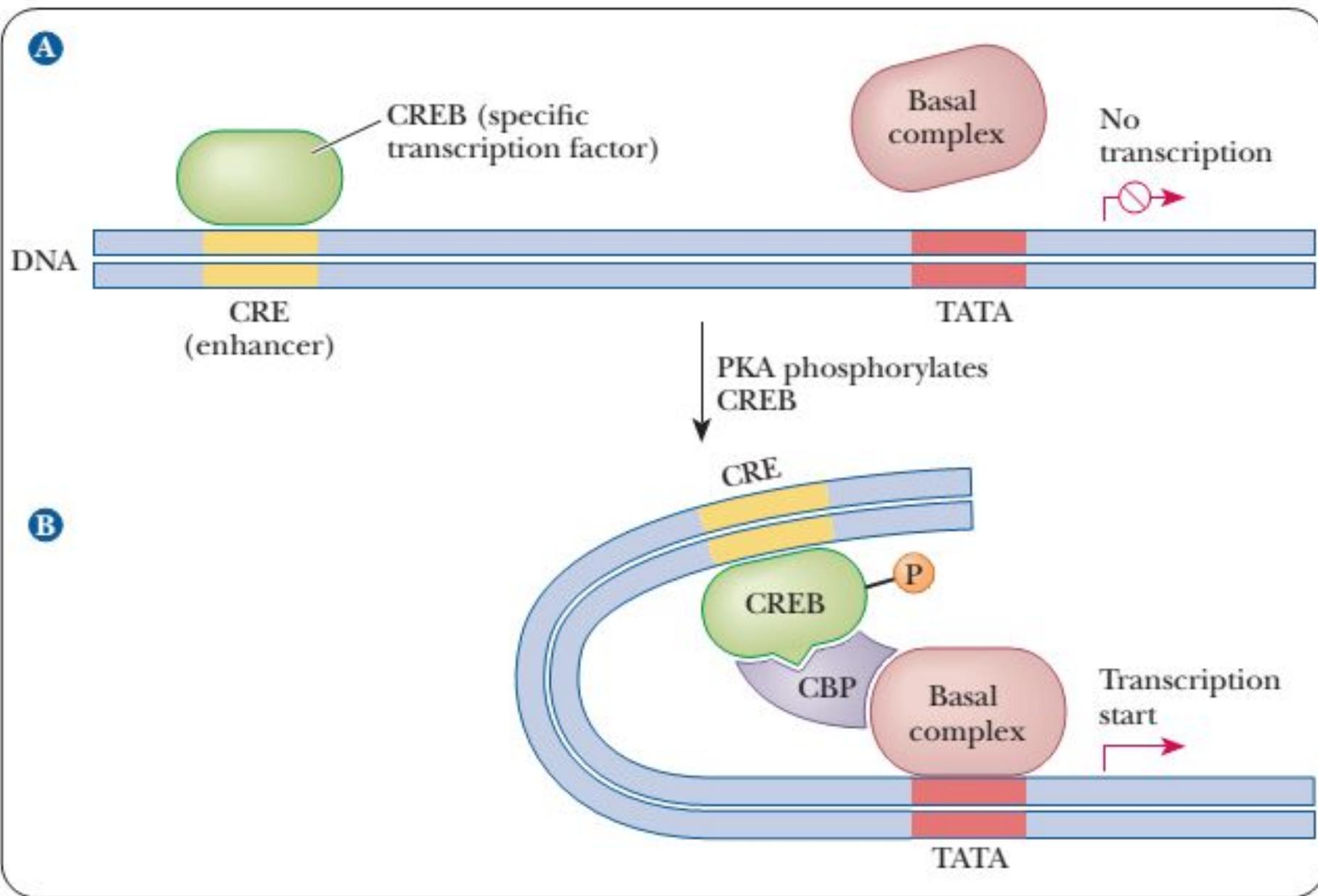
8.39. Схематическое изображение сплайсинга первичного транскрипта гена α -тропомиозина

Схемы процессинга мРНК и тРНК

62



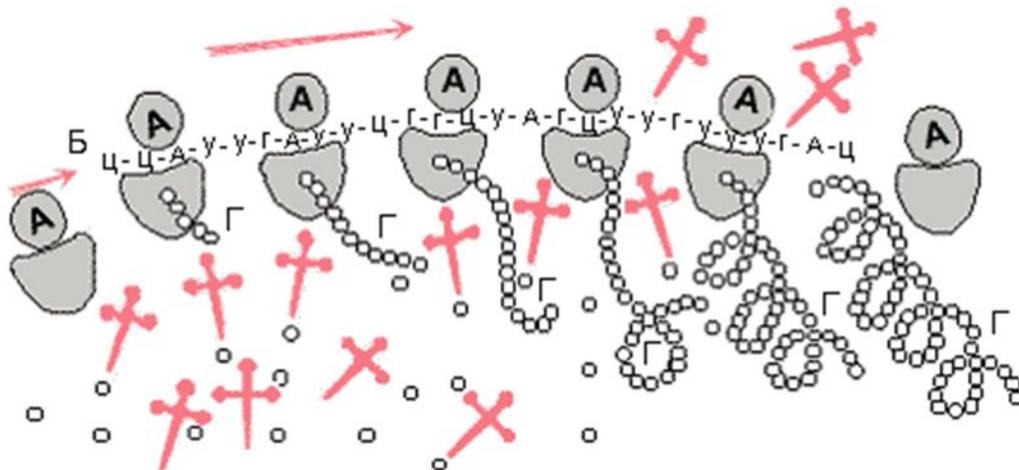
Процессинг пре-тРНК. Определённые азотистые основания нуклеотидов тРНК в ходе процессинга метилируются под действием РНК-метилазы и превращаются, например, в 7-метилгуанозин и 2-метилгуанозин (минорные основания). В молекуле тРНК содержатся и другие необычные основания - псевдоуридин, дигидроуридин, которые также модифицируются во время процессинга.



Трансляция

64

- процесс синтеза белка из аминокислот на матрице мРНК, осуществляемый рибосомой при использовании тРНК.



Генетический код

65

- способ кодирования информации о строении белков в виде нуклеотидной последовательности. Он предназначен для перевода четырехзначного языка нуклеотидов (А, Г, У, Ц) в двадцатизначный язык аминокислот.

Свойства генетического кода

66

- **Триплетность** – три нуклеотида формируют кодон, кодирующий аминокислоту. Всего насчитывают 61 смысловой кодон.
- **Специфичность (или однозначность)** – каждому кодону соответствует только одна аминокислота.
- **Вырожденность** – одной аминокислоте может соответствовать несколько кодонов.
- **Универсальность** – биологический код одинаков для всех видов организмов на Земле (однако в митохондриях млекопитающих есть

Свойства генетического кода

67

- **Коллинеарность** – последовательность кодонов соответствует последовательности аминокислот в кодируемом белке.
- **Неперекрываемость** – триплеты не накладываются друг на друга, располагаясь рядом.
- **Отсутствие знаков препинания** – между триплетами нет дополнительных нуклеотидов или каких-либо иных сигналов.
- **Однонаправленность** – при синтезе белка считывание кодонов идет последовательно, без пропусков или возвратов назад.

Адапторная роль транспортных РНК

68

тРНК являются единственным посредником между 4-х буквенной последовательностью нуклеиновых кислот и 20-ти буквенной последовательностью белков.

Адапторная роль тРНК заключается:

- в специфичном связывании с аминокислотами,
- в специфичном, согласно кодон-антикодону взаимодействию, связывании с мРНК,
- и, как результат, во включении аминокислот в белковую цепь в соответствии с информацией мРНК.
- Присоединение аминокислоты к тРНК осуществляется ферментом **аминоацил-тРНК-синтетазой**, имеющей специфичность одновременно к двум соединениям: какой-либо

