

Биосинтез нуклеиновых кислот.

(Матричные биосинтезы)

**Основы молекулярной генетики,
полиморфизм белков.**

**Происхождение разнообразия
антител.**

План:

1. Структурная организация нуклеиновых кислот.
2. Структура ДНК.
3. Структура РНК.
4. Физико-химические свойства ДНК и РНК.
5. Репликация-воспроизведение ДНК.
6. Клеточный цикл.
7. Репарация ДНК.
8. Транскрипция – синтез РНК.
9. Трансляция – синтез белка.
10. Генетический код.

11. Ингибиторы матричного биосинтеза.

**12. Механизмы генетической
изменчивости.**

13. Полиморфизм белков.

14. ДНК –технологии.

Историческая справка.

1868-69 г. Мишер :выделение из ядер клеток нуклеинов

1943 г. Эвери, Мак Леод, Маккарти: обнаружение, что ДНК вирулентных бактерий переводит невирулентный штамм бактерий в вирулентный, т.е. ДНК несёт информацию о наследственности.

1949 г. Чаргафф и его коллеги: выявление закономерности формирования структуры ДНК.

1953 г. Уотсон и Крик: модель ДНК

1967 г. Корнберг: синтез ДНК вируса

1970 г. Корана: синтез искусственного гена

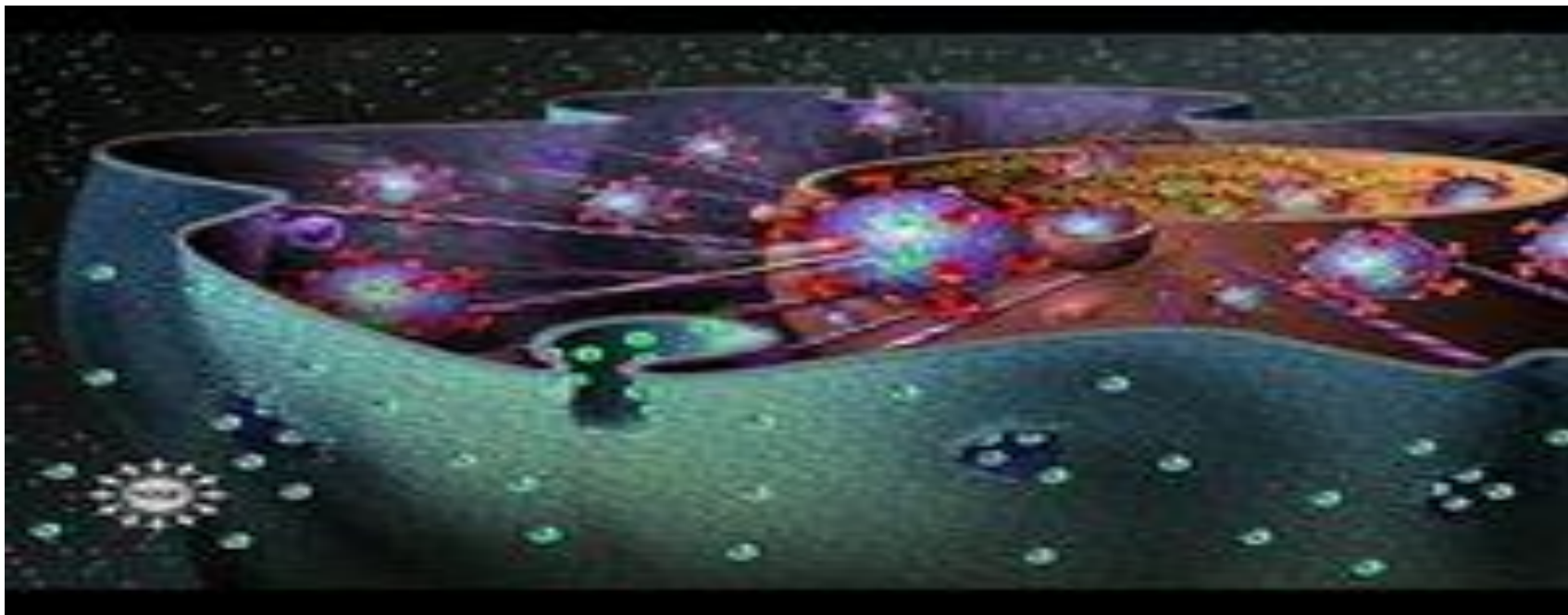
1977 г. Установление нуклеотидной последовательности ДНК бактериофага

1978 г. Арбер, Смит, Натансон: открытие явления рестрикции ДНК

2000 г. – полная расшифровка ДНК (генома) человека.

2002 г. - В Англии разрешен синтез отдельных органов и тканей путём клонирования.

Открытие нуклеиновых кислот принадлежит швейцарскому химику **Ф. Мишеру**, который продолжительное время изучал ядра лейкоцитов, входящих в состав гноя. Кропотливая работа замечательного исследователя увенчалась успехом. В **1869 г.** Ф. Мишер обнаружил в лейкоцитах новое химическое соединение, которое назвал **нуклеином (лат. nucleus – ядро)**. Дальнейшие исследования показали, что нуклеин представляет собой смесь нуклеиновых кислот. Впоследствии нуклеиновые кислоты были обнаружены во всех растительных и животных клетках, бактериях и вирусах.

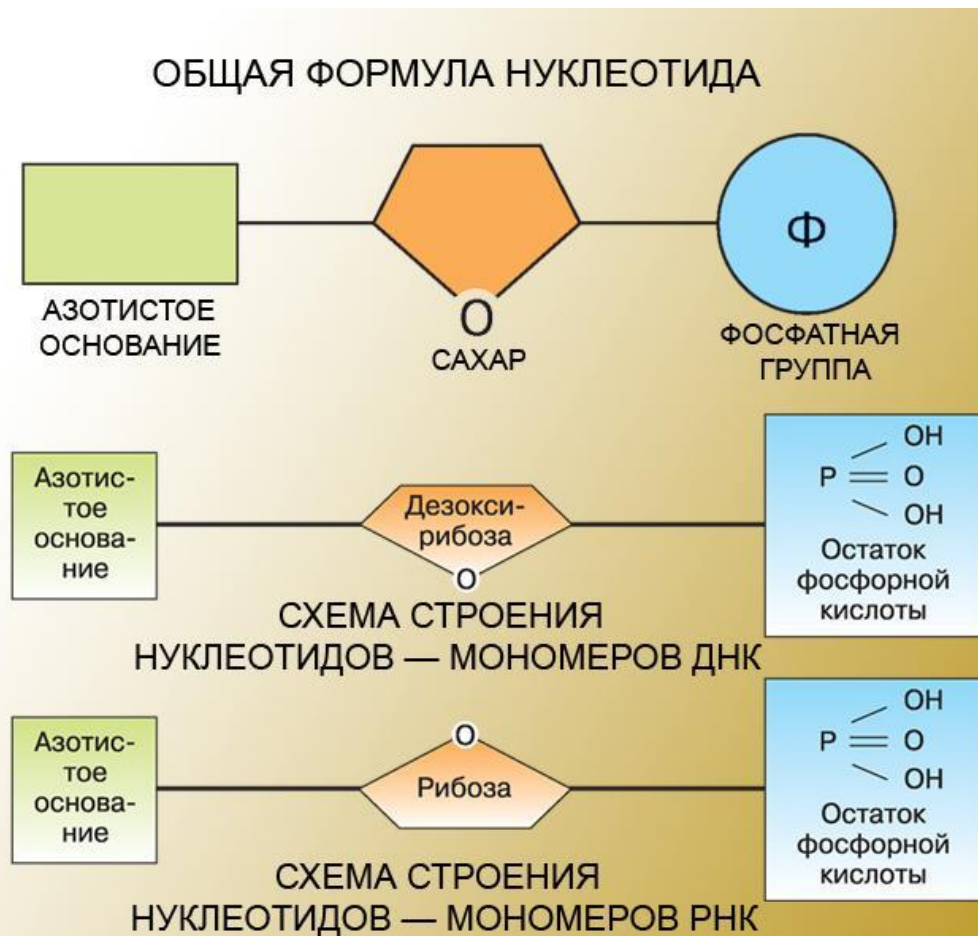


СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

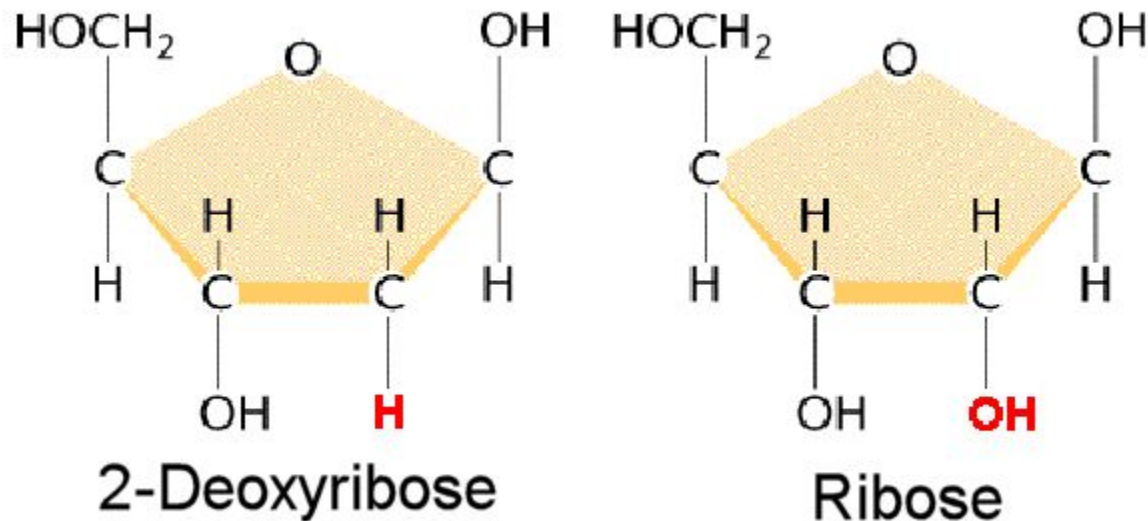
В каждом живом организме присутствуют два типа нуклеиновых кислот: **рибонуклеиновая (РНК)** и **дезоксирибонуклеиновая (ДНК)**. ДНК и РНК состоят из мономерных единиц – **нуклеотидов**, поэтому нуклеиновые кислоты называют **полинуклеотидами**.

Строение нуклеотидов

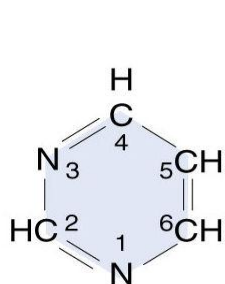
Каждый нуклеотид содержит 3 химически различных компонента: гетероциклическое **азотистое основание**, **моносахарид** (пентозу) и **остаток фосфорной кислоты**.



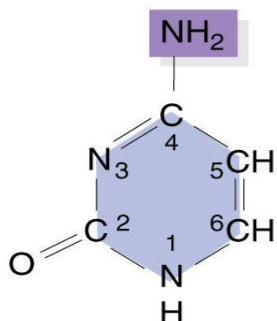
Пентозы в нуклеотидах представлены либо **дезоксирибозой** (в составе ДНК), либо **рибозой** (в составе РНК).



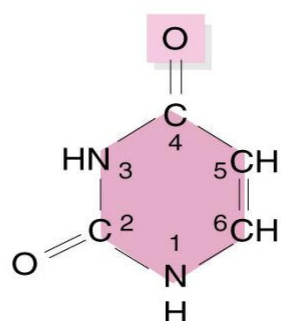
В состав нуклеиновых кислот входят азотистые основания двух типов: пуриновые - **аденин (A)**, **гуанин (G)** и пиримидиновые - **цитозин (C)**, **тимин (T)** и **урацил (U)**. В основе структуры пуриновых и пиримидиновых оснований лежат два ароматических гетероциклических соединения – **пурин** и **пиримидин**. Нумерация атомов в основаниях записывается **внутри цикла**.



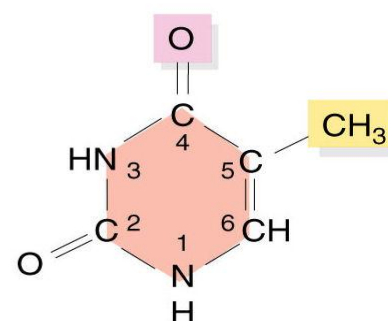
Pyrimidine



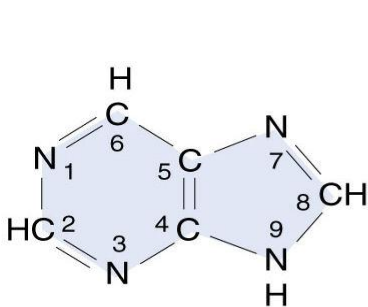
Cytosine (C)



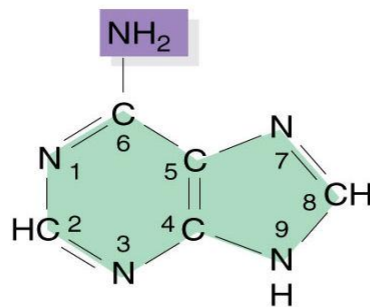
Uracil (U)
(found in RNA)



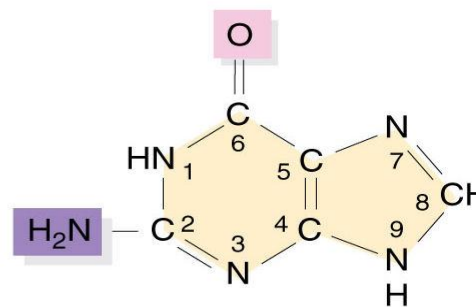
Thymine (T)
(found in DNA)



Purine



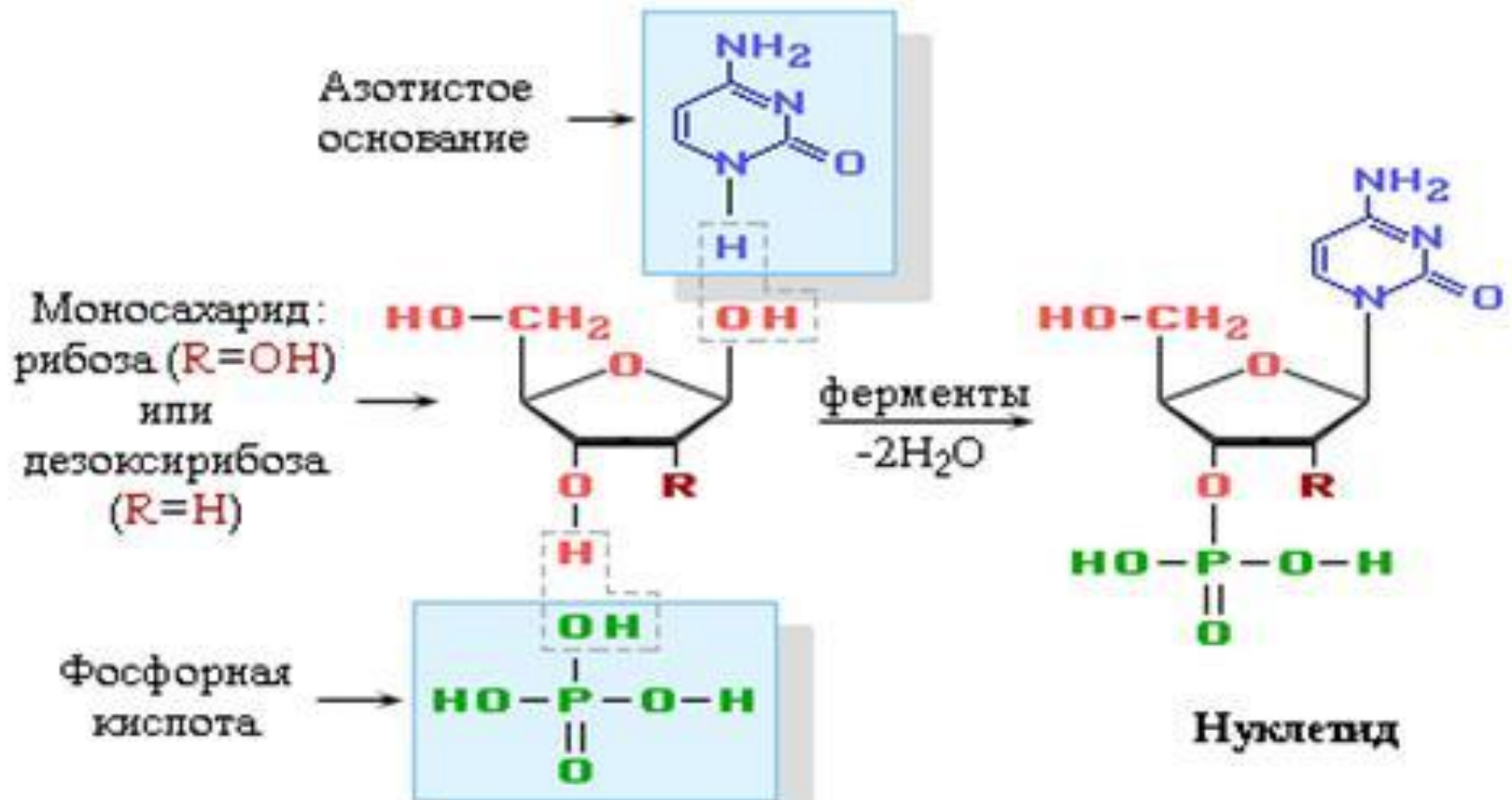
Adenine (A)



