

**UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
«NICOLAE TESTEMIȚANU»
CATEDRA BIOCHIMIE ȘI BIOCHIMIE CLINICĂ**

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

**Svetlana Protopop
doctor în medicină,
conferențiar universitar**

Структура и функции
нуклеиновых кислот.
Репликация ДНК

Нуклеиновые кислоты

- Высокомолекулярные соединения, состоящие из нуклеотидов.
- Типы:
- **ДНК** (дезоксирибонуклеиновая кислота)
- **РНК** (рибонуклеиновая кислота):
- мРНК.
- рРНК.
- тРНК.

Функции нуклеиновых кислот

- Хранение и передача генетической информации.

Нуклеотиды – мономеры нуклеиновых кислот

3 компонента:

- Азотистое основание
- Пентоза
- Фосфорная кислота

АЗОТИСТЫЕ ОСНОВАНИЯ

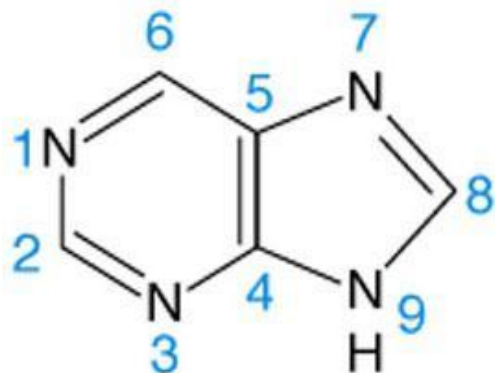
Пуриновые:

- Аденин (А)
- Гуанин (G)

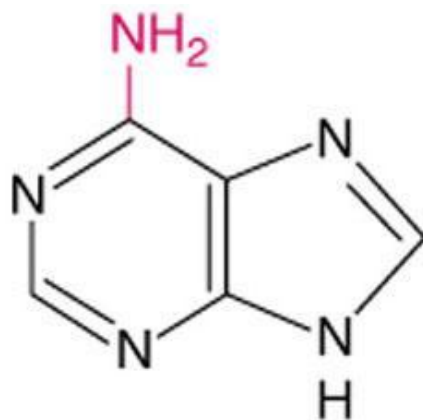
Пиримидиновые:

- Цитозин (С)
- Урацил (U)
- Тимин (Т)
-

Структура азотистых оснований



Purine



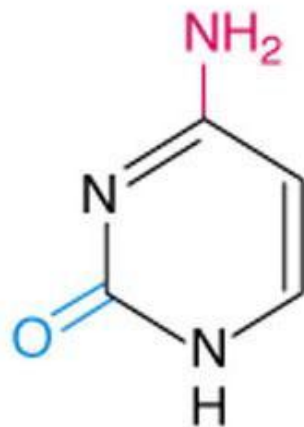
Adenine



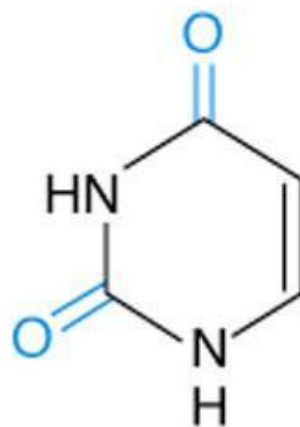
Guanine



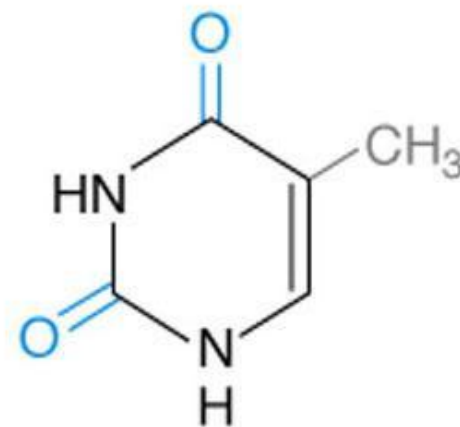
Pyrimidine



Cytosine

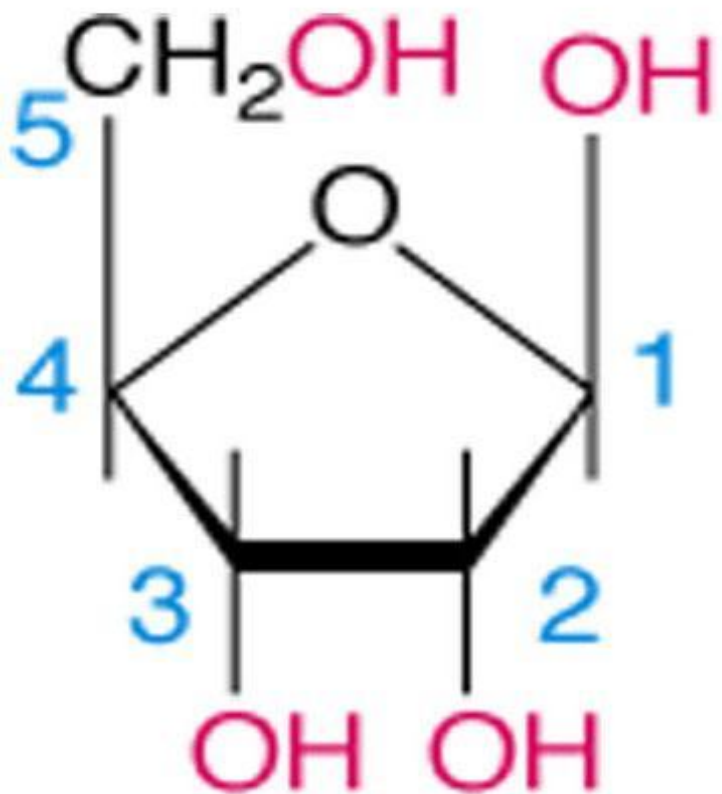


Uracil

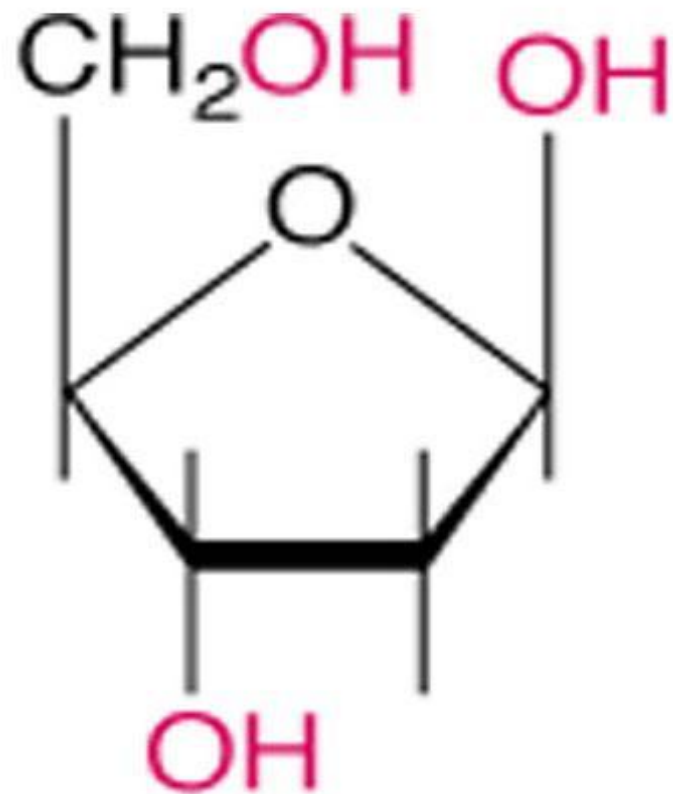


Thymine

ПЕНТОЗЫ



Ribose



2-deoxyribose

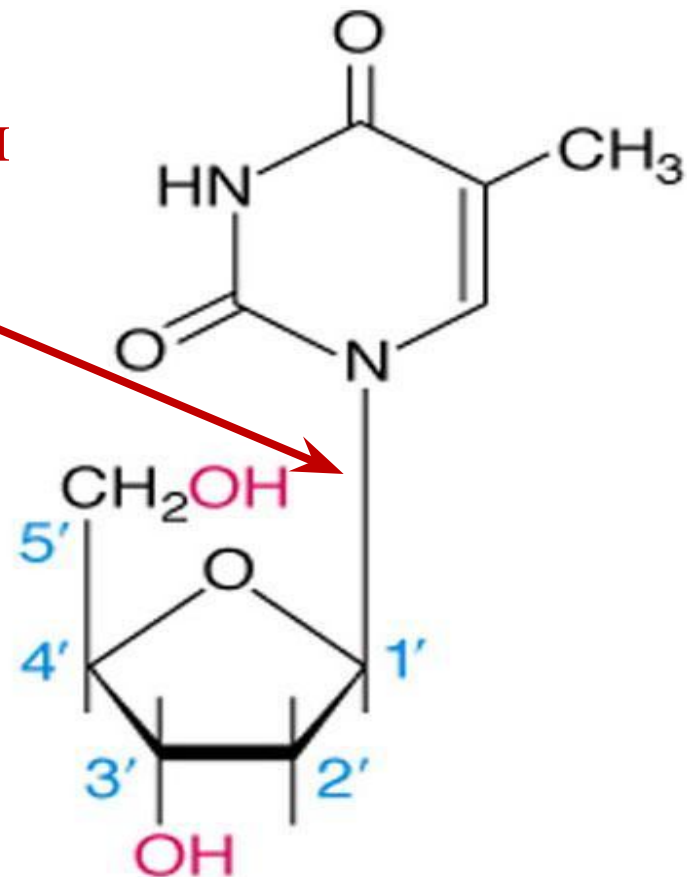
Нуклеозиды

- Азотистое основание + пентоза



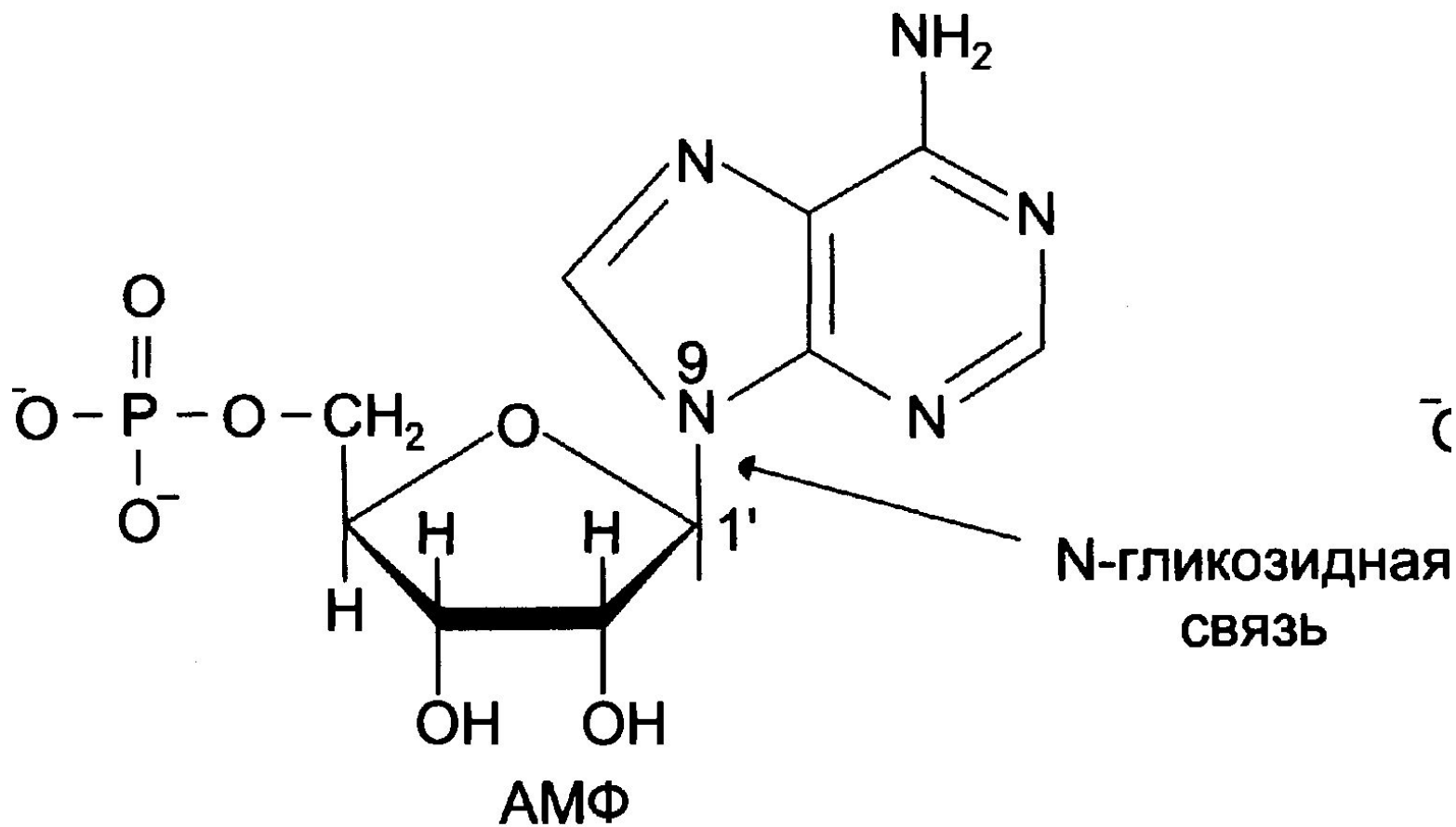
Adenosine

Н-гликозидная
связь

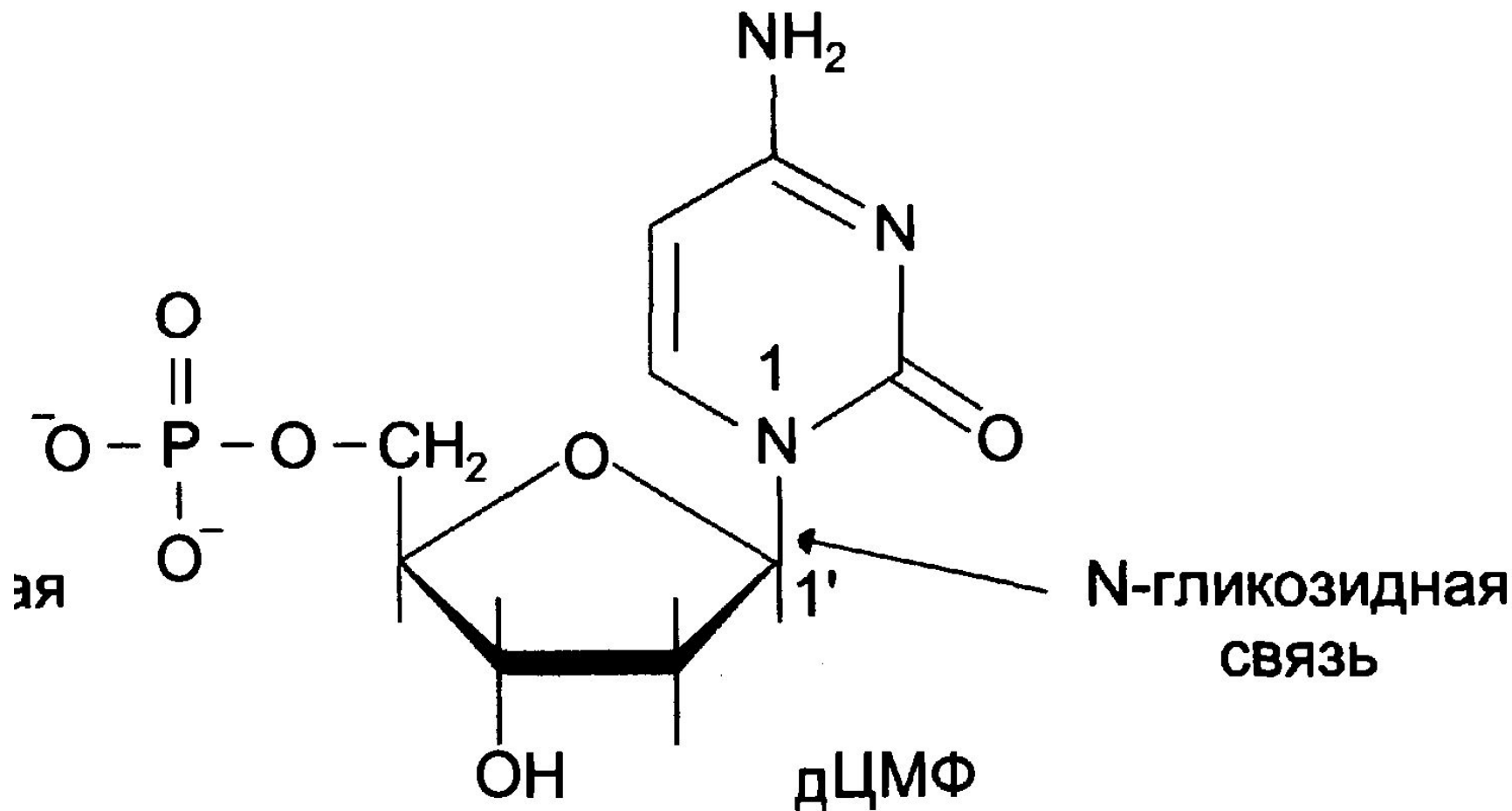


2' -Deoxythymidine

Нуклеотиды



Нуклеотиды



Номенклатура нуклеозидов и нуклеотидов

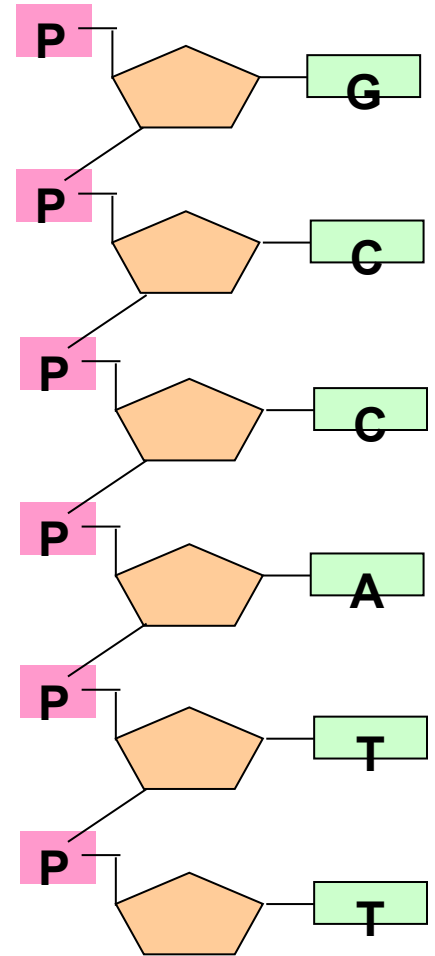
Азотистое основание	Нуклеозид	Нуклеотид
Аденин	Адено зин	Аденозин-моно-, ди- или трифосфат
Гуанин	Гуано зин	Гуанозин-моно-, ди- или трифосфат
Цитозин	Цити дин	Цитидин-моно-, ди- или трифосфат
Урацил	Ури дин	Уридин-моно-, ди- или трифосфат
Тимин	Тими дин	Тимидин-моно-, ди- или трифосфат

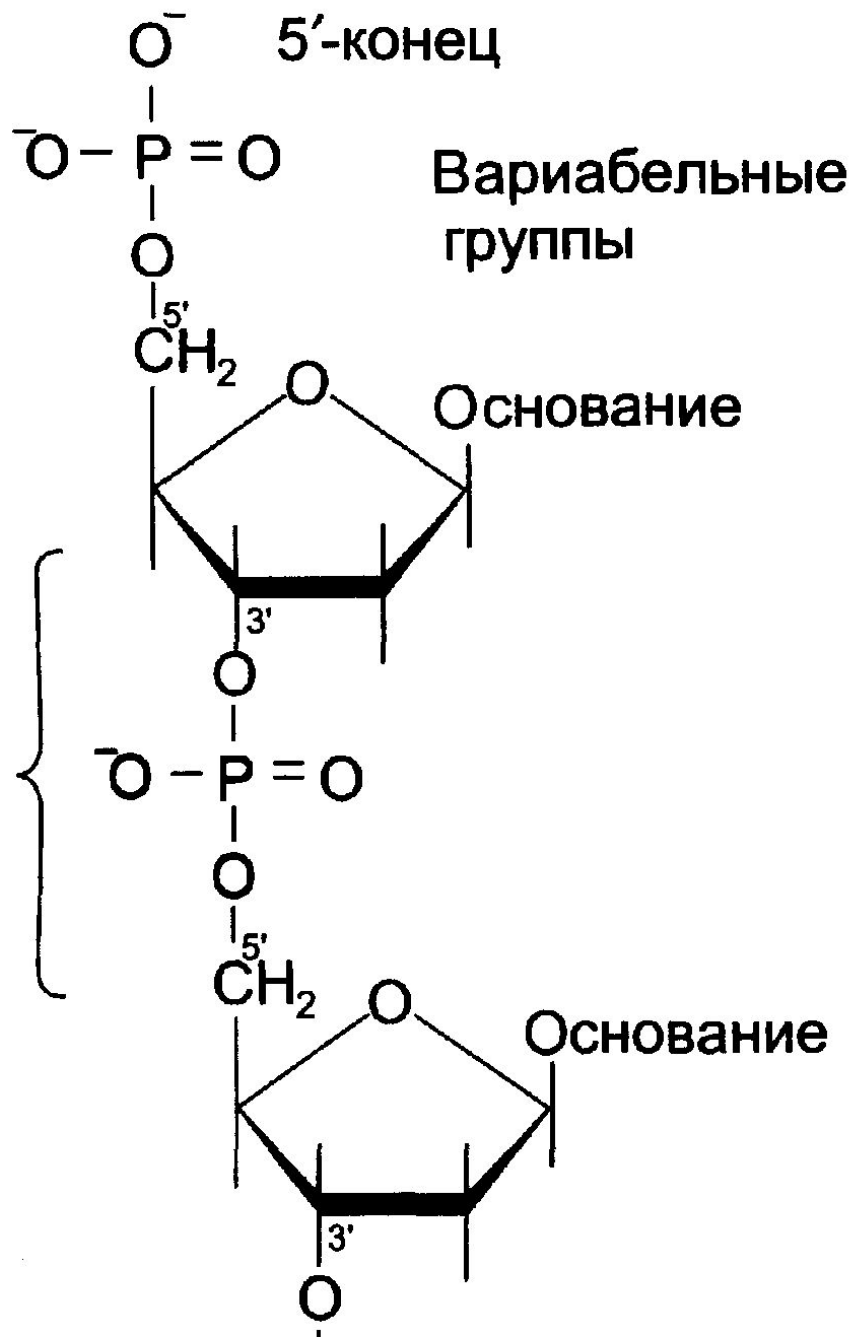
Функции нуклеотидов

- Предшественники и мономеры нуклеиновых кислот
- Макроэргические соединения
- Кофакторы
- Активаторы определенных веществ (УДФ-глюкоза, ЦДФ-холин)
- Вторичные посредники (циклические нуклеотиды – цАМФ, цГМФ)