Вторичная и третичная структура тРНК

69

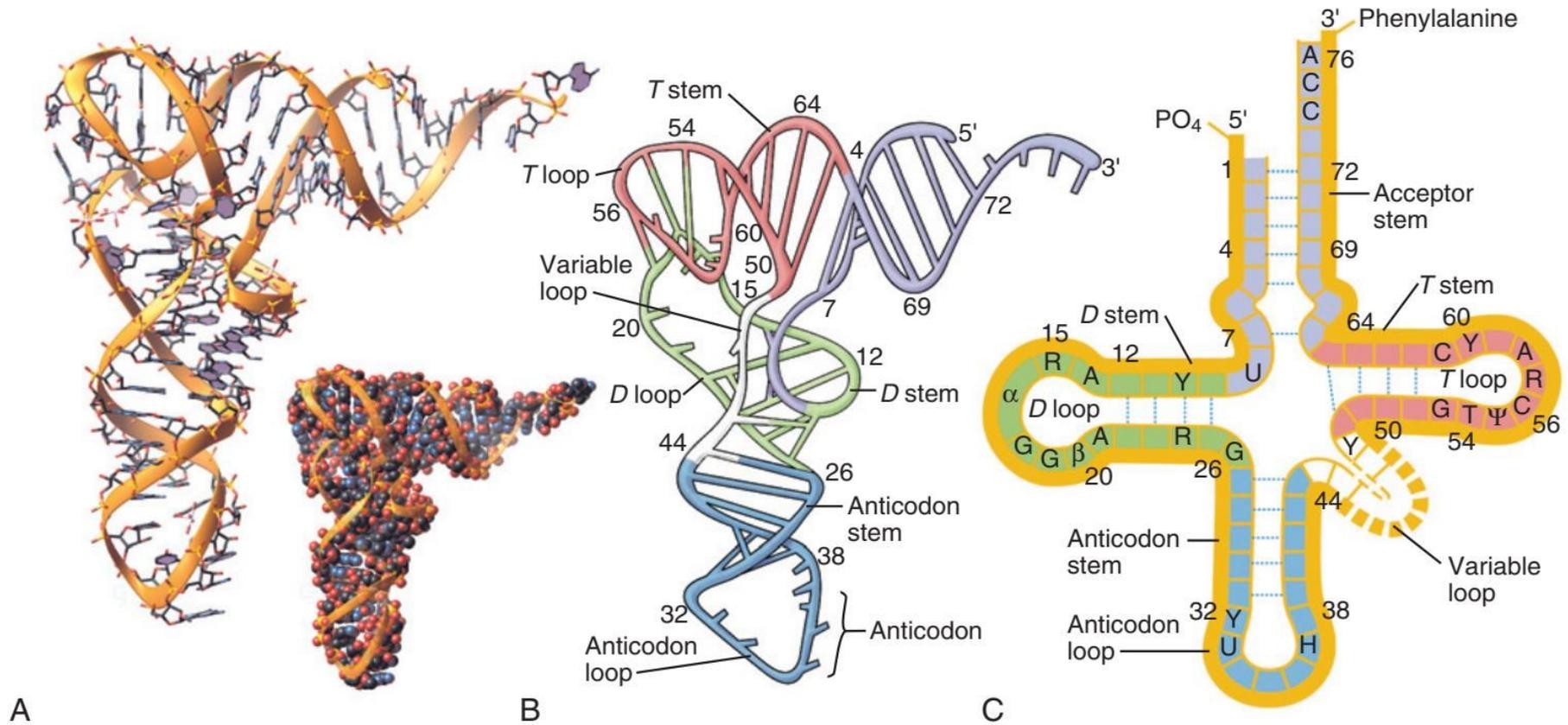
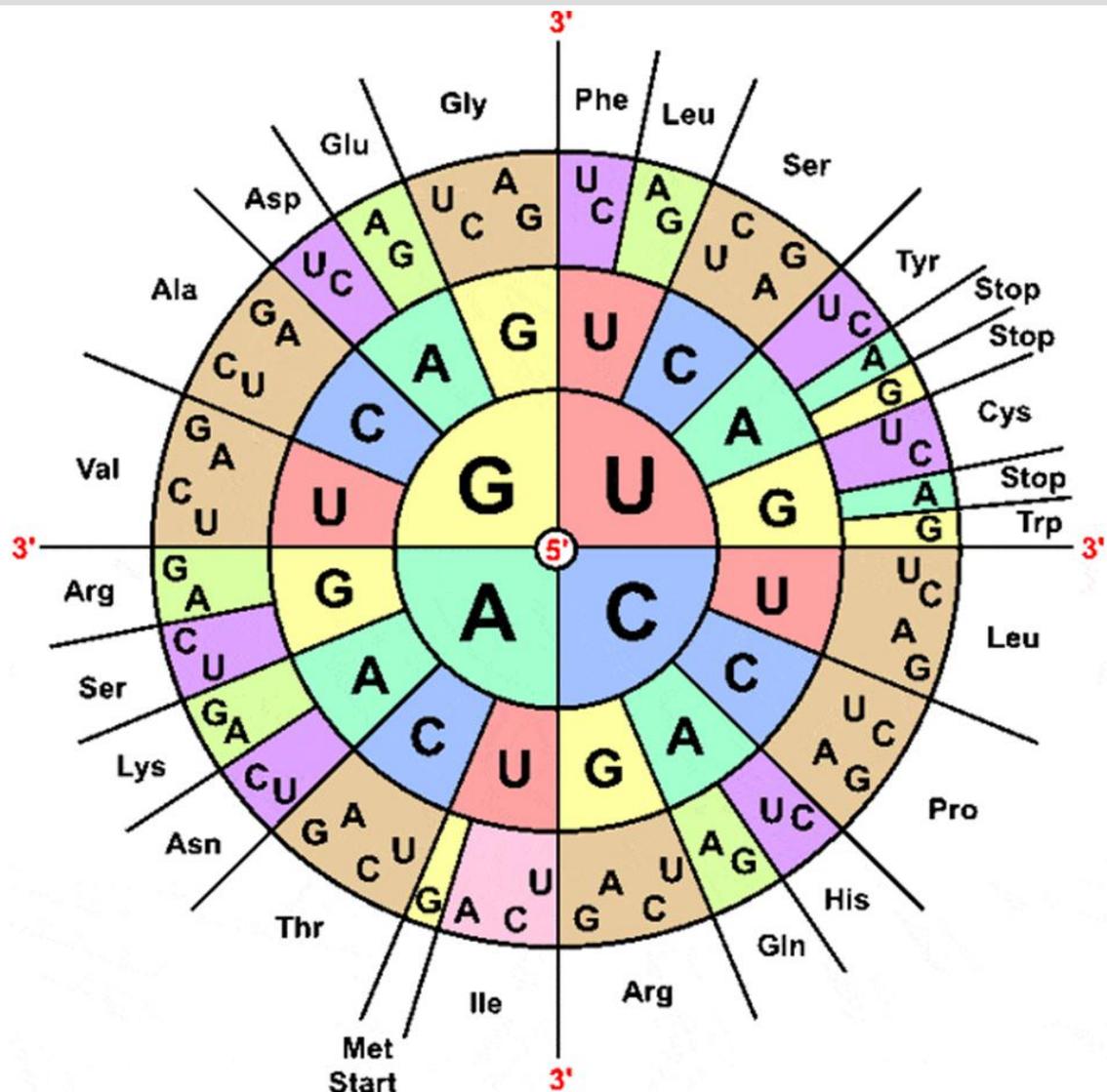


FIGURE 3.20 Atomic structure of phenylalanine transfer RNA (phe-tRNA) determined by x-ray crystallography. **A**, An orange ribbon traces the RNA backbone through a stick figure (*left*) and space filling model (*right*). **B**, Skeleton drawing. **C**, Two-dimensional base-pairing scheme. Note that the base-paired segments are much less regular than is B-form DNA. (For reference, see [PDB file 6TNA](#). **B**, Modified from an original by Alex Rich, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA.)