Guanine (G)

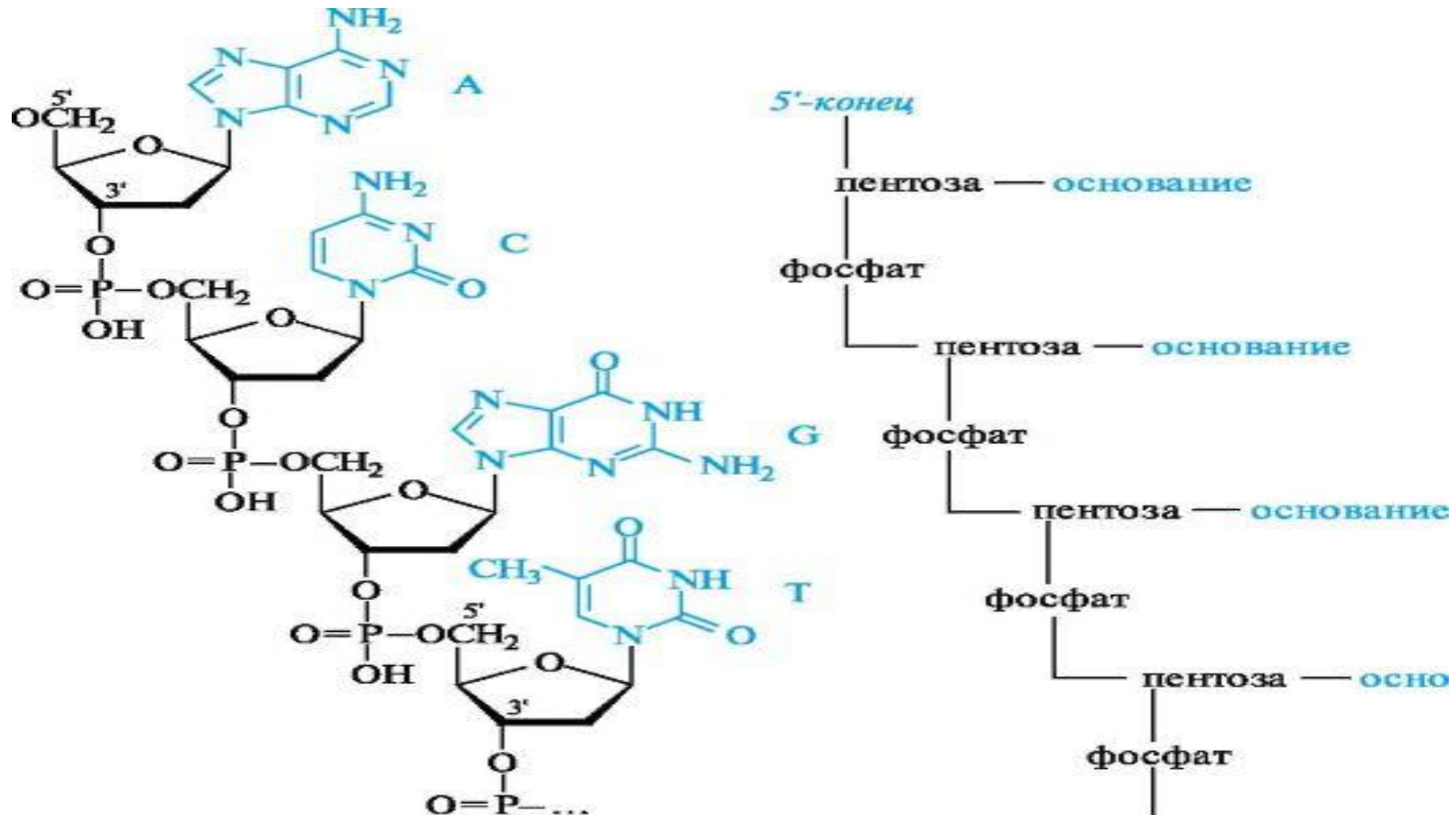
Пентозу соединяет с основанием **N-гликозидная** связь, образованная С1 – атомом пентозы (рибозы или дезоксирибозы) и N1 – атомом пиримидина или N9 атомом пурина.

Строение и составные части нуклеотида

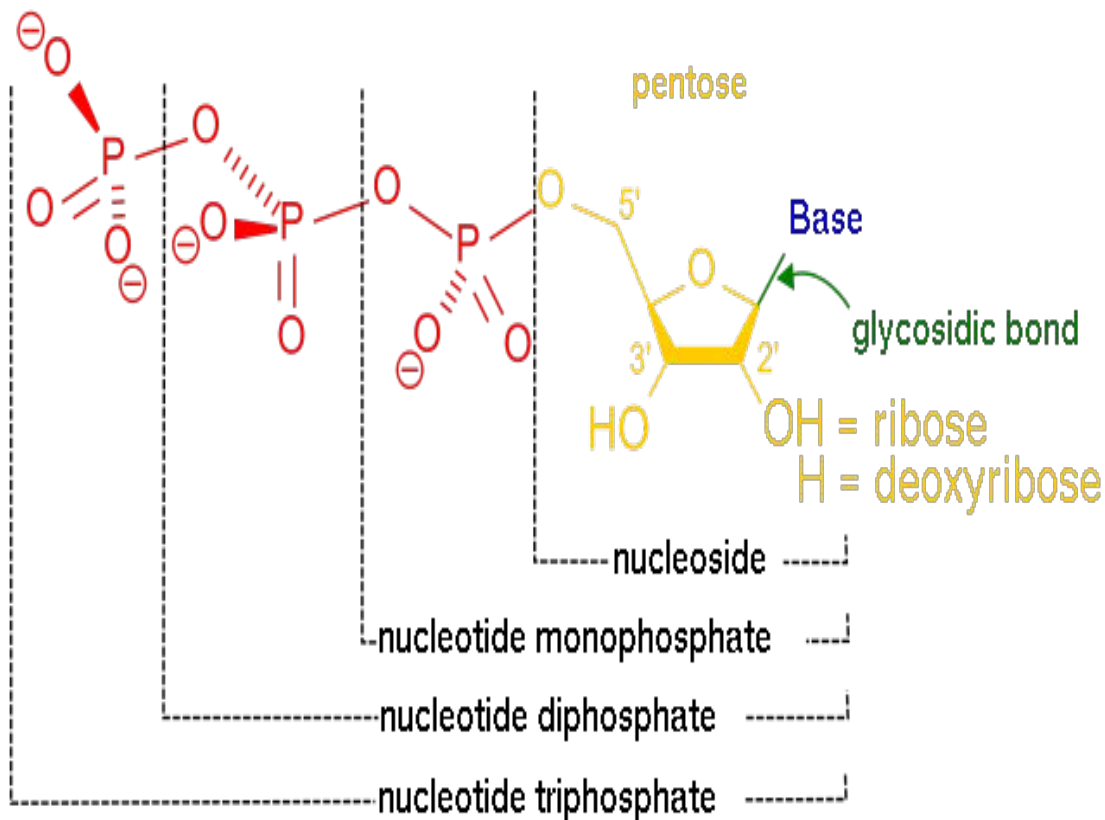


Нуклеотиды, в которых пентоза представлена **рибозой**, называются рибонуклеотидами, а нуклеиновые кислоты – рибонуклеиновыми (РНК). Нуклеиновые кислоты, мономеры в состав которых входит **дезоксирибоза**, называются дезоксирибонуклеиновыми кислотами (ДНК). ДНК и РНК входят в состав сложных белков – **нуклеопротеинов** (качестве простетической группы).

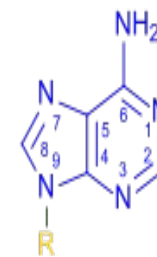
Нуклеиновые кислоты по своему строению относятся к классу **линейных полимеров**.
Остов нуклеиновой кислоты имеет одинаковое строение по всей длине молекулы и состоит из чередующихся групп – **пентоза-фосфат-пентоза**.



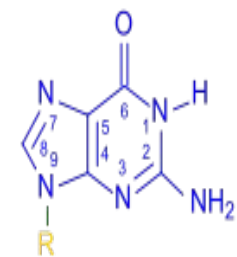
соединения, в которых азотистые основания связаны с рибозой или дезоксирибозой посредством N- гликозидной связи -называются **нуклеозиды**.



Purines

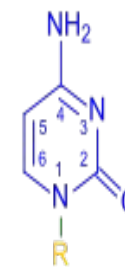


Adenine

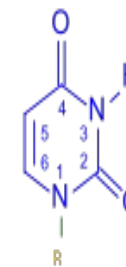


Guanine

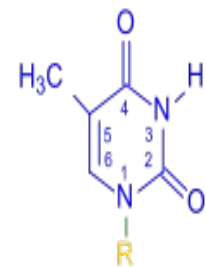
Pyrimidines



Cytosine

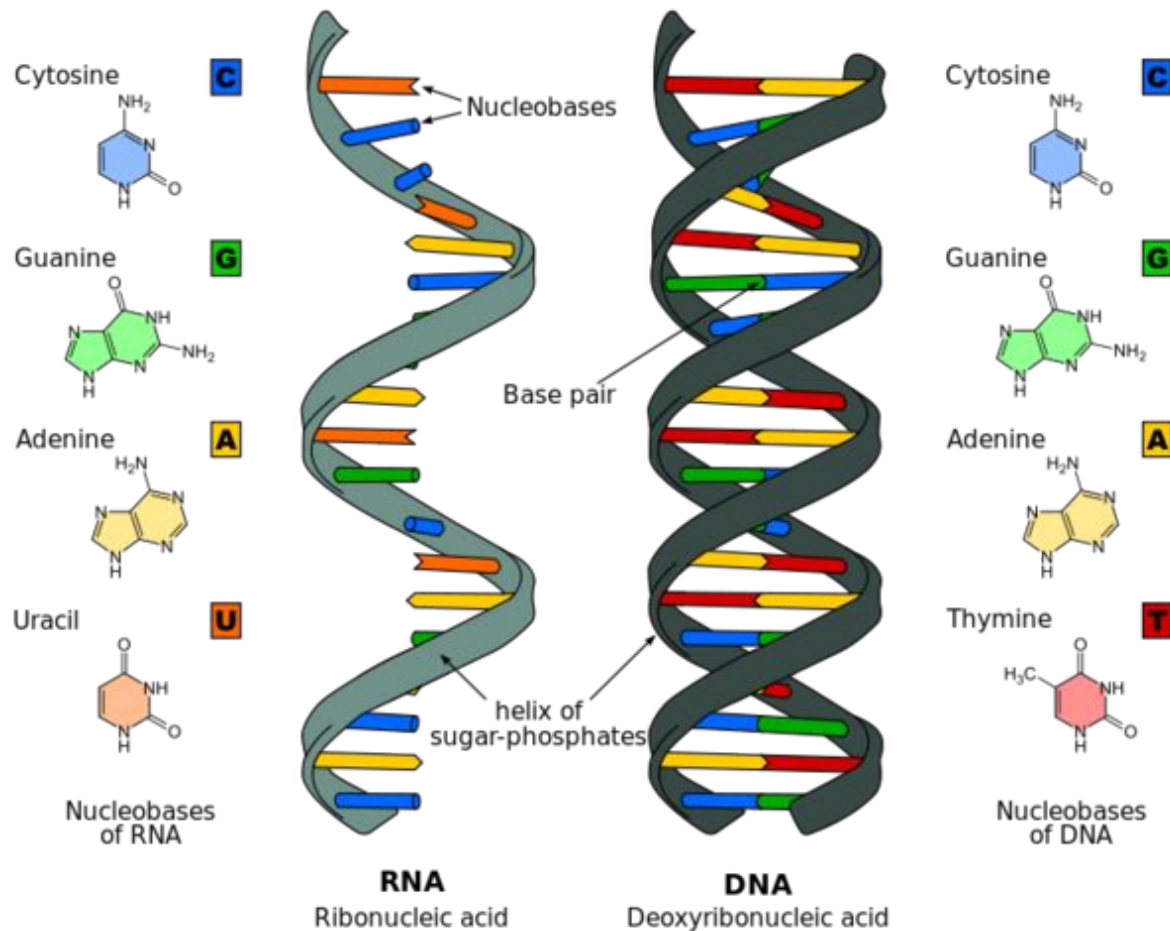


Uracil



Thymine

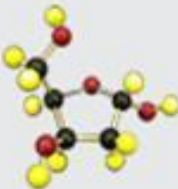
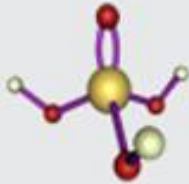
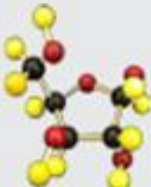
Нуклеиновые кислоты.



Различия между РНК и ДНК.

Различия	рнк	днк
По химическому составу	Рибоза Аденин (А) Гуанин (Г) Цитозин (Ц) Урацил (У)	Дезоксирибоза Аденин (А) Гуанин (Г) Цитозин (Ц) Тимин (Т)
белки	мало	много
расположение	цитоплазма	ядро
строение	нерегулярное	регулярное
биологическая функция	перенос информации	хранение информации

Строение нуклеотидов (отличия)

нуклеотид в составе молекулы ДНК	 тимин  дезоксирибоза  фосфорная кислота
нуклеотид в составе молекулы РНК	 урацил  рибоза  фосфорная кислота

Номенклатура нуклеотидов

Азотистое основание	нуклеозид	нуклеотид	Трёхбуквенное обозначение	Однобуквенный код
аденин	аденозин	Аденозин- монофосфат	АМФ	А
гуанин	гуанозин	Гуанозин- монофосфат	ГМФ	Г
цитозин	цитидин	Цитидин- монофосфат	ЦМФ	С
урацил	уридин	Уридин- монофосфат	УМФ	У
тимин	тимидин	Тимидин- монофосфат	ТМФ	Т

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

МОНОМЕРЫ - НУКЛЕОТИДЫ

**ДНК –
дезоксирибонуклеиновая
кислота**

**РНК
рибонуклеиновая
кислота**

Состав нуклеотида в ДНК

**Азотистые
основания:**
Аденин (А)
Гуанин (Г)
Цитозин (Ц)
Тимин (Т)

**Дезокси-
рибоза**

Остаток
фосфорной
кислоты

Информационная
(матричная)
РНК (и-РНК)

Транспортная
РНК (т-РНК)

Рибосомная РНК (р-РНК)