Первичная структура ДНК

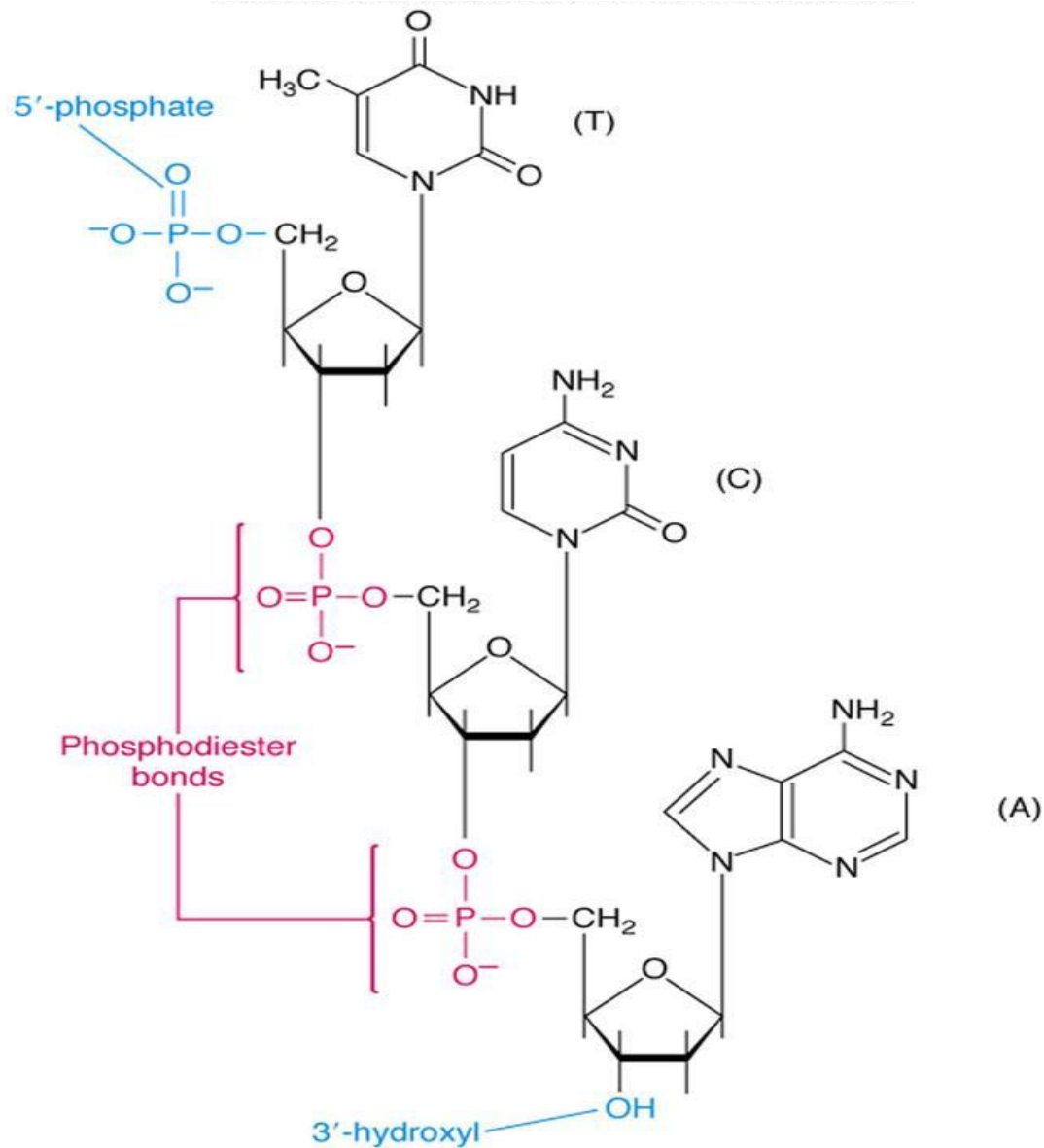
- последовательность дезоксирибонуклеотидов в полинуклеотидной цепи.
- Связи между нуклеотидами – **3',5'-фосфодиэфирные связи.**
- Направление полинуклеотидной цепи – **5' → 3'**.





3', 5'-фосфодиэфирная
связь

Первичная структура ДНК



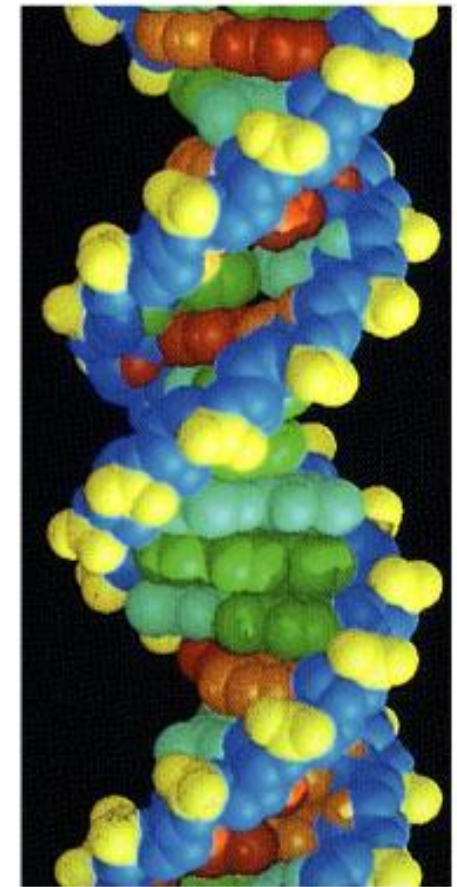
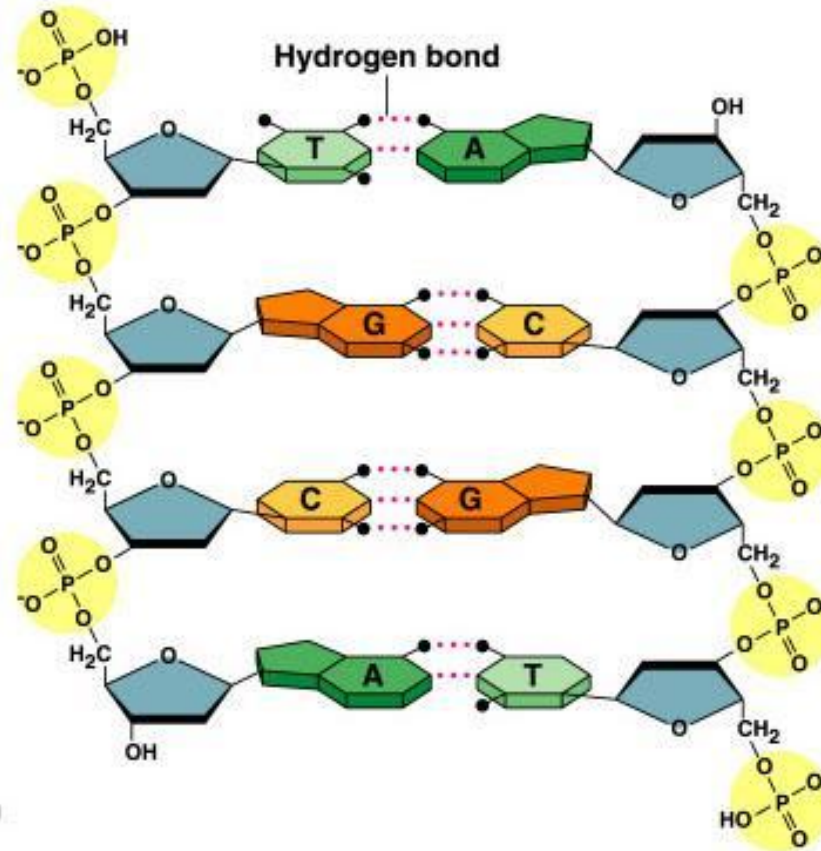
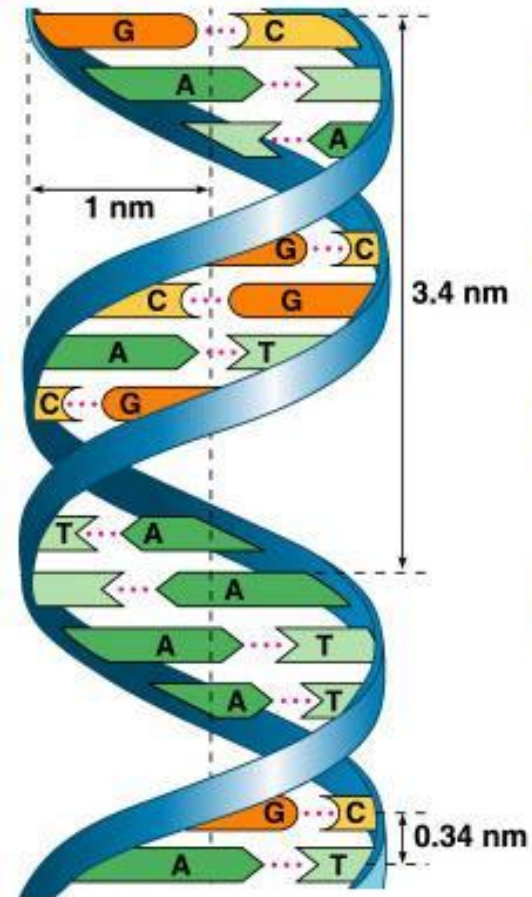
Двойная спираль ДНК (модель Дж. Уотсона и Ф. Крика, 1953 г.)

Две антипараллельные, комплементарные полинуклеотидные цепи, закрученные вокруг общей оси.

Связи между цепями – водородные.

- Антипараллельность – одна цепь $5' \rightarrow 3'$, вторая – $3' \rightarrow 5'$.
- Комплементарность:
- А связывается с Т (2 водородные связи),
- Г связывается с Ц (3 водородные связи).

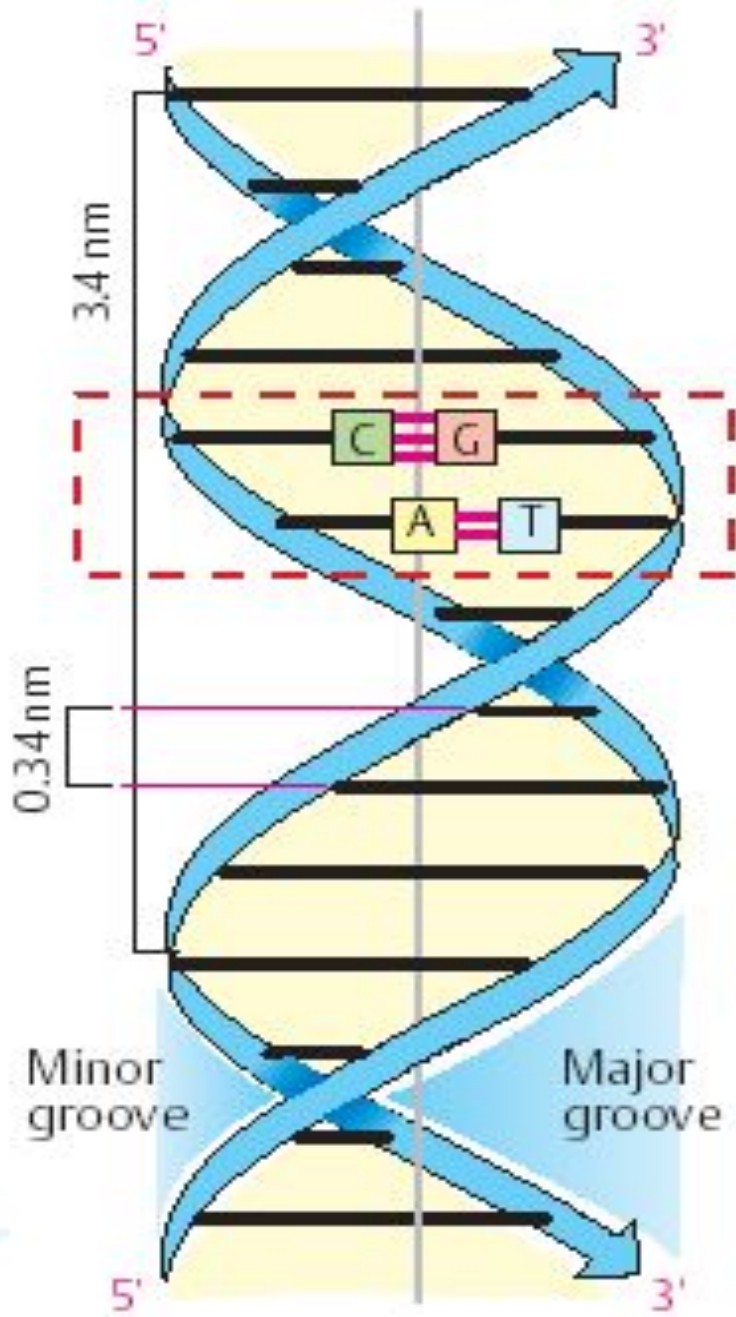
Двойная спираль ДНК



(a) Key features of DNA structure

(b) Partial chemical structure

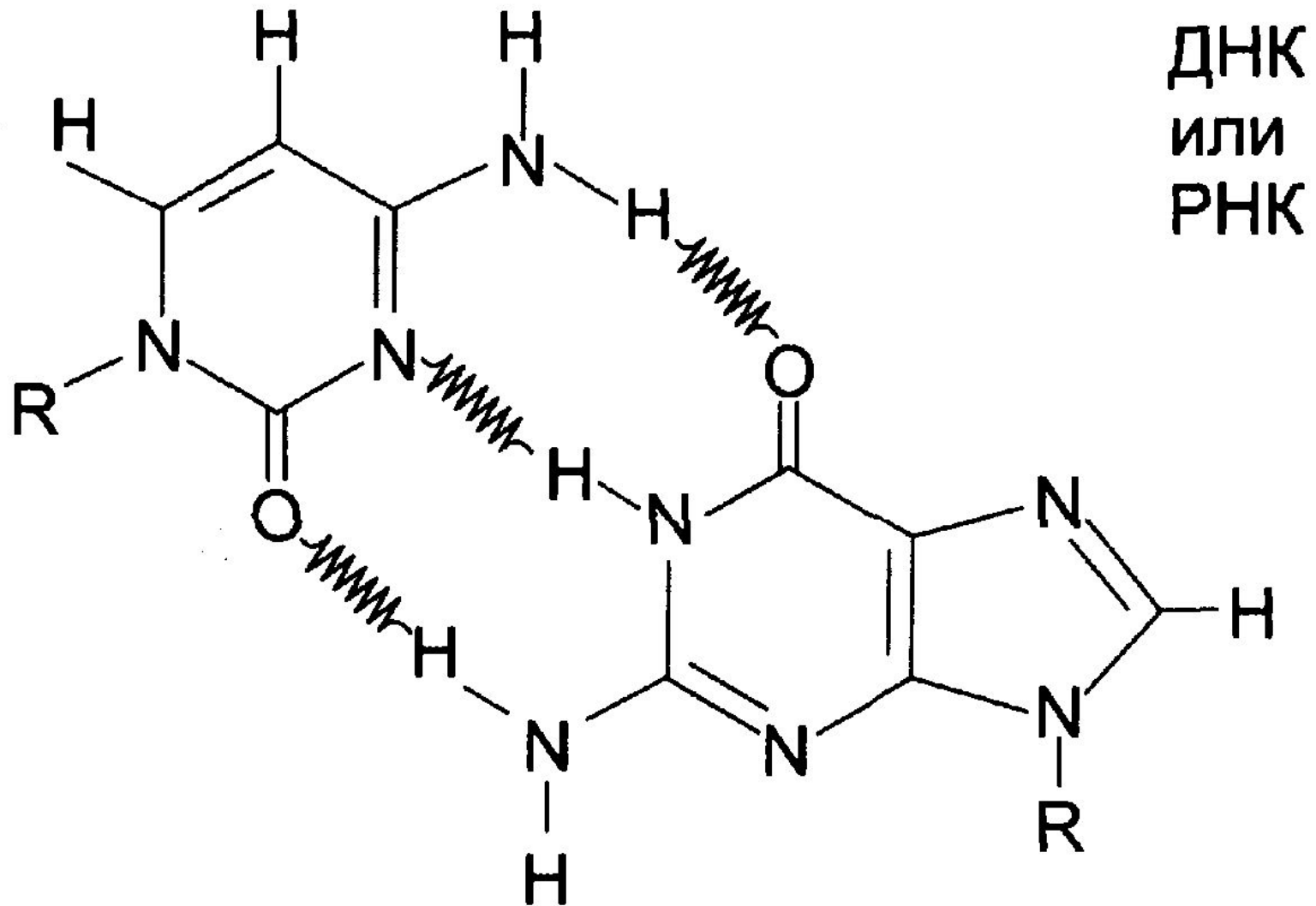
(c) Space-filling model



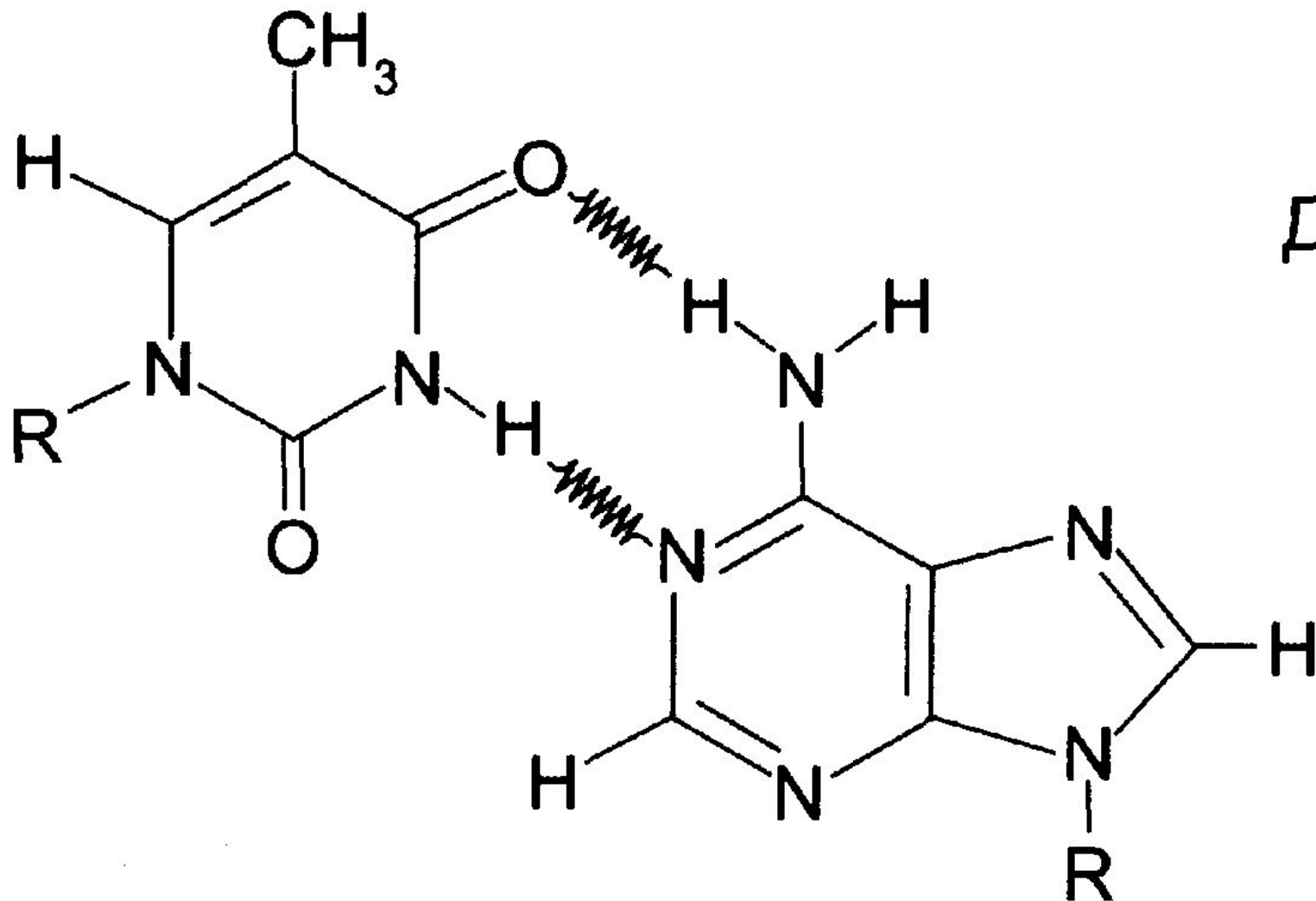
2. Double strand



Цитозин ∴ Гуанин
(три водородные связи)



