

ДНК

Выполнила
Фарофонова В.В.

План

1. ДНК – это...

- 1) Смысл генетического кода
- 2) Строение ДНК
- 3) Синтез НК
- 4) Свойства ДНК
 - 1) Прокариоты
 - 2) Эукариоты

2. Удвоение ДНК

3. Репарация ДНК

ДНК. Смысл

Эволюция отбирает наиболее успешные гены. Гены существуют коллективом – генотипом. Вокруг которого, как правило, организм. (Кому интересно подробнее – читаем про альтруизм).

Организм почти полностью состоит из белков, а что не белок – белками синтезируется. Строение белка, порядок и механизм сборки «записаны» в молекулах ДНК. Как и порядок копирования самой ДНК.

Настолько сложные структуры (да ещё и в таком количестве) нуждаются в матрице для воспроизведения.

ДНК. Строение

Исторически сначала было выведено правило Чаргаффа (1950), но интерпретация была дана только Уотсоном и Криком (1953) вместе с предполагаемой моделью ДНК и механизмом её удвоения.

A форма – стандартная для ДНК.

B – до 12 п.н. на виток, результат дегидратации A формы.

Z – левозакрученная спираль.

Информация о белках, малых регуляторных РНК, антисмысловая ДНК

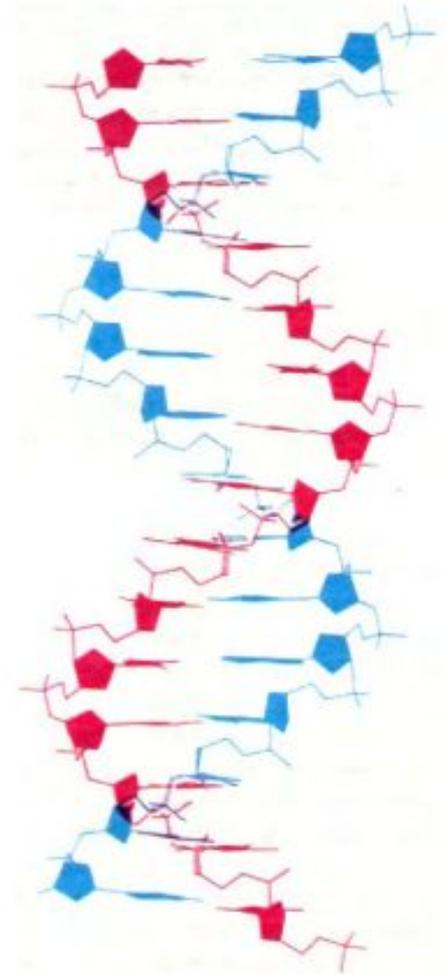


Рис. 24.7. Схема модели двухспиральной ДНК. Вся структура повторяется через 34 А, что соответствует 10 остаткам в каждой цепи.

ДНК. Строение

1. Две спиральные полинуклеотидные цепи закручены вокруг общей оси. Цепи направлены в противоположные стороны.

2. Пуриновые и пиримидиновые основания расположены внутри спирали, а остатки фосфата и дезоксирибозы - снаружи. Плоскости оснований перпендикулярны оси спирали. Плоскости остатков сахара расположены почти под прямым углом к основаниям.

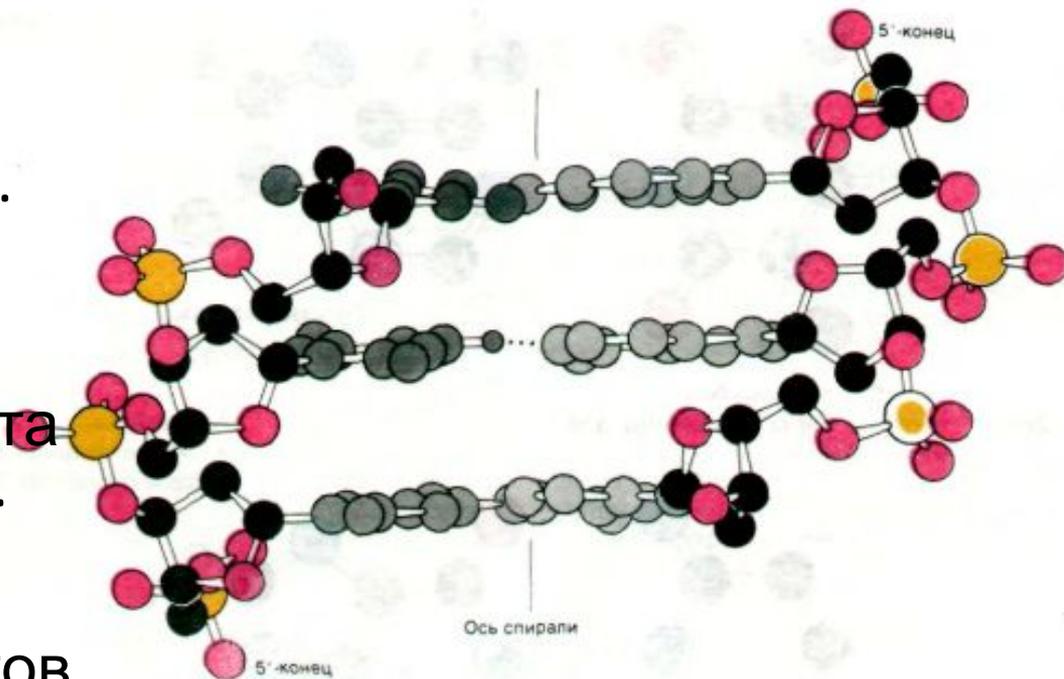


Рис. 24.12. Модель двухспиральной молекулы ДНК. Показаны три пары оснований. Обратите внимание, что две цепи ориентированы в противоположном направлении.

ДНК. Строение

3. Диаметр спирали 20 А.
Расстояние между соседними основаниями вдоль оси спирали 3,4 А, они повернуты относительно друг друга на 36°. Таким образом, на один виток спирали каждой из цепей приходится 10 нуклеотидов, что соответствует 34 А.

4. Две цепи удерживаются вместе водородными связями между парами оснований.
Аденин всегда спаривается с тимином, гуанин - с цитозином.

5. На последовательность оснований в полинуклеотидной цепи не накладывается никаких ограничений. Определенная последовательность оснований несет конкретную генетическую информацию.

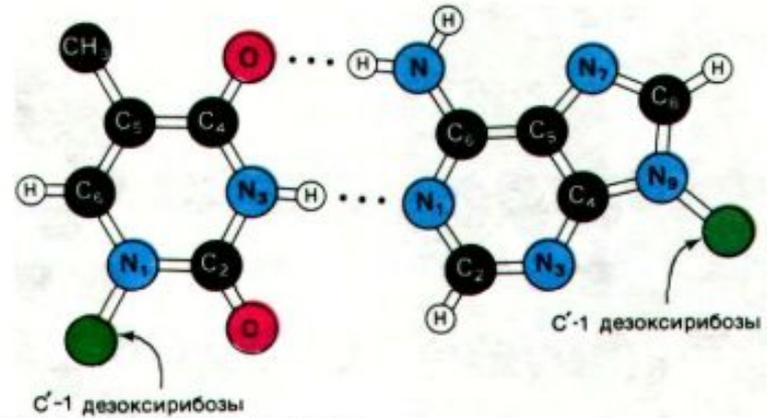


Рис. 24.9. Модель пары оснований аденин—тими́н.