Состав нуклеотида в РНК

**Азотистые
основания:**
Аденин (А)
Гуанин (Г)
Цитозин (Ц)
Урацил (У):

Рибоза

Остаток
фосфорной
кислоты

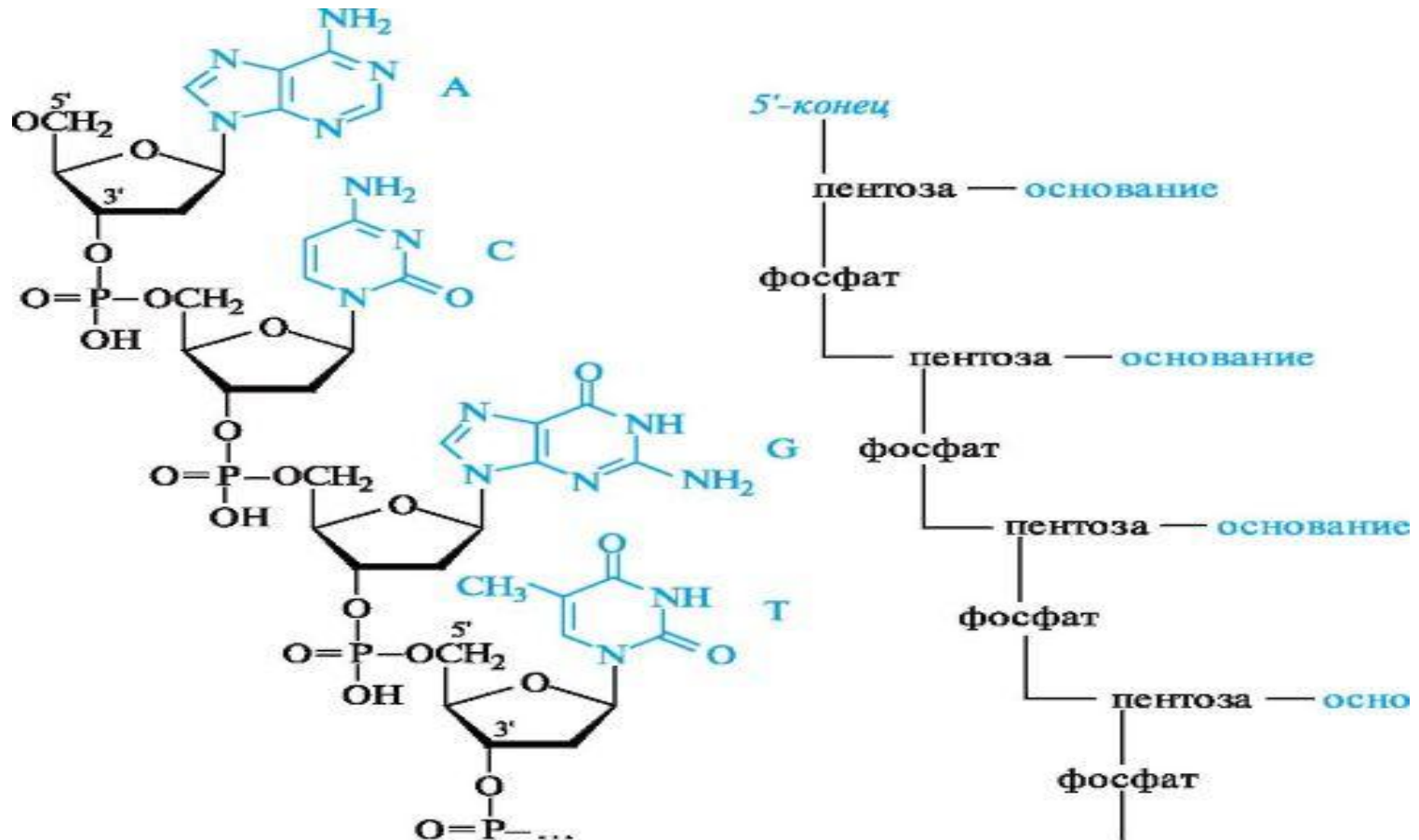


MyShared

Структура ДНК.



Первичная структура ДНК – порядок чередования дезоксирибонуклеозидмонофосфатов (дНМФ) в полинуклеотидной цепи.

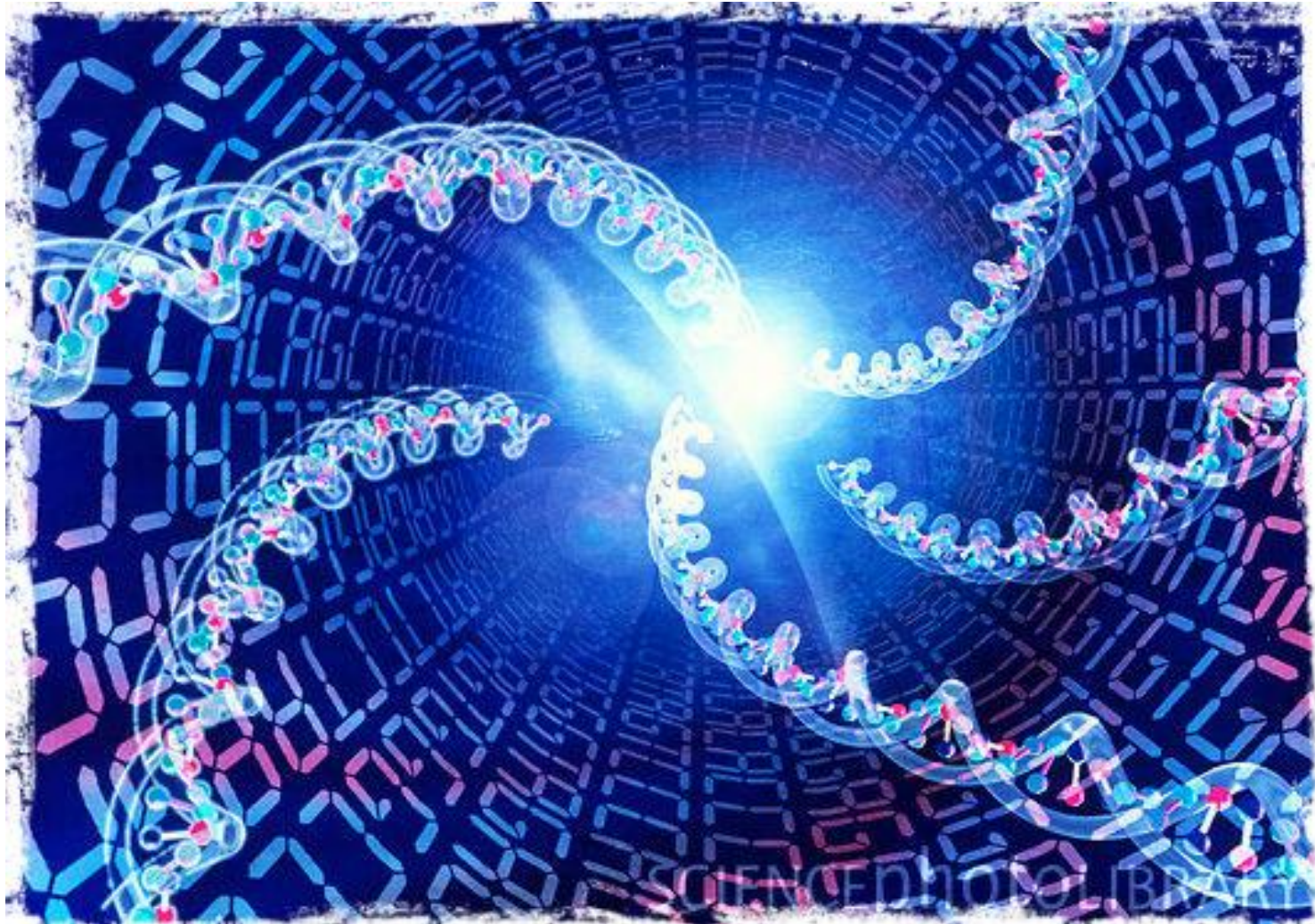


Каждая фосфатная группа в полинуклеотидной цепи (ППЦ), за исключением фосфорного остатка на 5' – конце молекулы, участвует в образовании двух эфирных связей с участием 3' и 5' - углеродных атомов двух соседних дезоксирибоз, поэтому связь между мономерами обозначают

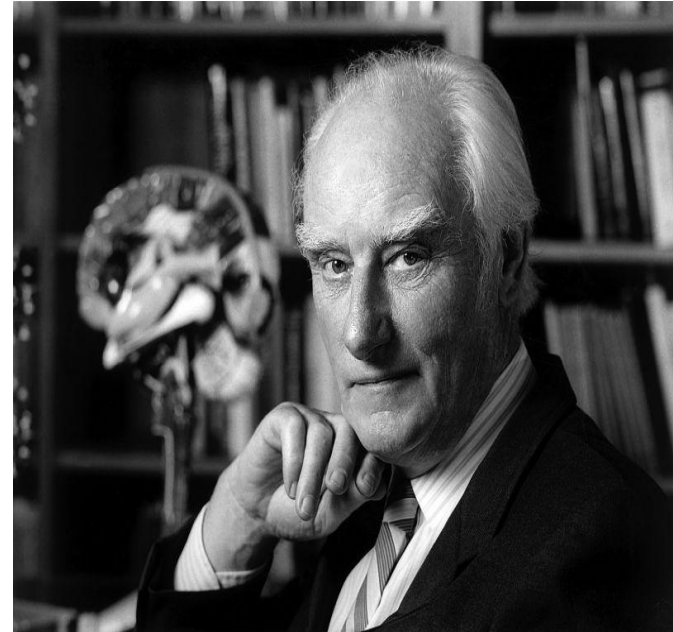
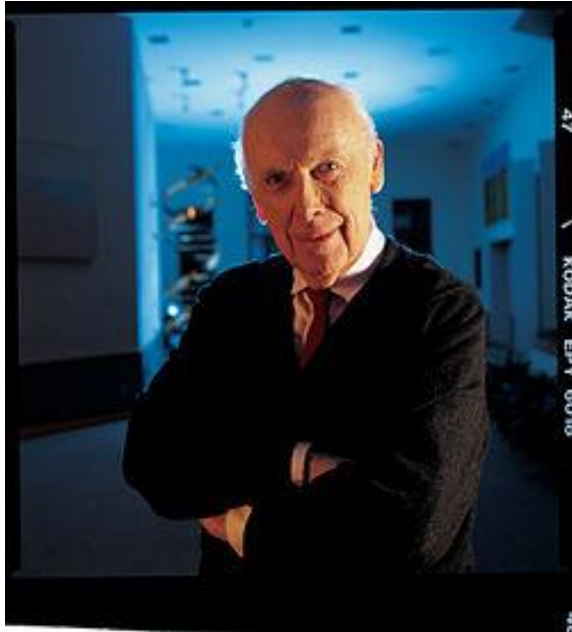
3' - 5' - фосфодиэфирной.

Концевые нуклеотиды различают по структуре: на 5' – конце находится фосфатная группа, а на 3' - конце цепи – свободная ОН-группа. Эти концы называют 3' и 5' – концами. Линейная последовательность дезоксирибонуклеотидов в полимерной

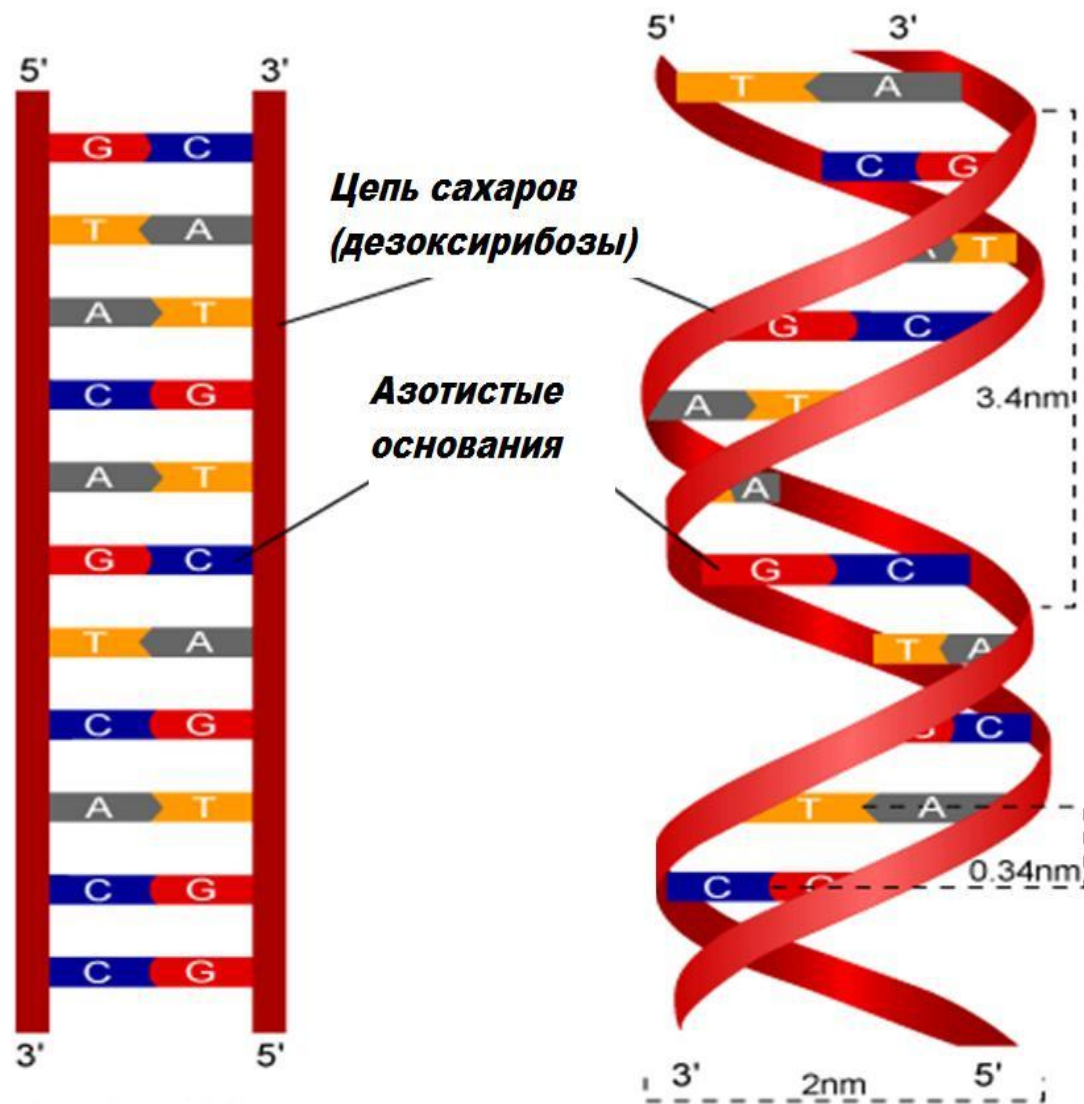
Вторичная структура ДНК



В 1953 г. **Дж. Уотсоном** и **Ф. Криком** была предложена **модель пространственной структуры ДНК.**



Согласно этой модели, молекула ДНК имеет форму спирали, образованную двумя полинуклеотидными цепями, закрученными относительно друг друга и вокруг общей оси. Двойная спираль **правозакрученная**, полинуклеотидные цепи в ней **антипараллельны**, т.е. если одна из них ориентирована в направлении $3' - 5'$, то вторая – в направлении $5' - 3'$. На один виток приходится примерно 10 пар нуклеотидов.



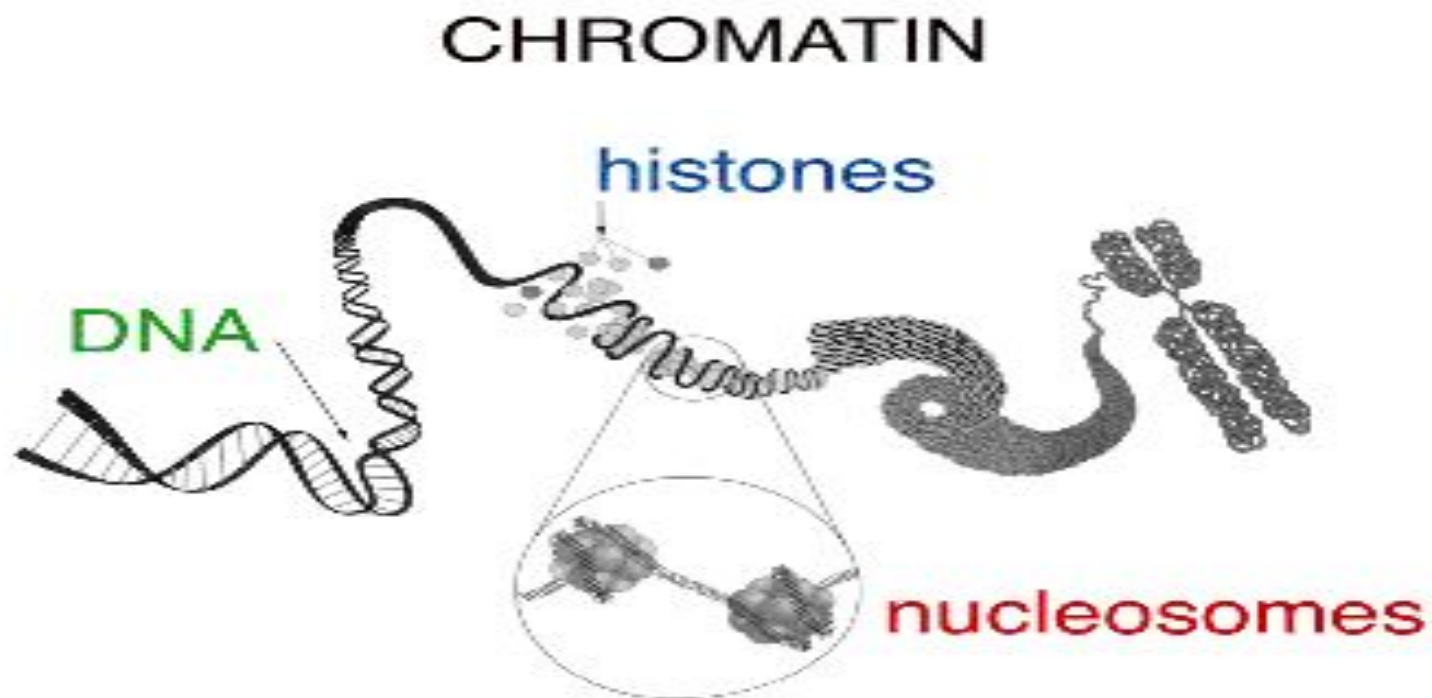
Последовательность нуклеотидов одной цепи полностью **комплементарна** последовательности нуклеотидов второй цепи. Поэтому, согласно правилу Чаргаффа (**Эрвин Чаргафф** в 1951 г. установил закономерности в соотношении пуриновых и пиримидиновых оснований в молекуле ДНК), **число пуриновых оснований (A+G) равно числу пиримидиновых оснований (T+C).**

Комплементарные основания уложены в стопку в середине спирали. Между основаниями двухцепочечной молекулы в стопке возникают гидрофобные взаимодействия, стабилизирующие двойную спираль.