Тимин :: Аденин
(две водородные связи)



ДНК

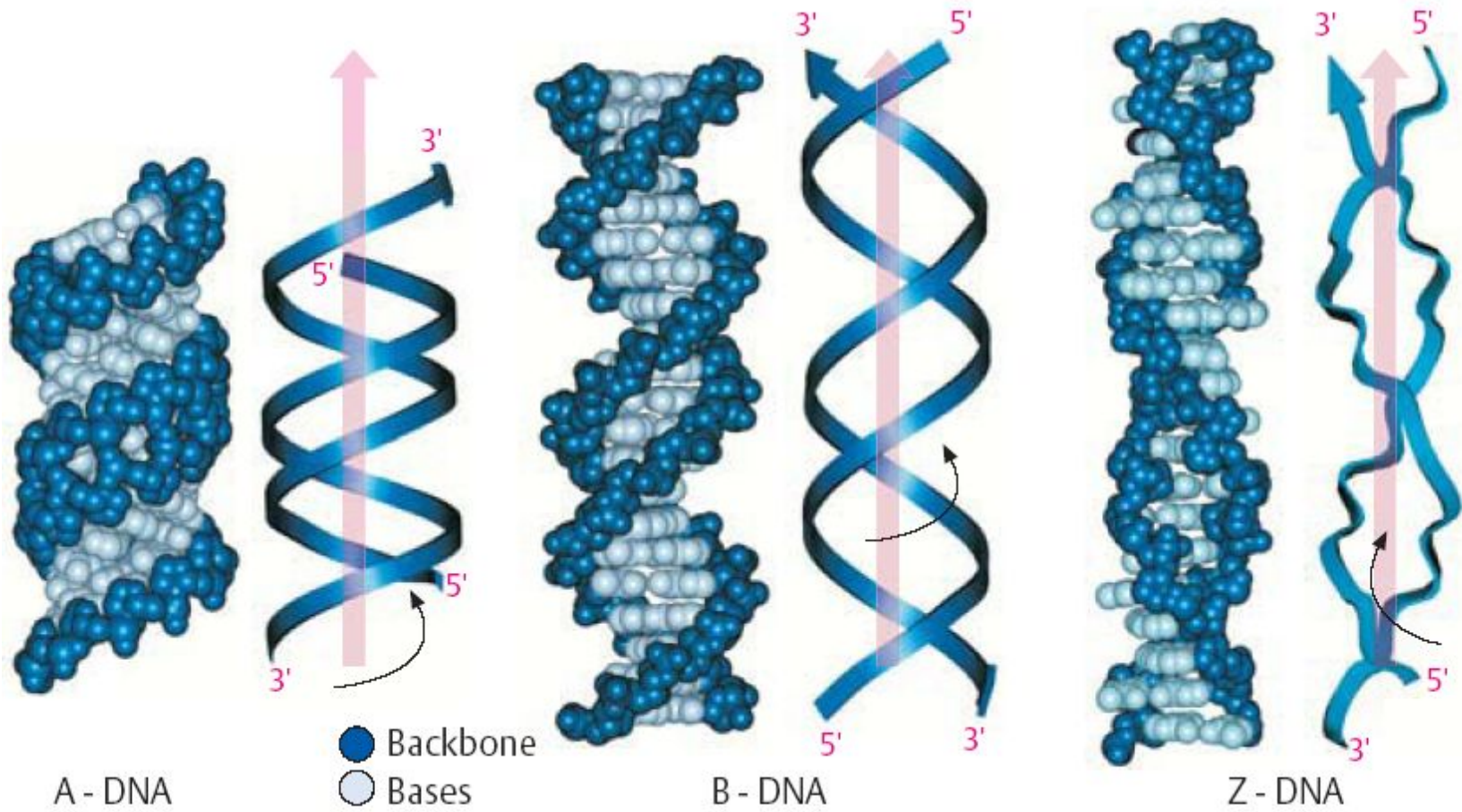
Правила Чаргаффа

- 1) молярная доля пуринов равна молярной доле пиримидинов: $A+G = T+C$
 - 2) $A+C = G+T$
 - 3) $A = T$ и $G = C$
 - 4) коэффициент специфичности – отношение $\frac{G+C}{A+T}$ является важным для характеристики вида.
- Для животных и большинства растений этот коэффициент ниже 1 (от 0,54 до 0,94), у микроорганизмов – от 0,45 до 2,57.

Типы двойной спирали ДНК

- Правозакрученные А, В, С
- Левозакрученная Z
- Тип В двойной спирали ДНК:
- Один виток (шаг спирали) – 10 пар нуклеотидов
- Высота – 3,4 нм
- Диаметр – 1,8 нм

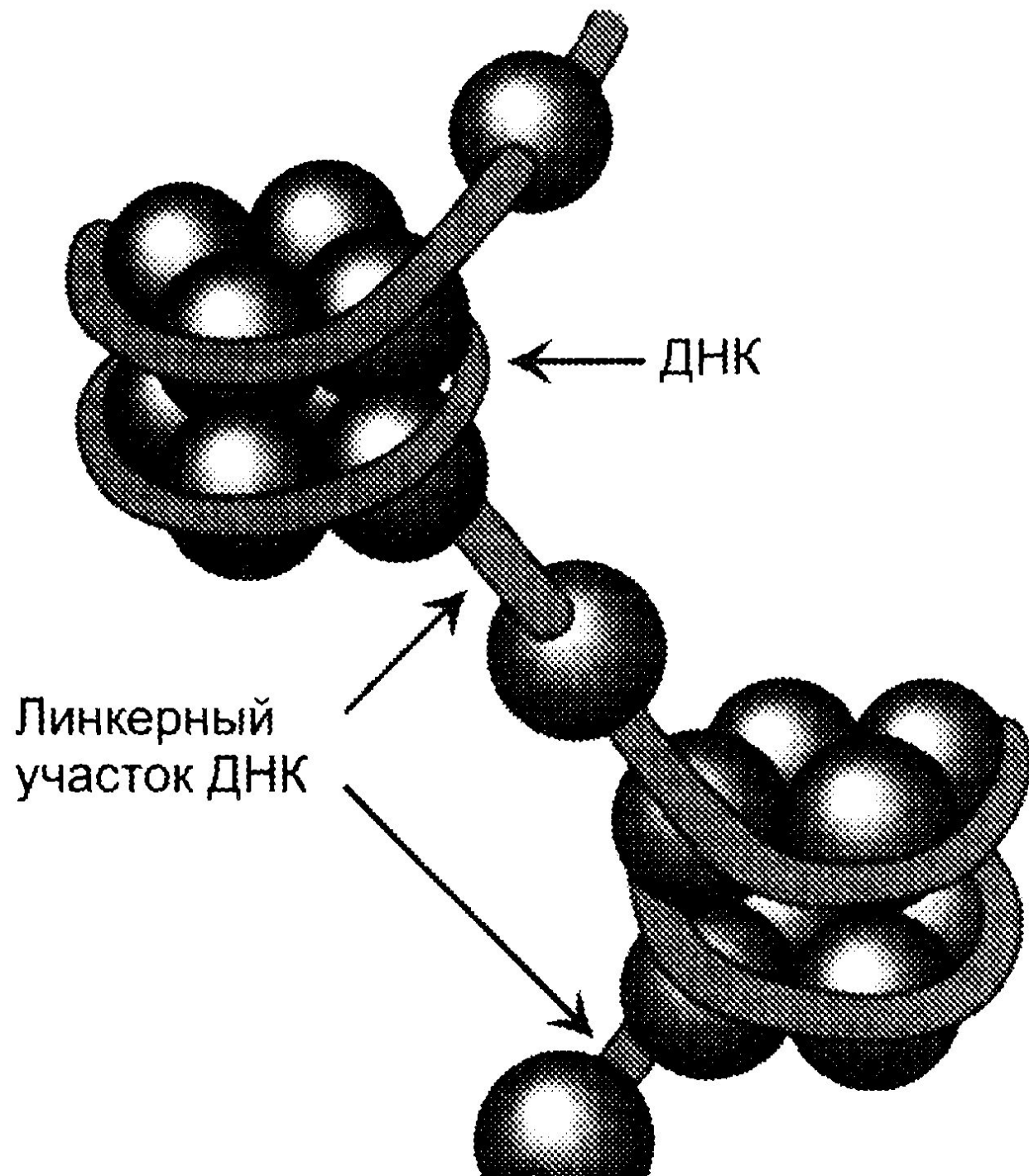
Типы двойной спирали ДНК



- Следующий уровень компактизации и суперспирализации ДНК осуществляется с участием гистоновых и негистоновых белков.
- Гистоны – щелочные белки (содержат много Lys и Arg).
- 5 типов гистоновых белков – H1, H2A, H2B, H3, H4.

Нуклеосомы

- 4 гистона образуют октамерный комплекс $(H2A, H2B, H3, H4)_2$, вокруг которого накручивается двойная спираль ДНК, совершая 1,75 оборота (146 пар нуклеотидов).
- Между нуклеосомами имеется линкерная ДНК (около 60 нуклеотидов), к которой связывается гистон H1.



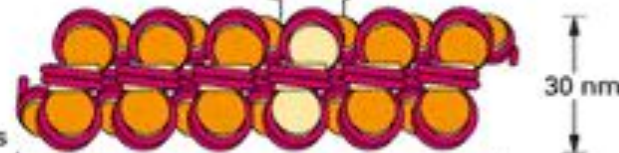
short region of
DNA double helix



"beads-on-a-string"
form of chromatin



30-nm chromatin
fiber of
packed nucleosomes



section of
chromosome in an
extended form

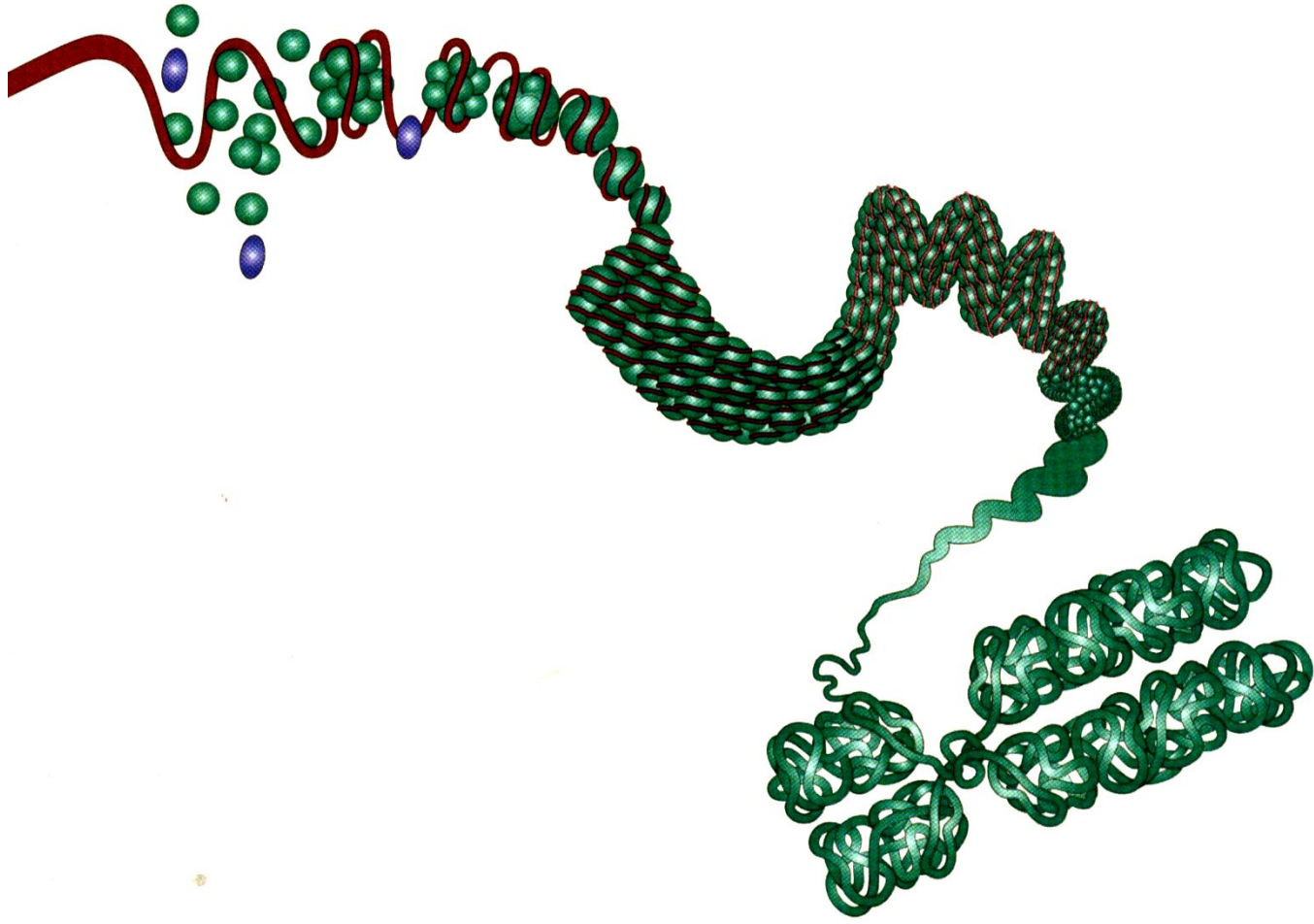


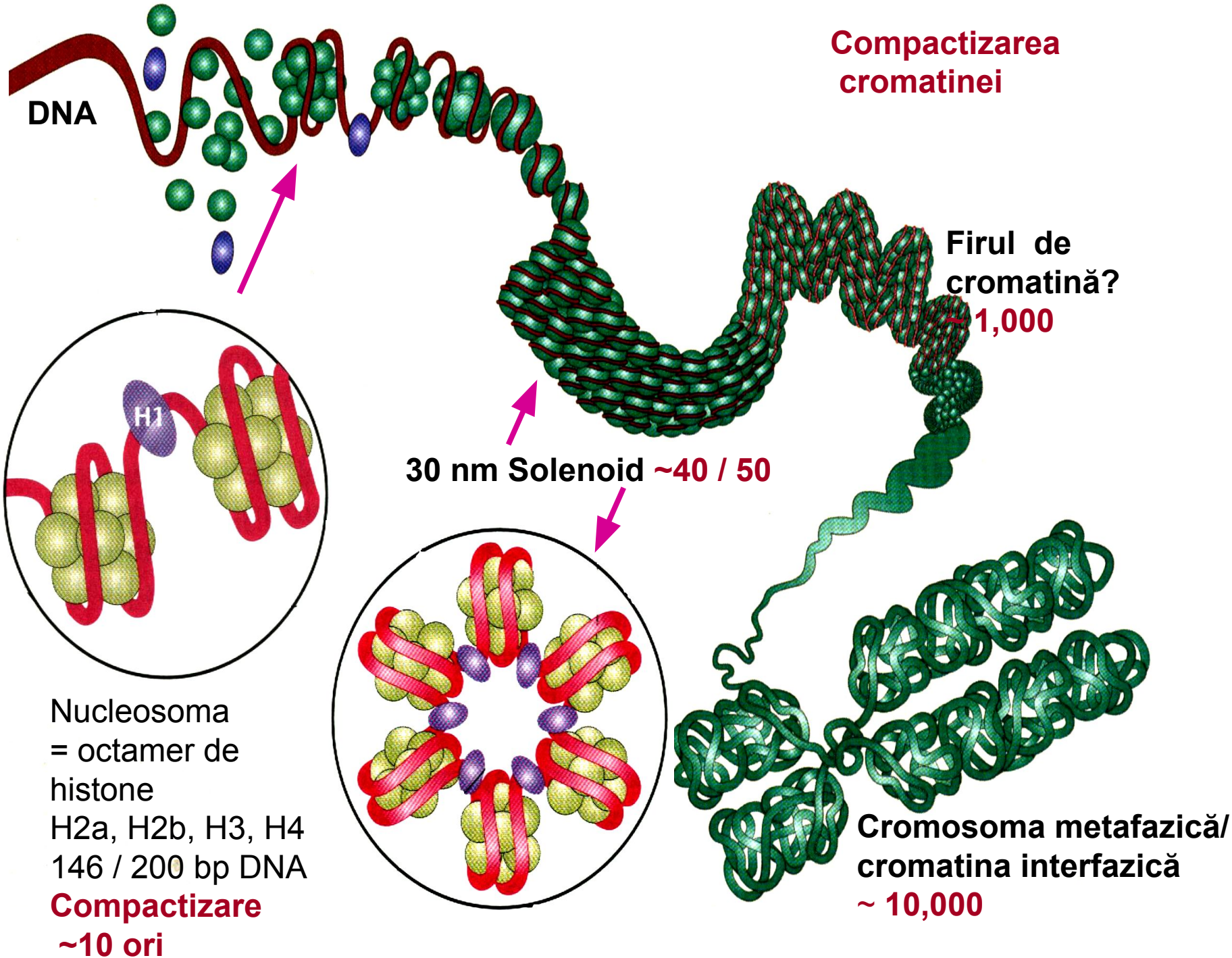
condensed section
of metaphase
chromosome



entire
metaphase
chromosome



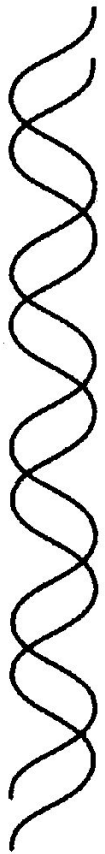




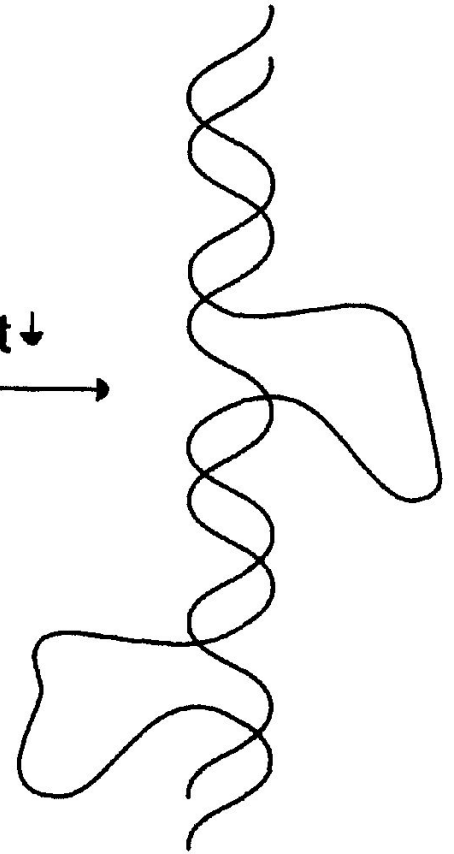
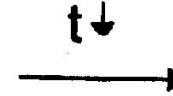
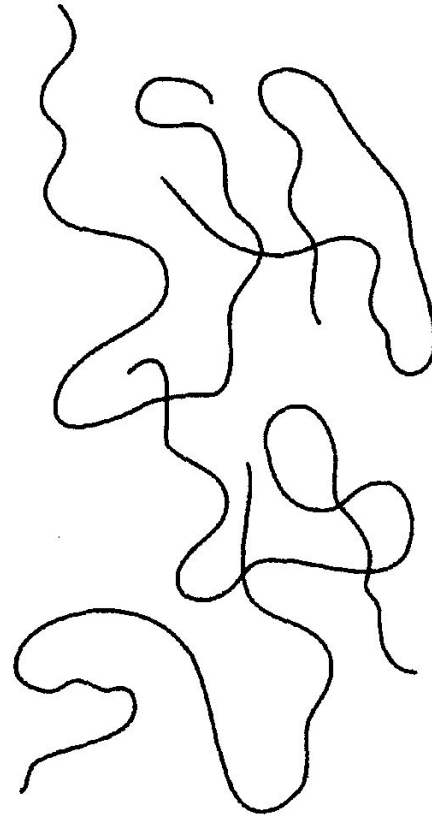
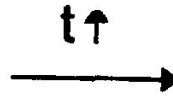
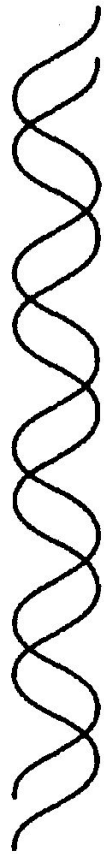
Денатурация ДНК

- Обратимый процесс (ренатурация или ренативация) – из-за комплементарности

Гибридизация ДНК–ДНК



+



ДНК
образец 1

ДНК
образец 2

Денатурированные ДНК

Гибрид ДНК–ДНК

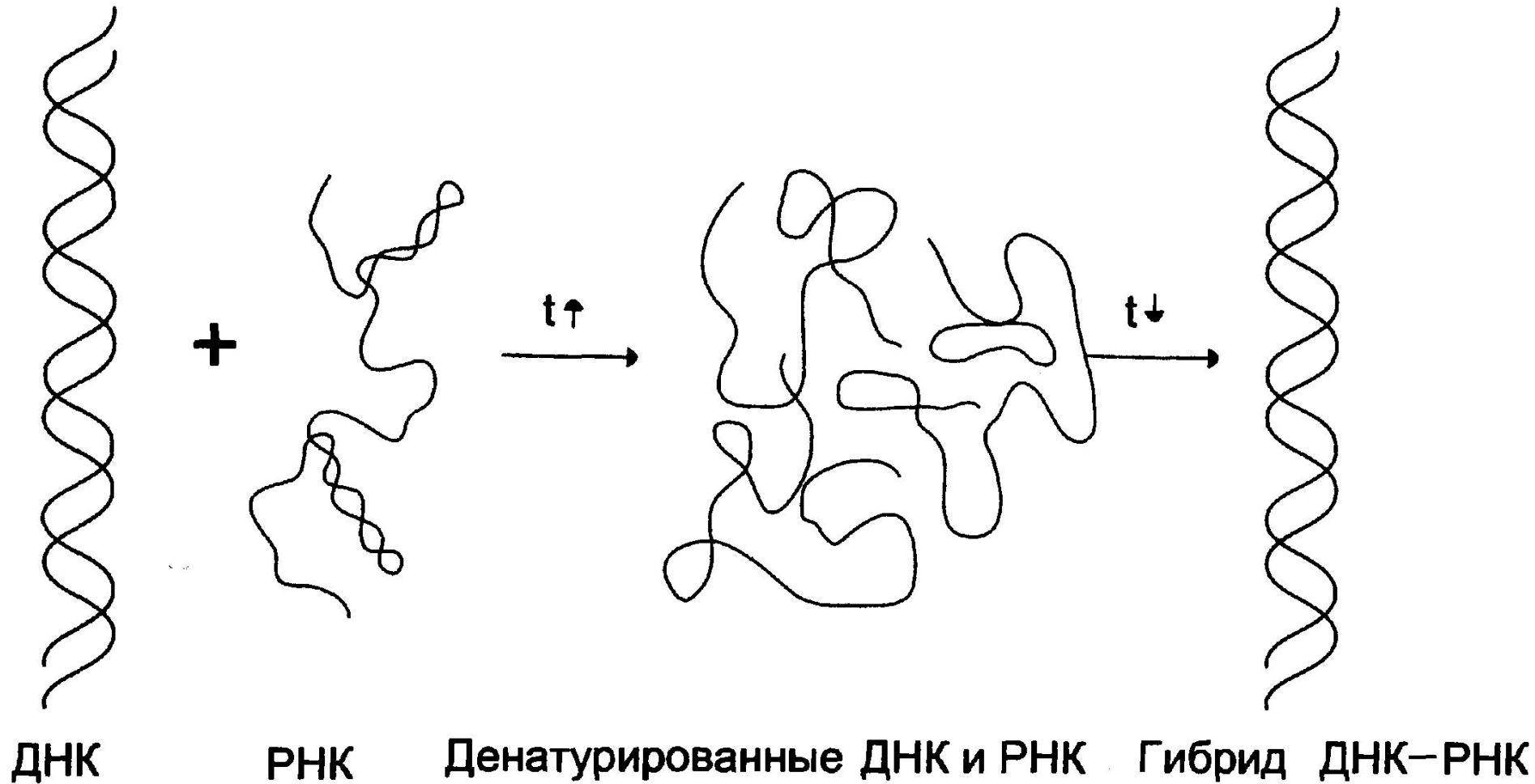
Гибридизация ДНК–ДНК

используется для:

установления сходства или различия первичной структуры разных образцов ДНК:

- ДНК разных видов различаются.
- ДНК всех органов и тканей одного вида идентичны.