Генетический код

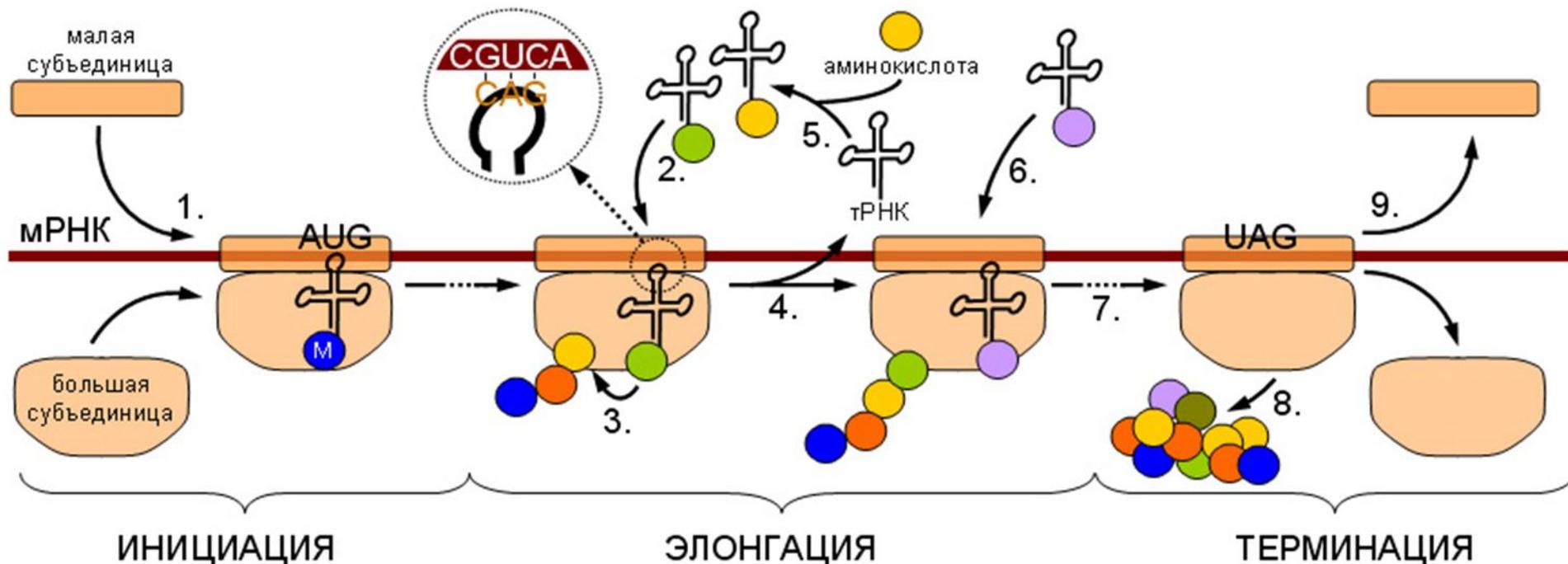
70



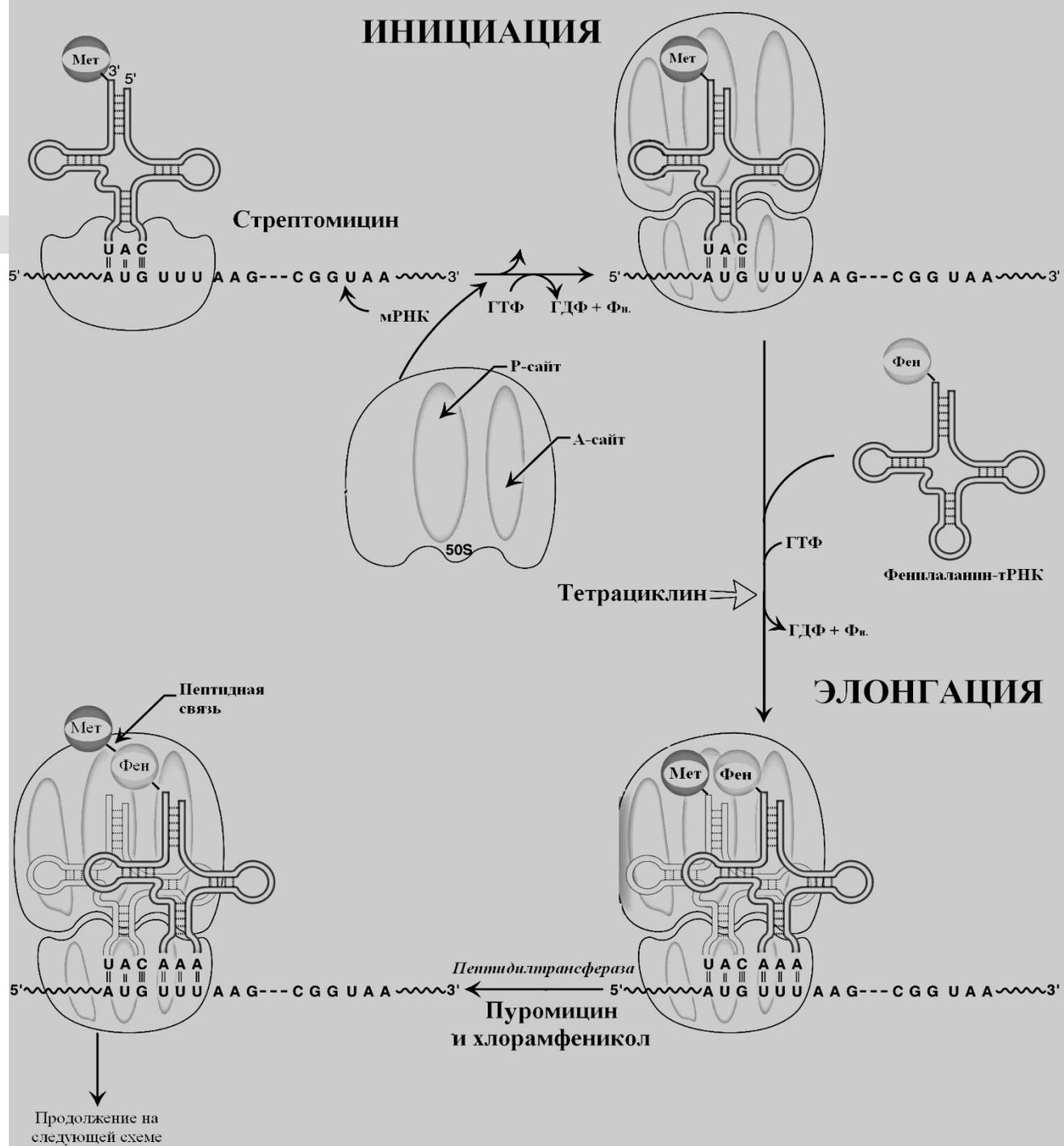
Синтез полипептида на рибосоме

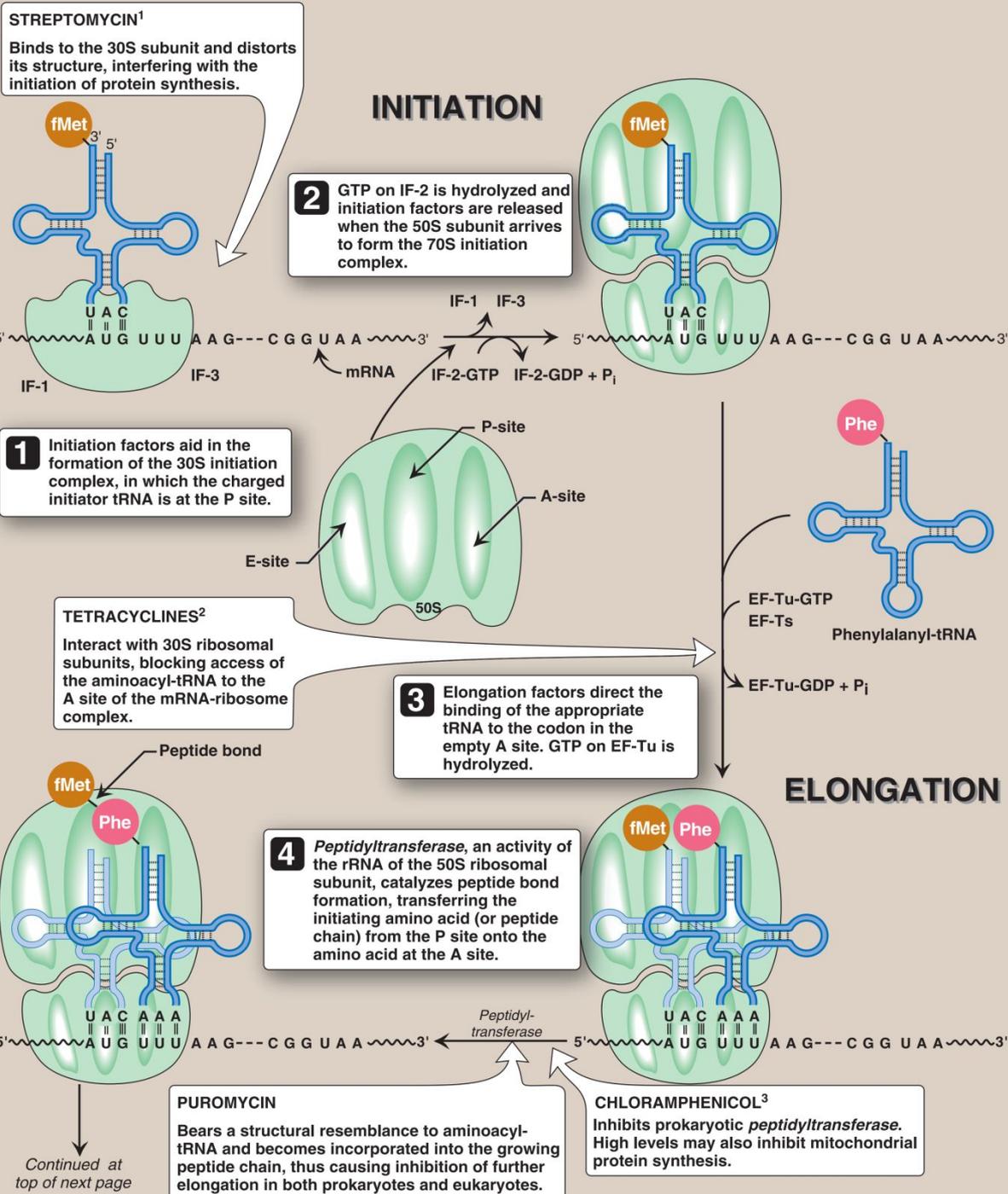
71

- В ходе синтеза белка прочтение информации мРНК идёт в направлении от 5'- к 3'-концу, обеспечивая синтез пептида от N- к С-концу.