Третьичная структура ДНК (суперспирализация ДНК).

Каждая молекула ДНК упакована в отдельную **хромосому**. В диплоидных клетках человека содержится 46 хромосом. Общая длина ДНК всех хромосом клетки – 1.74 метра , но она упакована в ядре, диаметр которого в миллионы раз меньше. Чтобы расположить ДНК в ядре клетки, должна быть сформирована очень компактная структура.

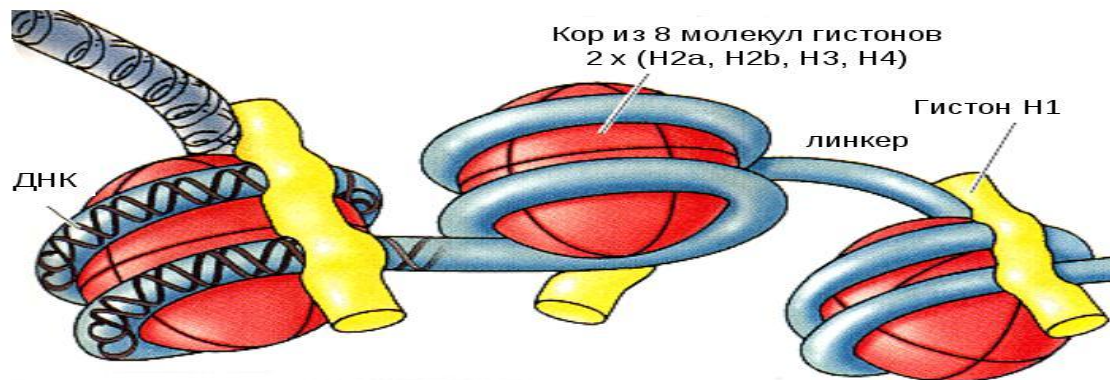
Компактизация и суперспирализация ДНК осуществляется с помощью белков. У эукариотов **белки ДНК** можно разделить на 2 группы – **гистоновые** и **негистоновые**. Комплекс белков с ядерной ДНК называется **хроматином**.



Гистоны – белки с молекулярной массой 11-21 кД, содержащие остатки **аргинина** и **лизина**. Благодаря положительному заряду гистоны образуют ионные связи с отрицательно заряженными фосфатными группами, расположенными на внешней стороне двойной спирали ДНК.

Комплекс гистоновых белков с ДНК служит основной структурной единицей хроматина, её называют **“нуклеосома”**. ДНК, связывающую нуклеосомные частицы, называют **линкерной ДНК**. В среднем линкерная ДНК составляет 60 пар нуклеотидных остатков. Молекулы гистона Н1 связываются с ДНК в межнуклеосомных участках и защищают эти участки от действия нуклеаз.

Строение нуклеосомы



Негистоновые белки хроматина.

В ядре эукариотической клетки присутствуют сотни разнообразных **ДНК-связывающих негистоновых белков**. Каждый белок комплементарен определённой последовательности нуклеотидов ДНК (сайт ДНК). При участии структурных, регуляторных белков и ферментов, участвующих в синтезе ДНК и РНК, нить нуклеосом преобразуется в высококонденсированный комплекс белков и ДНК. Образованная структура в 10 000 раз короче исходной молекулы

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА МИТОХОНДРИЙ

Митохондрии – важнейшие органеллы клеток, осуществляющие синтез АТФ за счёт окисления субстратов. Митохондрии имеют собственный геном, наследуемый по материнской линии, так как он происходит из цитоплазмы яйцеклетки. Геном митохондрий сперматозоидов не попадает в оплодотворённую яйцеклетку.

Митохондриальный геном человека представлен одной кольцевой молекулой ДНК и содержит 16 569 нуклеотидных пар. Он кодирует 13 белков, используемых на построение компонентов митохондрий.

В митохондриях отсутствуют ферменты, ответственные за репарацию, поэтому митохондриальный геном содержит много ошибок.

Структура РНК



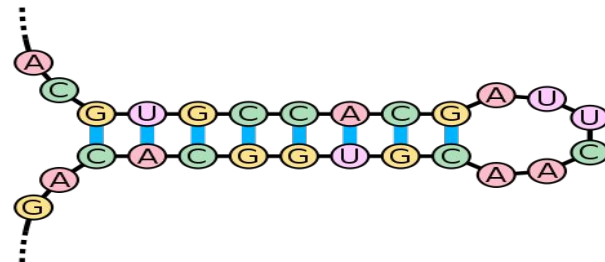
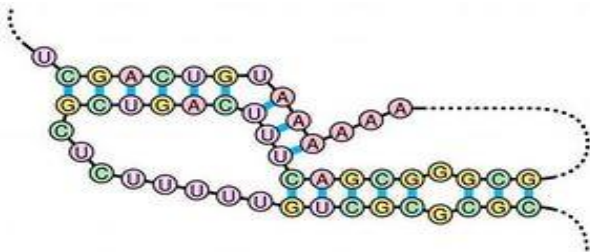
СТРУКТУРА РИБОНУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ.

Первичная структура РНК – порядок чередования рибонуклеозидмонофосфатов (НМФ) в полинуклеотидной цепи. В РНК, как и ДНК, нуклеотиды связаны между собой 3'-5' – фосфодиэфирными связями. Гидроксильная группа у 2'-углеродного атома рибозы делает молекулу РНК нестабильной. Так, в слабощелочной среде молекулы РНК гидролизуются даже при нормальной температуре, тогда как структура цепи ДНК не меняется.

Вторичная структура РНК.

Молекула РНК построена из одной полинуклеотидной цепи. Отдельные участки цепи РНК образуют спирализованные петли – “шпильки”, за счёт водородных связей между комплементарными азотистыми основаниями А-У и Г-С. Участки цепи РНК в таких спиральных структурах антипараллельны, но не всегда комплементарны, в них встречаются неспаренные нуклеотидные участки и одноцепочечные петли, которые не вписываются в двойную спираль. Наличие спирализованных участков характерно для всех типов РНК.

Элементы вторичной структуры РНК.



Третичная структура РНК.

Одноцепочечные РНК характеризуются компактной и упорядоченной третичной структурой, возникающей путём взаимодействия спирализованных элементов вторичной структуры.

Возможно образование дополнительных водородных связей между нуклеотидными остатками или связей между ОН-группами остатков рибозы и основаниями. Третичная структура стабилизирована ионами двухвалентных металлов, например ионами магния Mg^{2+} .

Основные типы РНК.

В цитоплазме клеток присутствуют 3 типа РНК : **транспортные РНК (тРНК), матричные РНК (мРНК) рибосомальные РНК (рРНК).**

Они различаются по первичной структуре, молекулярной массе, конформации, продолжительности жизни и по функциональной активности.

Матричная , или информационная РНК (мРНК). messenger RNA, mRNA

Одноцепочечная молекула, которая образуется на одной из цепей ДНК в процессе транскрипции. При синтезе мРНК копируется только одна цепь молекулы ДНК. Нуклеотиды, из которых синтезируются мРНК, присоединяются к ДНК в соответствии с правилами спаривания оснований при участии фермента **РНК-полимеразы.**

Содержится в ядре и цитоплазме, основная функция – **передача информации о структуре белка от ДНК к месту его синтеза в рибосомы.**

Составляет примерно 0.5-1.0% от содержания общего РНК клетки.

Рибосомная РНК (рРНК).

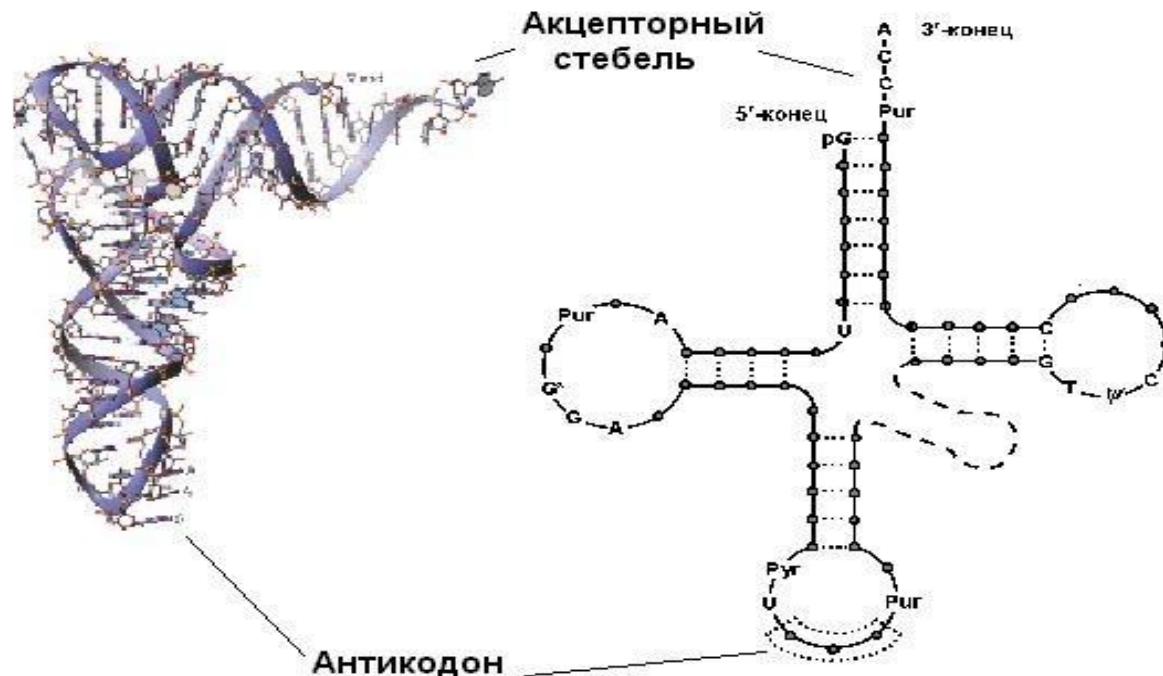
Последовательность оснований в рРНК сходна у всех организмов –от бактерий до высших растений и животных. Составляет существенную часть структуры рибосомы клетки. На долю рРНК приходится примерно 80% от всей РНК клетки. Самые крупные РНК. В их молекулу входит 3-5 тысяч нуклеотидов.

Транспортная РНК. (тРНК) transfer RNA **tRNA**

**Низкомолекулярная РНК,
выполняет перенос аминокислот
в рибосому для синтеза белка.
Содержится в цитоплазме клетки.
На долю тРНК приходится 10%
всей РНК клетки. Состоит из 70-90
нуклеотидов. Образует структуру
"клеверный лист".**

На вершине листа каждой тРНК имеется последовательность трёх нуклеотидов, комплементарных нуклеотидам кодона в иРНК, их называют **“антикодоном”**. Специальный фермент **кодаза** опознаёт тРНК и присоединяет к черешку листа ту аминокислоту, которая копируется триплетом, комплементарным кодону.

СТРУКТУРА тРНК



Физико-химические свойства нуклеиновых кислот.



Физико-химические свойства ДНК.

- В воде образуют вязкие растворы.**
- Почти не растворяются в органических растворителях.**
- При нагревании водных растворов до 60 градусов С или при действии щелочей двойная спираль распадается на две цепи, которые могут вновь объединиться, если вернуться к исходным условиям.**
- Молекула ДНК способна фрагментироваться под действием механических сил, например, при перемешивании раствора.**

- Не расщепляется при щелочных РН.

- При действии щелочной фосфатазы можно удалить фосфатные группы с концов фрагментов ДНК.

Дефосфорилированные концы ДНК не сшиваются ДНК-лигазой.

- ДНК чувствительна к повышенной радиации.

ДНК подвергается гидролизу.

Кислотный гидролиз – идёт ступенчато и может быть остановлен на любой стадии.

Продукты гидролиза : дезоксирибоза, фосфорная кислота, пурины (аденин , гуанин) и пиримидины (цитозин, тимин).

В **слабокислых условиях** – происходит гидролиз, в результате которого образуются мономерные, димерные и тримерные звенья, из которых была собрана цепь ДНК.

Кислотный гидролиз в жестких условиях (70% хлорная кислота и 100 градусов С) – происходит разрыв всех N-гликозидных связей и образование смеси пуриновых и пиримидиновых оснований, дезоксирибозы и фосфорной кислоты.

Ферментный гидролиз – фрагменты рвутся ферментом дезоксирибонуклеазой.

Продукты гидролиза – **НУКЛЕОТИДЫ**.

Физико-химические свойства РНК.

Напоминают свойства ДНК, однако наличие дополнительных групп ОН в рибозе и меньшее (в сравнении с ДНК) содержание стабилизированных спиральных участков делает молекулы РНК химически более уязвимыми. При действии кислот или щелочей основные фрагменты полимерной цепи $P(O)-O-CH_2$ легко гидролизуются, группировки А, У, Г и Ц отщепляются легче. Если нужно получить мономерные фрагменты, сохранив при этом химически связанные гетероциклы, используют деликатно действующие ферменты, называемые **рибонуклеазами**.

- Молекула РНК и рибонуклеотиды хорошо растворимы в слабом (0.15 м) растворе NaCl
- Практически не растворима в органических растворителях
- Т-РНК взаимодействует с аминокислотами и м-РНК
- м-РНК – взаимодействует с рибосомами
- Подвергается гидролизу.

Щелочной гидролиз ($\text{pH} > 7$). Продукты:
нуклеотиды и остатки фосфорной кислоты,
нуклеозиды (пентоза + азотистое основание),
пентоза + азотистое основание

Кислотный жесткий гидролиз (аналогично ДНК)

Кислотный мягкий гидролиз (1N HCl , 100°C)

продукты :пуриновые основания, пиримидиновые нуклеозидфосфаты.