Гибридизация ДНК–РНК



Репликация ДНК

- Синтез ДНК на матрице ДНК (удвоение содержания ДНК) – протекает в S-фазе клеточного цикла, которая предшествует делению клетки.
- Полуконсервативная репликация – в каждой вновь синтезированной молекуле ДНК – одна цепь – исходная (родительская), а вторая – вновь синтезированная (дочерняя).
- Направление репликации – $5' \rightarrow 3'$.
- Принцип – комплементарность.

Полуконсервативная репликация

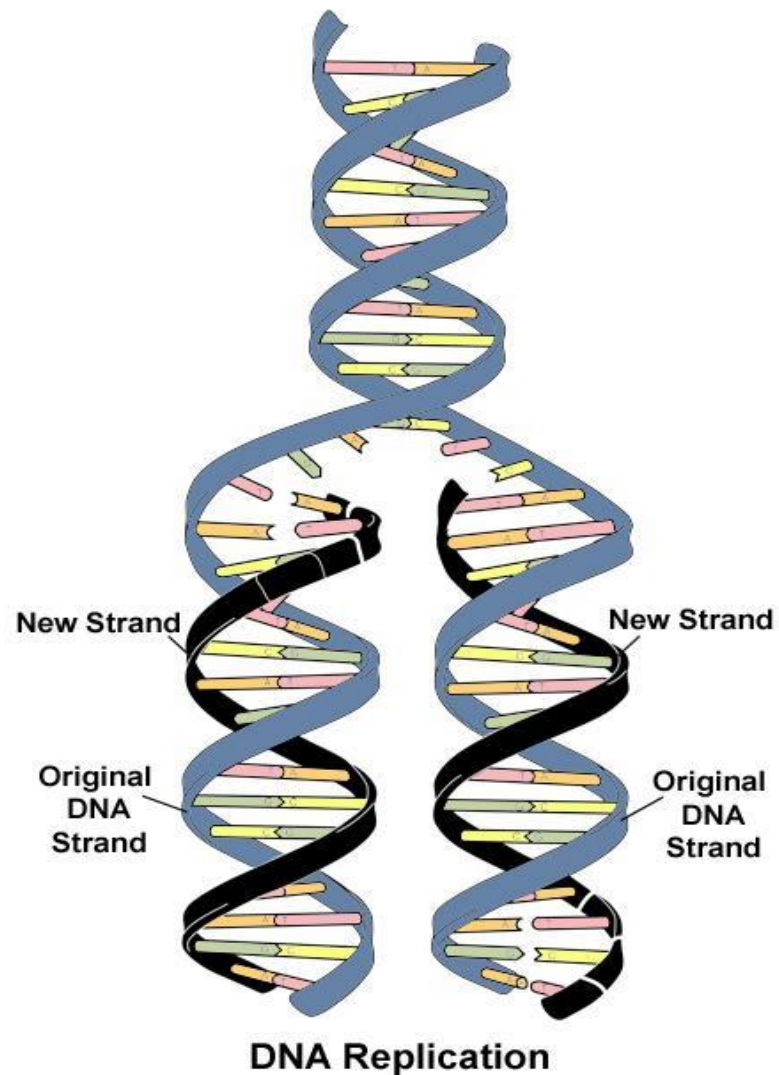


Image adapted from: National Human Genome Research Institute.

Необходимые условия для репликации ДНК

- Двухцепочечная матричная ДНК
- Дезоксирибонуклеозид трифосфаты (dATФ, dГТФ, dЦТФ, dТТФ)
- Рибонуклеозид трифосфаты (АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ)
- Mg^{2+}
- Комплекс ферментов – ДНК-репликаза

Ферменты репликации

- **Геликазы** – раскручивают (расплетают) двойную спираль ДНК, образуя репликационную вилку.
- **SSB-белки** – связываются к одноцепочечной ДНК и препятствуют обратному комплементарному взаимодействию цепей ДНК.

Ферменты репликации

- **Топоизомеразы** – устраняют суперспирализацию ДНК. Эти ферменты создают супервитки, а также уничтожают суперспирализацию путем разрезания ДНК и последующего сшивания образующихся разрывов.
- **РНК-полимераза ДНК-зависимая (праймаза)** – синтезирует затравку, необходимую для начала синтеза ДНК.

Ферменты репликации

- ДНК-полимеразы ДНК-зависимые I, II, III.
- ДНК-полимераза III – основной фермент репликации: обладает полимеразной активностью $5' \rightarrow 3'$ и экзонуклеазной активностью $3' \rightarrow 5'$. Нуждается в матрице и в затравке.
- ДНК-полимераза I – удаляет РНК-затравку и заменяет ее на фрагмент ДНК. Обладает полимеразной активностью $5' \rightarrow 3'$ и экзонуклеазной активностью $5' \rightarrow 3'$.

Ферменты репликации

- **ДНК-лигаза** – образует фосфодиэфирные связи между двумя фрагментами ДНК (в ходе репликации сшивает фрагменты Оказаки, участвует в репарации ДНК).

Этапы репликации

- Инициация
- Элонгация
- Терминация

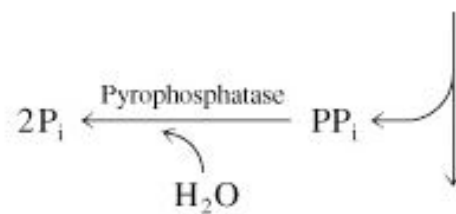
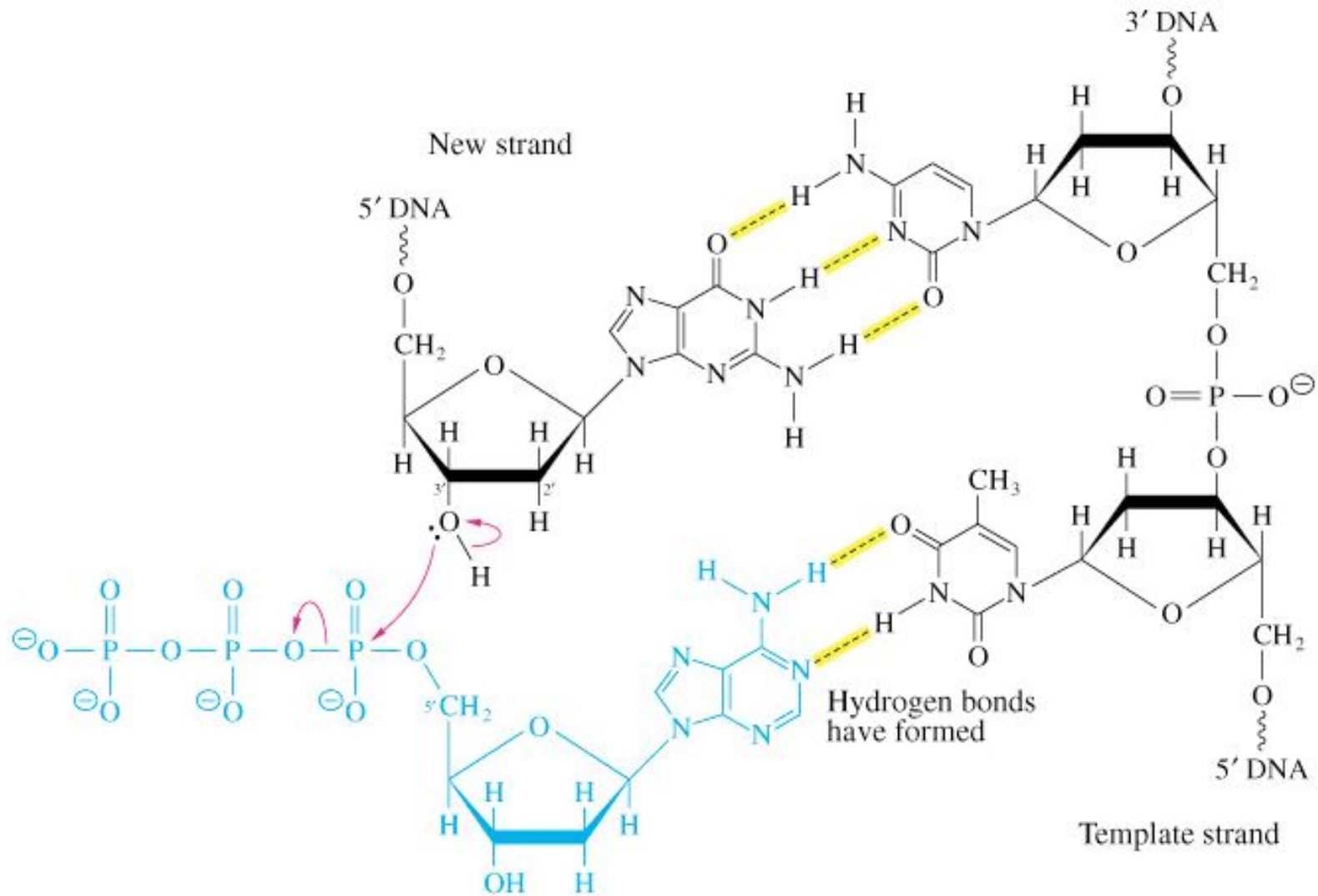
Инициация репликации

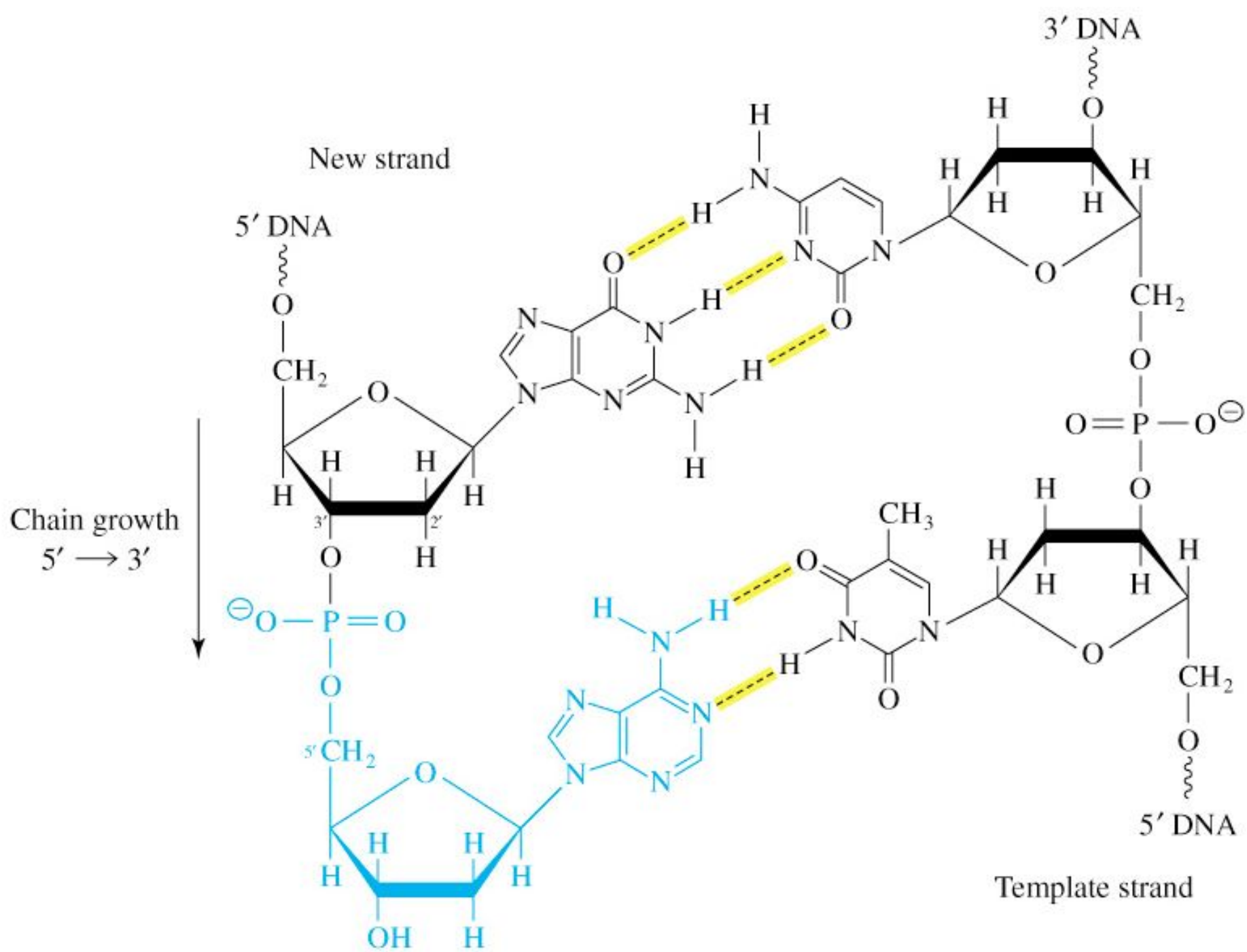
Включает:

- образование репликативной вилки – (геликаза, SSB-белки)
- синтез праймера на лидирующей цепи (праймаза)
- связывание первого дезоксирибонуклеотида к затравке (ДНК-полимераза III).

Элонгация репликации

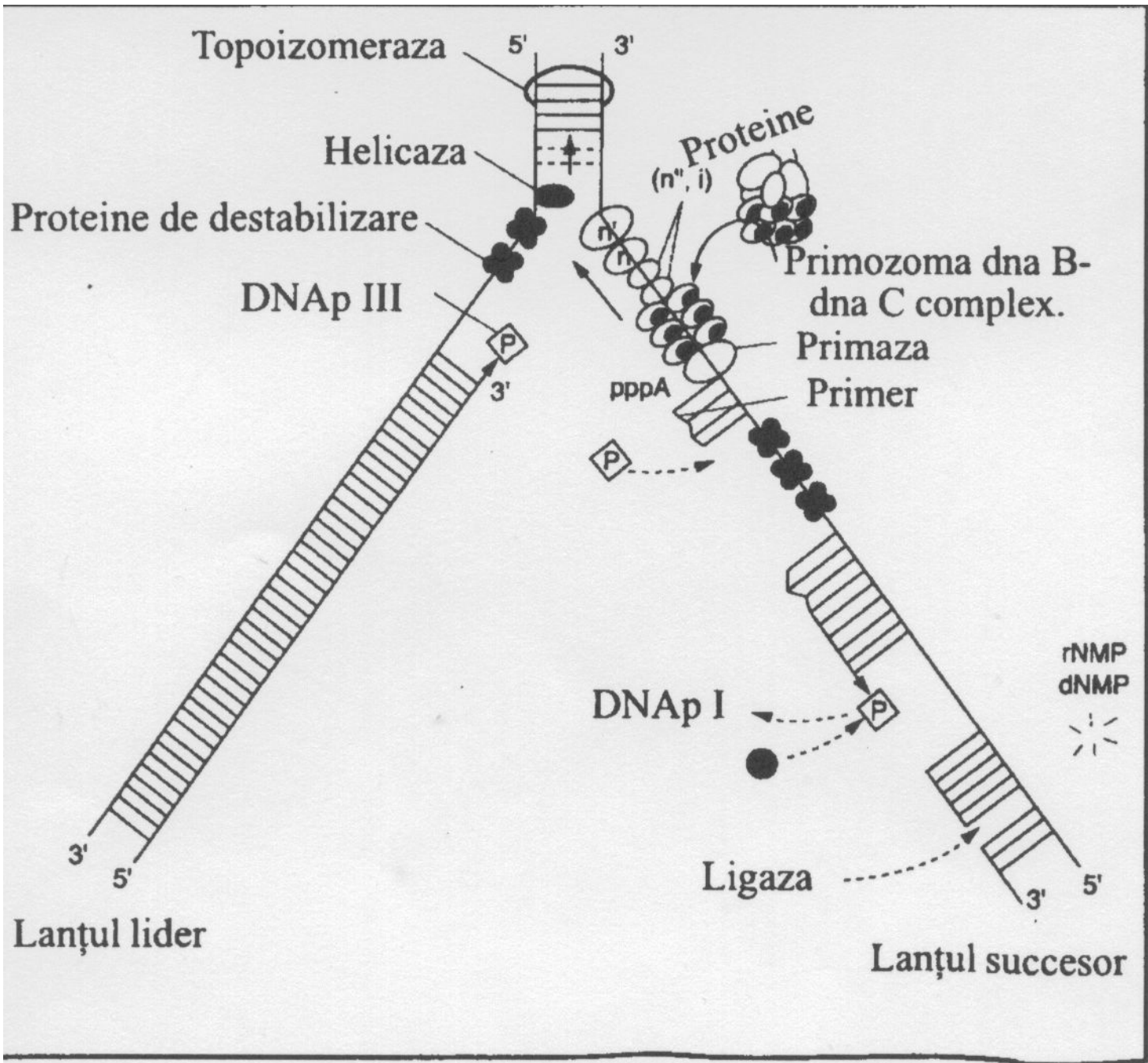
- Заключается в последовательном присоединении дезоксирибонуклеотидов к растущей цепи (**ДНК-полимераза III**).
- Синтез одной цепи происходит непрерывно (**ведущая цепь**).
- Вторая цепь синтезируется фрагментами Оказаки (**отстающая цепь**). Каждый фрагмент начинается с затравки.
- Фрагмент Оказаки состоит из 1000-2000 нуклеотидов.





Элонгация репликации

- ДНК-полимераза I удаляет затравки и заменяет их на соответствующие фрагменты ДНК.
- ДНК-лигаза связывает фрагменты Оказаки.