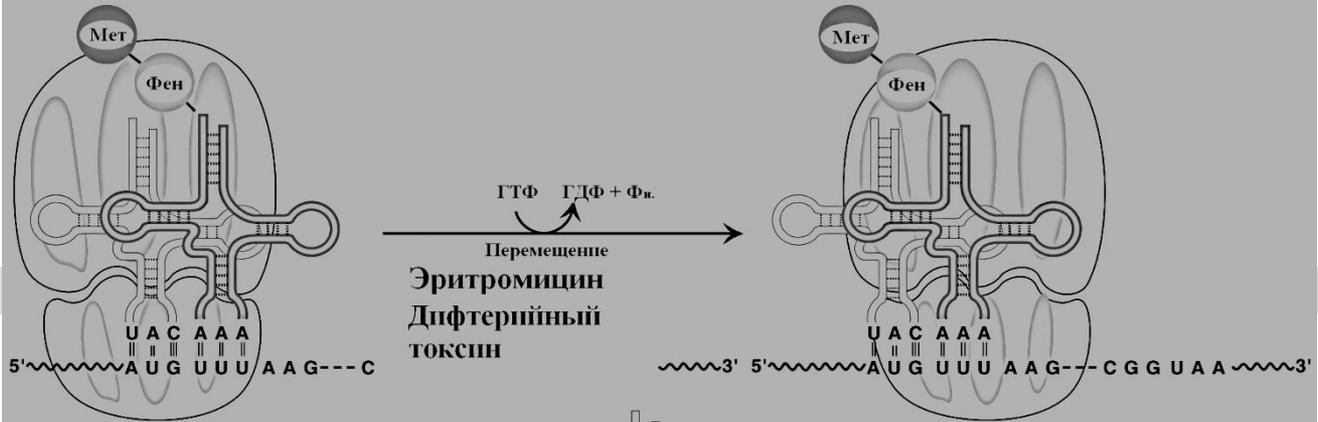


ИНИЦИАЦИЯ

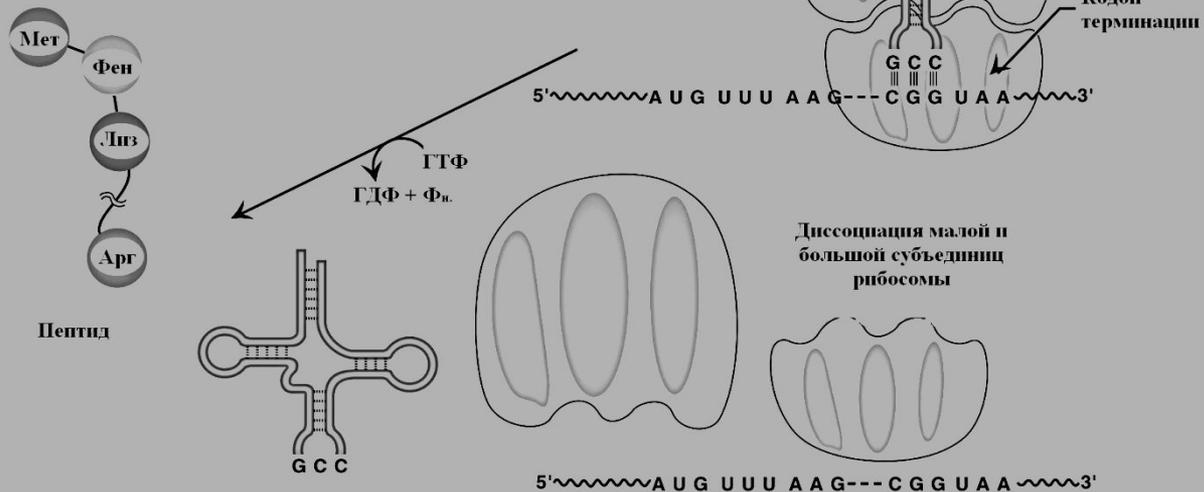


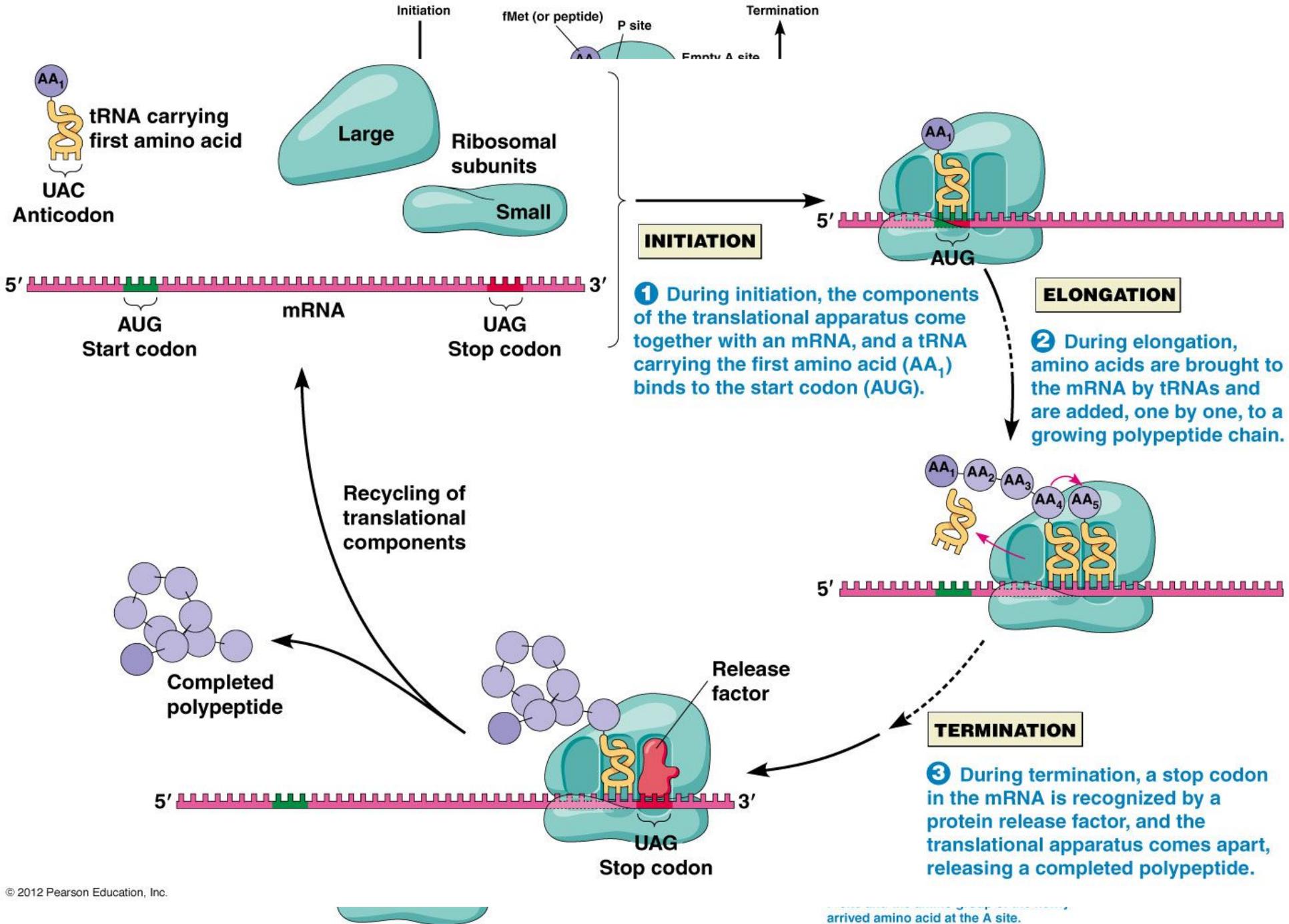


Continued at
top of next page



ТЕРМИНАЦИЯ





Этапы трансляции

77

Инициация.

1. Узнавание стартового кодона (AUG), сопровождается присоединением тРНК с метионином (М), и сборкой рибосомы из большой и малой субъединиц.

Элонгация.

2. Узнавание текущего кодона соответствующей ему аминоацил-тРНК.
3. Присоединение аминокислоты, принесённой тРНК, к концу растущей полипептидной цепи.
4. Продвижение рибосомы вдоль матрицы, сопровождающееся высвобождением молекулы тРНК.
5. Аминоацилирование высвободившейся молекулы тРНК соответствующей ей аминоацил-тРНК-синтетазой.
6. Присоединение следующей молекулы аминоацил-тРНК, аналогично стадии (2).
7. Движение рибосомы по молекуле мРНК до стоп-кодона (в данном случае UAG).

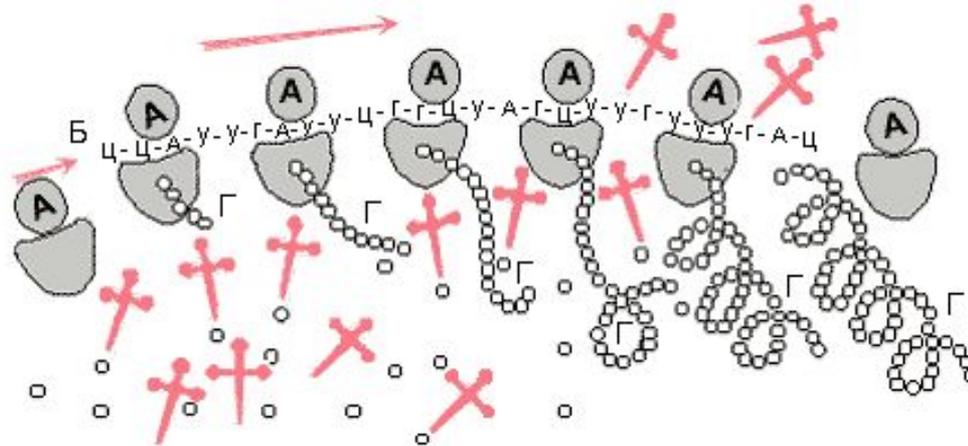
Терминация.

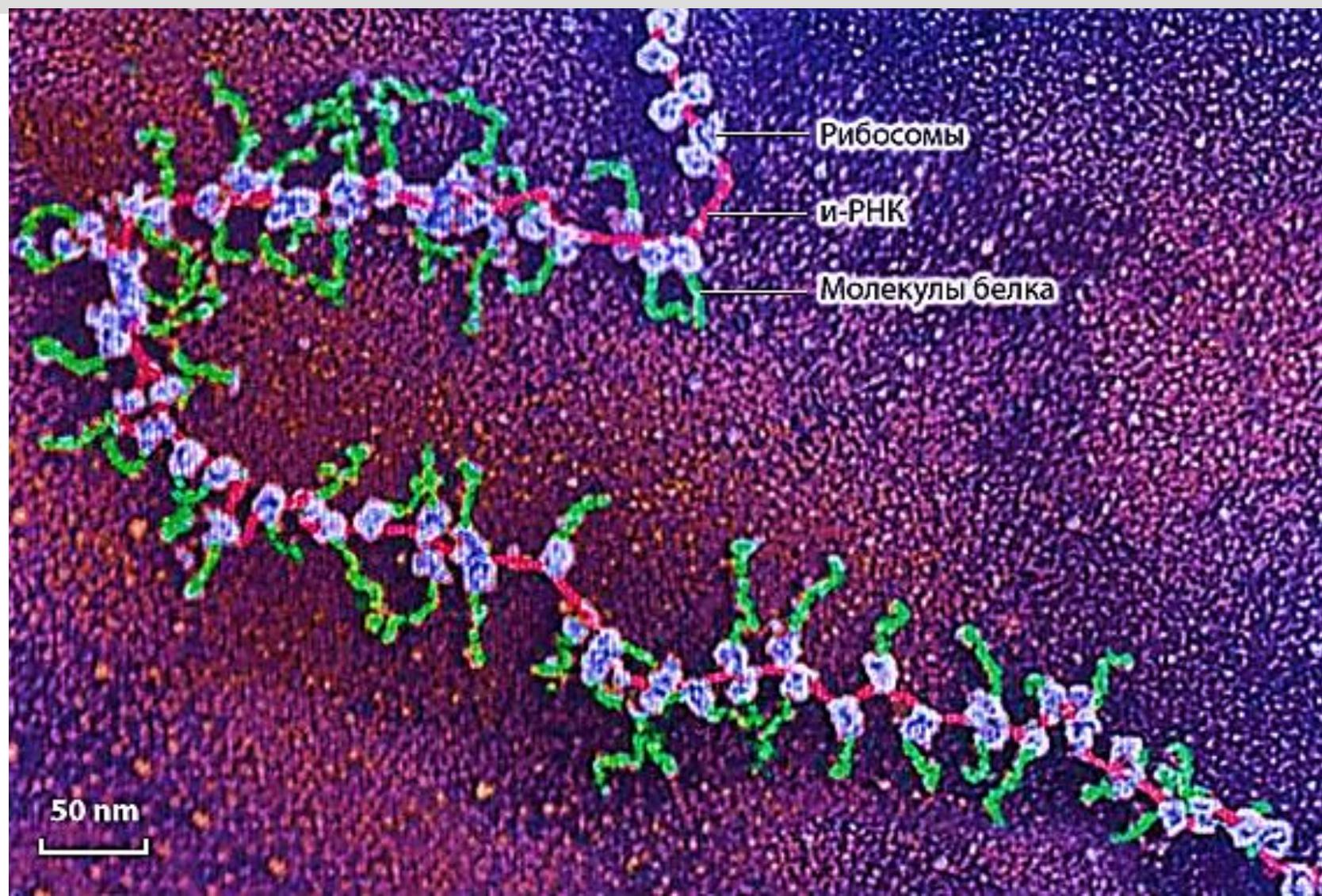
Узнавание рибосомой стоп-кодона сопровождается (8) отсоединением новосинтезированного белка и в некоторых случаях (9) диссоциацией рибосомы.

Полирибосома (полисома)

78

Продолжительность жизни матричной РНК невелика, перед клеткой стоит задача использовать её максимально эффективно, т.е. получить максимальное количество "белковых копий". Для достижения этой цели на каждой мРНК может располагаться не одна, а несколько рибосом, встающих последовательно друг за другом и синтезирующих пептидные цепи. Такие образования называются **ПОЛИСОМАМИ**.