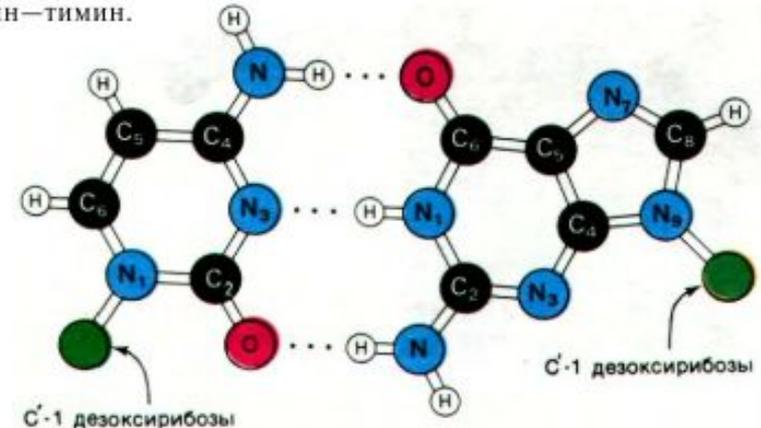
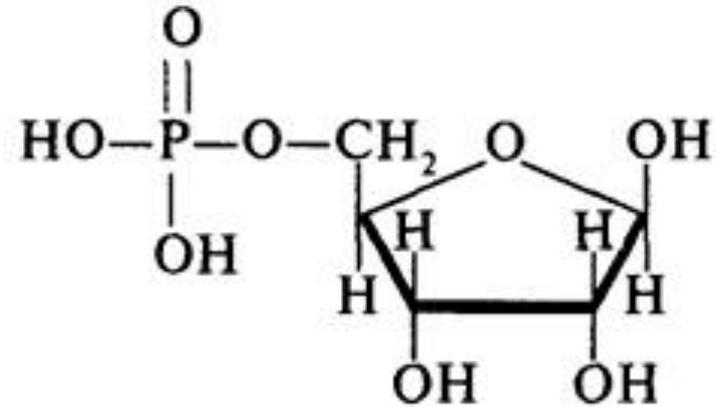


Рис. 24.10. Модель пары оснований гуанин—цитозин.

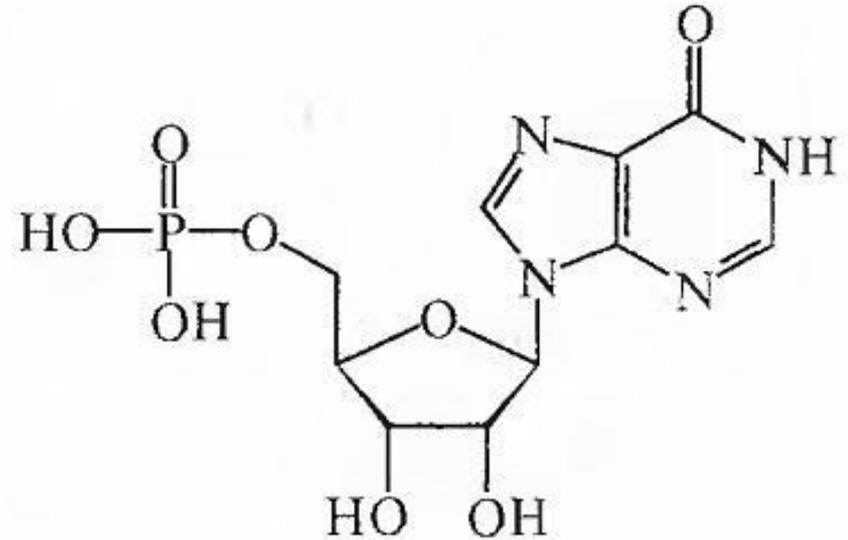
ДНК. Синтез НК

- **Синтез** пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов происходит на основе рибозо-5-фосфата.
- Синтез путём присоединения **глицина, глутамина, аспарагиновой кислоты** с образованием пуринов. Промежуточный продукт - **инозиновая кислота**. Далее из инозиновой кислоты образуются пуриновые нуклеотиды.
- Предшественник пиримидинов - **оротовая кислота**, - синтезируется из аммиака и аспарагиновой кислоты. При присоединении к рибозо-5-фосфату возникает пиримидиновый нуклеотид **оротидинмонофосфат**. Далее преобразуется в обычные пиримидиновые

ДНК. Синтез НК

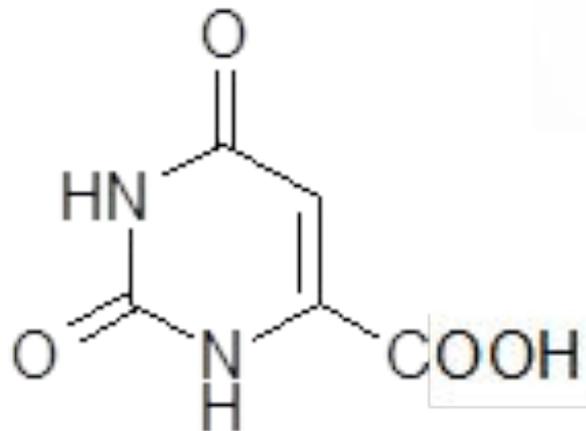


Рибозо-5-фосфат



5'-инозиновая кислота

Предшественник пуринов



Оротовая кислота, предшественник пиримидинов

ДНК. Свойства Прокариоты

- ЕО работает на адекватности адаптации к ситуации. Для быстрого изменения поведения клетке необходим **другой набор белков** => экспрессия **другого набора генов**.
- *Экспрессионные профили* - огромные регуляторные сети, позволяющие быстро переключаться между наборами генов, чьи продукты необходимы в данной ситуации => изменение поведения клетки. Регуляторные элементы генома выделяют на разных уровнях: *оперон* – последовательность функциональных генов, которые собраны в *регулоны*, далее – *модулон*, ещё выше – *стимулон*.
- Регуляторные каскады могут перекрываться на разных уровнях – одни и те же гены мб нужны в разных ситуациях. В результате разные экспрессионные профили представляют собой сети генов, транскрипция которых объединена *транскрипционными факторами* разного уровня.

ДНК. Свойства Прокариоты

Регуляция экспрессии осуществляется:

- Различными сигма-субъединицами (специфическая часть ДНК-зависимой РНК-полимеразы, отвечающая за распознавание *промоторов* у прокариот);
- Транскрипционными факторами (активаторы и репрессоры по типу рибосвитчей и/или метаболитной активации/репрессии);
- Топологической регуляцией (образование супервитков, сверхспирализации, выделение отдельных автономных доменов в зависимости от типа экспрессионного профиля).

ДНК. Свойства

Сигма-субъединицы отвечают за распознавание особой области – промотора – некодирующей регуляторной области, состоящей из консервативных областей -35 и -10 (число нуклеотидов до начала транскрипции), а так же спейсеров. Инициация транскрипции зависит от комплементарности этих последовательностей различным сигма-субъединицам, участвующим в элонгации всего 8-10 нуклеотидов. Для генов, находящихся под контролем одного и того же сигма-фактора консервативные последовательности будут совпадать.