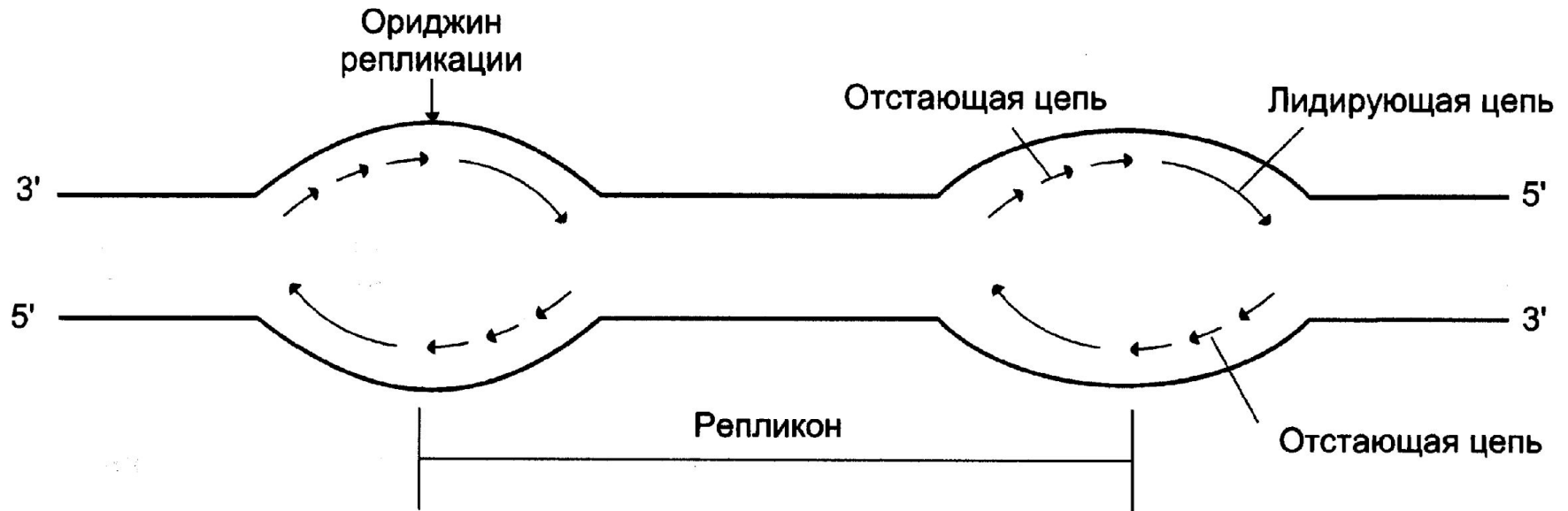


Терминация репликации

Особенности репликации у эукариотов

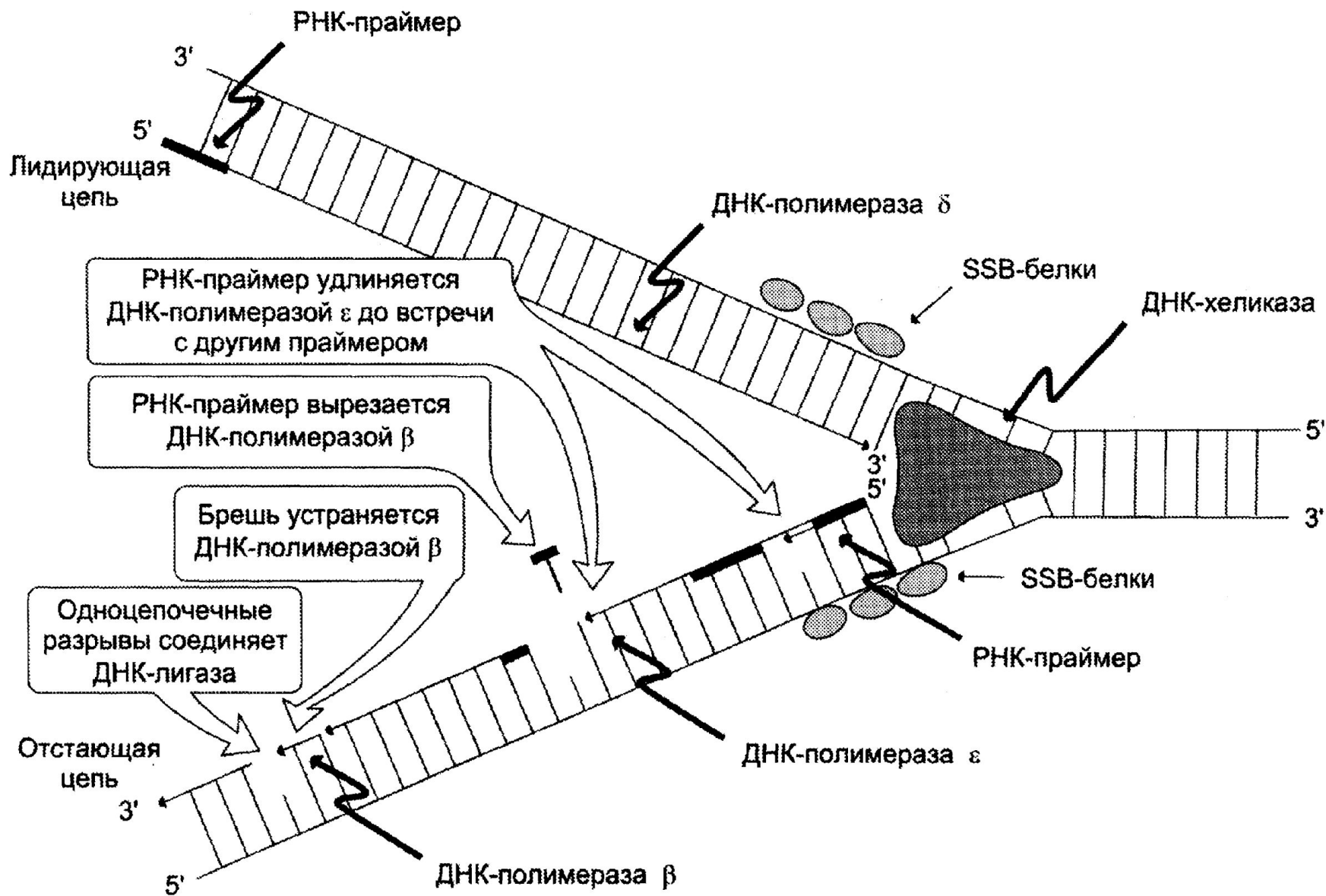
- ДНК-полимеразы α , β , γ , δ , ϵ .
- ДНК-полимеразы не обладают экзонуклеазной активностью.
- Наличие большого числа точек начала репликации.
- Фрагменты Оказаки короче (150-200 нуклеотидов).
- Скорость синтеза ниже – 3000 нуклеотидов в минуту (у прокариотов – 16000).
- Наличие теломераз.

Наличие большого числа точек начала репликации у эукариотов



Точность репликации

- Частота ошибок при репликации составляет 10^{-6} - 10^{-7} .
- Точность репликации обеспечивается 2-мя факторами:
 1. Соблюдение принципа комплементарности.
 2. Экзонуклеазной активностью ДНК-полимеразы.



Теломеры и теломеразы

- Теломеры - повторяющиеся последовательности нуклеотидов ГГГТТА на концах хромосом.
- Теломеры необходимы для сохранения генетической информации.
- После завершения репликации 5'-концы дочерних цепей ДНК недостроены, так как после удаления праймеров эти фрагменты остаются нереплицированными.

Теломеры и теломеразы

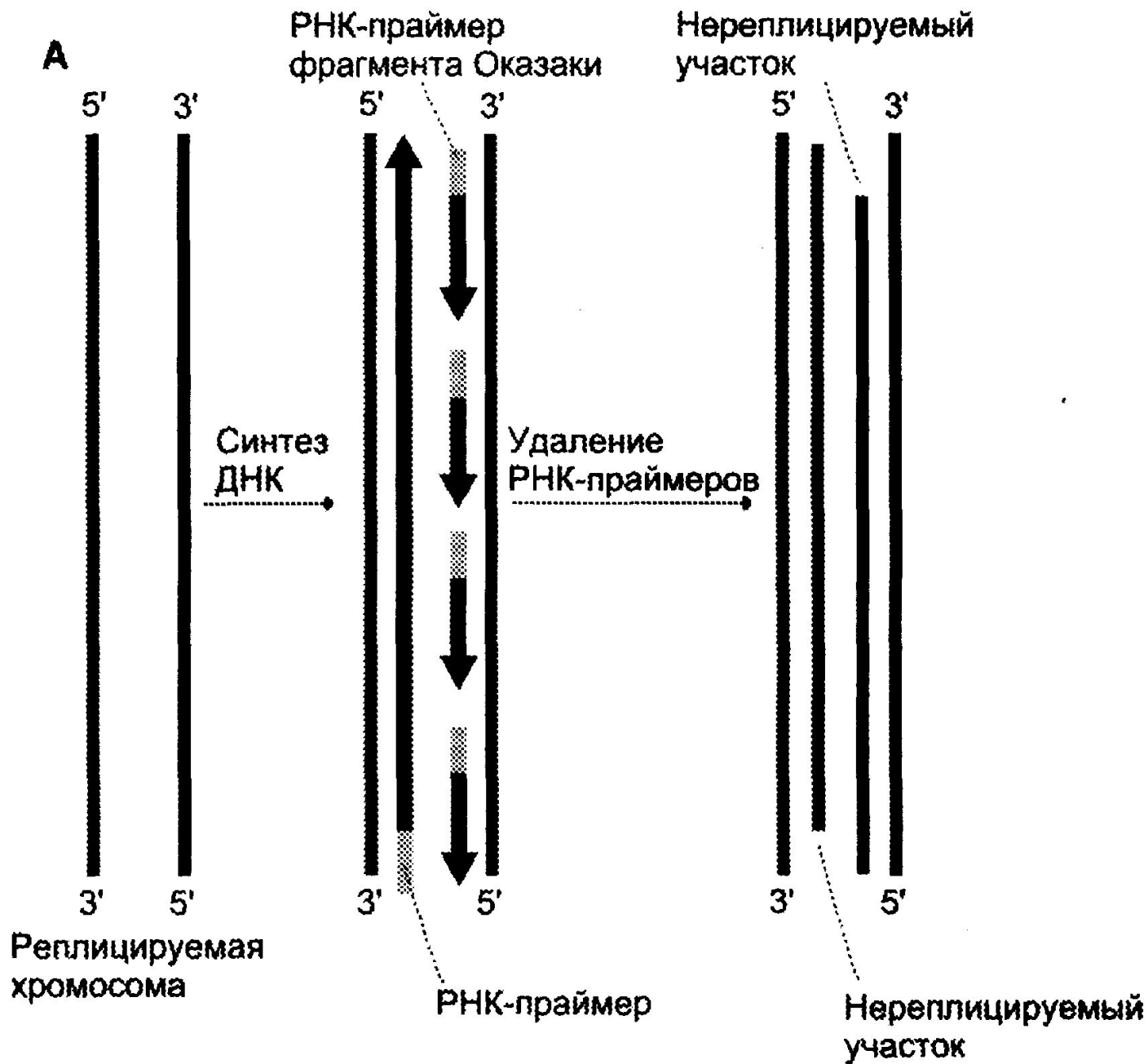
- Это происходит потому, что ДНК-полимераза β , отвечающая за заполнение бреши, образованной после удаления праймера, не может синтезировать ДНК в направлении $3' \rightarrow 5'$.
- В ходе каждой репликации концы ДНК укорачиваются.
- Такие потери не представляют опасности для хромосом, потому что укорочение идет за счет теломер.

Теломеры и теломеразы

- Укорочение теломер в большинстве клеток по мере их старения — фактор, определяющий продолжительность жизни организма.

Теломеры и теломеразы

- В эмбриональных и других быстро делящихся клетках (эпителий кишечника, сперматозоиды) имеется фермент **теломераза (нуклеотидилтрансфераза)**, обеспечивающий восстановление недореплицированных 5'-концов ДНК.
- Теломераза содержит в качестве кофактора фрагмент РНК, который служит матрицей при синтезе теломер.
- **Теломераза активна в раковых клетках.**



Replication of the lagging strand of a linear chromosome encounters a problem at the 3' end



Репарация ДНК

- Исправление ошибок, оставшихся после репликации, а также возникших под действием внешних физических или химических факторов.

Повреждения ДНК:

- Спонтанные (ошибки репликации, депуринизации, дезаминирования).
- Индуцируемые (тиминовые димеры).

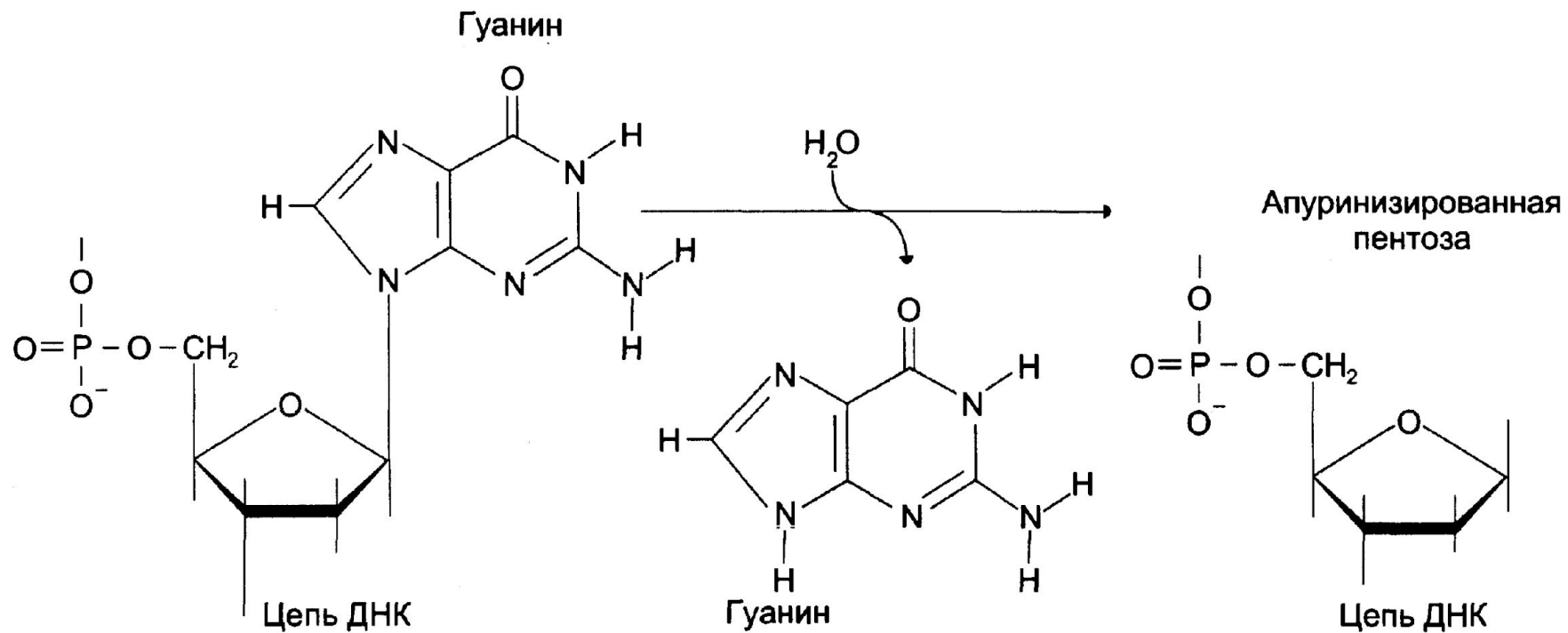
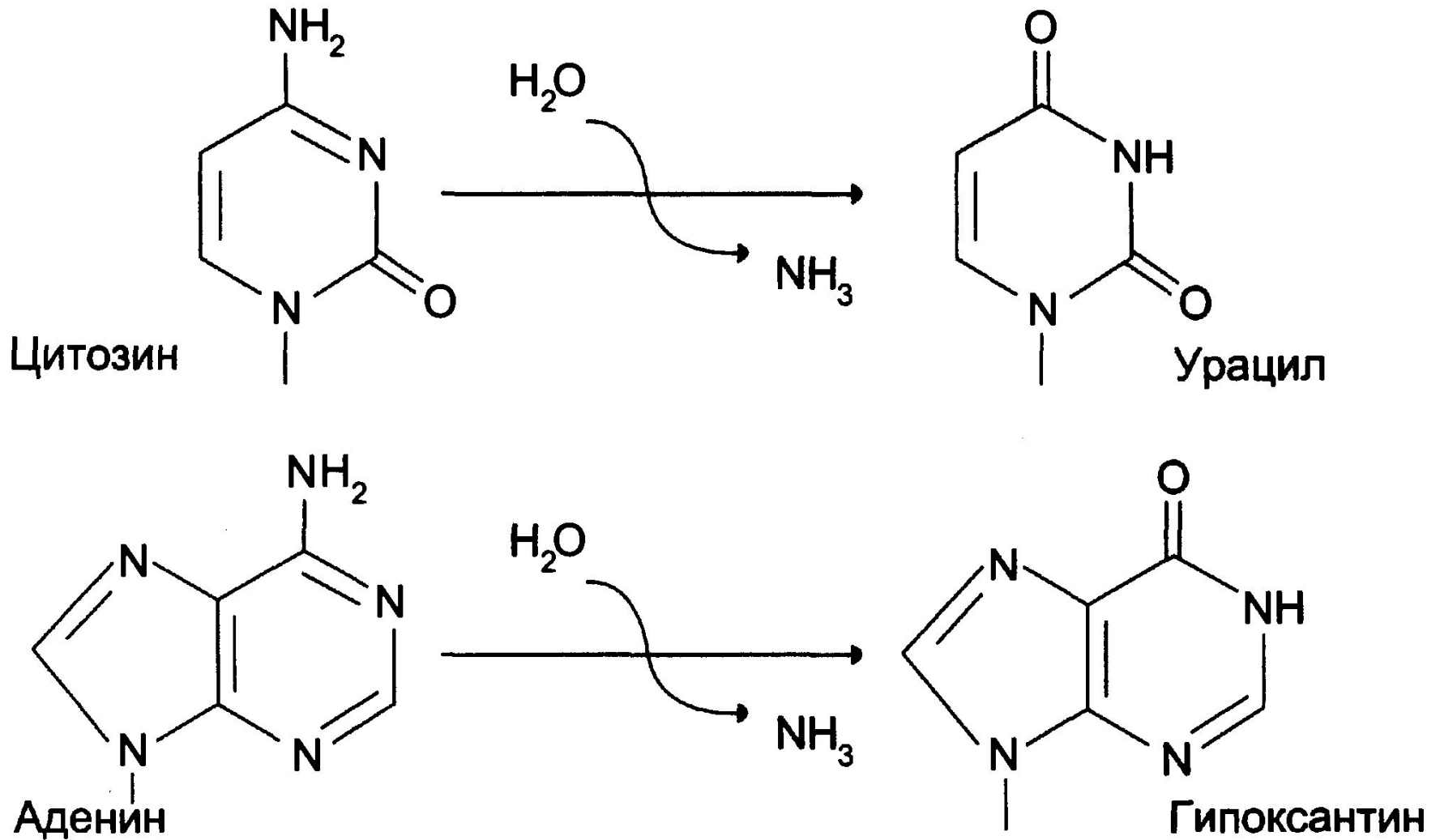


Рис. 4-22. Депуринизация — спонтанное удаление аденина или гуанина.

Дезаминирование



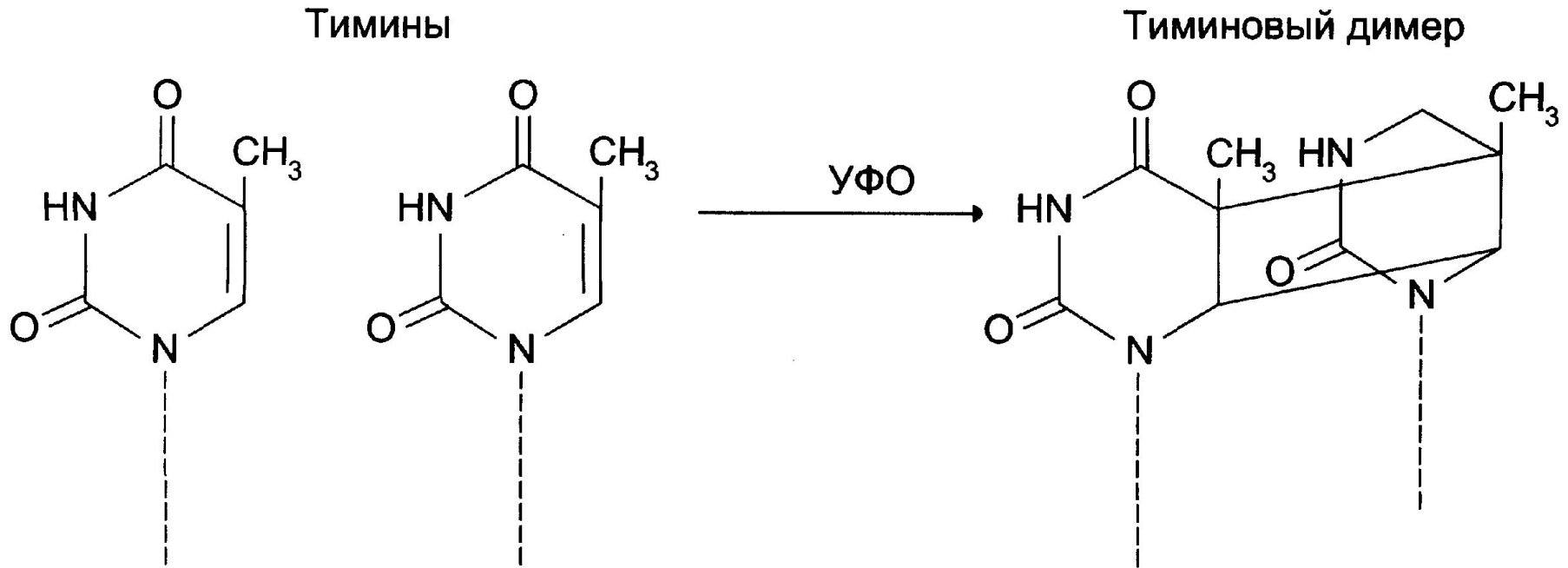
Этапы репарации ДНК (общие принципы)

1. Выявление ошибки
2. Устранение азотистого основания, нуклеотида или фрагмента ДНК.
3. Замена правильным основанием, нуклеотидом, фрагментом ДНК.
4. Восстановление целостности цепи ДНК.

Ферменты репарации ДНК

- ДНК-гликозидазы
- Эндонуклеазы
- Полимеразы
- ДНК-лигазы

Образование тиминового димера



Репарация тиминового димера – фермент **фотолиаза**, который расщепляет ковалентные связи между соседними молекулами тимина

Наследственные болезни, вызванные дефектами репарационных систем

- **Пигментная ксеродерма** – сверхчувствительность к УФ-свету, часто рак кожи.