Фолдинг

80

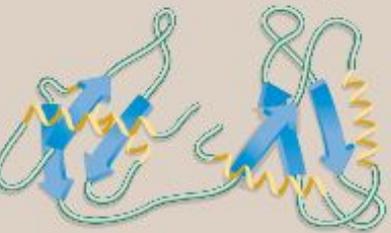
- процесс спонтанного сворачивания полипептидной цепи в определенную пространственную структуру (третичную) белка.
- В результате фолдинга в водных растворах у водорастворимого полипептида уменьшается свободная энергия, гидрофобные остатки аминокислот упаковываются преимущественно внутрь молекулы, а гидрофильные остатки располагаются на поверхности белковой глобулы. К факторам, стабилизирующим конформацию белка, относятся водородные связи, дисульфидные мостики, электростатическое взаимодействие и комплексообразование с ионами металлов. Правильный фолдинг полипептидных цепей может происходить как самопроизвольно, так и с участием белков-помощников фолдаз и шаперонов, которые необходимы для эффективного формирования третичной структуры полипептидных цепей других белков, но не входят в

81

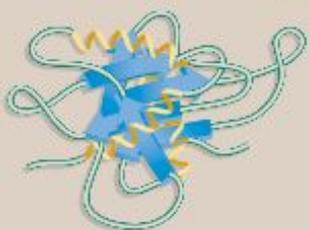
1 Formation of secondary structures



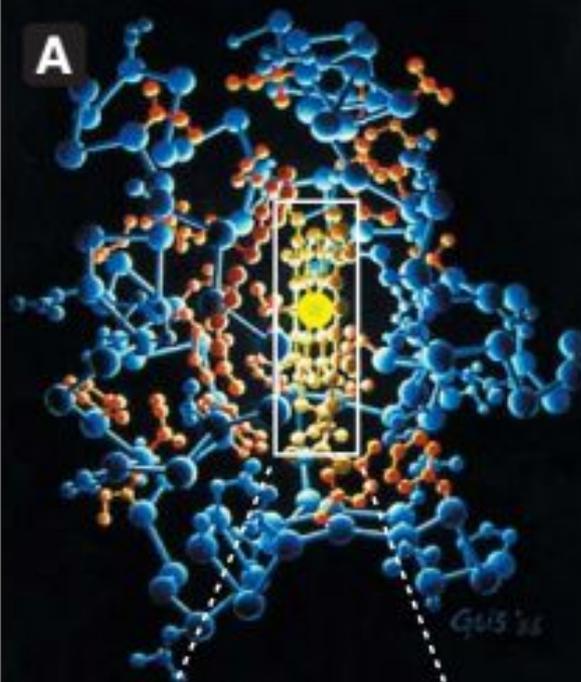
2 Formation of domains



3 Formation of final protein monomer

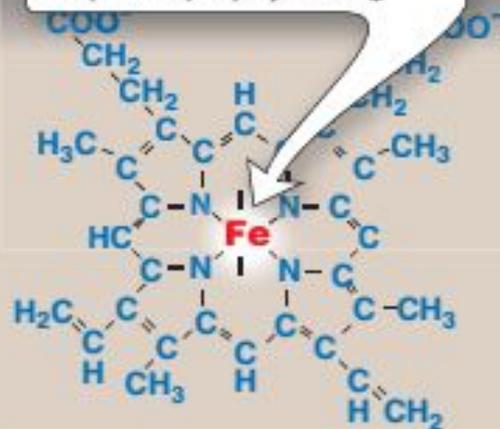


A

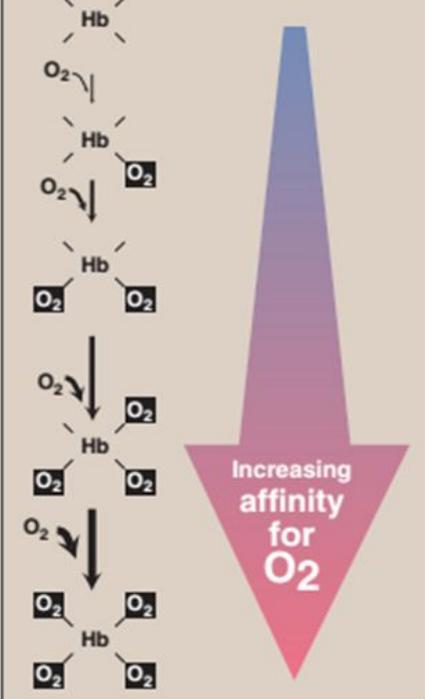
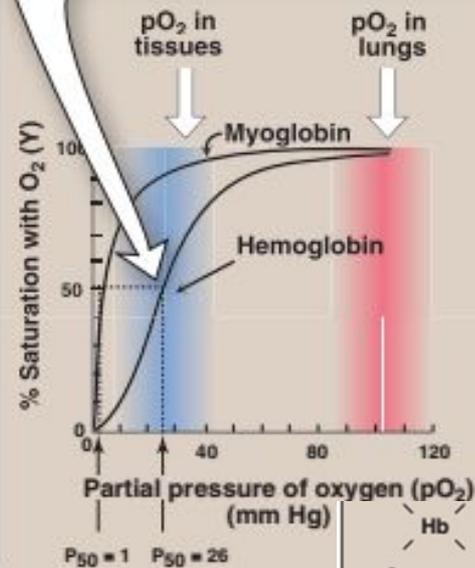


B

Iron can form six bonds: four with porphyrin nitrogens, plus two additional bonds, one above and one below the planar porphyrin ring



The oxygen dissociation curve for Hb is steepest at the oxygen concentrations that occur in the tissues. This permits oxygen delivery to respond to small changes in pO_2 .