Как пример:

сигма⁷⁰ отвечает за гены «домашнего хозяйства»;

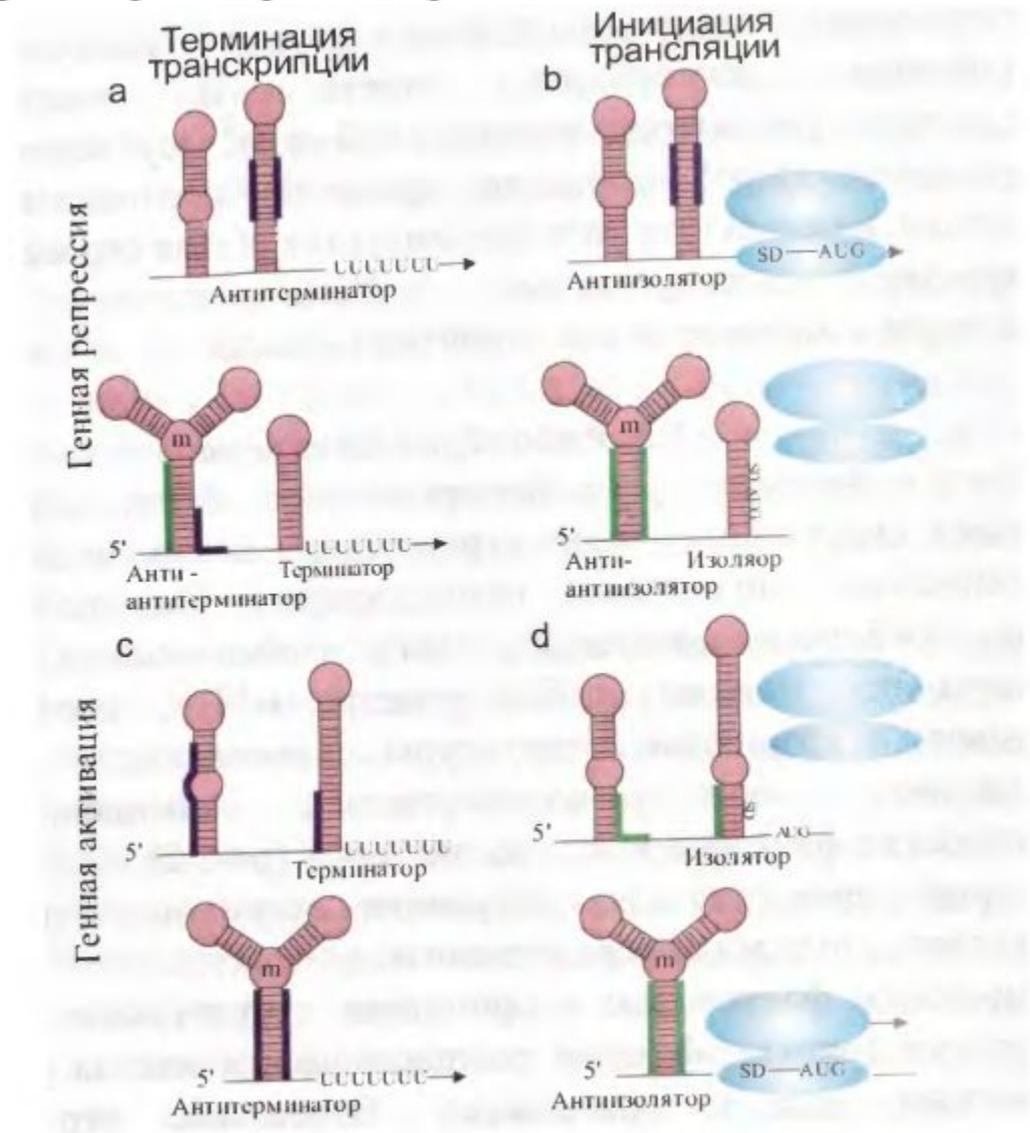
сигма³² – за ответ на тепловой шок;

сигма²⁸ – за «стационарную фазу» – голодание.

ДНК. Свойства

Транскрипционные факторы – регуляторы экспрессии генов (как активаторы, так и репрессоры) в зависимости от более частных условий. Часто работают по принципу «если..., то».

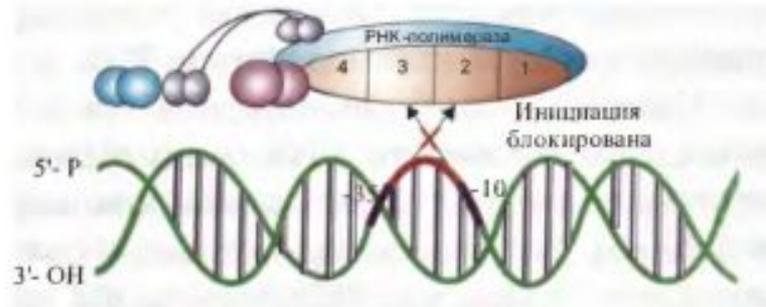
Как пример:



ДНК. Свойства

Топографическая регуляция – стерический процесс, основанный на недоступности тех или иных участков ДНК для синтеза в принципе, и/или несоответствии конфигурации промотора и сигма-фактора. Так же способствует сближению удалённых доменов (приближение энхансеров и

А. Релаксированная ДНК



В. Отрицательно суперскрученная ДНК



Рис. 28. Роль отрицательной суперспирализации ДНК в транскрипции:

Необходимая степень спирализации в прокариотах поддерживается двумя классами топоизомераз, способных вносить разрывы в обе, или одну нить ДНК и увеличивать степень суперскрученности с затратами энергии.

ДНК. Свойства

Петли – доступные для считывания домены ДНК. Каждая обладает топографической независимостью, т.к. в основании петли удерживается гер-белками

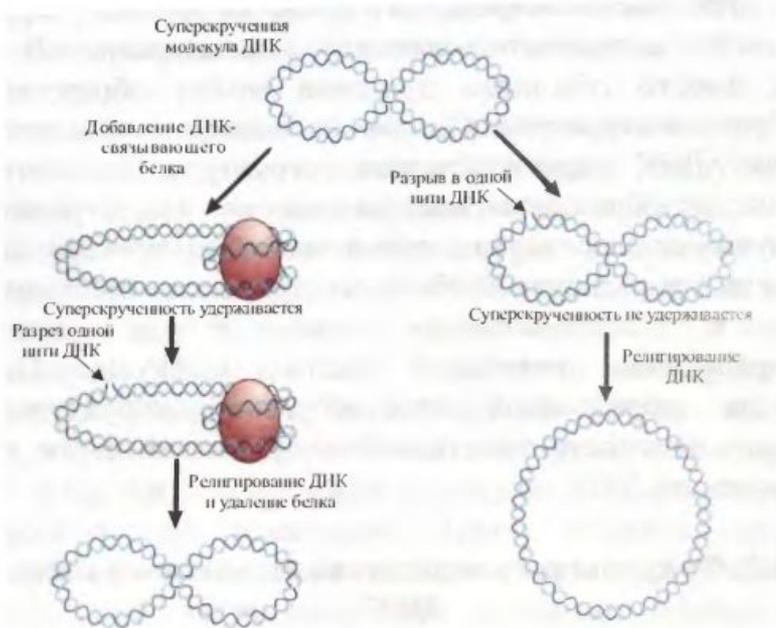


Рис. 21. Зависимое от белка удержание суперскрученности ДНК (по С.Л., 2004).