Точечные мутации

- Замены
- Вставки
- Делеции

Мутации по типу замены

- «Молчащие» мутации (из-за вырожденности генетического кода)

	Триплет «дикого» типа	Изменённый триплет
Матрица ДНК	3'-GGT-5'	3'-GGA-5'
Кодон мРНК	5'-ССА-3'	5'-CCU-3'
Аминокислота	-Про-	-Про-

Мутации по типу замены

- «Миссенс-мутации»

	Триплет «дикого» типа	Изменённый триплет
Матрица ДНК	3'-ТАА-5'	3''-ГАА-5'
Кодон мРНК	5'-АУУ-3'	5'-СУУ-3'
Аминокислота	-Иле-	-Лей-

	Триплет «дикого» типа	Изменённый триплет
Матрица ДНК	3'-АГА-5'	3'-ААА-5'
Кодон мРНК	5'-УСУ-3'	5'-УУУ-3'
Аминокислота	-Сер-	-Фен-

Мутации по типу замены

- «Нонсенс-мутация»

	Триплет «дикого» типа	Изменённый триплет
Матрица ДНК	3'-GTC-5'	3'-ATC-5'
Кодон мРНК	5'-CAG-3'	5'-UAG-3'
Аминокислота	-Глн-	Стоп-кодон

Мутации по типу вставки или делеции

- Происходит сдвиг «рамки считывания» информации ДНК

Структура и функции РНК. Транскрипция

Типы и функции основных РНК

- транспортные РНК (тРНК) – транспорт аминокислот
- матричные РНК (мРНК) – являются матрицей для синтеза белков
- рибосомальные РНК (рРНК) – входят в состав рибосом, участвуют в синтезе белка

Первичная структура РНК

– последовательность
рибонуклеотидов в
полинуклеотидной цепи.

- Связи между нуклеотидами –
3',5'-фосфодиэфирные связи.
- Направление
полинуклеотидной цепи – **5' → 3'.**

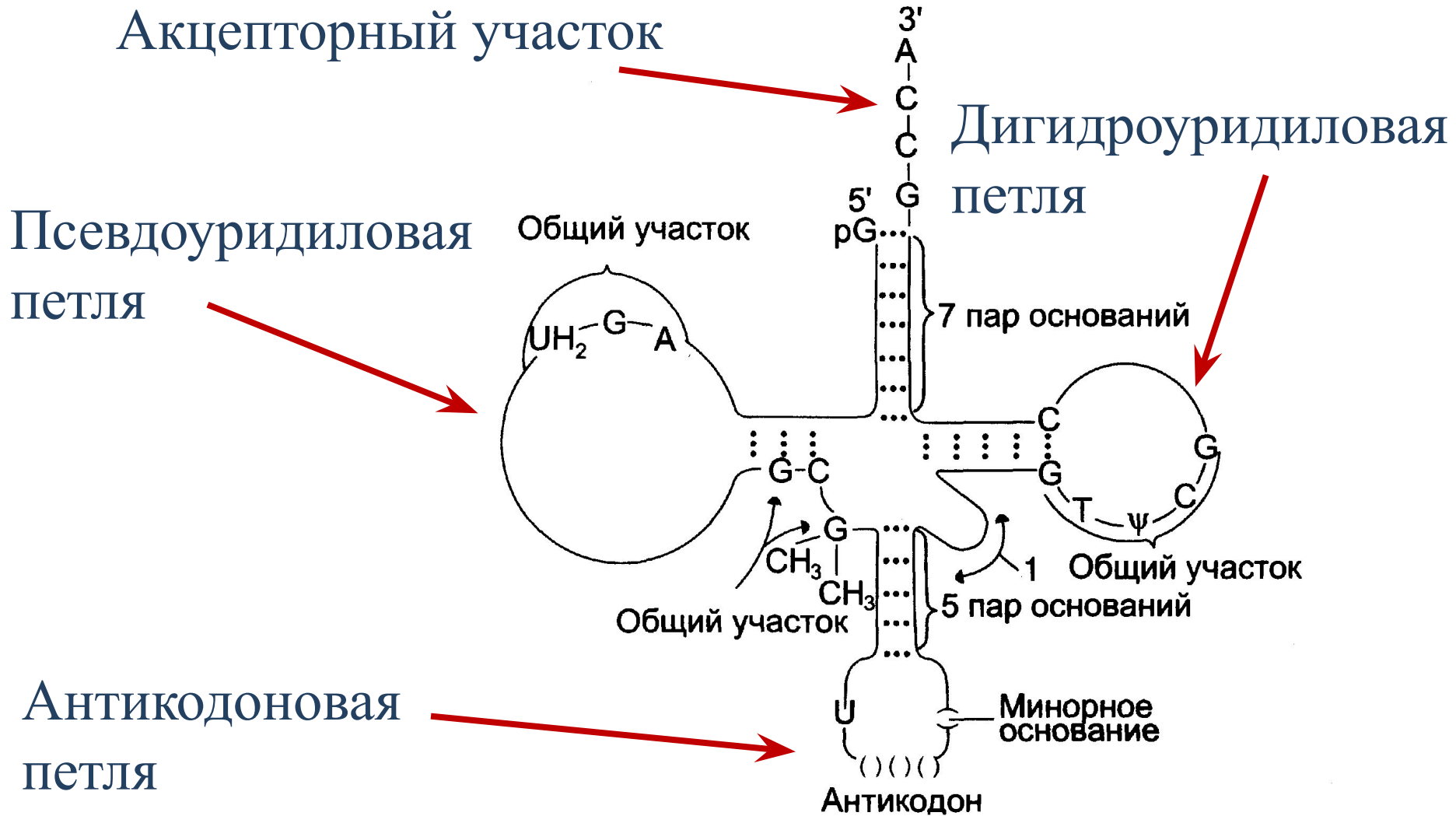
Транспортные РНК

- Вторичная структура – «клеверный лист»
- Короткие молекулы – 70-95 нуклеотидов
- Содержат много минорных оснований
- Образуют петли
- Третичная структура – буква «L»
- Функция – транспорт и адаптация аминокислот к соответствующему кодону на мРНК в процессе биосинтеза белка

Транспортные РНК

- **Акцепторный участок** – содержит ЦЦА-последовательность. Функция – связывание аминокислоты.
- **Антикодоновая петля** – содержит триплет нуклеотидов (антикодон), комплементарный кодону на мРНК.
- **Псевдоуридиловая петля** – связывание к рибосоме.
- **Дигидроуридиловая петля** – связывание аминоацил-тРНК-синтетазы.

Транспортные РНК



Транскрипция

- Биосинтез РНК на матрице ДНК.
- Направление транскрипции – $5' \rightarrow 3'$.
- Принцип – комплементарность.
- Ассиметричный процесс – переписывается только одна цепь – **антикодоновая цепь**.
- Неполный процесс - переписывается только участок ДНК – **транскриптон, оперон**.

Необходимые условия для транскрипции

- Двухцепочечная матричная ДНК
- Рибонуклеозид трифосфаты (АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ)
- Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}
- Фермент – РНК-полимераза ДНК-зависимая.

РНК-полимераза

- является холоферментом, состоящим из 2α , по одной β , β' и σ субъединиц. Субъединица σ соединяется с «кор-ферментом» только в стадии инициации, определяет специфичность связывания к промотору.
- Не нуждается в затравке.
- Не обладает экзонуклеазной активностью (функцией корректора собственных ошибок).

Отличия транскрипции и репликации

Репликация	Транскрипция
• Полный процесс	• Неполный процесс
• Симметричный процесс	• Асимметричный процесс
• ДНК-полимеразы нуждаются в праймере	• РНК-полимеразы не нуждаются в праймере
• ДНК-полимеразы обладают экзонуклеазной активностью	• РНК-полимеразы не обладают экзонуклеазной активностью

Этапы транскрипции

- Инициация
- Элонгация
- Терминация

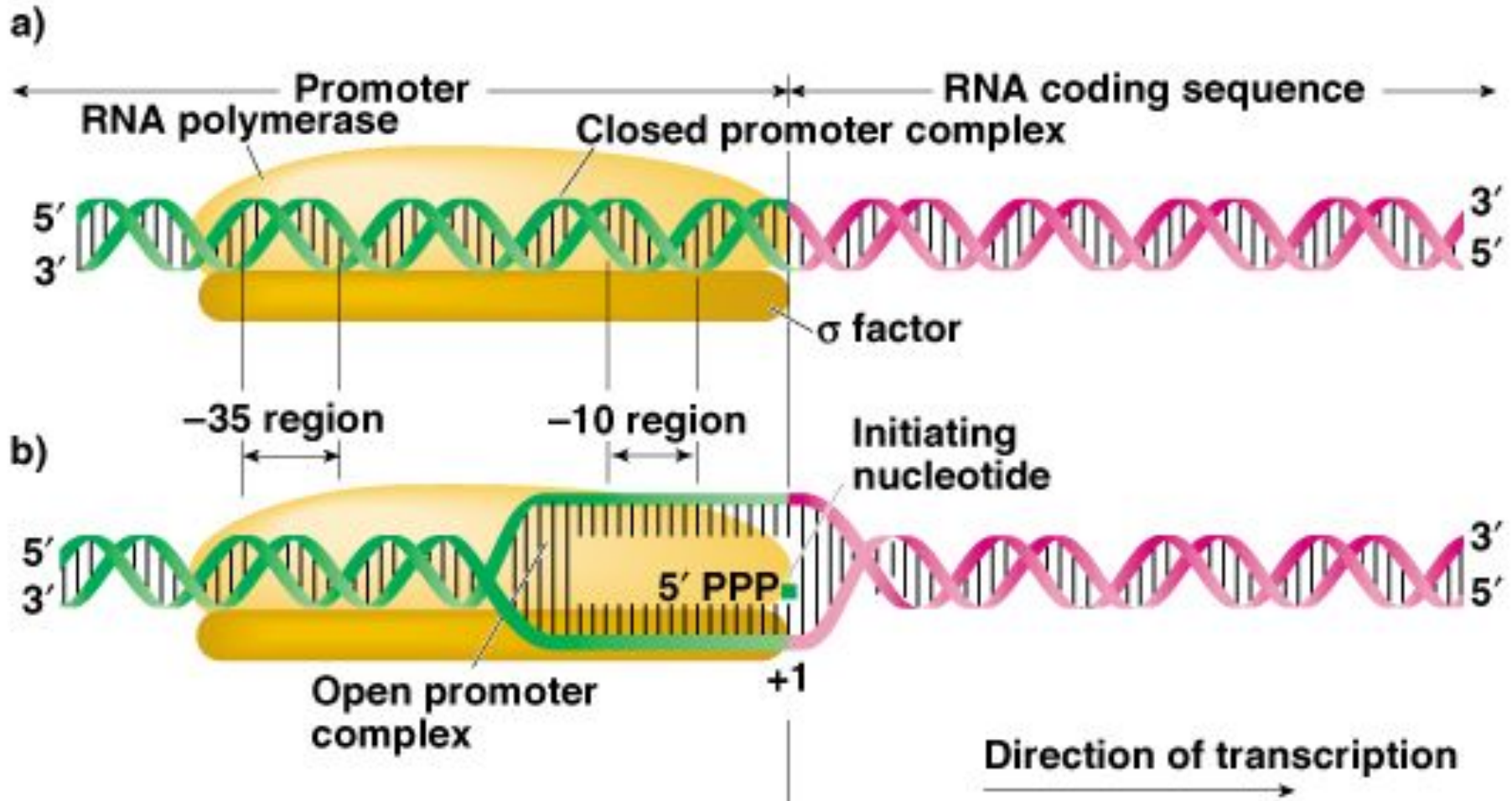
Инициация транскрипции

- РНК полимераза связывается к промотору в участке ТТГАЦА (-35) благодаря σ -субчастице, которая узнает этот участок.
- Фермент скользит по ДНК и на расстоянии -10 (участок ТАТААТ) расщепляет водородные связи между цепями ДНК – образуется открытый комплекс.

Инициация транскрипции

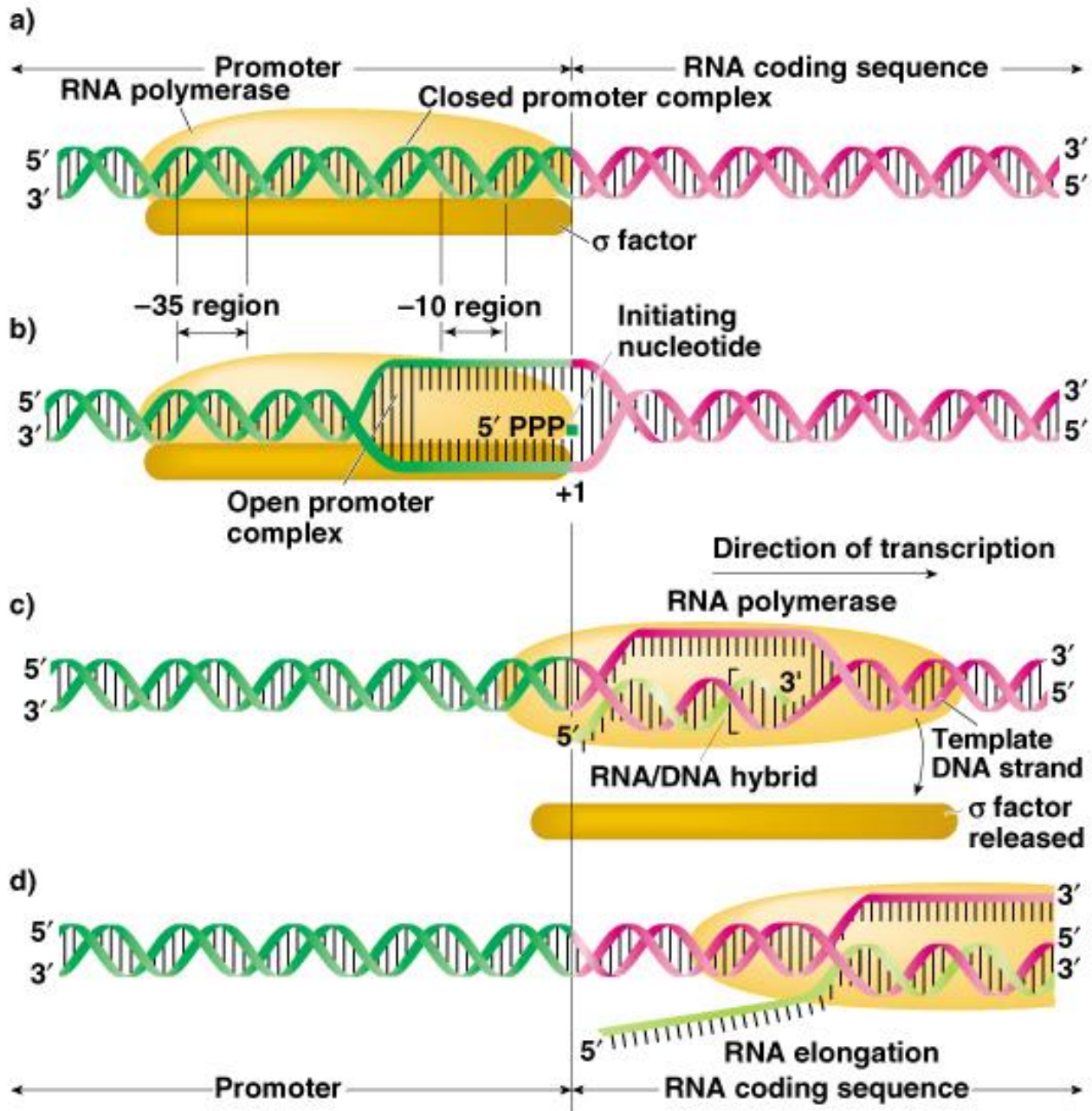
- Когда фермент достигает точку начала транскрипции (+1), он образует фосфодиэфирную связь между первыми 2-мя рибонуклеотидами.
- После этого σ -субчастица отщепляется от фермента, остается «кор-фермент», который участвует в элонгации.

Инициация транскрипции



Элонгация транскрипции

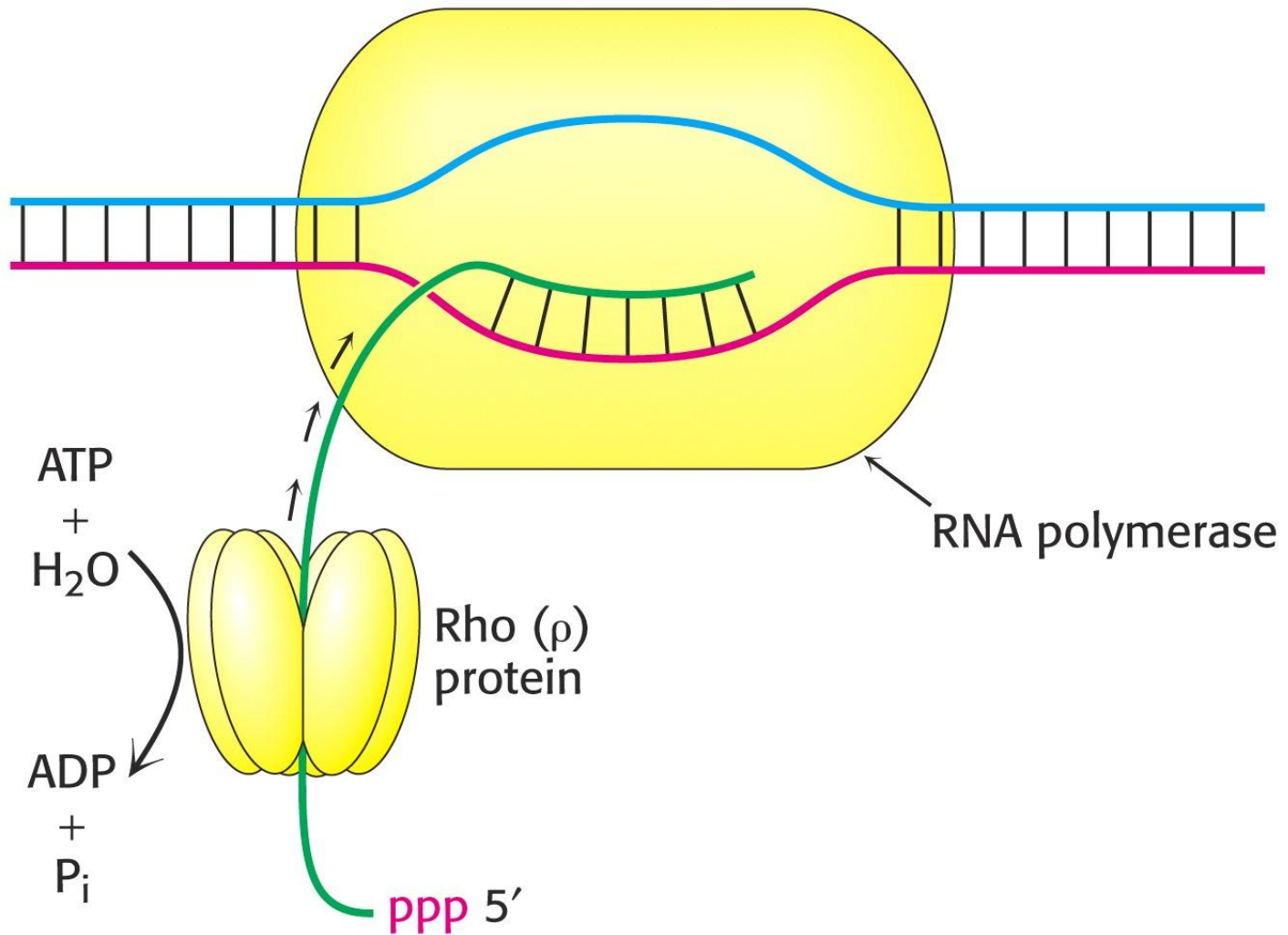
- РНК-полимераза скользит по ДНК, образуя фосфодиэфирные связи между рибонуклеотидами, используя в качестве матрицы антикодогенную цепь. В результате образуется цепь РНК, идентичная кодогенной цепи.
- По мере скольжения РНК-полимеразы происходит отщепление РНК от ДНК и восстановление двухцепочечной ДНК.
-



Терминация транскрипции

- происходит когда РНК-полимераза достигает терминирующего участка, содержащего много пар Г-Ц.
- ρ -фактор присоединяется к «кор-ферменту» и отщепляет РНК от матрицы ДНК.
- РНК-полимераза покидает ДНК, присоединяет другую σ -субчастицу и участвует в синтезе других молекул РНК.

Терминация транскрипции



Особенности транскрипции у эукариот

- Наличие 3-х РНК-полимераз:
- РНК-полимераза I – синтезирует рРНК 45S.
- РНК-полимераза II – синтезирует мРНК.
- РНК-полимераза III – синтезирует тРНК и рРНК 5S.
- РНК-полимеразы II и III – синтезируют молядерные РНК.

Особенности транскрипции у эукариот

- Наличие кассеты ЦААТ и ГЦ – отвечают за частоту транскрипции.
- Наличие кассеты ТАТА (-32) – отвечает за инициацию.
- Наличие «энхансеров» (**enhancer**) и «сайленсеров» (**silencer**), увеличивают и уменьшают скорость транскрипции, обычно находятся далеко от транскрибируемого гена.

Процессинг РНК у эукариот

- В результате транскрипции образуются предшественники РНК (пре-РНК), которые несут и неинформативные участки.
- Пре-РНК подвергаются посттранскрипционным изменениям (**процессинг РНК**), в ходе которых превращаются в зрелые, функциональные РНК.

Процессинг мРНК

1. «кап»-ирование 5'-конца.

Фермент гуанилилтрансфераза переносит с ГТФ на 5'-конец мРНК ГДФ, образуя 5'-5'-фосфодиэфирную связь. После этого происходит метилирование гуанина с образованием 7'-метилгуанина.

Значение:

- a) Сигнал инициации трансляции.
- b) Защита от действия 5'-экзонуклеаз.

Процессинг мРНК

2. «полиаденилирование» 3'-конца – присоединение к 3'-концу мРНК 100-200 адениловых нуклеотидов (фермент поли-А-полимераза).