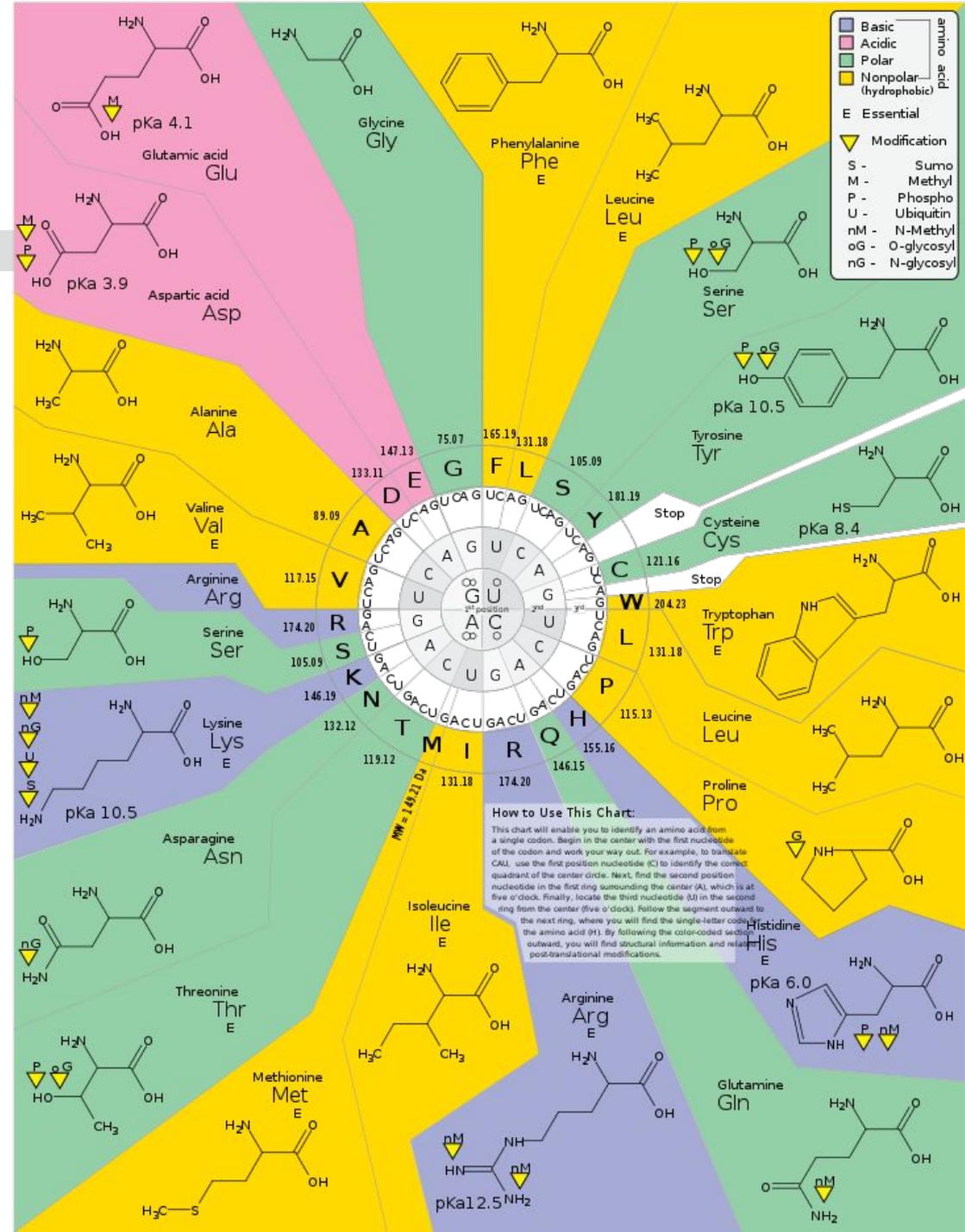


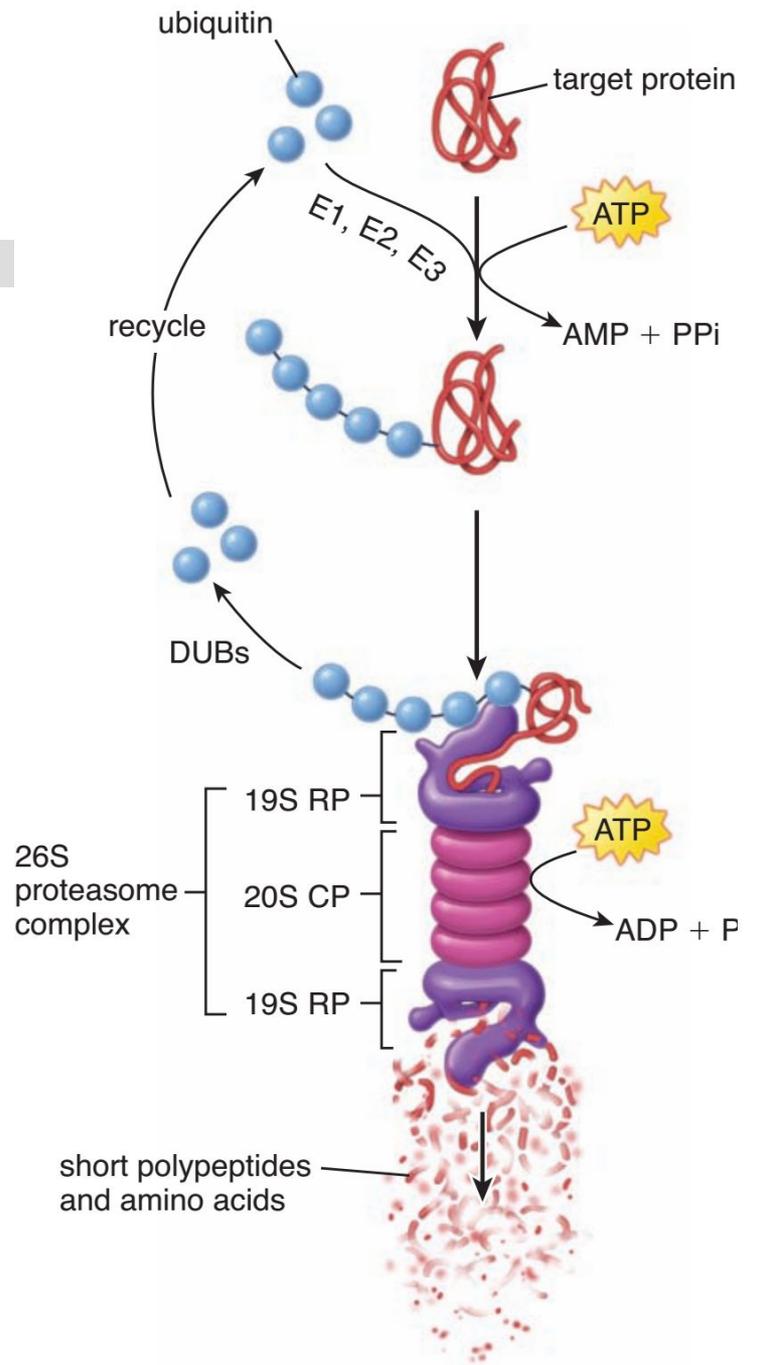
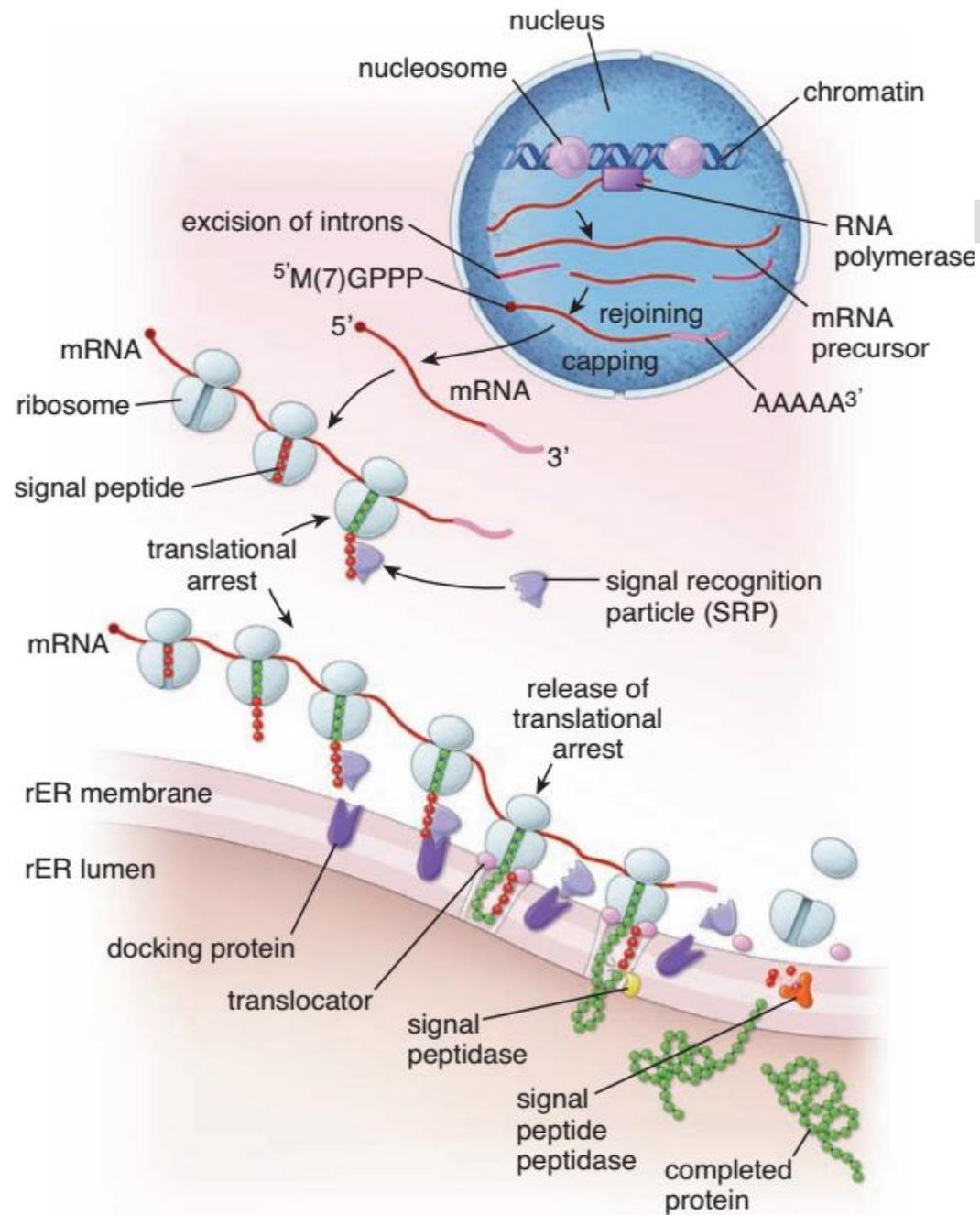
Посттрансляционная модификация белков

82

- Частичный протеолиз;
- Ковалентные модификации (N- и O-гликозилирование, O-сульфирование, фосфорилирование, дезаминирование, гидроксилирование, метилирование, иодирование, S-пальмитирование и т.д.);
- Сплайсинг белков - внутримолекулярный автокаталитический процесс, происходящий в некоторых белках, при котором внутренняя часть белка (под названием интеин) выщепляется из белка-предшественника с последующим лигированием оставшихся частей.

Диаграмма генетического кода, показывающая места возможной посттрансляционной модификации аминокислот





Факторы транскрипции

85

Факторы транскрипции эукариотических клеток

1 Активаторный белок связывается с участками ДНК, называемыми энхансерами. Связывание с ними вызывает выпетливание ДНК, в результате чего они оказываются рядом с промотором, даже если они располагаются на расстоянии тысяч пар оснований от него.

Примечание

Этот рисунок упрощает строение ДНК: промоторы, энхансеры и инсуляторы могут достигать длины в десятки и даже сотни нуклеотидов.

Энхансеры
Активаторные белки
Другие транскрипционные факторы

2 Другие транскрипционные факторы присоединяются к активаторным белкам, образуя белковый комплекс, связывающийся с промотором гена.

4 Инсулятор может помешать энхансерам приблизиться к промоторам, если белок, называемый CTCF (в честь последовательности CCCTC, которая имеется во всех инсуляторах), связывается с ним.

Ген
Промотор

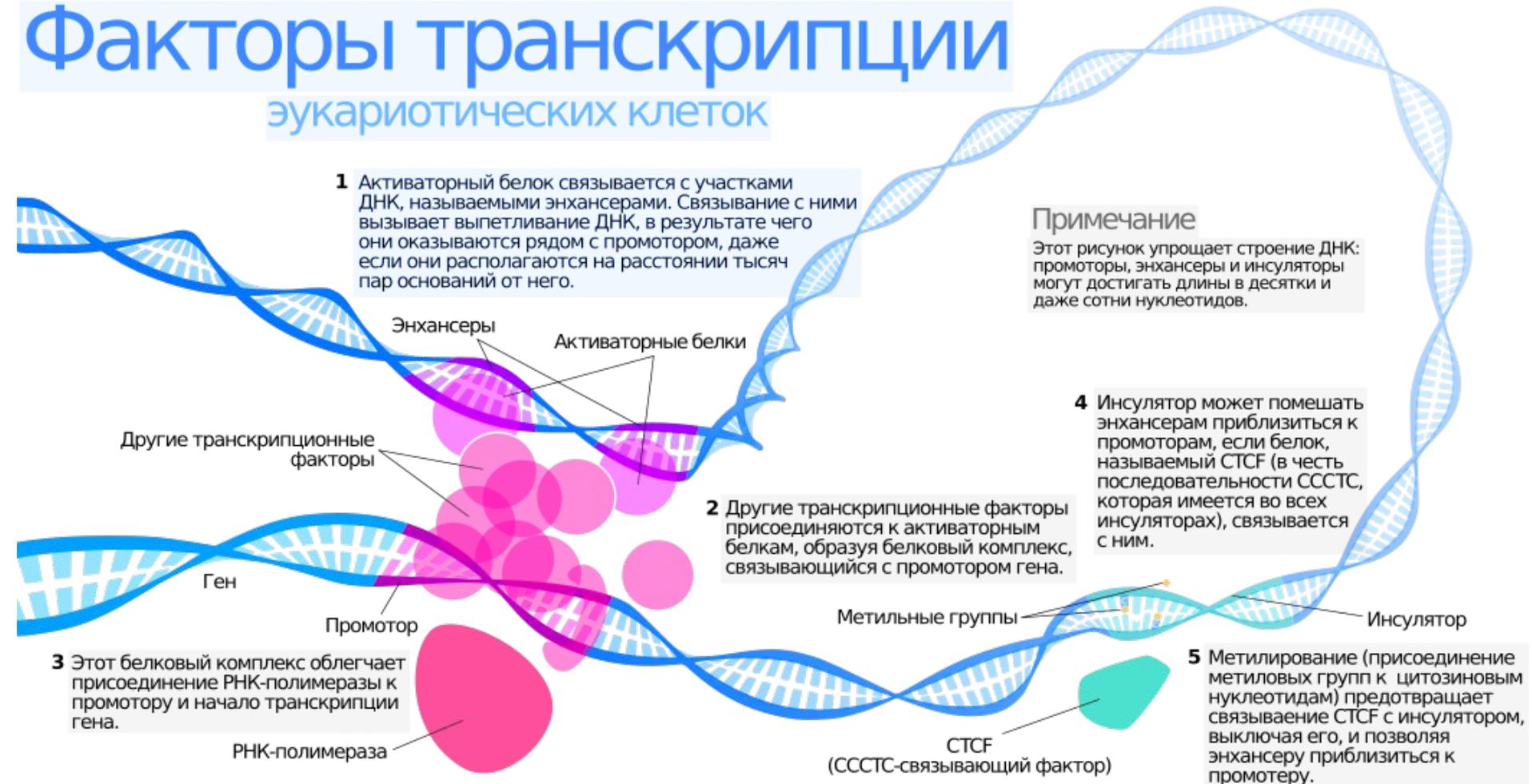
Метильные группы
Инсулятор

3 Этот белковый комплекс облегчает присоединение РНК-полимеразы к промотору и начало транскрипции гена.

РНК-полимераза

CTCF
(CCCTC-связывающий фактор)

5 Метилирование (присоединение метиловых групп к цитозиновым нуклеотидам) предотвращает связывание CTCF с инсулятором, выключая его, и позволяя энхансеру приблизиться к промотору.