В случае закручивания участка суперскрученной ДНК вокруг белка

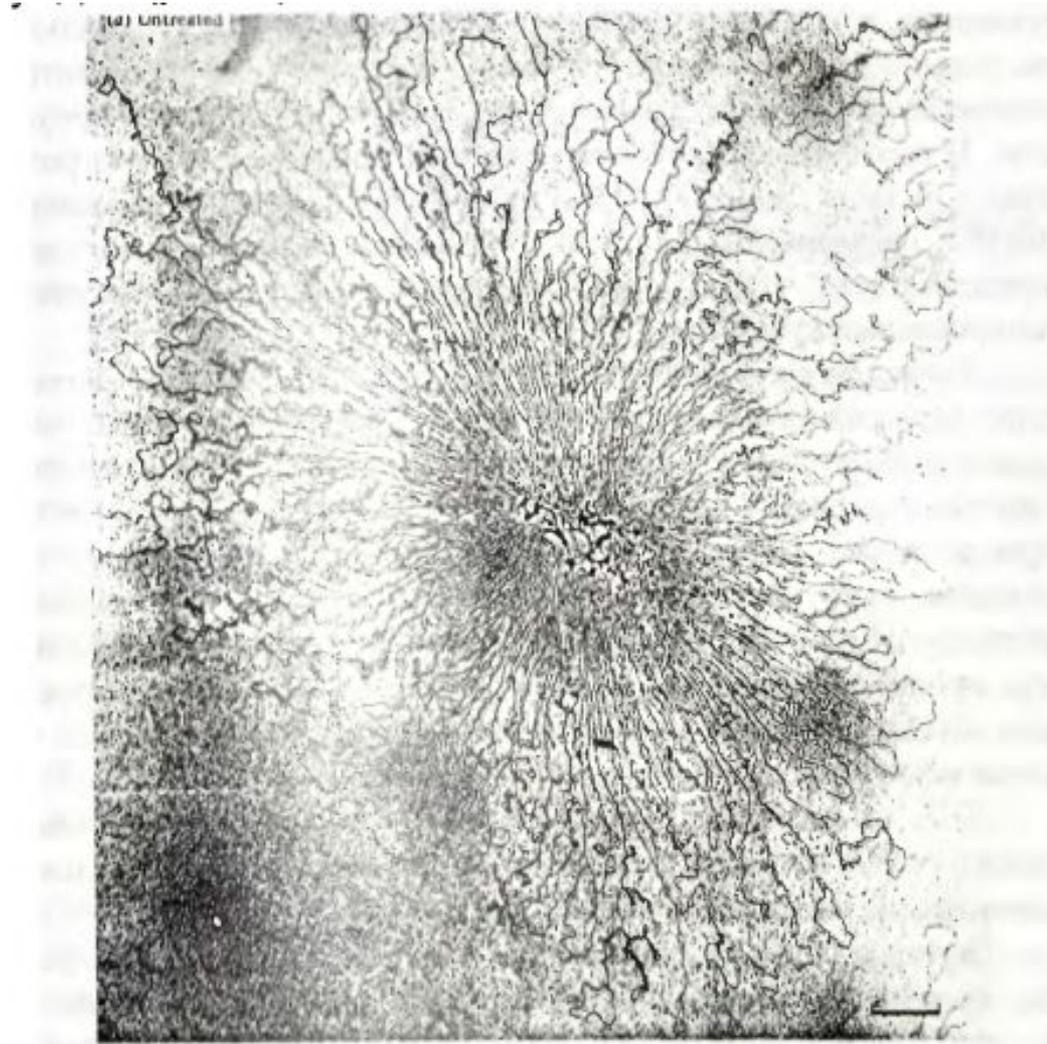
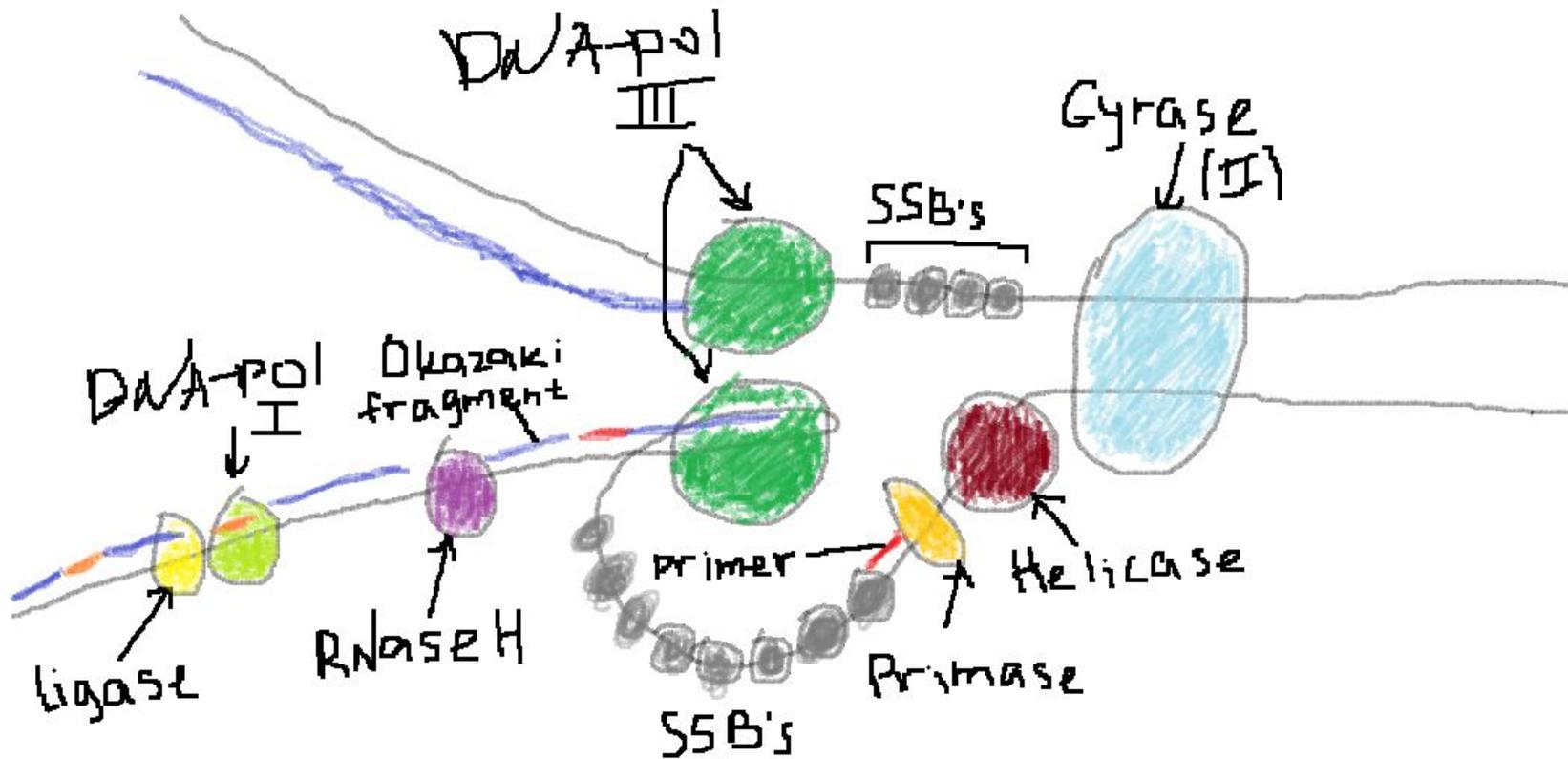


Рис. 22. Микрофотография нуклеоида ДНК *E. coli* (по Kleppe K. et al, 1979)

ДНК. Свойства Эукариоты

- Для эукариот возможно создание наследуемых экспрессионных профилей путём *метилирования* участков ДНК.
- Так же у эукариот важную роль в регуляции экспрессии играют некодирующие РНК, выполняющих стерические функции активаторов/репрессоров с созданием структуры «спираль вокруг спирали». Как пример – микроРНК *Xist*, отвечающая за случайное ингибирование одной из X хромосом в клетке.