Репликация

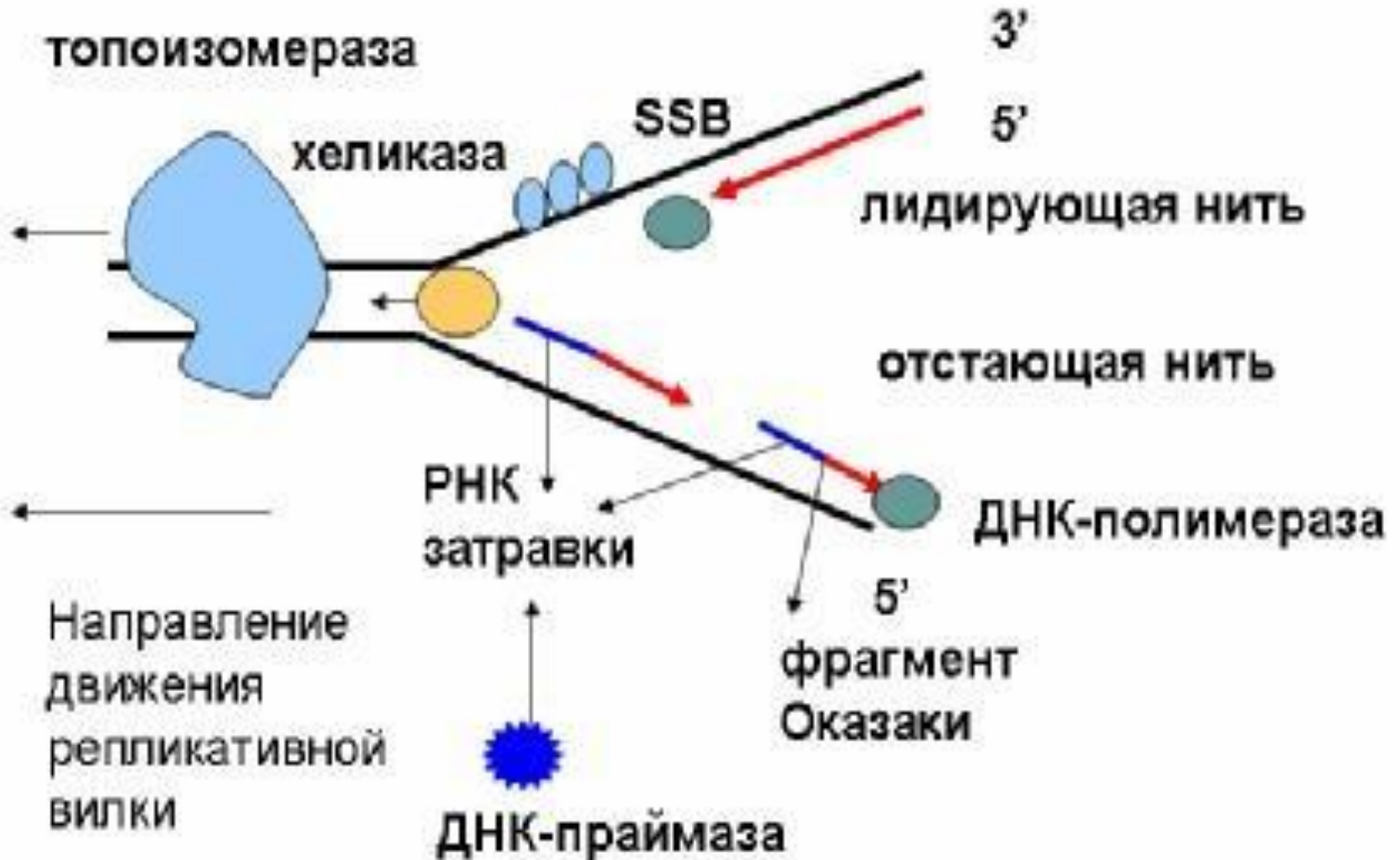


Репликация - процесс воспроизведения ДНК

Живые организмы в течение S-фазы клеточного цикла, которая предшествует делению клетки, удваивают содержание ДНК - каждая дочерняя клетка получает набор хромосом, идентичный родительской клетке.

Хромосома содержит одну непрерывную двухцепочечную молекулу ДНК. При репликации каждая цепь родительской двухцепочечной ДНК служит матрицей для синтеза новой комплементарной цепи. Вновь образованная спираль имеет одну исходную (родительскую) и одну вновь синтезированную (дочернюю) цепь. Такой механизм удвоения ДНК получил название **“полуконсервативная репликация”**.

“Репликативная вилка”.



Теломерная ДНК.

На каждом конце хромосомы находится **теломерная ДНК**. Она представлена многочисленными повторами олигонуклеотидов-GGGTTA-. Наличие теломер необходимо для успешного завершения репликации , т. е для **сохранения генетической информации**. В ходе каждого цикла репликации 5'-концы синтезированных нитей ДНК укорачиваются. Такие потери не представляют опасности для генетической информации хромосом, так как укорочение ДНК идёт за счёт теломер.

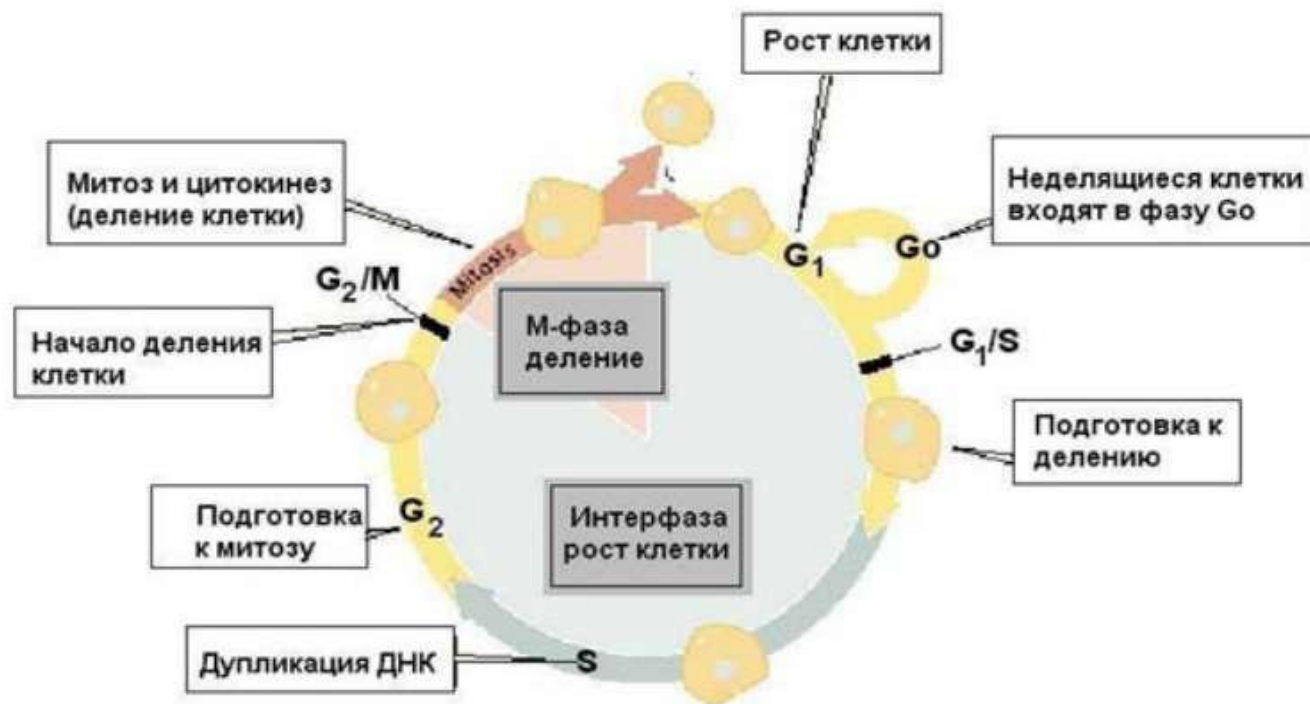
Укорочение теломер в большинстве клеток по мере их старения – **важный фактор, определяющий продолжительность жизни.**

В эмбриональных и других быстроделющихся клетках потери концов хромосом недопустимы, потому что укорочение ДНК будет проходить очень быстро. В клетках эукариотов - фермент **теломераза**, обеспечивает восстановление недореплицированных 5'-концов. Особенности этого фермента – присутствие в качестве простетической группы РНК. Фрагмент РНК в активном центре теломеразы служит матрицей при синтезе теломерных повторов хромосом.

В большинстве соматических клеток теломераза не активна, так как соматическая клетка имеет длину теломерной ДНК, достаточную для времени жизни клетки и её потомства. Однако, небольшую активность теломеразы обнаруживают в клетках с высокой скоростью обновления (лимфоциты, клетки эпителия, клетки эпидермиса кожи, стволовые клетки костного мозга и т. д.)

Клеточный цикл

Клеточный цикл — это период существования клетки от момента её образования путем деления материнской клетки до собственного деления или гибели.



Клеточный цикл

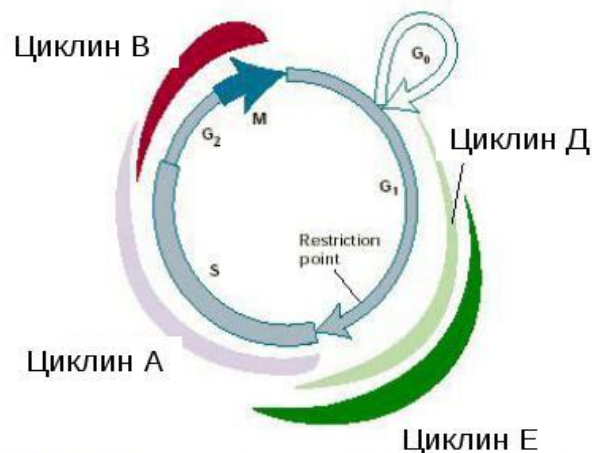


Фазы клеточного цикла. После фазы М, в ходе которой происходит деление ядра (митоз) и цитоплазмы, дочерние клетки вступают в интерфазу нового цикла. Интерфаза начинается с фазы G_1 , здесь происходят биосинтетические процессы. Фаза S - период синтеза ДНК: она заканчивается, когда содержание ДНК в ядре удвоится и хромосомы полностью реплицируются. В фазе G_2 происходит деление митохондрий и увеличение энергетических запасов клетки. Фаза G_2 продолжается до начала митоза, т.е. фазы М. В фазе М ядерная оболочка разрушается, формируются два новых ядра, цитоплазма делится с образованием двух дочерних клеток, имеющих по одному ядру.

Продолжительность клеточного цикла зависит от типа клеток. Все фазы клеточного цикла G_1, S, G_2, M различаются по длительности, особенно G_1 , длительность которой может быть равна нулю или быть столь продолжительной, что может казаться, будто клетки прекратили деление (клетки находятся в состоянии покоя (фаза G_0)). Так нейроны взрослого человека почти не делятся, клетки эпителия кишечника делятся на протяжении всей жизни, но даже подготовка к делению занимает 24 часа. Клетки лёгких, почек, печени во взрослом организме начинают делиться в ответ на повреждение органов.

Внешние сигналы (интерлейкины, гормоны) могут стимулировать или ингибировать прохождение клетки через цикл. Передача сигналов от рецептора к ядру индуцирует транскрипцию определённых генов. Управляют клеточным циклом белки – **циклины**. Синтез каждого вида циклина начинается при подготовке к соответствующей фазе клеточного цикла.

Циклины – белки, регулирующие деление клетки



Жизненный цикл клетки регулируется белками циклинами, концентрация которых меняется на разных фазах цикла. Толщина цветных секторов соответствует концентрации циклинов.

Репарация



Процесс , позволяющий живым организмам восстанавливать повреждения, возникающие в ДНК, называют **репарацией**

Все **механизмы репарации** основаны на том, что в ДНК есть две копии генетической информации. Если нуклеотидная последовательность одной из двух цепей оказывается повреждённой, информацию можно восстановить, так как вторая (комплементарная) цепь сохранена.

Процесс репарации происходит в несколько этапов:

На **1 этапе**- выявляется нарушение комплементарности цепей ДНК

На **2 этапе**- некомплементарный нуклеотид устраняется

На **3-4 -этапах** идёт восстановление целостности цепи по принципу комплементарности.

Редко происходят повреждения, затрагивающие обе цепи ДНК. Повреждения в половых клетках не репарируются, т.к. для репарации требуется диплоидный набор хромосом.

повреждения

```
graph TD; A(повреждения) --> B(спонтанные); A --> C(индуцированные); B --- D[1. Ошибки репликации<br/>2. Депуринизация<br/>3. дезаминирование]; C --- E[1. Образование димеров<br/>пиримидиновых<br/>оснований<br/>2. Повреждение оснований<br/>ДНК химическими мутагенами.]
```

спонтанные

1. Ошибки репликации
2. Депуринизация
3. дезаминирование

индуцированные

1. Образование димеров пиримидиновых оснований
2. Повреждение оснований ДНК химическими мутагенами.

Спонтанные повреждения- проходят без участия повреждающих факторов.

1. **Ошибки репликации** Точность репликации ДНК велика, но один раз на 10^5 - 10^6 нуклеотидных остатков происходят ошибки спаривания. Однако **ДНК-полимеразы δ , ϵ** способны вырезать нуклеотиды, если они не комплементарны нуклеотиду матричной цепи ДНК.
2. **Депуринизация** ДНК теряет за сутки около 5000 пуриновых остатков вследствие разрыва N-гликозидной связи между пурином и дезоксирибозой. В молекуле ДНК образуется участок, лишённый азотистых оснований(AP-site-апуриновый сайт). Этот тип повреждений устраняет **ДНК-инсертаза**.
3. **Дезаминирование** . Все продукты дезаминирования (урацил, гипоксантин, ксантин) нехарактерны для состава ДНК и поэтому легко распознаются ферментами репарации.

Индукцированные повреждения –возникают в ДНК в результате воздействия мутагенных факторов радиационной и химической природы.

1. **Образование димеров пиримидиновых оснований**- под действием УФО двойная связь между C_5 и C_6 атомами углерода (в тимине и цитозине) может разорваться. Образуются **пиримидиновые димеры**. Удаление димеров происходит под действием фермента **фотолиазы** . В фотолиазе есть участок, который сам поглощает фотоны. Свет активирует фотолиазу, которая распознаёт димеры в облученной ДНК.

2. **Повреждение оснований ДНК химическими мутагенами.**

Азотистые основания могут подвергаться разнообразным повреждениям – алкилированию, окислению, восстановлению и т.д.

Репарация необходима для сохранения нативной структуры генетического материала на протяжении всей жизни организма.

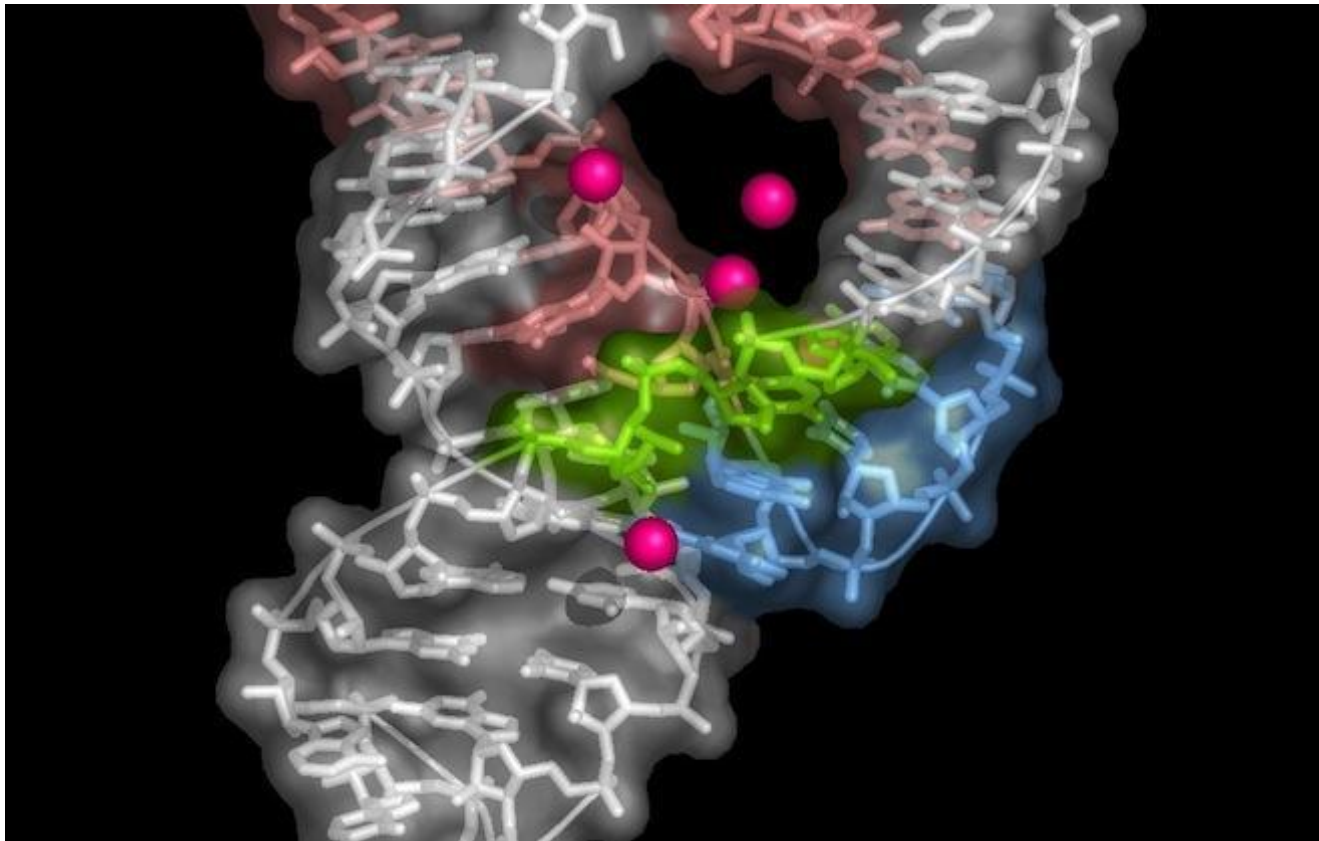
Снижение активности ферментов репарации приводит к накоплению повреждений (мутаций) в ДНК.