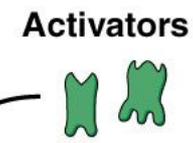
- В каждом транскрипционе транскрибируется только одна из двух цепей ДНК, которая называется матричной, вторая, комплементарная ей цепь, называется кодирующей. Синтез цепи РНК идёт от 5'- к 3'-концу, при этом матричная цепь ДНК всегда антипараллельна синтезируемой нуклеиновой кислоте.

Энхансер (enhancer) [англ. *enhancer*

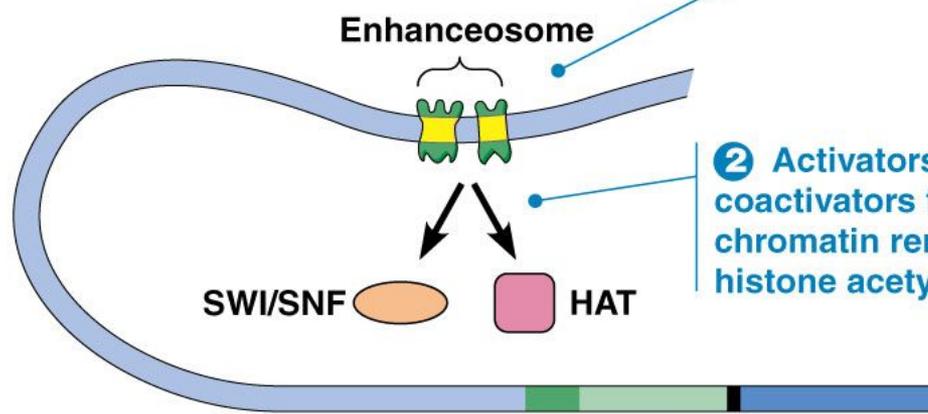
- усилитель]

87

- регуляторная нуклеотидная последовательность, которая повышает (усиливает) экспрессию генов и может функционировать в разной ориентации и в любых положениях относительно промотора. Энхансеры представляют собой протяженные последовательности нуклеотидов, которые содержат сайты связывания нескольких факторов транскрипции.
- Энхансер локализован обычно в области, расположенной в 5'-положении относительно гена, но может также быть локализован внутри генов (в интронах) и в 3'-фланкирующих нуклеотидных последовательностях генов.
- Для функционирования энхансера требуются соответствующие транс-действующие факторы. В отличие от промотора, энхансер сам по себе не может обеспечить транскрипцию гена.
- Характерными свойствами энхансера являются его способность осуществлять регуляторное действие на промотор на больших расстояниях от него (более 60 остатков нуклеотидов), независимость его активности от ориентации по отношению к промоторам и от расположения относительно регулируемого гена.

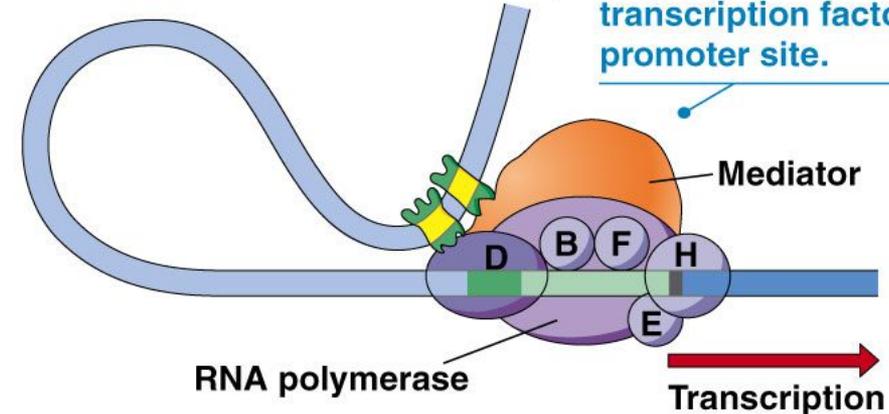


1 Activator proteins bind to enhancer, triggering DNA bending.



2 Activators interact with coactivators to stimulate chromatin remodeling and histone acetylation.

3 Activators bind to Mediator, triggering assembly of RNA polymerase and general transcription factors at the promoter site.



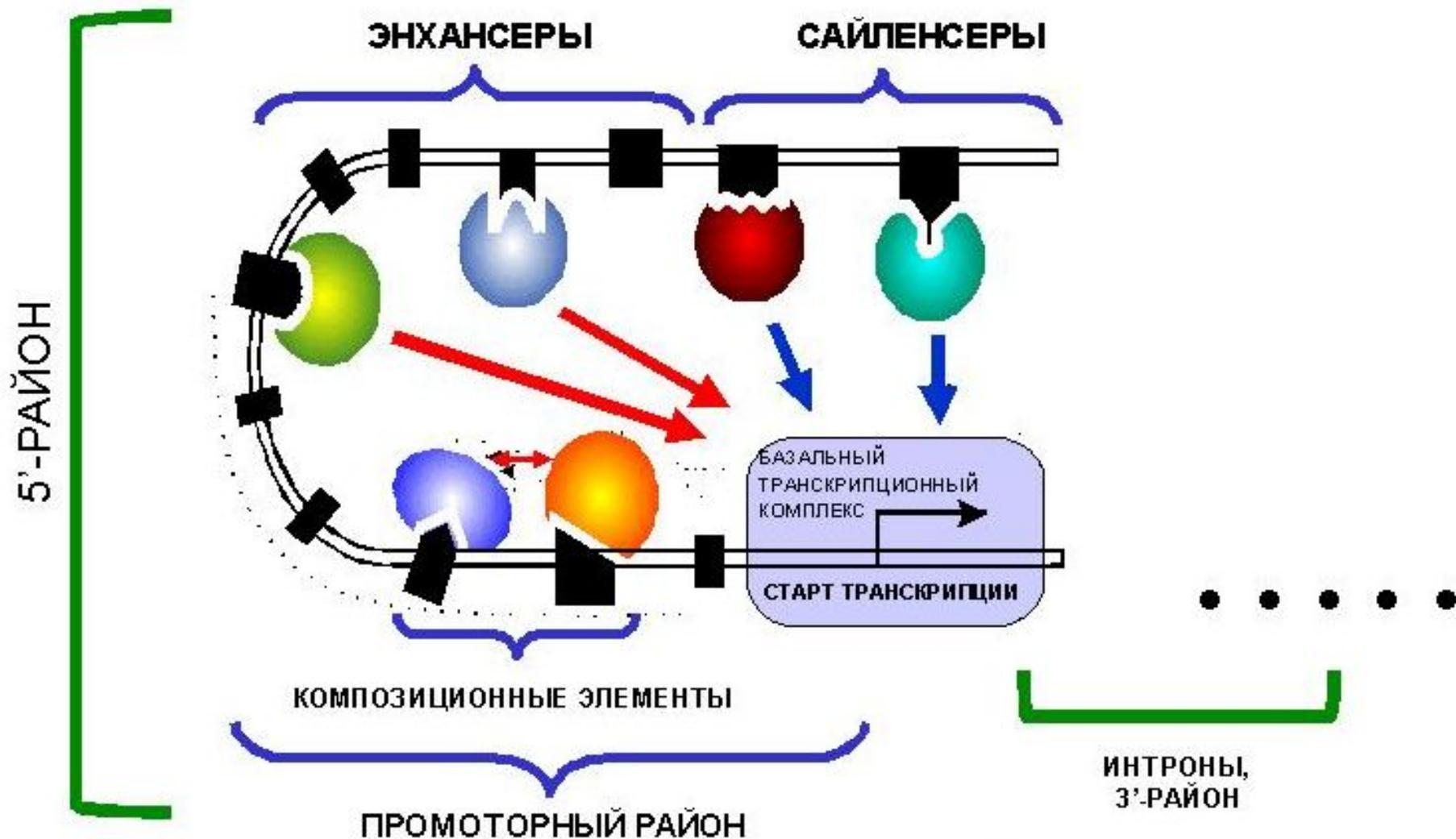
Сайленсер (silencer) [англ. *silencer* — глушитель, от лат. *silentum* - молчание]