ДНК. Репликация

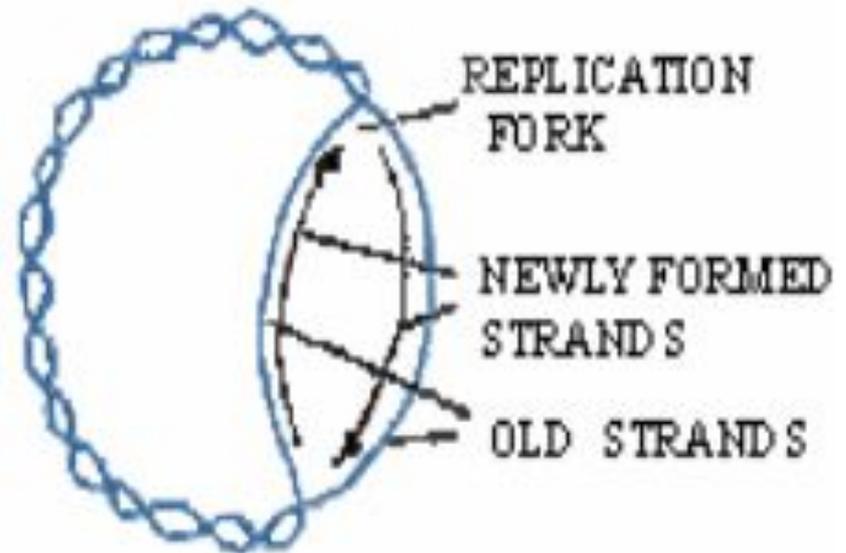


Я нарисовал!

ДНК. Репликация

Для прокариот характерно образование тета-структур в ходе репликации, образуется сразу две репликативные вилки, идущие по нуклеоиду в разных направлениях.

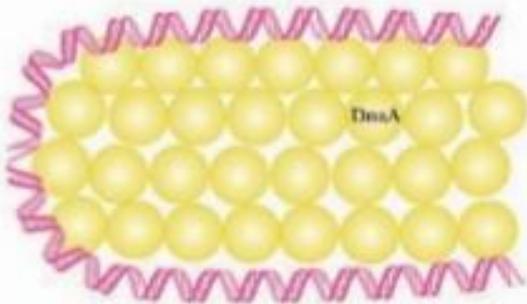
Репликация полупроцессивная (матричная), есть «лидирующая» и «отстающая» цепи.



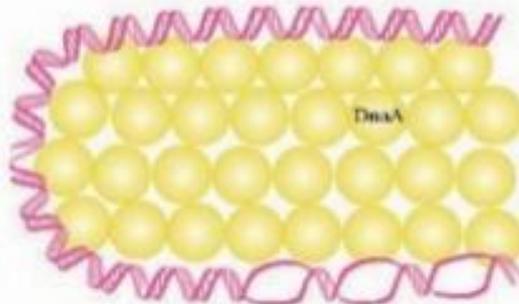
ДНК. Репликация

Начинается в точке OriC, богатой AT повторами. Расхождение нитей для образования репликационных вилок начинается со связывания с активной формой белка DNA A в «DNA A бокс»