Причиной наследственных болезней человека может быть нарушение этапов репарации.

Пигментная ксеродерма – у больных в системе репарации снижена активность ферментов, ответственных за удаление неправильных оснований, “застройку бреши” и другие функции. Дефект проявляется в сверхчувствительности к УФ-свету, что приводит к появлению красных пятен на коже, переходящих в незаживающие коросты и нередко в рак кожи.

Трихотиодистрофия- связана с повышенной чувствительностью ДНК, вызванной снижением активности фермента, участвующего в удалении димеров тимина. Симптомы –ломкость волос вследствие нехватки серы в белках волос и их луковиц, умственная и физическая отсталость,

Прежде чем начнут синтезироваться белки, информацию об их строении необходимо получить от ДНК и доставить её к месту синтеза белков.



Синтез РНК (транскрипция)

Транскри́пция (от лат. *transcriptio* — переписывание) — **процесс синтеза РНК с использованием ДНК в качестве матрицы**, происходящий во всех живых клетках. Другими словами, это **перенос генетической информации с ДНК на РНК**.

Транскрипция катализируется ферментом **ДНК-зависимой РНК-полимеразой**. Процесс синтеза РНК протекает в направлении от 5'- к 3'- концу, то есть по матричной цепи ДНК РНК-полимераза движется в направлении 3'->5'.

Транскрипция состоит из стадий инициации, элонгации и терминации. Единицей транскрипции является **транскриптон**, фрагмент молекулы ДНК, состоящий из промотора, транскрибируемой части и терминатора.

Различия между репликацией и транскрипцией.

Репликация	Транскрипция
Биосинтез ДНК	Биосинтез РНК
Тимин, дезоксирибоза	Урацил, рибоза
Копируется вся хромосома	Переписывание информации с отдельных фрагментов хромосомы (транскриптонов)
Образуется новая дочерняя копия ДНК	Образуются т-РНК, м-РНК, р-РНК
Двухцепочечные молекула дочерних ДНК, идентичных материнской	Одноцепочечные молекулы РНК

Синтез белка



Синтез белка (трансляция) - происходит на рибосомах.

Основные компоненты белок-синтезирующей системы:

1. **Аминокислоты** (20 шт).
2. **Матричная РНК (мРНК)** – содержит информацию о структуре синтезируемого белка и используется в качестве матрицы.
3. **Транспортная РНК (тРНК)**. Обеспечивает включение аминокислот в белок. У человека – 50 видов тРНК. В процессе синтеза белка на рибосоме связывание антикодонов тРНК с кодонами мРНК происходит по принципу комплементарности.
4. **Ферменты** (аминоацил –тРНК-синтазы, аминоацил –тРНК =лигазы).

5. **Рибосомы.**

6. **Белковые факторы.**

7. **Источники энергии** - АТФ-
аденозинтрифосфорная кислота, и ГТФ –
гуанозинтрифосфорная кислота

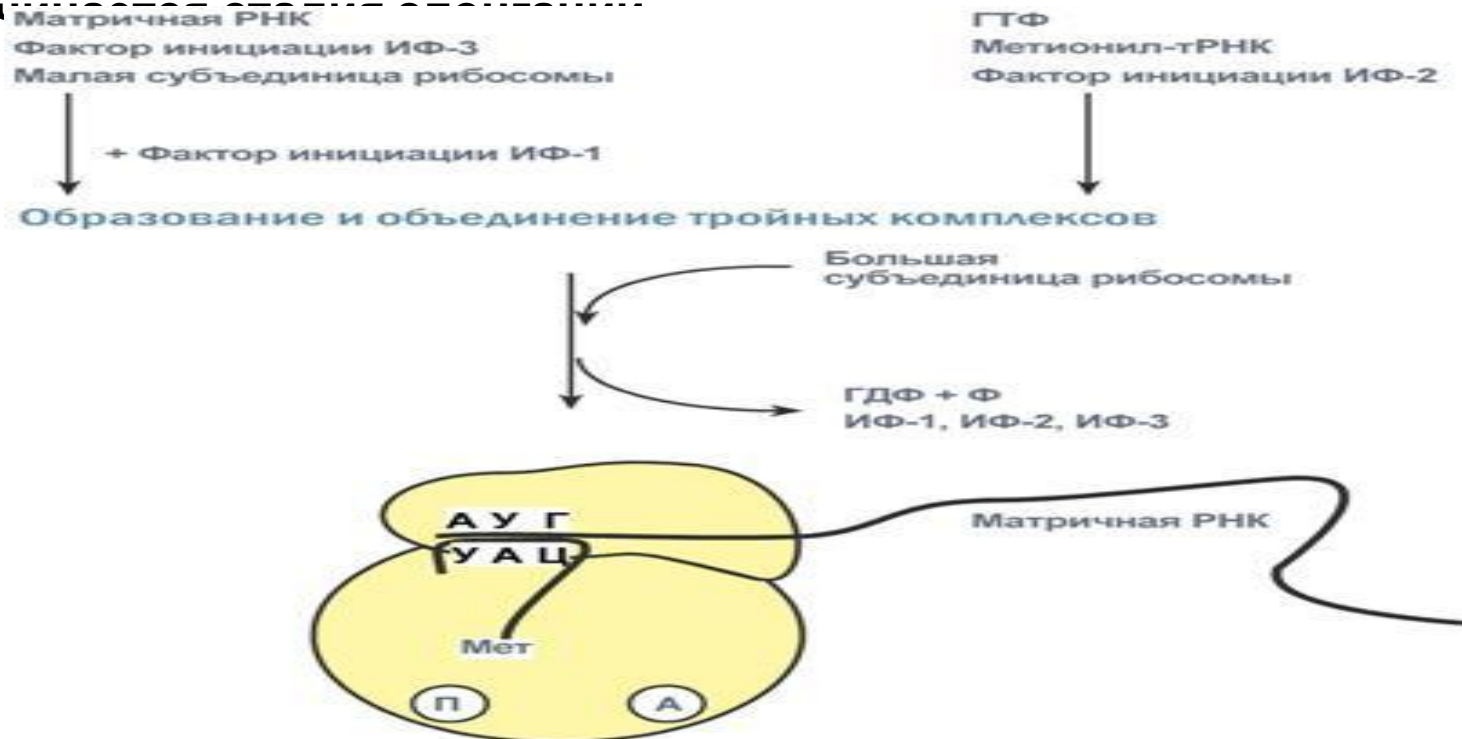


Главные этапы процесса трансляции

1. Присоединение мРНК к рибосоме.
2. Активация аминокислоты и её присоединение к тРНК.
3. **Инициация** - начало синтеза ППЦ (полипептидной цепи).
4. **Элонгация** – удлинение цепи.
5. **Терминация** – окончание синтеза цепи.
6. Дальнейшее использование мРНК или её разрушение.

Инициация-начало синтеза белка

Для инициации необходимы – **мРНК, ГТФ** (гуанозинтрифосфорная кислота), малая и большая субъединицы **рибосомы, белковые факторы инициации** (ИФ-1, ИФ-2, ИФ-3), **метионин** и **тРНК для метионина**. В начале формируются два тройных комплекса. Тройные комплексы объединяются с большой единицей рибосомы, **источник энергии - ГТФ**. После сборки комплекса иницирующая метионил-тРНК связывается с первым кодоном АУГ матричной РНК и располагается в пептидильном центре (центр - П) большой субъединицы. А- центр (аминоацильный центр) остаётся свободным, он будет задействован на стадии элонгации. После присоединения большой субъединицы на



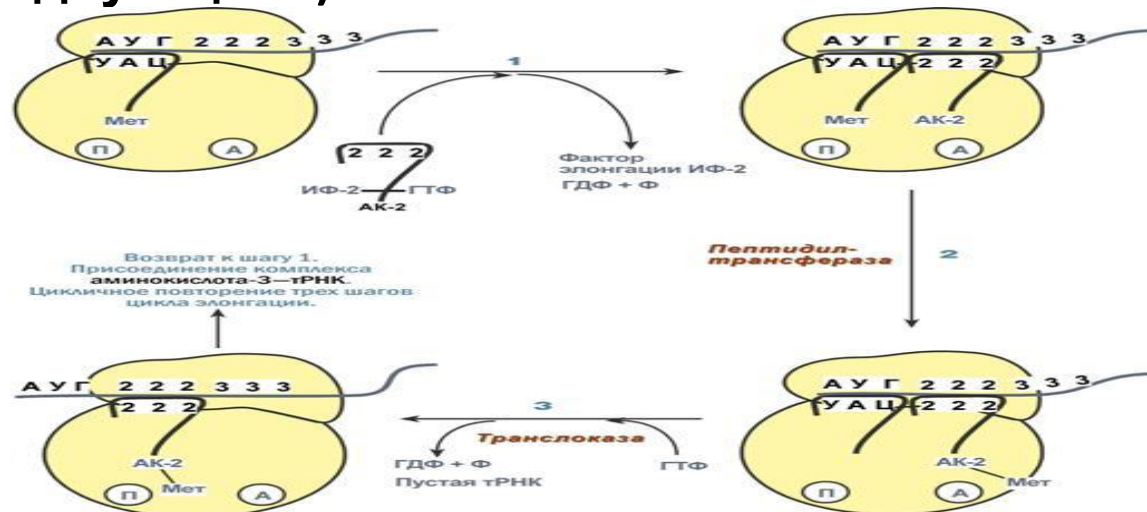
Элонгация- удлинение цепи.

Для этой стадии необходимы все 20 аминокислот, тРНК, белковые факторы элонгации, ГТФ. Удлинение цепи происходит со скоростью примерно 20 аминокислот в секунду. Элонгация – процесс циклический. Каждый цикл включает в себя **три шага:**

1. Присоединение аминоксил- тРНК к кодону мРНК, аминокислота при этом встраивается в А-центр рибосомы. Источник энергии – ГТФ .

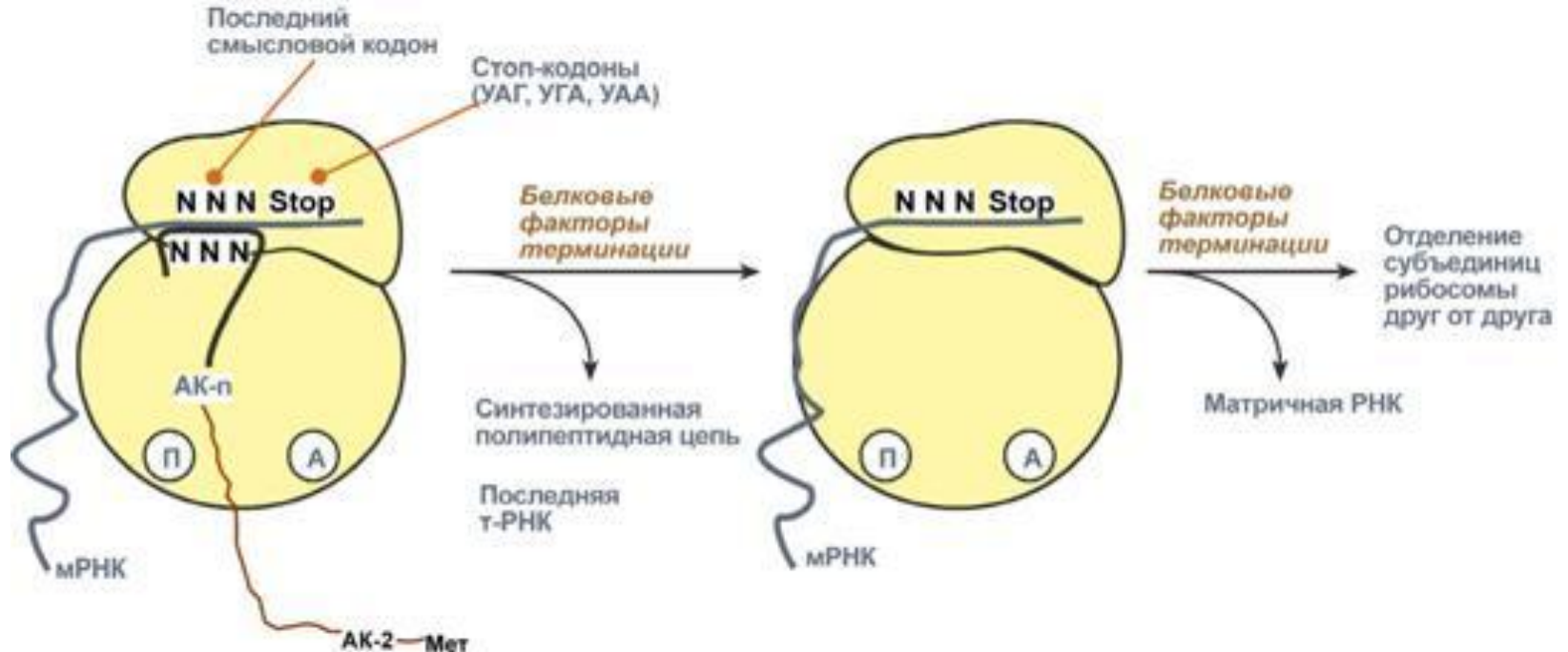
2. Фермент **пептидилтрансфераза** –переносит метионин с метионил-тРНК (в П-центре) на вторую аминоксил –тРНК (в А-центре) с образованием пептидной связи между метионином и второй аминокислотой. Источники энергии –макроэргическая связь между аминокислотой и т-РНК.

3. Фермент **транслоказа** перемещает мРНК относительно рибосомы таким образом, что первый кодон оказывается вне рибосомы. Источник энергии ГТФ. Иницирующая первая т-РНК выходит из рибосомы. Цикл элонгации повторяется столько раз, сколько аминокислот необходимо включить ППЦ (полипептидную цепь).



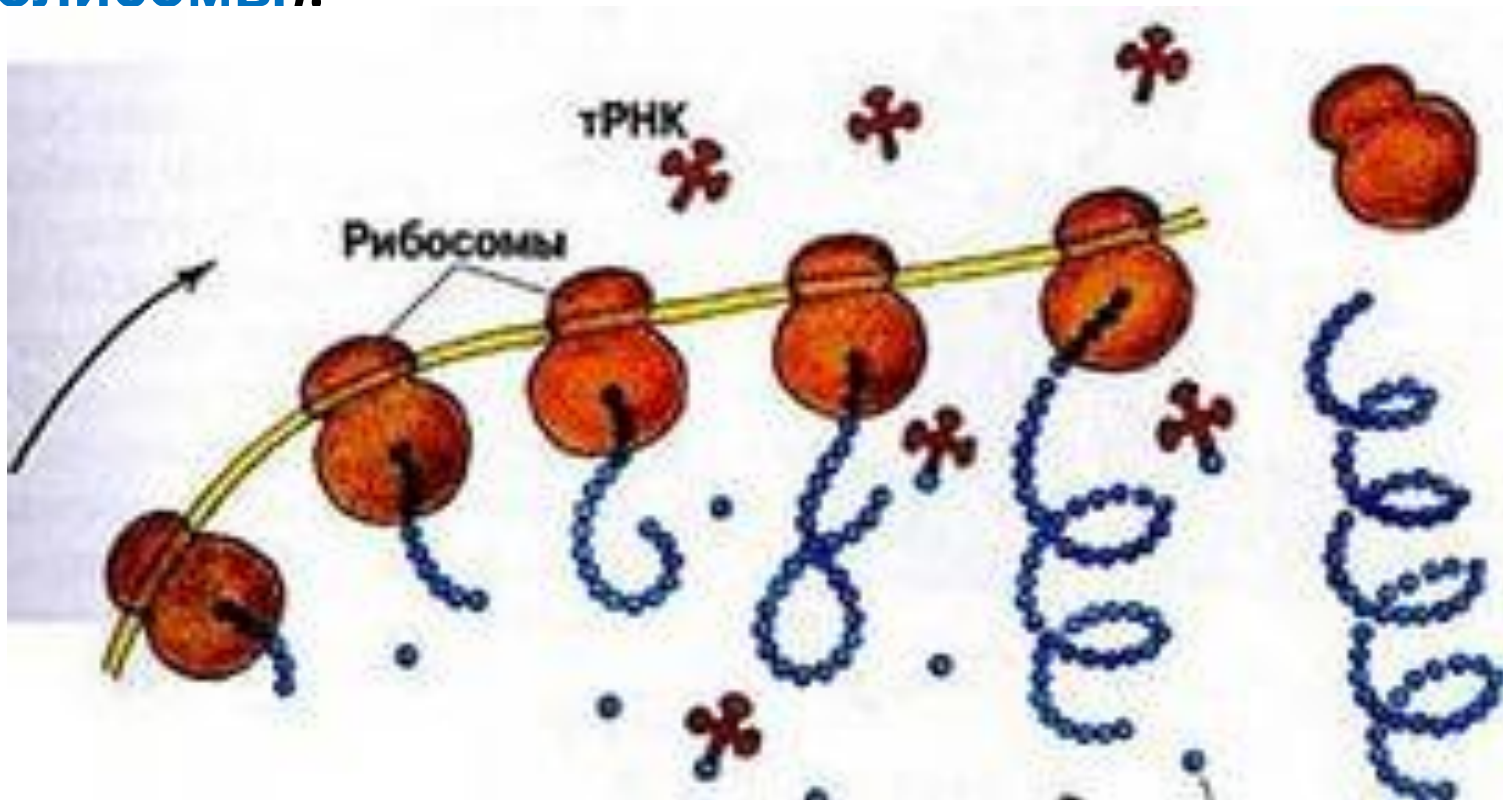
Терминация –окончание синтеза.