Значение:

- a) Транспорт мРНК из ядра в цитозоль.
- b) Защита от действия 3'-экзонуклеаз.

Процессинг мРНК

3. Сплайсинг – вырезание интронов и соединение концов экзонов.

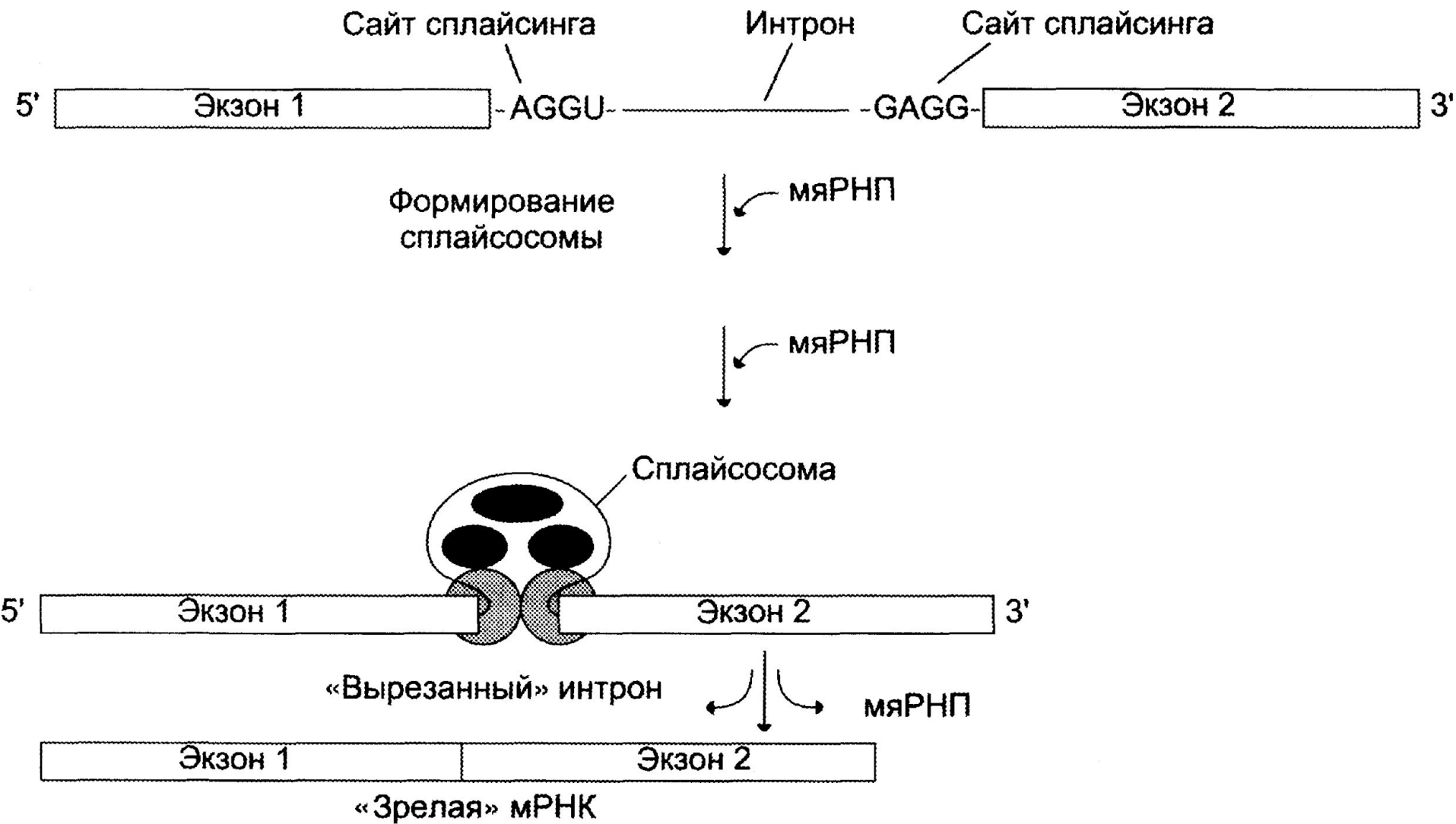
Осуществляется с участием малоядерных РНК (мяРНК).

5' - и 3' -концы интронов содержат высокоспецифические последовательности нуклеотидов -АГГУ- и -ГАГГ- (сайты сплайсинга).

Сплайсинг мРНК

- На первой стадии мРНК связываются с сайтами сплайсинга.
- При образовании сплайсосомы концы экзонов сближаются.
- Сплайсосома катализирует расщепление фосфодиэфирной связи на границе интрона и экзона.
- Интрон удаляется, а концы экзонов соединяются с участием мРНК.

Сплайсинг мРНК



Процессинг тРНК

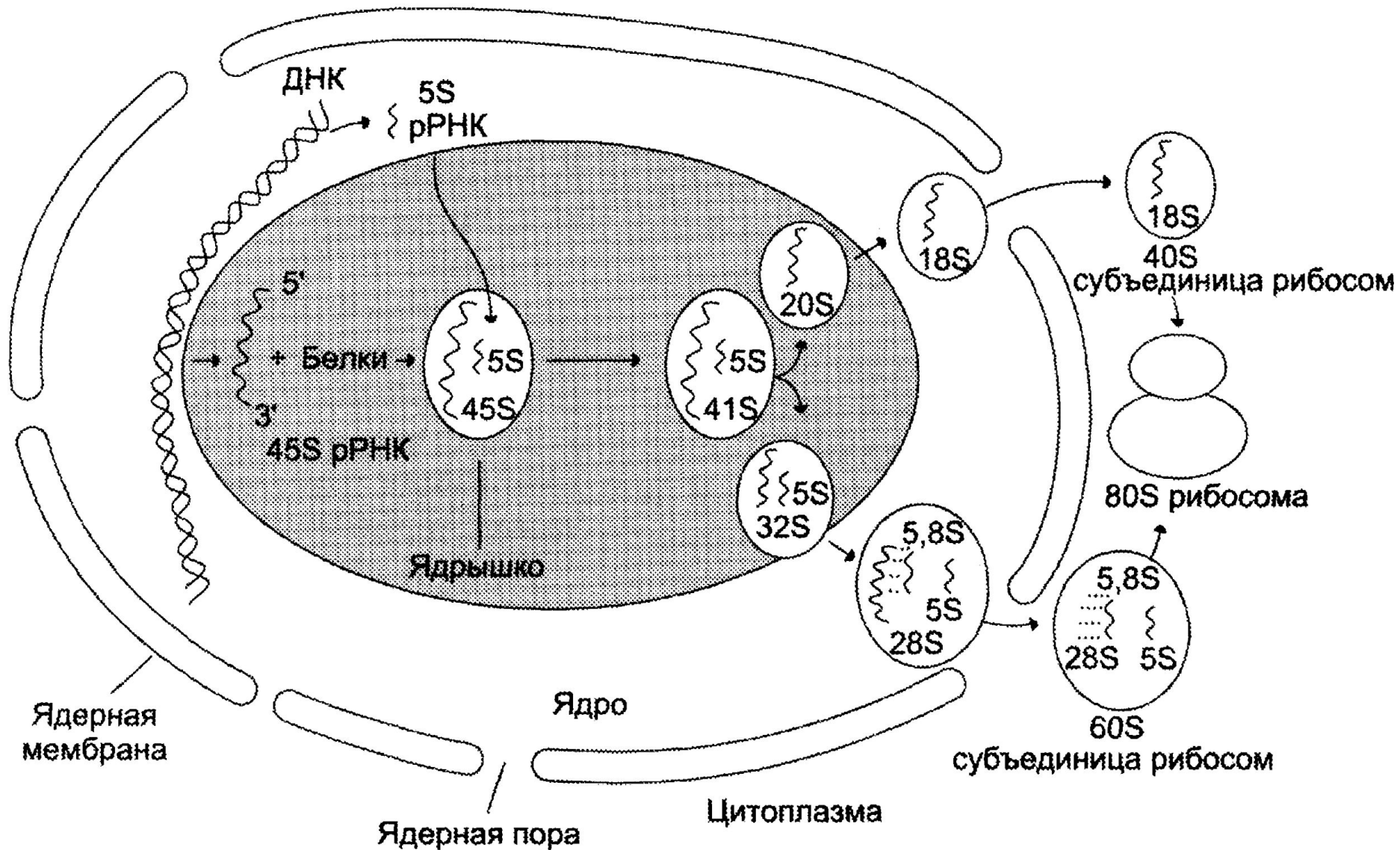
1. Образование ЦЦА-последовательности на 3'-конце:
 - a) За счет отщепления нуклеотидов под действием РНК-нуклеаз до достижения последовательности ЦЦА или
 - b) За счет присоединения ЦЦА последовательности.
2. Вырезание интрона в антикодоновой петле.
3. Образование «минорных оснований».

Процессинг рРНК

Из общего предшественника 45S рРНК образуются:

- 18S рРНК (входит в состав малой субчастицы рибосомы),
- 28S рРНК и 5,8S рРНК (входят в состав большой субчастицы рибосомы).

Процессинг рРНК



Регуляция экспрессии генов у прокариотов

Ферменты 3-х типов:

1. **Конститутивные** – присутствующие в клетках в постоянных количествах.
2. **Индуцируемые** – в обычных условиях их концентрация низкая, но увеличивается при добавлении в среду субстрата (**индуктор**).
3. **Репрессируемые** – в обычных условиях их концентрация высокая, но уменьшается при добавлении в среду продукта реакции (**корепрессор**).

Теория Лас-оперона (Франсуа Жакоб и Жак Моно, 1961)

- Теория индукции ферментов была разработана на пример **Лас-оперона** кишечной палочки.
- Лас-оперон содержит 3 структурные гены (X, Y, Z), кодирующие 3 фермента, участвующие в утилизации лактозы (β -галактозидаза, пермеаза и трансацетилаза).
- Регуляторный ген кодирует белок-репрессор, который связывается к операторному участку, регулируя транскрипцию генов.

Теория Лас-оперона (Франсуа Жакоб и Жак Моно, 1961)

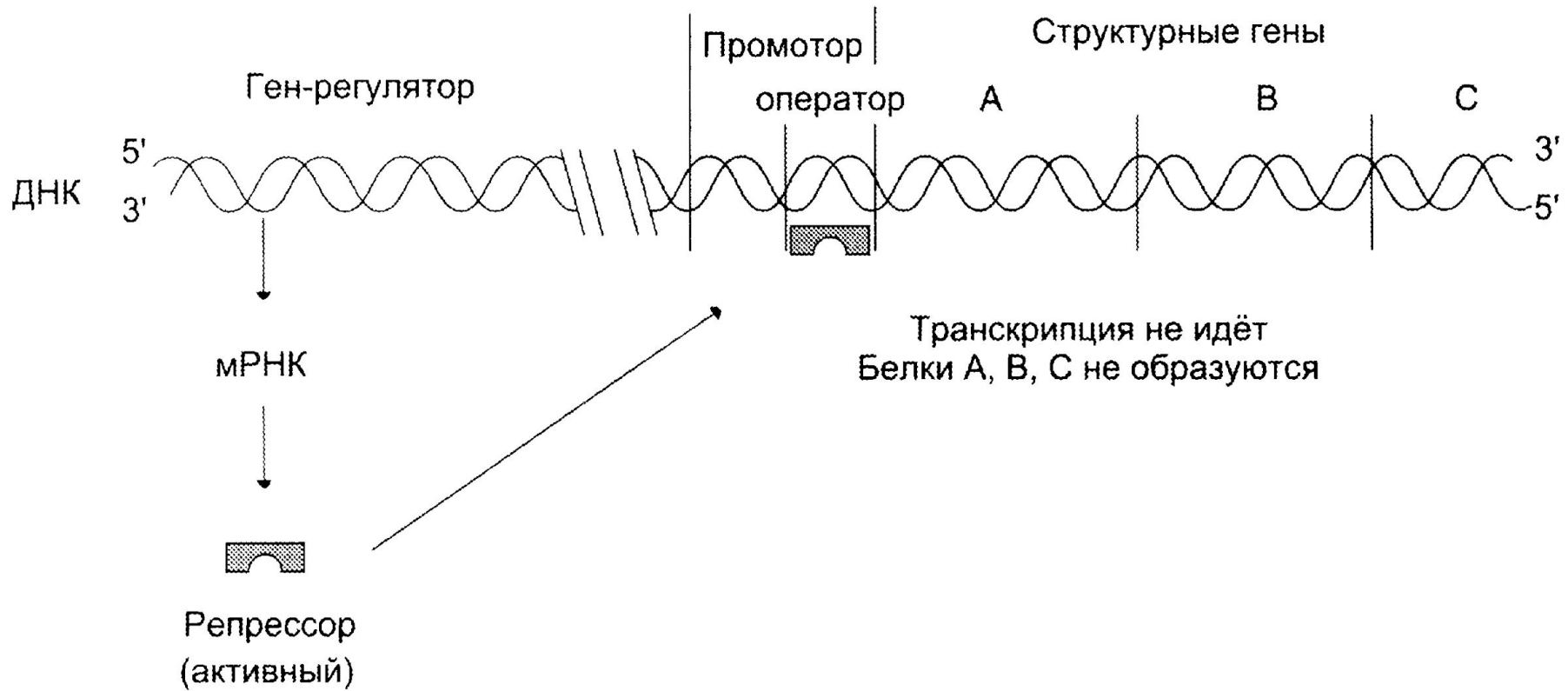
- Кишечная палочка обычно культивируется на среде, содержащей в качестве источника углерода глюкозу.
- Если заменить глюкозу на лактозу, то бактерия адаптируется к использованию лактозы в течение нескольких минут.
- Она начинает продуцировать ферменты, необходимые для утилизации лактозы.

Механизм индукции Лас-оперона

- В отсутствии индуктора (лактозы), белок-репрессор связан с оператором, что препятствует связыванию РНК-полимеразы с промотором, транскрипция структурных генов не происходит.

Механизм индукции Лас-оперона

А. В отсутствие индуктора

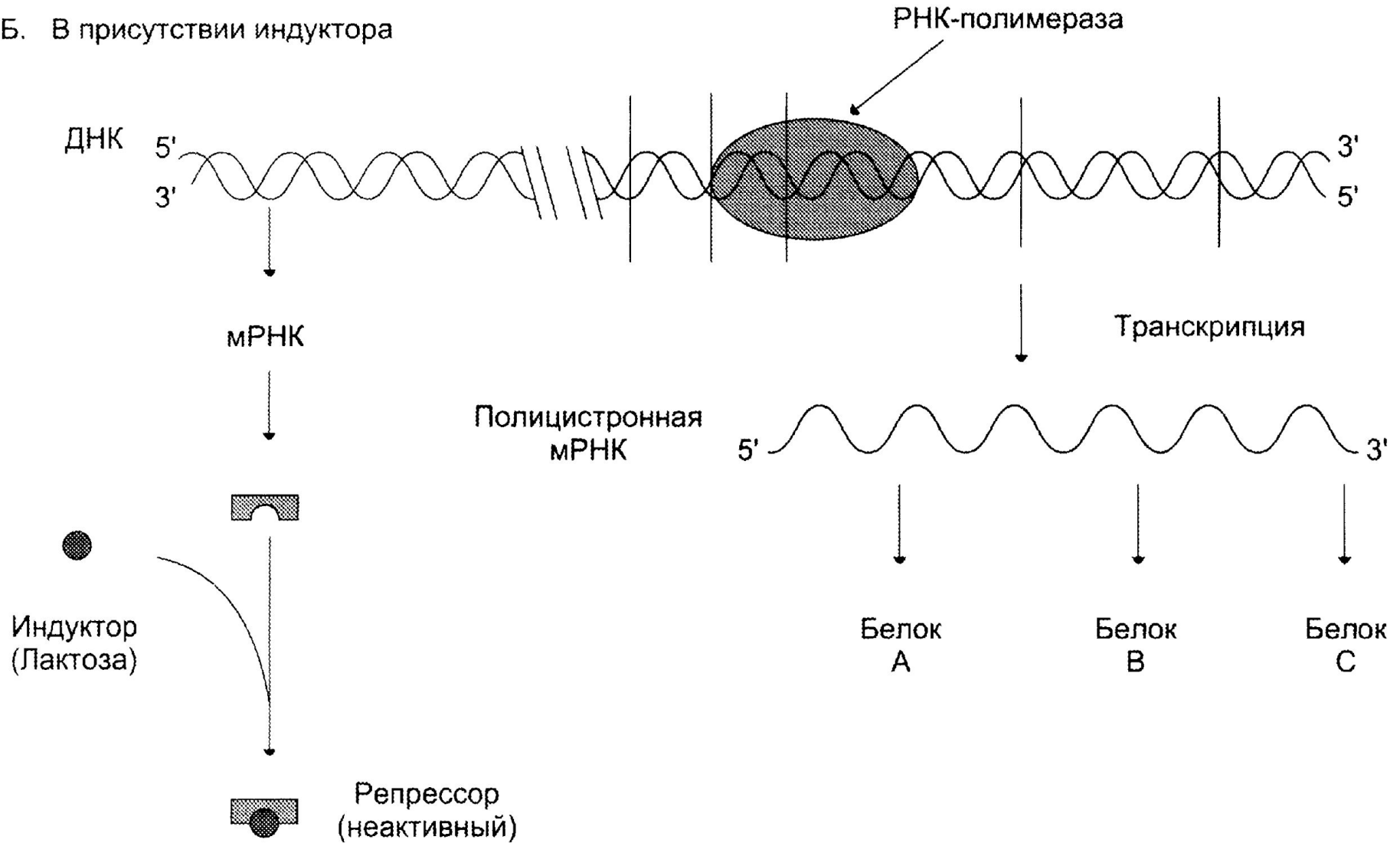


Механизм индукции Лас-оперона

- При появлении в среде индуктора, он присоединяется к белку-репрессору и уменьшает его сродство к оператору.
- РНК-полимераза связывается с промотором и транскрибирует структурные гены.

Механизм индукции Лас-оперона

Б. В присутствии индуктора



Механизм репрессии синтеза белков

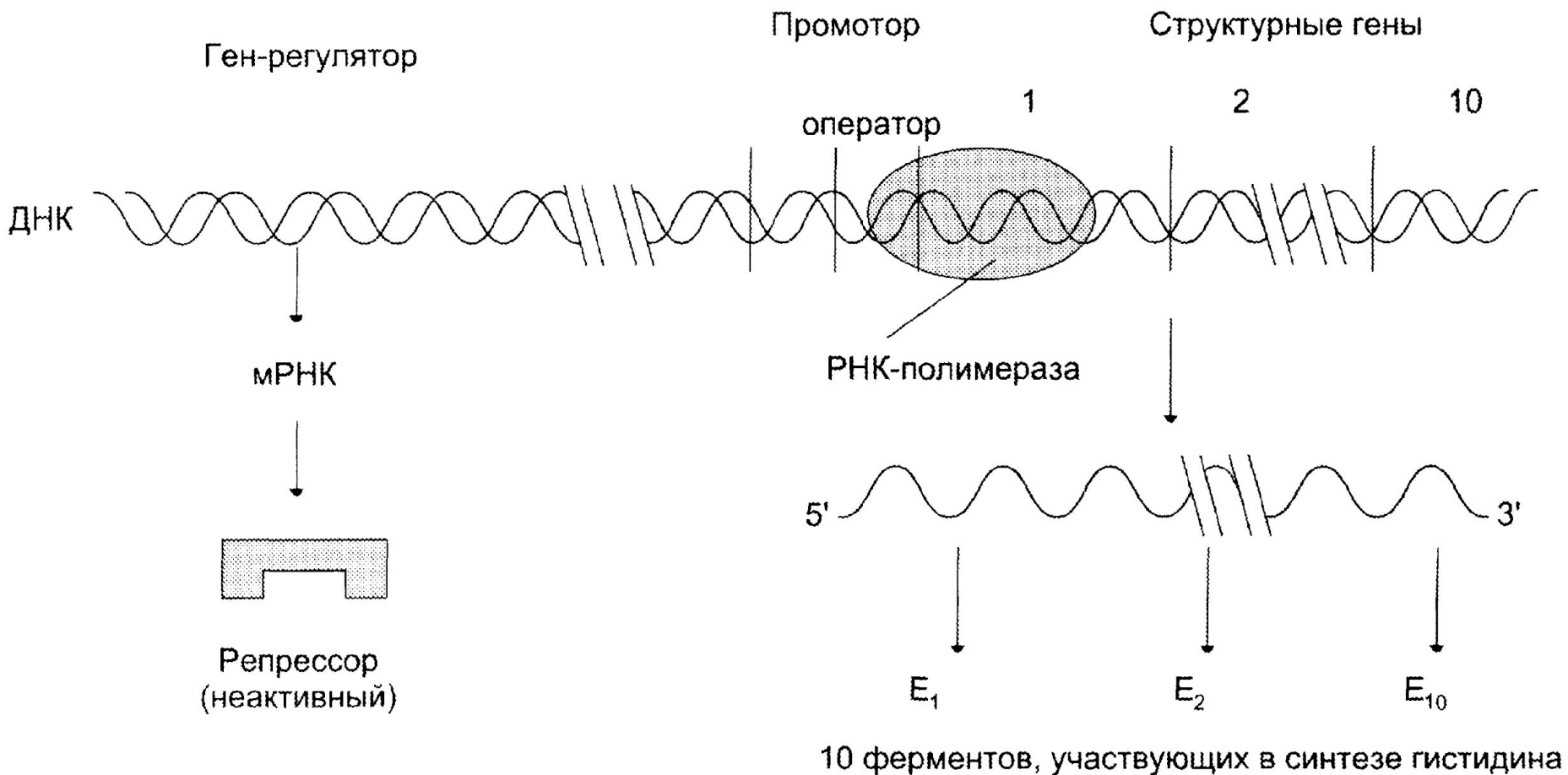
- Если кишечная палочка растет на среде, содержащей в качестве источника азота соли аммония, то она синтезирует все ферменты, необходимые для образования всех 20-и аминокислот.
- Если в среду добавить одну аминокислоту (гистидин), то бактерия перестает синтезировать ферменты, необходимые для образования гистидина.