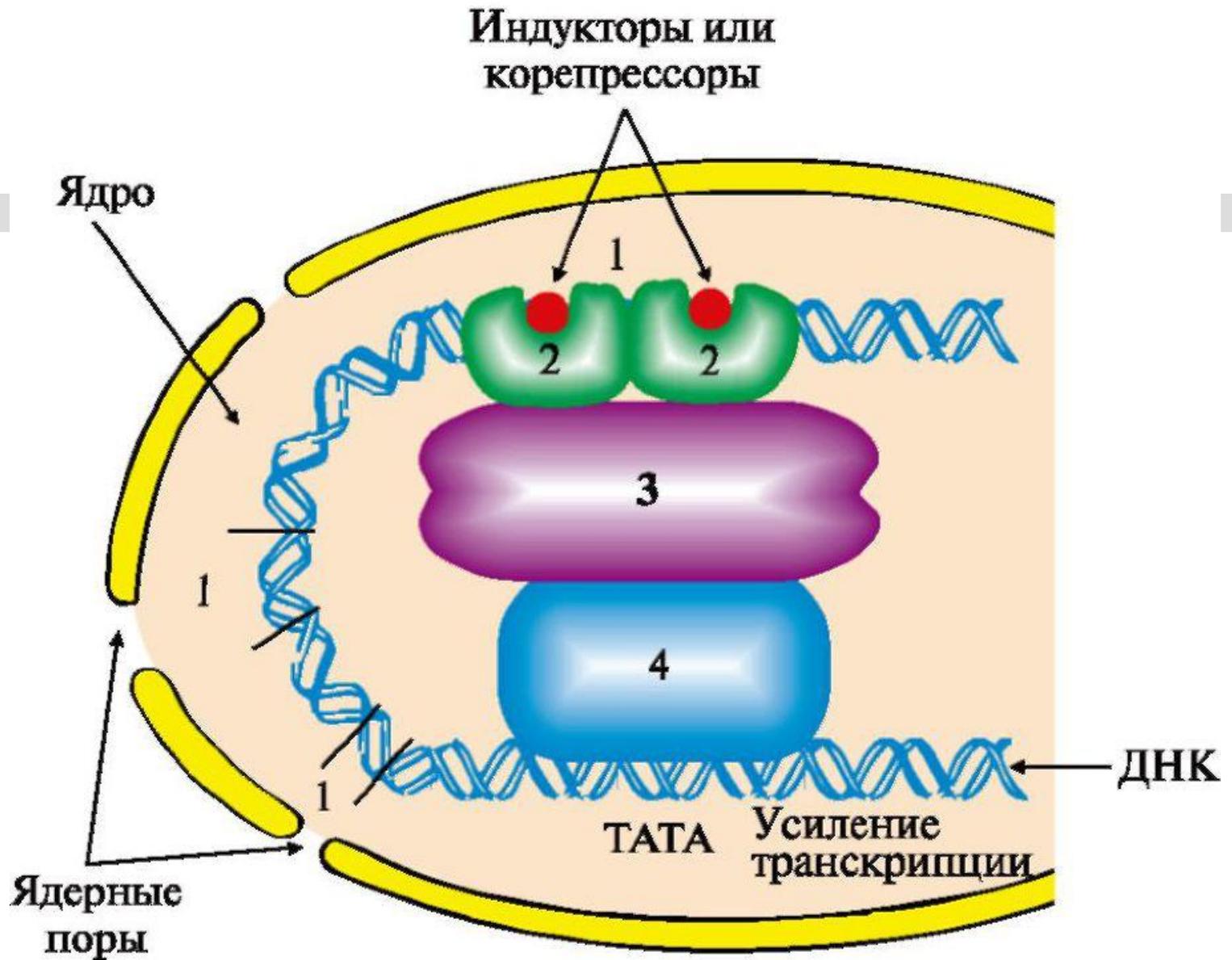
89

- определенная нуклеотидная последовательность ДНК, являющаяся регулятором транскрипции гена и ослабляющая или прекращающая этот процесс при взаимодействии со специфическими транс-действующими факторами.
- Сайленсинг - процесс подавления экспрессии генов (выключение генов), осуществляемый не в результате мутации, а с помощью разнообразных эпигенетических механизмов

Положение сайленсера в ДНК

90





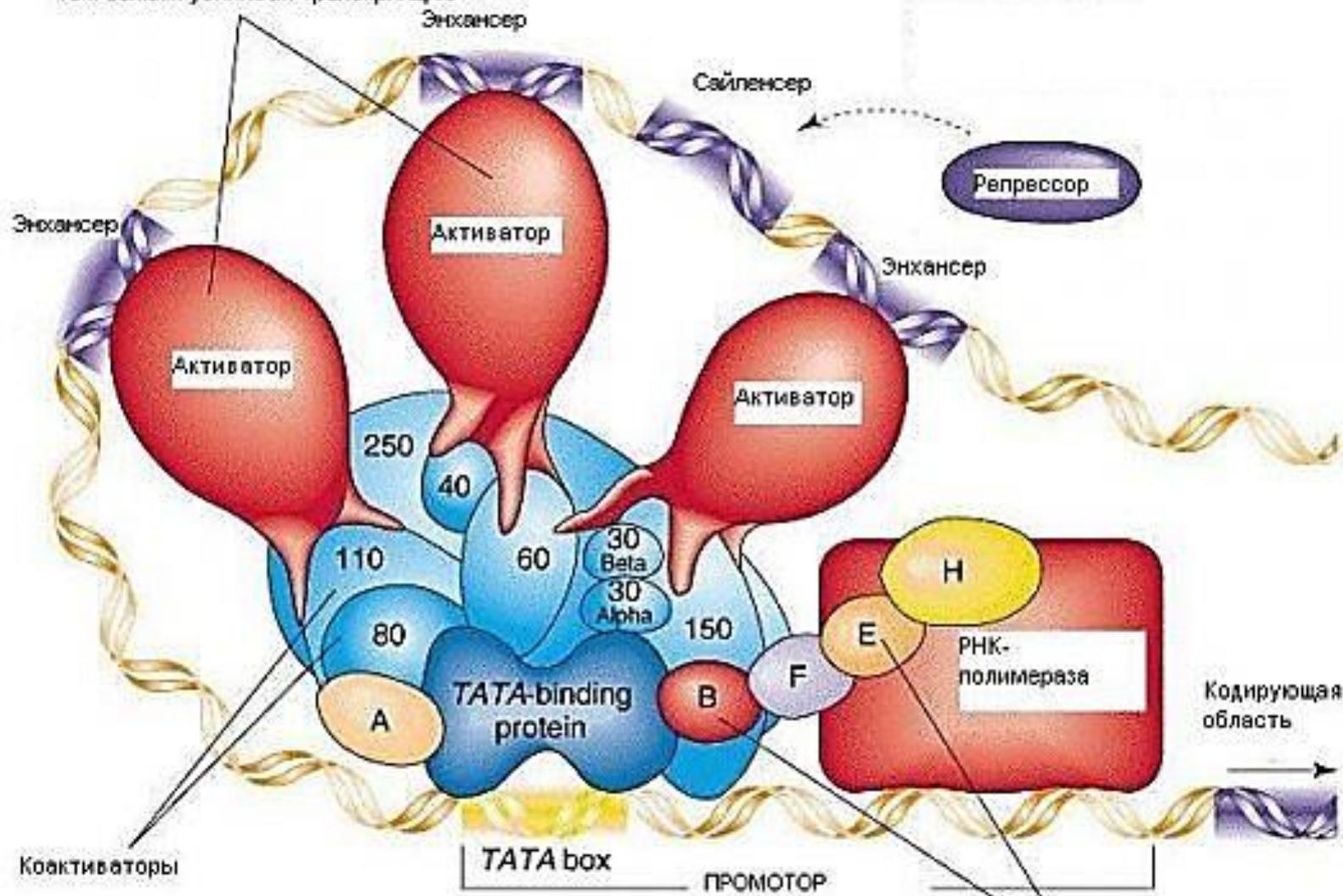
1 - регуляторные участки ДНК; 2 - регуляторные белки;
 3 - белки-коактиваторы; 4 - РНК-полимеразный комплекс

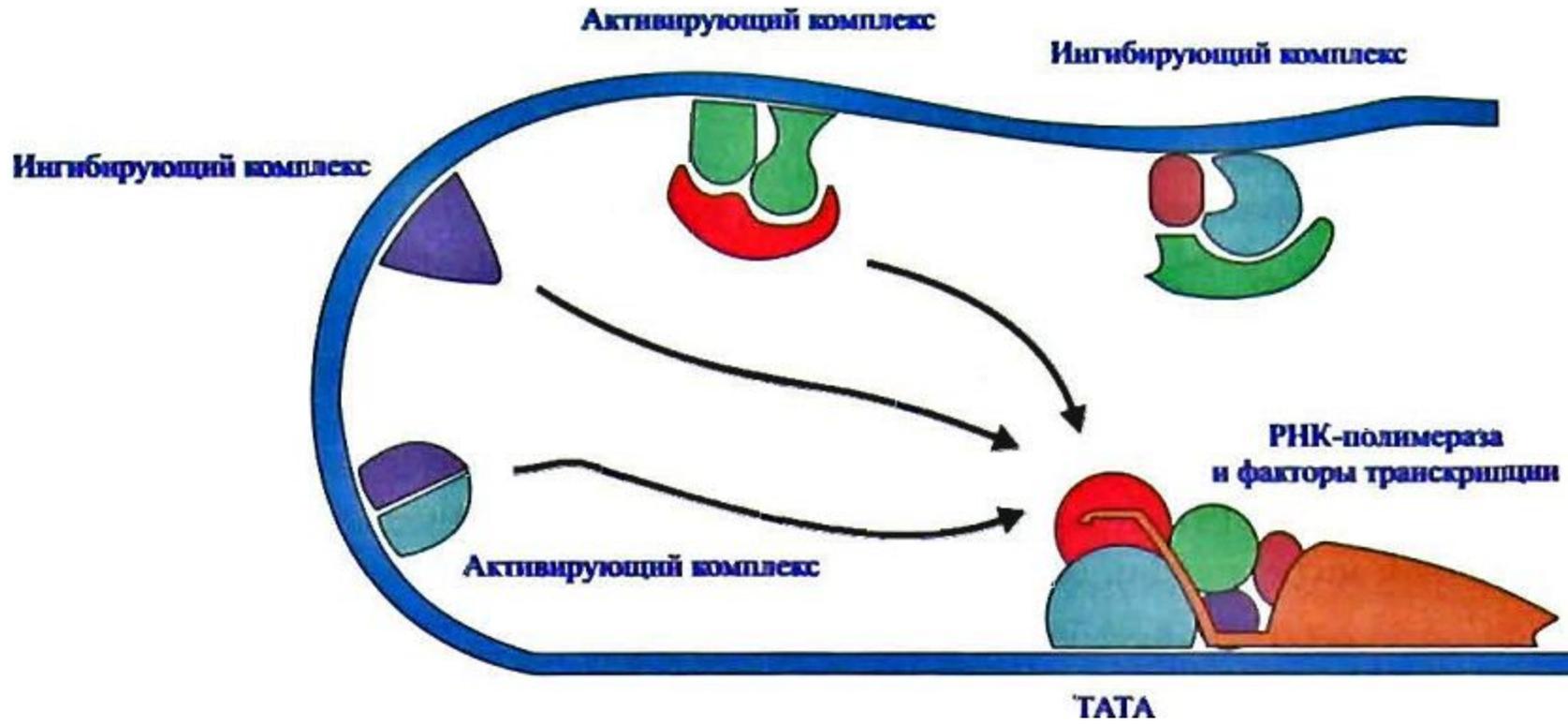
АКТИВАТОРЫ

Активаторы связываются с энхансерами, помогая определить какие гены являются активными и тем самым усиливая транскрипцию

РЕПРЕССОР

Репрессор связывается с сайленсером, подавляя функционирование активаторов, снижая транскрипцию





Информационные ресурсы для ПОДГОТОВКИ К ЗАНЯТИЮ

94

- Консультант студента - <http://www.studmedlib.ru>
- 1. Биохимия [Электронный ресурс] : учебник / под ред. Е. С. Северина. - 5-е изд., испр. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. -<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433126.html>. Глава 4. БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И БЕЛКОВ (МАТРИЧНЫЕ БИОСИНТЕЗЫ). ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ
- 2. Биологическая химия. Биохимия полости рта [Электронный ресурс] : учебник / Т.П. Вавилова, А.Е. Медведев. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. -
<http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970436349.html>. ЧАСТЬ VI. ХРАНЕНИЕ И РЕАЛИЗАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ. ГЛАВЫ 19-21.
- Биохимия для студента / Тимин О.А. <http://biokhimija.ru>. Матричные биосинтезы
(<http://biokhimija.ru/lekcii-po-biohimii/matrichnye-biosintezy.html>).
- База знаний по биологии человека / <http://humbio.ru>
- Википедия / <https://ru.wikipedia.org/wiki>
- Большая российская энциклопедия / <http://bigenc.ru>