Синтез белка продолжается до тех пор, пока рибосома не достигнет на **мРНК** особых терминирующих **стоп-кодонов УАА, УАГ**.
Источник энергии для завершения трансляции - **ГТФ** (гуанозинтрифосфорная кислота).

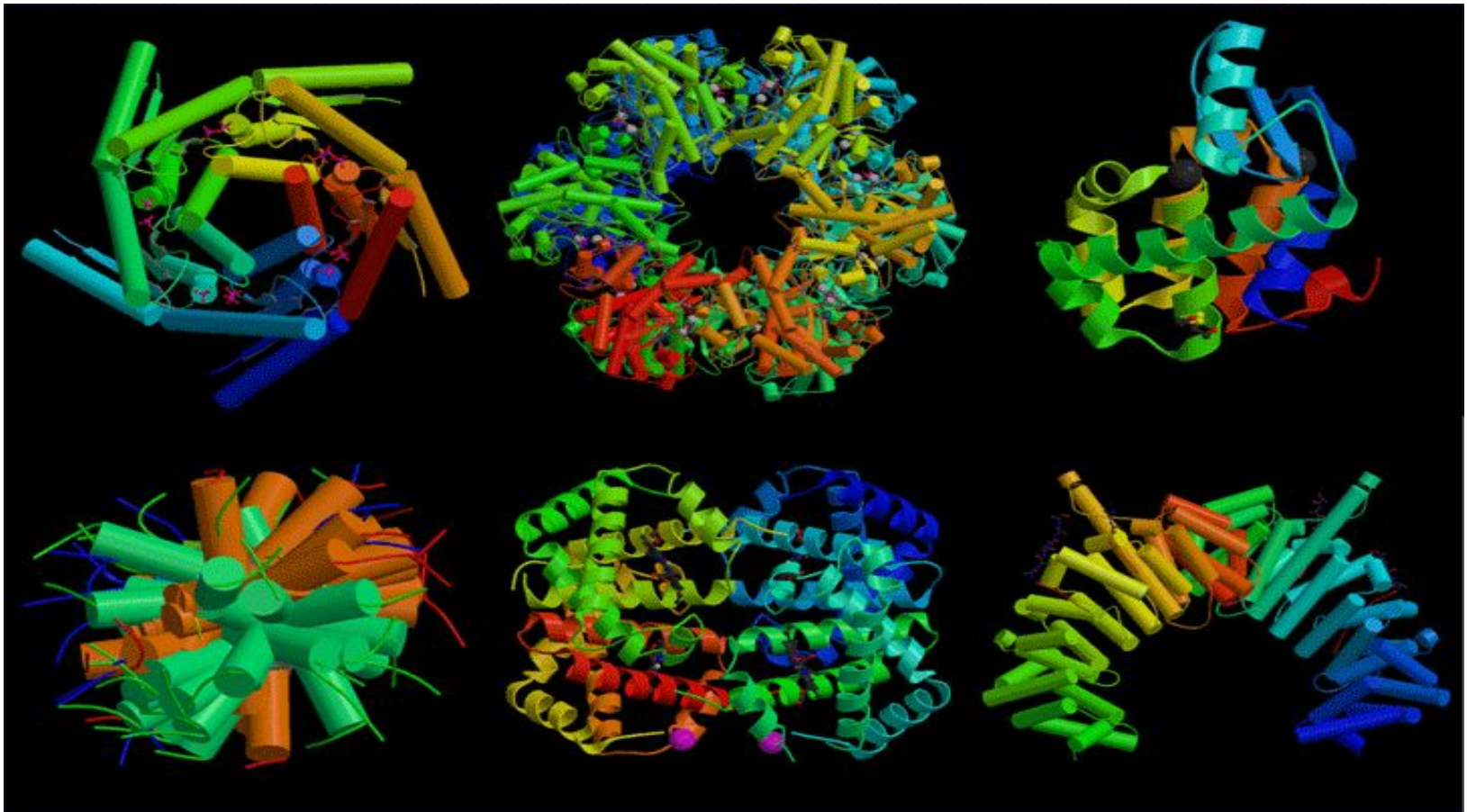


Полирибосомы .

Поскольку продолжительность жизни матричной РНК не велика, перед клеткой стоит задача использовать её максимально эффективно. Для этого в клетке может располагаться несколько рибосом, встающих друг за другом. Такие образования называются – полирибосомы (полисомы).



После того как пептидная цепь отходит от рибосомы, она должна принять свою биологическую форму -это называется **посттрансляционная модификация белков**



примеры посттрансляционной модификация белков:

Присоединение химической группировки к аминокислотным остаткам белковой цепи:

фосфорной кислоты – к серину, треонину, тирозину используется при регуляции активности ферментов или для связывания ионов кальция.

карбоксильной группы – карбоксилирование глутамата, что позволяет связывать ионы кальция при свёртывании крови.

метильной группы – для регуляции активности генома.

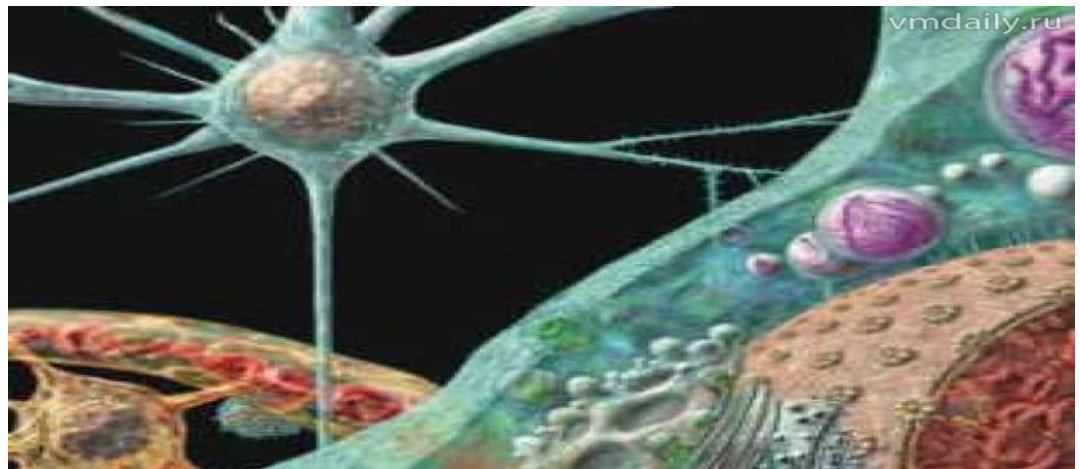
гидроксильной группы – для созревания молекул коллагена при участии витамина С.

йода – в тиреоглобулине, для образования предшественников гормонов щитовидной железы.

включение простетической группы: углеводных остатков, гемма, витаминных коферментов и т.д.

Объединение протомеров в единый олигомерный белок:

Фолдинг белков - процесс укладки ППЦ в правильную трёхмерную пространственную структуру с помощью белков – **шаперонов**.
Шапероны — класс белков, главная функция которых состоит в восстановлении правильной нативной третичной или четвертичной структуры белков, а также образование белковых комплексов. Шапероны есть во всех живых организмах, механизм их действия- нековалентное присоединение к белкам и их «расплетение» с использованием энергии АТФ .



Шапероны, защищающие белки от денатурирующих воздействий, относятся к **белкам теплового шока (БТШ)**.

При действии стрессовых факторов в клетке усиливается синтез БТШ - они препятствуют денатурации и восстанавливают нативную конформацию белков.

Регуляция скорости синтеза белка на уровне трансляции:

Скорость синтеза сложных белков зависит от количества простетических групп (синтез глобина зависит от количества гема).

Токсины бактерий, вирусов, ядовитых грибов, дифтерийный энтеротоксин - подавляют образование белков и

нуклеиновых кислот, инактивируют факторы

Антибиотики и антибактериальные препараты специфично ингибируют разные стадии белкового синтеза.

Актиномицины – действуют на уровне транскрипции, связываясь с кодирующей цепь ДНК.

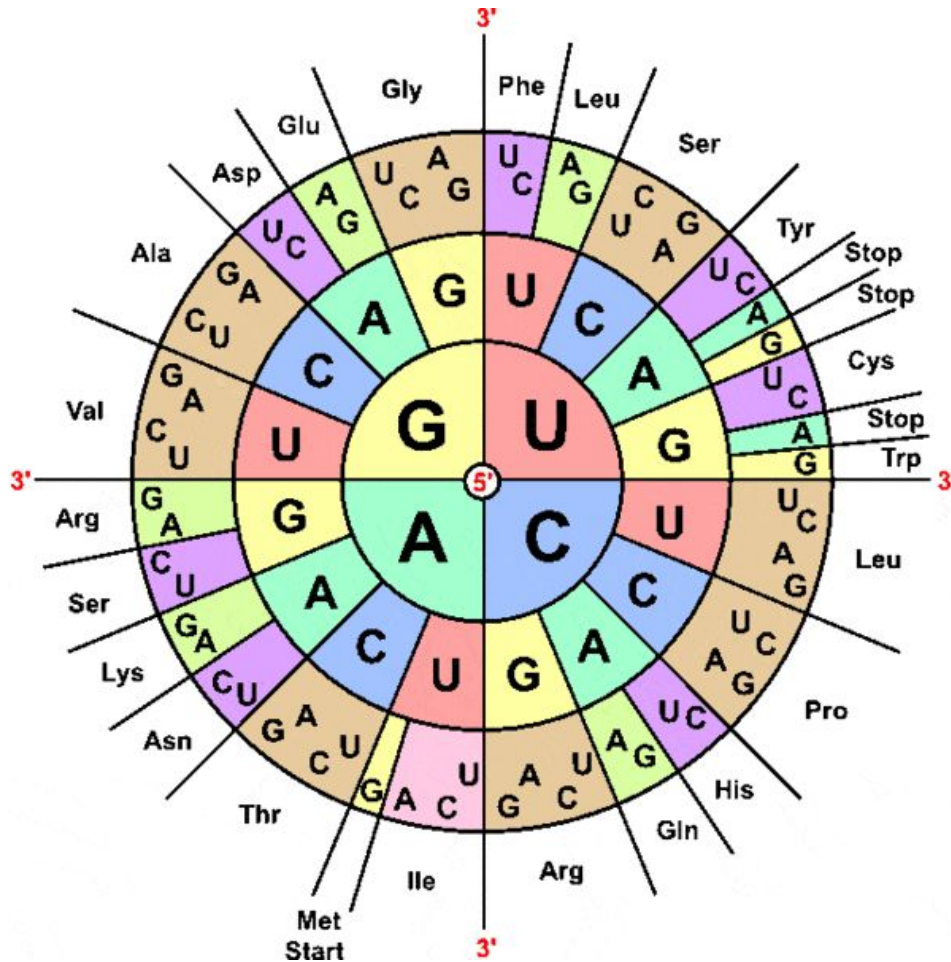
Тетрациклины – нарушают связывание аминокислот и аминоацил –т-РНК в А-центре рибосомы

Эритромицин- ингибирует активность транслоказ в рибосомах.

Пурамицин- ингибирует терминацию белкового синтеза.

Стрептомицин – ингибирует инициацию синтеза белка.

Генетический код



Для каждого вида живого организма характерен свой особый набор белков. Определенные сочетания нуклеотидов и последовательность их расположения в молекуле ДНК, являются кодом, несущим информацию о структуре белка

Наследственная информация – это информация о первичной структуре молекулы белка, все свойства живых организмов обусловлены их белками.

Основное положение молекулярной биологии утверждает, что перенос генетической информации может происходить от ДНК через и-РНК к белку, то есть по схеме:

ДНК → и-РНК → белок.

Генетический (биологический) код – это способ кодирования информации о строении белков в виде нуклеотидной последовательности. Он предназначен для перевода четырёхзначного языка нуклеотидов (А,Г,У,Ц) в двадцатизначный язык аминокислот.

		Second Letter					
		T	C	A	G		
First Letter	T	TTT } Phe TTC } TTA } Leu TTG }	TCT } Ser TCC } TCA } TCG }	TAT } Tyr TAC } TAA } Stop TAG } Stop	TGT } Cys TGC } TGA } Stop TGG } Trp	T	C
	C	CTT } Leu CTC } CTA } CTG }	CCT } Pro CCC } CCA } CCG }	CAT } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGT } Arg CGC } CGA } CGG }	T	C
	A	ATT } Ile ATC } ATA } Met ATG }	ACT } Thr ACC } ACA } ACG }	AAT } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGT } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	T	C
	G	GTT } Val GTC } GTA } GTG }	GCT } Ala GCC } GCA } GCG }	GAT } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGT } Gly GGC } GGA } GGG }	T	C
		Third Letter					

Свойства генетического кода.

1. **Триплетность** – три нуклеотида формируют кодон, кодирующий аминокислоту. Всего насчитывают 61 смысловой кодон.
2. **Специфичность** – каждому кодону соответствует только одна аминокислота.
3. **Вырожденность** – одной аминокислоте может соответствовать несколько кодонов.
4. **Универсальность** – код одинаков для всех видов организмов на Земле.
5. **Неперекрываемость** – триплеты не накладываются друг на друга, располагаясь рядом.
6. **Отсутствие знаков препинания** – между триплетами нет дополнительных нуклеотидов.
7. **Однонаправленность** – при синтезе белка считывание кодонов идёт последовательно, без пропусков и возвратов.

Ингибиторы матричного биосинтеза.



Существует большая группа веществ, ингибирующих синтез ДНК, РНК или белков. Некоторые из них нашли применение в медицине для лечения инфекционных и онкологических заболеваний, а другие для человека оказались токсинами. Действие ингибиторов основано на модификации матриц ДНК, РНК, рибосом или на инактивации ферментов. Центральное место здесь принадлежит антибиотикам

К ингибиторам матричного биосинтеза относят:

- 1. Ингибиторы репликации** – противоопухолевые препараты.
- 2. Ингибиторы транскрипции и трансляции** – антибактериальные препараты.
- 3. Вирусы и токсины-ингибиторы матричных синтезов** в эукариотических клетках.
- 4. Интерфероны.**

1. **Ингибиторы репликации** – противоопухолевые препараты.

Препараты **дауномицин** и **доксорубин**, взаимодействуют с ДНК таким образом, что циклическая структура антибиотика встраивается (“интеркалирует”) между парами G-C.

Антибиотик **актиномицин D** – блокирует синтез ДНК и РНК у про- и эукариотов. Токсичен, поэтому используется только в научных целях.

В настоящее время создаются препараты, которые обеспечивают доставку ингибитора только в опухолевые клетки. Это достигается связыванием цитостатических антибиотиков с белками, рецепторы к которым находятся на опухолевых клетках.

2. Ингибиторы транскрипции и трансляции – антибактериальные препараты.

Антибиотик **рифампицин** ингибирует бактериальную ДНК-зависимую РНК-полимеразу, применяется для лечения туберкулёза.

Стрептомицин - ингибирует инициацию синтеза белка у прокариотов и вызывает ошибки в прочтении информации матричной РНК.

Тетрациклин – нарушает элонгацию полипептидной цепи.

Левомецетин – ингибирует синтез белка за счёт присоединения к 50S субъединице рибосомы, подавляя пептидилтрансферазную активность.

Пенициллины и цефалоспорины – ингибируют синтез клеточных стенок у грамм –отрицательных бактерий.

Препараты антибактериальной группы отличаются высокой избирательностью и малотоксичны для человека. Это объясняется различиями в структуре РНК – полимераз, РНК и белков рибосом у прокариотов и эукариотов.

3. **Вирусы и токсины** – ингибиторы матричных синтезов в эукариотических клетках.