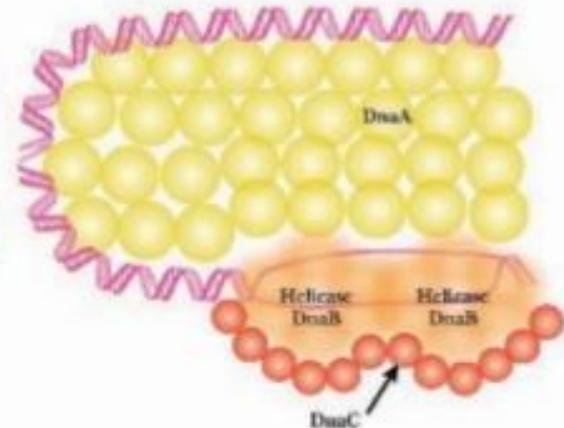
A) DnaA-DNA AGGREGATES



B) REPLICATION BUBBLES FORM



C) DnaB AND DnaC BIND TO FORM REPLICATION FORKS AND DISPLACE DnaA

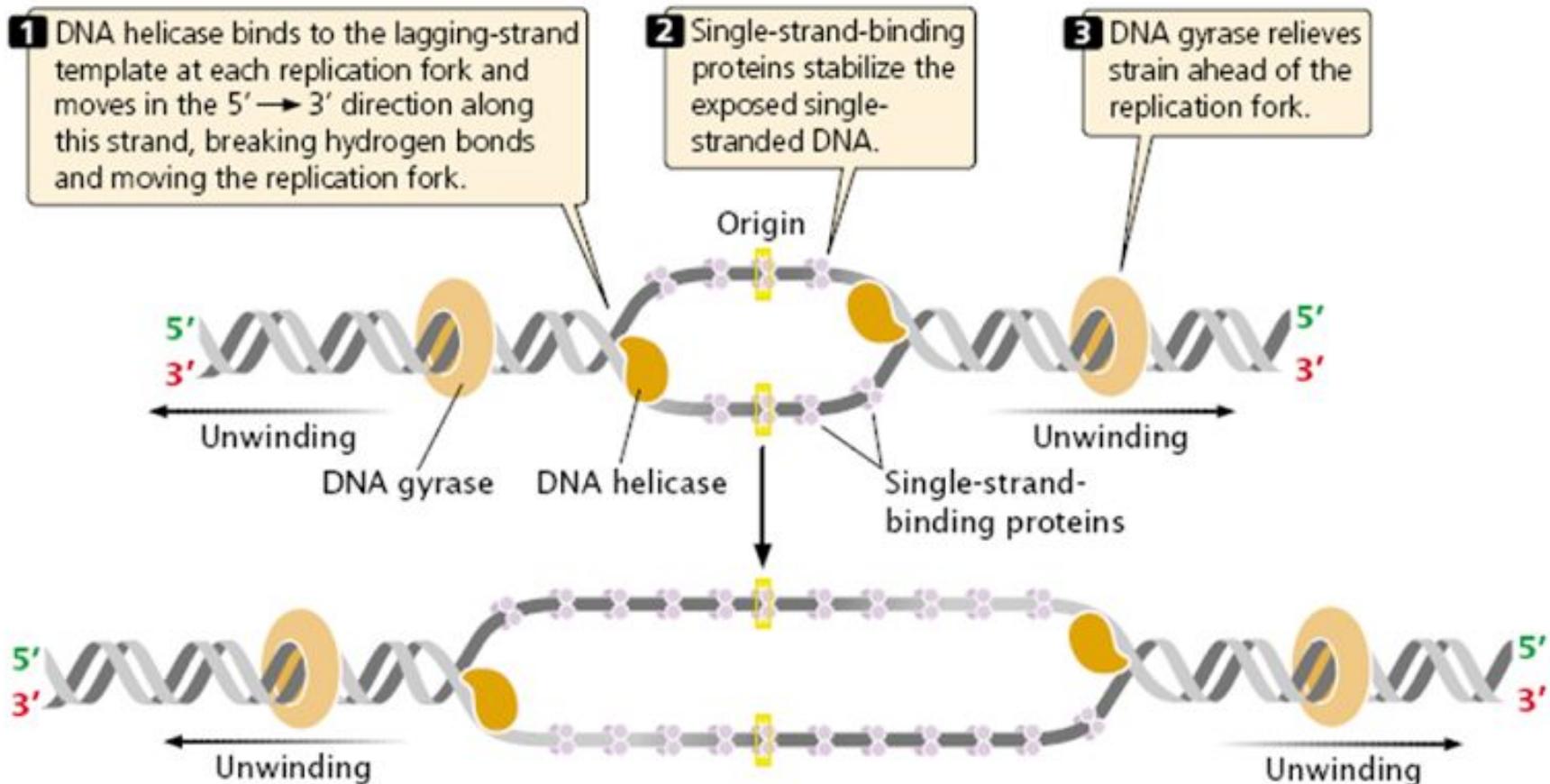


ДНК. Репликация

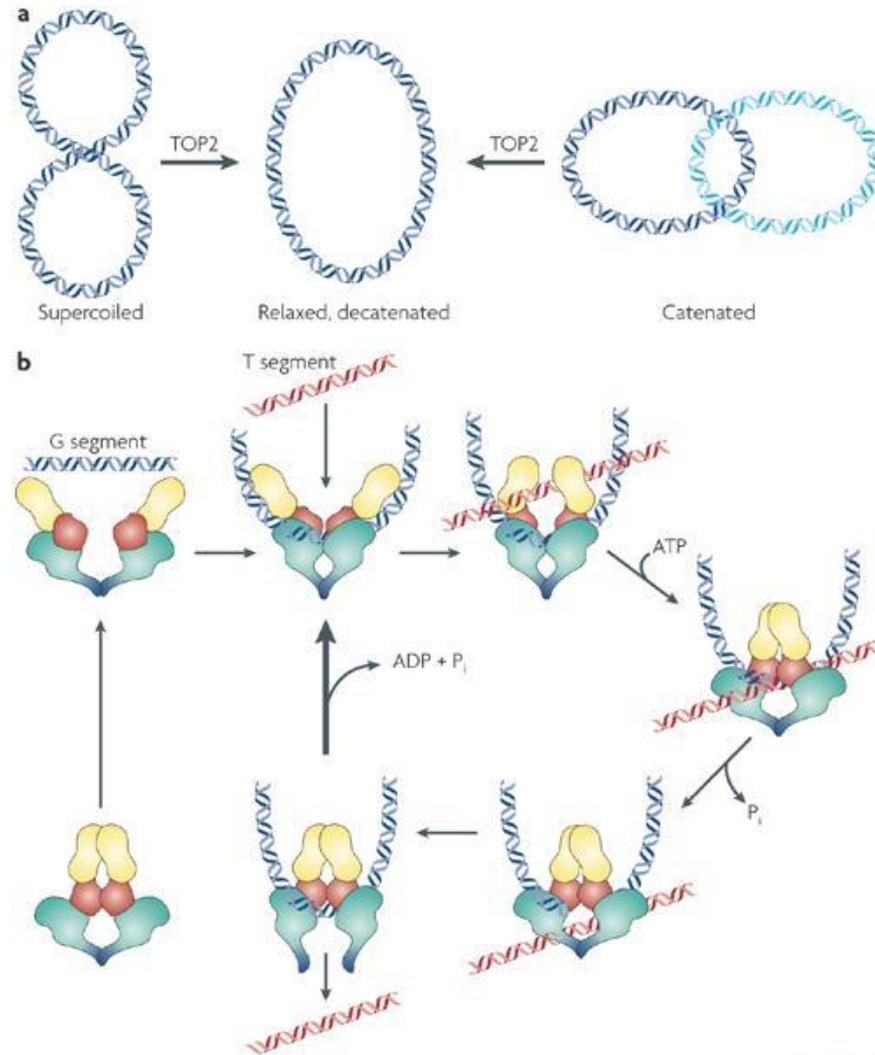
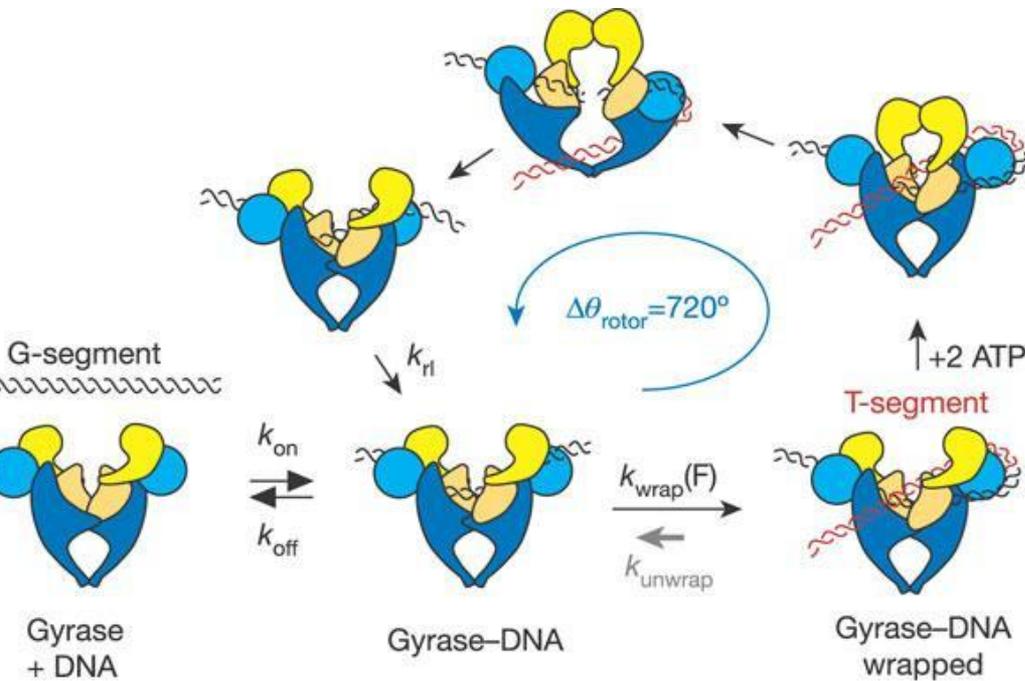
Далее следует загрузка двух **хеликазных комплексов** (DNA B, по 6 субъединиц), разрывающих водородные связи между нитями ДНК.

SSB – удерживают однонитевую ДНК от спаривания.

Гираза – снимает излишнее напряжение в двойной спирали путём внесения двунитевых разрывов в ДНК.