Механизм репрессии синтеза ферментов, участвующих в образовании гистидина

- При отсутствии в среде гистидина белок-репрессор неактивен и не связывается к оператору.
- РНК-полимераза связывается к промотору, транскрибирует гены, происходит синтез ферментов, необходимых для образования гистидина.

Механизм репрессии синтеза ферментов, участвующих в образовании гистидина

А. В отсутствие корепрессора

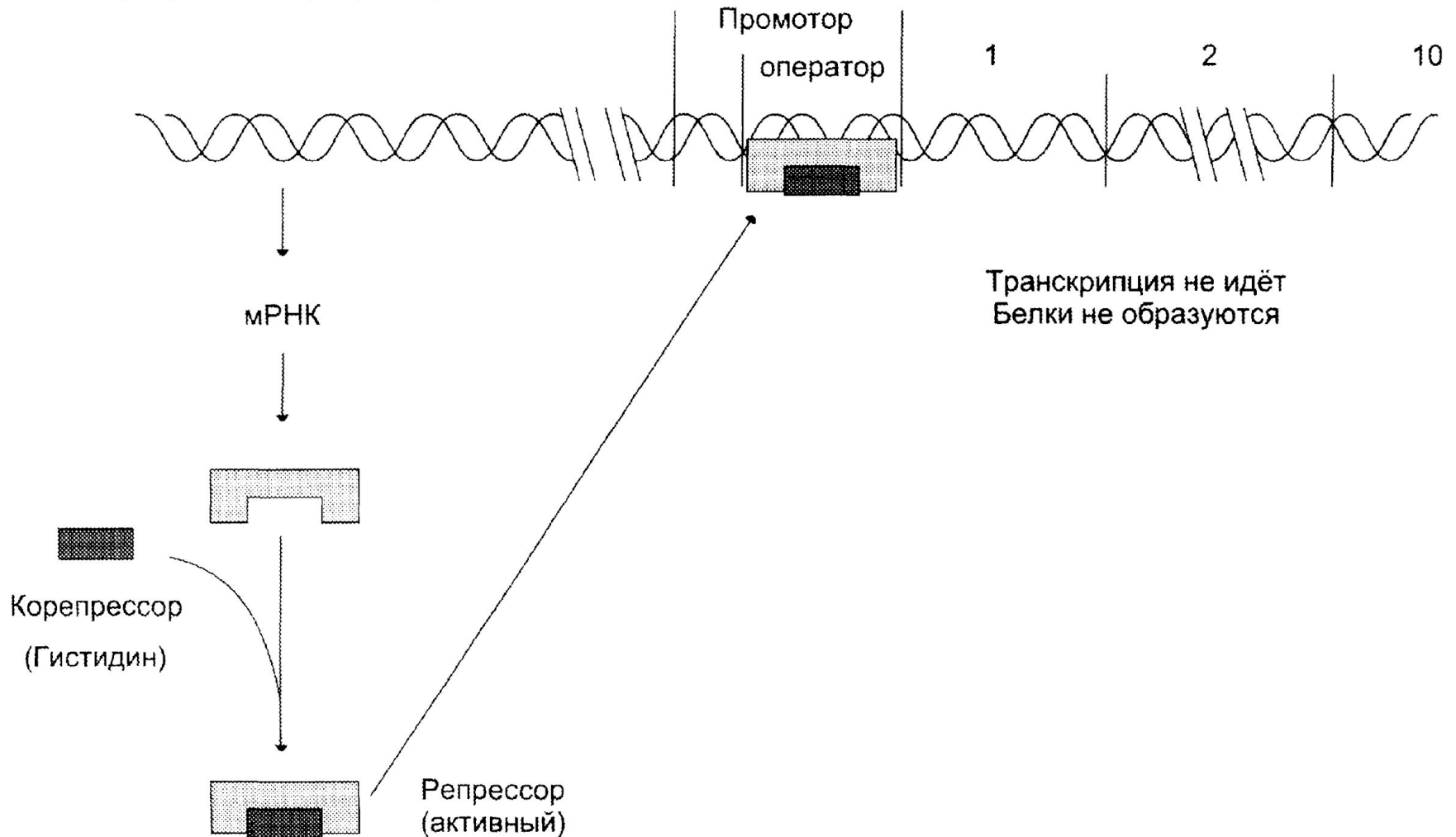


Механизм репрессии синтеза ферментов, участвующих в образовании гистидина

- При добавлении в среду гистидина (корепрессор), он связывается к белку-репрессору, повышая его сродство к оператору.
- Комплекс репрессор-корепрессор присоединяется к оператору, прекращается транскрипция генов.

Механизм репрессии синтеза ферментов, участвующих в образовании гистидина

Б. В присутствии корепрессора



Индукция и репрессия (отличия)

Индукция	Репрессия
Характерна для катаболических путей	Характерна для анаболических путей
Индуктором является субстрат катаболического пути	Корепрессором является продукт анаболического пути
Свободный репрессор активен	Свободный репрессор неактивен
Индуктор, связываясь с репрессором, инактивирует его (уменьшает сродство к оператору)	Корепрессор, связываясь с репрессором, активирует его (увеличивает сродство к оператору)
РНК-полимераза транскрибирует структурные гены	РНК-полимераза не может транскрибировать структурные гены

Механизмы регуляции экспрессии генов у эукариотов

1. Организация хроматина:

- Гены гетерохроматина подвергаются репрессии.
- Гены эухроматина обладают транскрипционной активностью.

2. Изменение количества структурных генов:

- Амплификация генов
- Утрата генетического материала.

Механизмы регуляции экспрессии генов у эукариотов

3. Перестройка генов:

- Генетическая рекомбинация.

4. Регуляция транскрипции.

5. Посттранскрипционная регуляция:

- Альтернативный сплайсинг.
- Редактирование РНК.
- Изменение стабильности РНК.

Механизмы регуляции экспрессии генов у эукариотов

6. Регуляция трансляции и посттрансляционных модификаций:
- Изменение скорости трансляции.
 - Различия в продолжительности жизни молекулы белка.

Регуляция транскрипции

1. Белки-активаторы транскрипции.

Содержат следующие домены:

- ДНК-связывающие домены.
- Домены, активирующие транскрипцию.
- Антирепрессорные домены.
- Лиганд-связывающие домены.

Регуляция транскрипции

1. Лиганды-индукторы транскрипции.

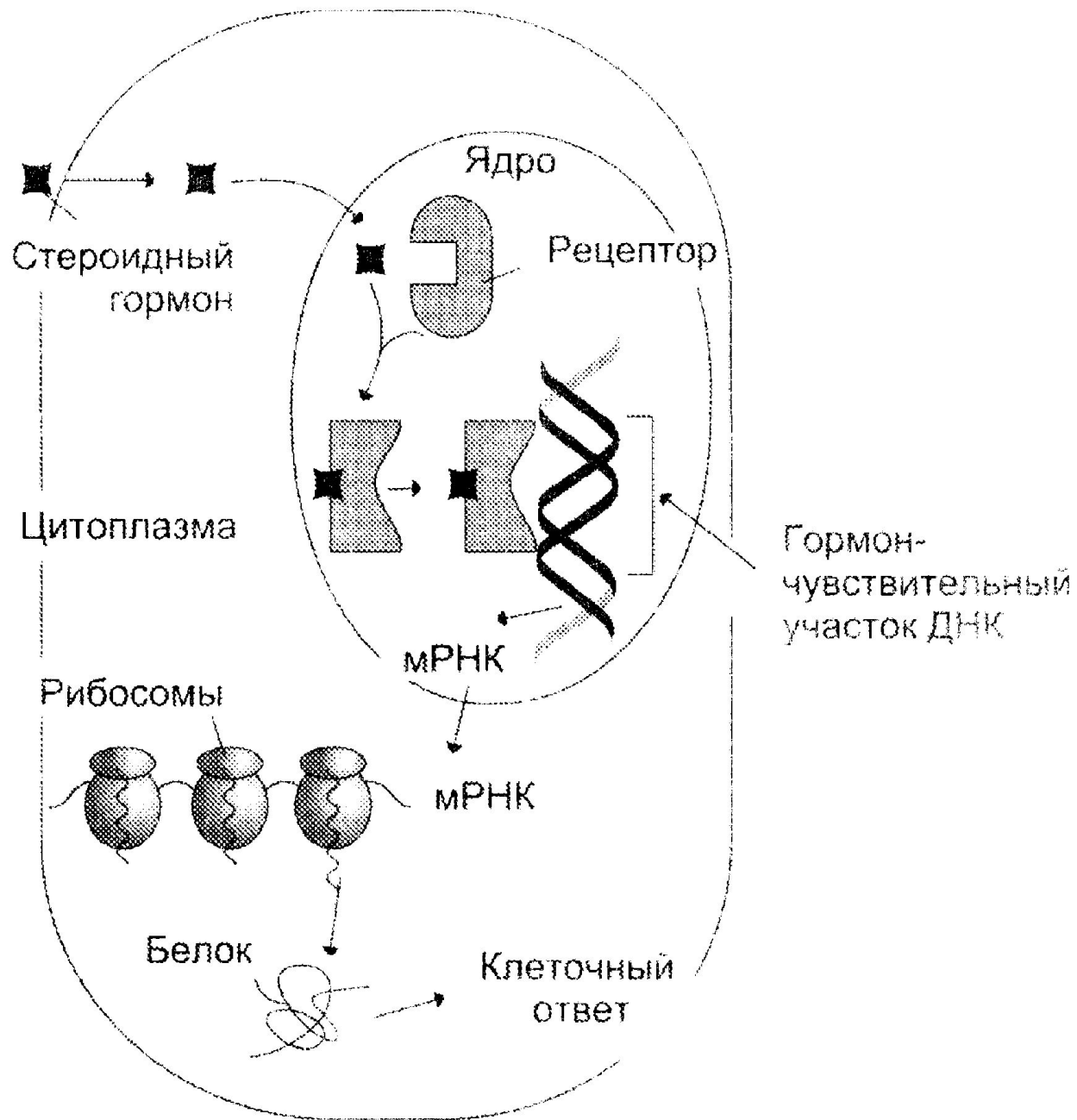
- Стероидные гормоны
- Тиреоидные гормоны
- Кальцитриол
- Ретиноевая кислота

2. Лиганды-репрессоры транскрипции

- Конечные продукты метаболических путей
- Некоторые гормоны

Регуляция транскрипции

1. Энхансеры и сайленсеры
2. Элементы ответа, или cis-элементы.



Обратная транскрипция

- Синтез РНК на матрице ДНК.
- Характерна для РНК-содержащих вирусов (ретровирусы, онкорновирусы).
- Эти вирусы имеют фермент – ДНК-полимераза РНК-зависимая **(реверстраскриптаза, обратная транскриптаза).**

Обратная транскрипция

- При поступлении вируса в клетку-хозяина обратная транскриптаза синтезирует цепь ДНК, используя в качестве матрицы вирусную РНК.
- Вирусная РНК расщепляется (нуклеазы).
- Синтезированная цепь ДНК реплицируется, образуется двухцепочечная ДНК, несущая информацию вирусной РНК, которая встраивается в геном клетки-хозяина.

Биосинтез белка (трансляция)

Биосинтез белков (трансляция)

перевод информации, заключенной в нуклеотидной последовательности мРНК, в аминокислотную последовательность белка.

Генетический код

«словарь», посредством которого генетическая информация, заключенная в определенную последовательность нуклеотидов в ДНК и мРНК, переводится в аминокислотную последовательность полипептидной цепи.

Свойства генетического кода

- **Триплетность** – одна аминокислота кодируется 3-мя нуклеотидами (**кодон**) – $4^3=64$
- 61 кодон – смысловые, кодируют аминокислоты
- 3 кодона – терминирующие (**стоп-кодона**) – **UAA, UAG, UGA**
- **AUG** – иницирующий кодон

Свойства генетического кода

- **Специфичность** – каждому кодону соответствует только одна определенная аминокислота.
- **Вырожденность** – большая часть аминокислот кодируются несколькими кодонами.
- **Линейность и неперекрываемость** – кодоны читаются непрерывно
- **Колинеарность гена и продукта**
- **Универсальность**

Генетический код

Первое основание	Второе основание			
	U	C	A	G
U	UUU Фен UUC Фен UUA Лей UUG Лей	UCU Сер UCC Сер UCA Сер UCG Сер	UAU Тир UAC Тир UAA* UAG*	UGU Цис UGC Цис UGA* UGG Три
C	CUU Лей CUC Лей CUA Лей CUG Лей	CCU Про CCC Про CCA Про CCG Про	CAU Гис CAC Гис CAA Гли CAG Гли	CGU Арг CGC Арг CGA Арг CGG Арг
A	AUU Иле AUC Иле AUA Мет AUG Мет	ACU Тре ACC Тре ACA Тре ACG Тре	AAU Асп AAC Асп AAA Лиз AAG Лиз	AGU Сер AGC Сер AGA Арг AGG Арг
G	GUU Вал GUC Вал GUA Вал GUG Вал	GCU Ала GCC Ала GCA Ала GCG Ала	GAU Асп GAC Асп GAA Гли GAG Гли	GGU Гли GGC Гли GGA Гли GGG Гли

Примечания: U — урацил; C — цитозин; A — аденин; G — гуанин; * — терминирующий кодон.

Биосинтез белка – необходимые компоненты

- Аминокислоты
- тРНК
- Аминоацил-тРНК-синтетазы
- мРНК
- Рибосомы
- АТФ, ГТФ
- Ионы магния
- Белковые факторы инициации, элонгации, терминации

Рибосомы

- Прокариоты – 70S:

Малая субъединица 30S – рРНК 16S и 21 белок.

Большая субъединица 50S – рРНК 5S, 23S и 31 белок.

Синтез рРНК и образование субъединиц протекает в цитоплазме.

Рибосомы

- Эукариоты – 80S :

Малая субъединица 40S – рРНК 18S и 33 белка.

Большая субъединица 60S – рРНК 5S, 5,8S, 28S и 49 белков.

рРНК образуются в ядрышке.

- S – коэффициент седиментации (Svedberg) – зависит от формы, плотности и размера частиц.

Этапы биосинтеза белка

- Активация аминокислот
- Собственно-биосинтез белка:
 1. Инициация
 2. Элонгация
 3. Терминация

Активация аминокислот

присоединение аминокислоты к соответствующей ей тРНК (к 3'-концу).

Происходит в цитоплазме

Необходимые компоненты:

- Все аминокислоты
- Все тРНК
- АТФ, ионы магния
- Ферменты аминоацил-тРНК-синтетазы

Активация аминокислот

суммарная реакция



Реакция протекает в 2 этапа

Для активации используются 2 макроэргические связи АТФ.

Специфичность аминоацил-тРНК определяется тРНК (комплементарное взаимодействие антикодона тРНК с кодоном мРНК)

Аминоацил-тРНК-синтетазы

в активном центре содержится 4 участка:

1. Для связывания аминокислоты
2. Для связывания тРНК
3. Для связывания АТФ
4. Для связывания воды (**центр коррекции** – отщепляет неправильную аминокислоту).

Правильное связывание аминокислоты к соответствующей ей тРНК обеспечивает точность трансляции!!!

Собственно-биосинтез белка

синтез полипептидной цепи протекает в направлении $N \rightarrow C$.

мРНК читается в направлении $5' \rightarrow 3'$.

Инициация трансляции – необходимые компоненты

- мРНК с иницирующим кодоном **AUG**
- Малая и большая субъединицы рибосомы
- Формил-метионил-тРНК
- ГТФ, ионы магния
- Факторы инициации – IF-1, IF-2, IF-3.

Инициация трансляции

- К малой субъединице присоединяется IF-3, препятствующий связыванию большой субъединицы.
- Малая субъединица присоединяется к 5' концу мРНК напротив иницирующего кодона.
- Формил-метионил-тРНК связывается к иницирующему кодону за счет комплементарного взаимодействия кодон-антикодон.

Инициация трансляции

- В процессе связывания формил-метионил-тРНК участвуют факторы инициации IF-1 и IF-2 и происходит гидролиз ГТФ до ГДФ и H_3PO_4 .
- Присоединяется большая субъединица рибосомы.
- **Образуется иницирующий комплекс, состоящий из мРНК, целой рибосомы и формил-метионил-тРНК, связанного в участке Р рибосомы.**

Элонгация трансляции – необходимые компоненты

- Иницирующий комплекс
- Все аминоксил-тРНК
- ГТФ, ионы магния
- Белковые факторы элонгации Tu, Ts и G
- Элонгация заключается в последовательном присоединении аминоксилот и протекает в три этапа:

Элонгация трансляции

1. Связывание следующей аминоацил-тРНК к мРНК напротив 2-го кодона, находящегося в участке А рибосомы.

Правильное связывание обеспечивается кодон-антикодоновым взаимодействием.

В процессе связывания аминоацил-тРНК участвуют факторы элонгации Tu, Ts и происходит гидролиз ГТФ до ГДФ и H_3PO_4 .

Элонгация трансляции

2. Транспептидация – образование пептидной связи между первыми 2-мя аминокислотами за счет переноса формил-метионина на 2-ю аминокислоту.

Реакция катализируется ферментом **пептидилтрансфераза**. Энергия – гидролиз связи между аминокислотой и тРНК.

тРНК из участка Р остается свободной, а тРНК из участка А содержит дипептид.

Элонгация трансляции

3. Транслокация – перемещение рибосомы к 3'-концу мРНК на один кодон.

тРНК, связанная к иницилирующему кодону, остается вне рибосомы, а тРНК, содержащая дипептид, перемещается из участка А в участок Р.

Участок А свободен и располагается напротив 3-го кодона.

В транслокации участвует фактор G и происходит гидролиз ГТФ до ГДФ и H_3PO_4 .

Элонгация трансляции

процесс повторяется до достижения рибосомой одного из терминирующих кодонов.

Терминация трансляции – необходимые условия

- Наличие на мРНК одного из терминирующих кодонов
- Белковые факторы терминации R_1 , R_2 и S .
- Когда в участке А рибосомы попадает один из терминирующих кодонов, присоединяются факторы терминации, которые осуществляют следующие процессы:

Терминация трансляции

1. Отщепление полипептидной цепи от тРНК.
2. Освобождение тРНК от рибосомы
3. Диссоциация рибосомы на субъединицы
4. Гидролиз мРНК

Особенности трансляции у эукариот

- Иницирующей аминокислотой является метионин
- мРНК является моноцистронной
- Скорость синтеза выше
- мРНК читается одновременно несколькими рибосомами, которые составляют полирибосому.

Посттрансляционные изменения полипептидной цепи

протекают во время и после синтеза белка.

- Частичный протеолиз
- Ковалентная модификация аминокислот:
 - ✓ Фосфорилирование
 - ✓ Гликозилирование
 - ✓ Гидроксилирование
 - ✓ Карбоксилирование
 - ✓ Йодирование

Посттрансляционные изменения полипептидной цепи

протекают во время и после синтеза белка.

- Частичный протеолиз
- Ковалентная модификация аминокислот:
 - ✓ Фосфорилирование
 - ✓ Гликозилирование
 - ✓ Гидроксилирование
 - ✓ Карбоксилирование
 - ✓ Йодирование

Ингибиторы синтеза белка

- На уровне репликации:

- ✓ Актиномицин D – интеркалирует между парами оснований Г-Ц, блокируя репликацию и транскрипцию.
- ✓ Митомицин – препятствует отсоединению цепей ДНК.
- ✓ Налидиксовая кислота, номермицин – ингибируют ДНК-гиразу.

- На уровне транскрипции:

- ✓ Рифампицин – ингибирует РНК-полимеразу

Ингибиторы трансляции

- **Стрептомицин** – ингибирует инициацию (связываются к малой субъединице рибосомы, препятствуя связыванию метионил-тРНК к рибосоме на этапе инициации).
- **Тетрациклины** – ингибируют элонгацию (связываются к малой субъединице рибосомы, препятствуя присоединению аминоксил-тРНК в участке А).

Ингибиторы трансляции

- **Левомицетин** – ингибируют элонгацию (связывается к большой субъединице, ингибируя пептидилтрансферазу).
- **Эритромицин** – ингибирует элонгацию (связывается к большой субъединице, ингибируя транслокацию).

Полиморфизм белков

существование в популяции 2-х или большего числа аллелей одного гена.

- Примеры:
- Гемоглобины человека
- Группы крови

Варианты гемоглобинов

- HbA – $2\alpha 2\beta$
- HbA₂ – $2\alpha 2\delta$
- HbF – $2\alpha 2\gamma$ – фетальный
- HbE – $2\alpha 2\varepsilon$ – эмбриональный
- Аллельный вариант HbA – HbS
- 300 вариантов HbA

Группы крови

- 3 аллельных варианта гена фермента гликозилтрансфераза А, В и 0.
- Фермент участвует в синтезе олигосахарида наружной поверхности клеточной мембраны эритроцитов (определяет **антигенные** свойства).

Группы крови

- Вариант А катализирует присоединение к олигосахариду N-ацетилгалактозамина.
- Вариант В катализирует присоединение к олигосахариду галактозы.
- Вариант 0 не обладает каталитической активностью.
- Антитела к антигенам А и В содержатся в крови людей, у которых отсутствуют соответствующие антигены.

Группы крови

4 группы крови:

- **I – 0** (содержит анти-А и анти-В) – «универсальные доноры» эритроцитарной массы
- **II – А** (содержит анти-В)
- **III – В** (содержит анти-А)
- **IV – АВ** (не содержит анти-А и анти-В) – «универсальные реципиенты» эритроцитарной массы

Группа крови