ДНК. Репликация



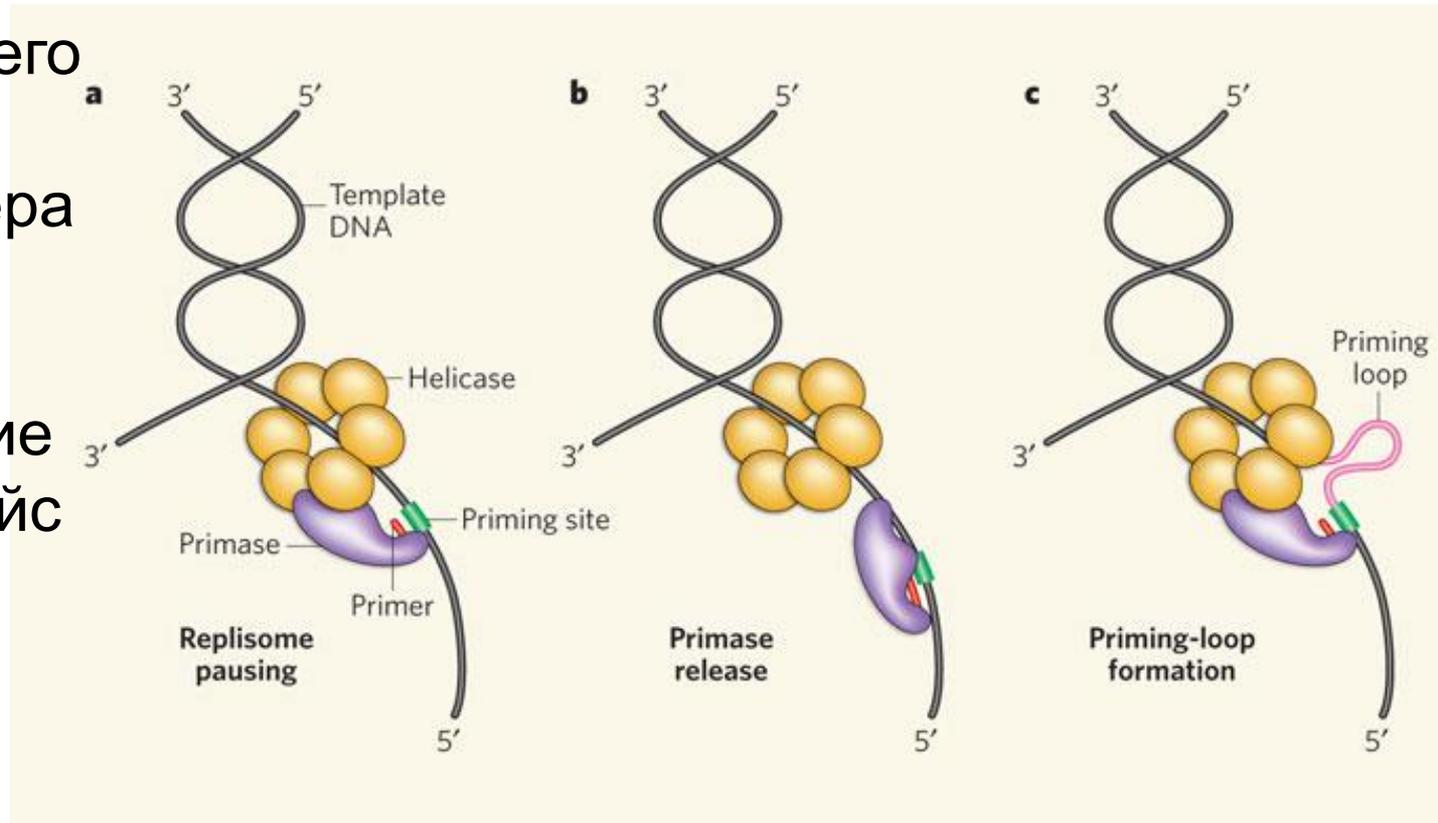
Механизм работы ДНК-гиразы (топоизомеразы II типа): внесение разрыва в двунитчатую ДНК и протаскивание другого двунитевого участка той же молекулы сквозь разрыв с затратой энергии. Снятие/внесение

ДНК. Репликация

Далее следует загрузка праймазы ДНК-зависимой РНК-полимеразы, достраивающей к 3'-концу фрагмент РНК из 10 нуклеотидов.

В эукариотах хеликаза и праймаза составляют комплекс с тремя возможными способами взаимодействия:

- а) остановка всего комплекса для синтеза праймера
- б) остановка праймазы
- в) формирование «праймирующей петли».



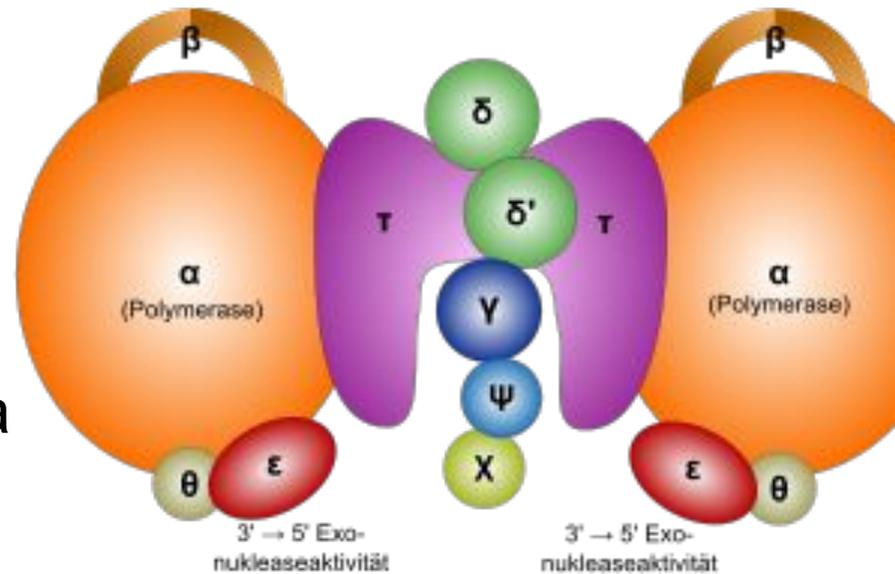
ДНК. Репликация

После – загрузка субъединиц ДНК-зависимой ДНК-полимеразы 3-го типа (сначала 2 бета-субъединицы между хеликазой и праймазой, с образованием «скользящего зажима», потом 2 альфа-субъединицы, образующие дочерние цепи). Направление синтеза 5'

- β -субъединицы – образование «скользящего зажима», сильно увеличивающего эффективность фермента
- В середине – комплекс для загрузки β -субъединиц (сборка/разборка для синтеза каждого фрагмента Оказаки)
- Т – димеризация кора фермента

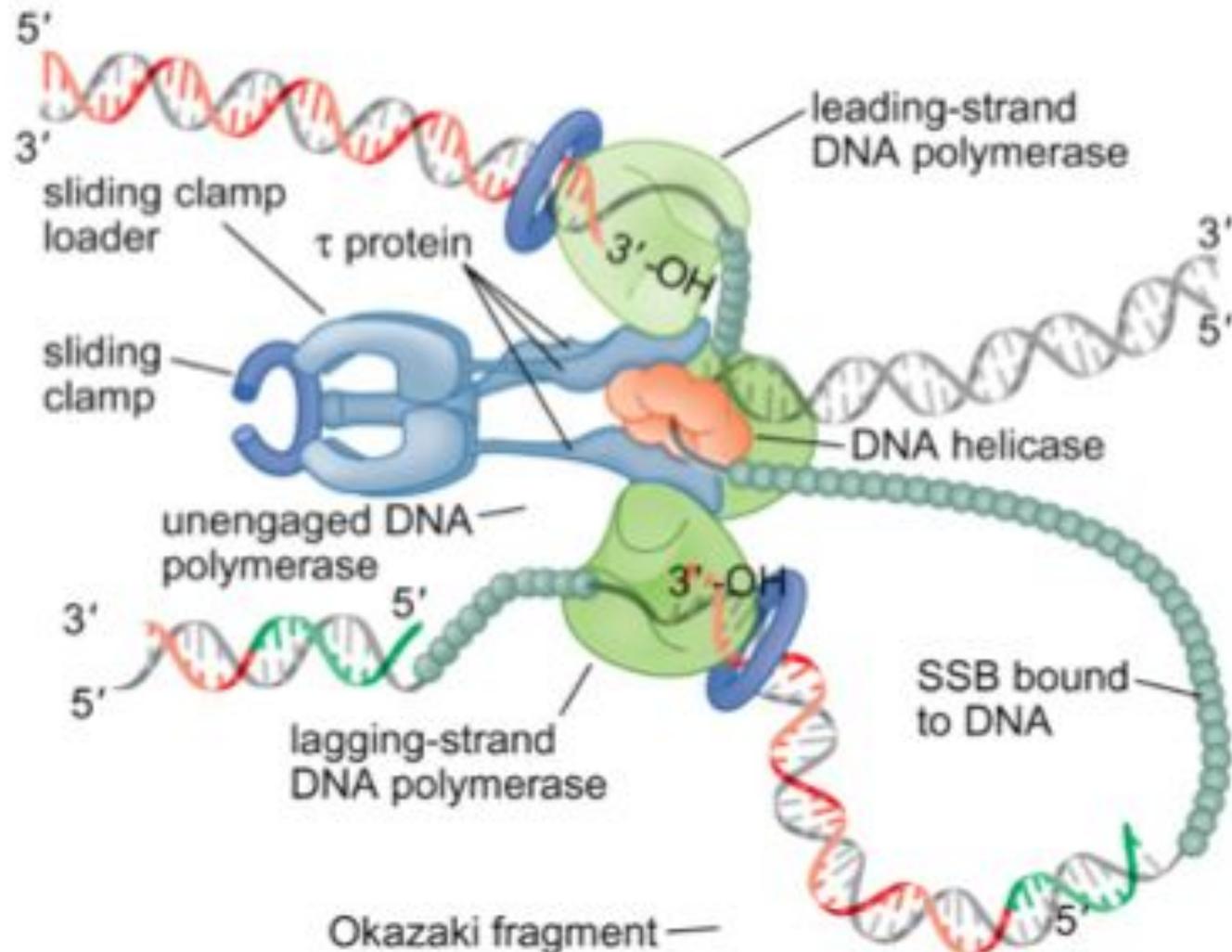
Кор:

- α -субъединицы 5' \rightarrow 3' синтез
- Тета и эпсилон – 3' \rightarrow 5' экзонуклеазная активность для



ДНК. Репликация

Пример
взаимного
расположени
я хеликазы и
ДНК-пол III.
Впрочем, не
очень
удачный.



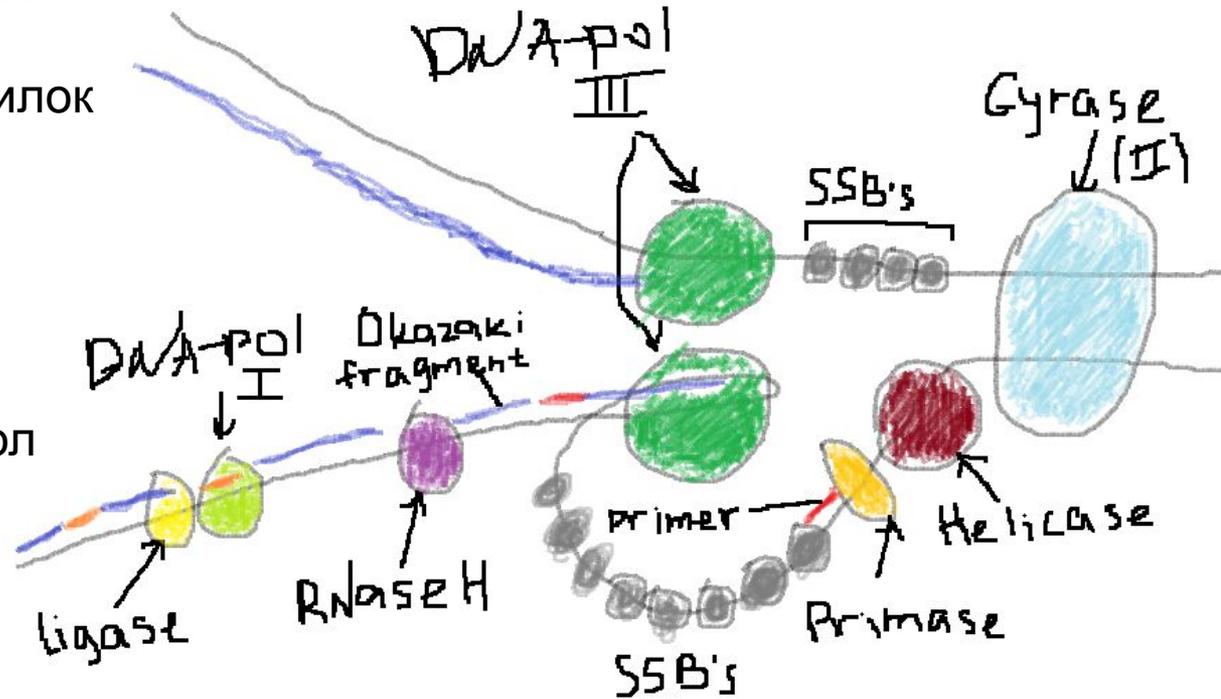
ДНК. Репликация

На отстающей цепи направление синтеза то же, синтезируются фрагменты по 1000 п.н. (фрагменты Оказаки):

- синтез от праймеров, комплекс ДНК-полимеразы пересобирается в конце каждого праймера для синтеза нового фрагмента;
- РНК-аза II с эндонуклеазной активностью 3' → 5' вырезает праймеры;
- бреши от праймеров заполняются ДНК-полимеразой 1 типа;
- фрагменты отстающей цепи ковалентно связываются ДНК-лигазой.

ДНК. Репликация

1. Загрузка DNA A в Ori C
2. Образование репл «глазка»
3. Загрузка 2 комплексов хеликаз
4. SSB удерж отд нити ДНК
5. Формирование двух репл вилок
6. Загрузка праймазы
7. Образование праймеров
8. Загрузка ДНК-пол III (β , α)
9. Движение белковых комплексов
0. Загрузка ост субъед ДНК-пол
 - Отстающая нить:
 1. Синтез фрагмента Оказаки от праймера
 2. Разборка ДНК-пол III
 3. Сборка у след праймера
 4. РНК-аза N вырезает праймер
 5. ДНК-пол I заделывает брешь после праймера
 6. Лигаза ковалентно сшивает фрагменты Оказаки с участками ДНК, заполн брешь



ДНК. Репарация

Участвующие ферменты (задействованы так же в репликации ДНК):

- Хеликаза, (разрыв водородных связей, расхождение нитей);
- Экзонуклеаза, (делеция некулеотидов);
- Полимераза, (матричный синтез ДНК);
- Лигаза (ковалентное связывание разрывов в одной из нитей ДНК).

ДНК. Репарация

Типы:

- Прямая – непосредственное воздействие ферментов (навроде снятия метилирования);
- Эксцизионная – специфическое узнавание повреждённых азотистых оснований гликозилазами и исправление инсертазами и/или достраивание повреждённой нити по матрице комплементарной цепи (нашли-вырезали-достроили);
- Пострепликативная – способ ремонта гомологичной рекомбинацией (без точного узнавания повреждения замена однонитевой бреши, по матрице дочерней молекулы).
- SOS-система – заделывание разрывов без учёта комплементарности с использованием неточной полимеразы (огромное число ошибок, но сохранение топологии ДНК);
- MR-система – метилазы и рестриктазы. Не метилированные

Нобелевскую премию по химии за 2015 год получат швед Томас Линдал (Tomas Lindahl), американец Пол Модрич (Paul Modrich) и турок Азиз Санджар (Aziz Sancar).
Первый открыл группу ферментов-гликозилаз;
Второй – световую и темновую системы репарации УФ-повреждений;
Третий – репарацию в ходе синтеза ДНК.

Использованная литература

Ткаченко А.Г. «Механизмы адаптации микроорганизмов»;

Страйер «Биохимия»;

Безбрежные просторы интернета;

Рекомендую ещё Маркова почитать «Рождение сложности», «Эволюция человека» и «Эволюция».