Вирусы.

Генетический материал вирусов представлен молекулой ДНК или РНК, он содержит информацию о специфических белках и ферментах, необходимых для репродукции вируса (вирус оспы, полиомиелита, гриппа, гепатита). В инфицированных клетках хозяина прекращается синтез нуклеиновых кислот и белков. Репродукция вирусных частиц идёт вплоть до гибели заражённой клетки.



Токсины.

Причиной гибели людей при отравлении бледной поганкой *Amanita phalloides* является токсин – **альфа-аманитин**, вызывая необратимую дисфункцию печени и почек. Токсин ингибирует эукариотические РНК-полимеразы. Наибольшую чувствительность к яду обнаруживает РНК-полимераза, катализирующая синтез мРНК.

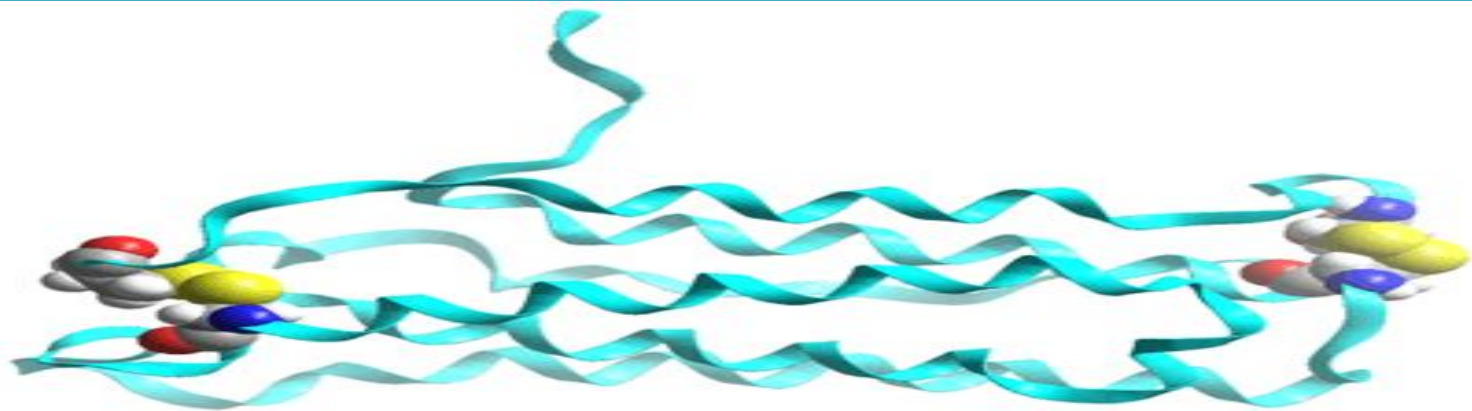
Белок рицин, выделенный из клещевины обыкновенной ингибирует синтез белка у эукариотов. Рицин – белковый компонент касторового масла. Длительное применение - может вызвать нарушение работы кишечника и гибель больного



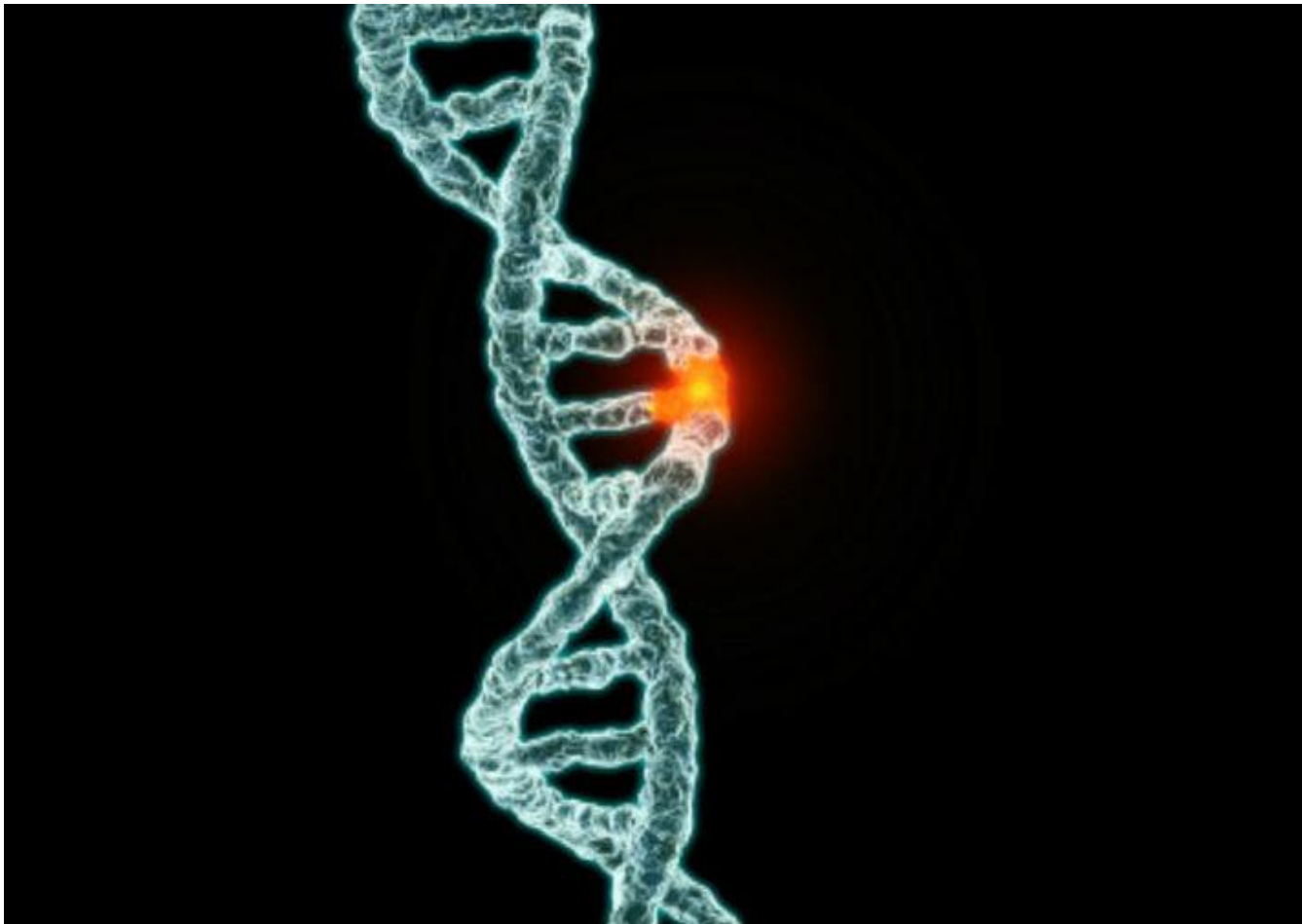
4. Интерфероны.

Интерфероны –небольшие белки (гликопротеины), содержат 160 аминокислотных остатков.

Секретируются клетками позвоночных в ответ на заражение вирусами, препятствуют распространению вирусной инфекции. Одна молекула интерферона способна защитить одну клетку. Интерфероны стимулируют синтез ферментов, способных разрушать мРНК вирусов



Механизмы генетической изменчивости.



Биологическая эволюция и естественный отбор возможны только при наличии генетической изменчивости. Геном постоянно претерпевает изменения.

Изменения в последовательности пуриновых или пиримидиновых оснований в гене, не исправленные ферментами репарации, получили название “мутации”.

Мутации в половых клетках, передаются по наследству и могут проявляться в фенотипе потомства как наследственная болезнь.

Геном эукариотов подвергается изменениям и при заражении ДНК- или РНК-содержащими вирусами, которые внедряют свой генетический материал в ДНК клеток хозяина.

Изменения в геноме могут быть разнообразны и затрагивать различные по протяженности участки ДНК от хромосом и генов до отдельных нуклеотидов.

Тип мутаций	Характер изменений	Последствия
геномные	Изменение числа хромосом	Болезнь Дауна (появление лишней хромосомы у 21 пары)
хромосомные	Общее число хромосом не меняется. Наблюдаются перестройки хромосом, видимые при микроскопическом исследовании	Мышечная дистрофия Дюшена.
генные	Изменения затрагивают один кодон или небольшой отрезок гена и не обнаруживаются	Серповидно-клеточная анемия, вызванная заменой одного нуклеотида в бета-цепи глобина.

Полиморфизм белков. Разнообразие антител.



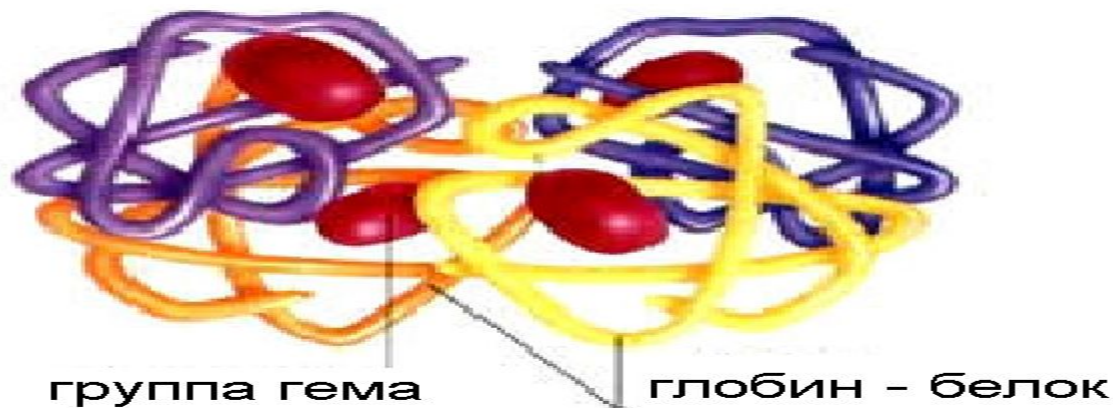
В процессе развития многоклеточного организма, особенно на стадиях дифференцировки клеток, белковый состав значительно изменяется. Если изменения носят не летальный характер, а приспособительный, то новый белок может передаваться по наследству и остаться в популяции. В результате возникают новые белки с похожими функциями. Такое явление называется **полиморфизм белков**

Полиморфизм белков —

это существование одного и того же белка в нескольких молекулярных формах, отличающихся по первичной структуре, физико-химическим свойствам и проявлениям биологической активности.

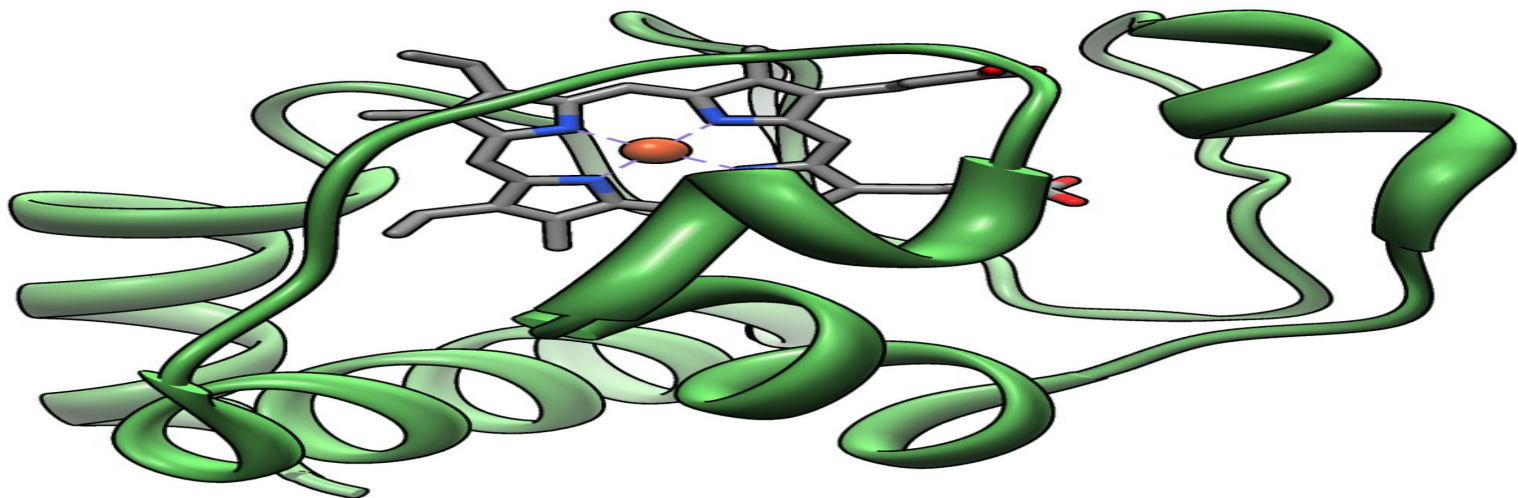
Причинами полиморфизма белков являются рекомбинации и мутации генов.

Изобелки - семейства белков, выполняющих близкую функцию, но различны по строению .
Пример таких белков - **изоформы гемоглобина человека**: HbA , HbA_2 , HbF . Гемоглобины выполняют одинаковую функцию - присоединяют O_2 и переносят его в ткани. Кроме нормального гемоглобина HbA , известно более 50 патологических форм , которые вызывают гемоглобинопатии (серповидно-клеточная анемия S, талассемия C).



Белки, выполняющие одинаковые функции в организмах разных биологических видов, носят название **"гомологичные белки"**.

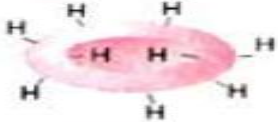
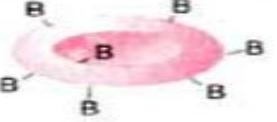
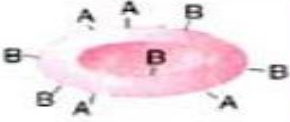
Например, **цитохром С** – белок митохондрий, участвует в биологическом окислении, присутствует у многих видов ЖИВОТНЫХ



Группы крови

Важный пример полиморфизма белков, связанный с проблемой переливания крови, - существование в популяции людей 3 вариантов гена фермента гликозилтрансферазы (А, В и 0). Этот фермент определяет антигенные свойства эритроцитов.

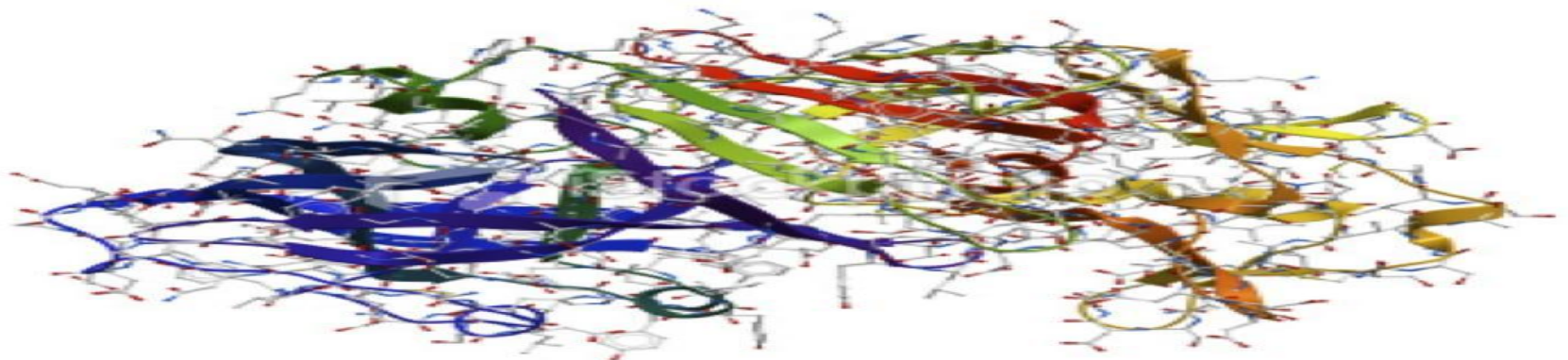
Группы крови: система АВО

Группа крови	0 (первая)	А (вторая)	В (третья)	АВ (четвертая)
Генотип	00	АА и А0	ВВ и В0	АВ
Антиген				
Антитела в крови	анти-А анти-В	анти-В	анти-А	—
Распространенность в Центральной Европе	40%	40%	16%	4%

Многие ферменты имеют несколько изоформ и носят название изоферментов.

Изоферменты— это различные по аминокислотному составу изоформы одного и того же фермента, существующие в одном организме, но, в разных его клетках, тканях или органах.

Выполняют одну и ту же каталитическую функцию.



Фермент печени **Гексокиназа**, имеет четыре изотипа.

Панкреатическая амилаза отличается по строению и свойствам от **амилазы слюнных желёз**, кишечника и других органов. Это послужило основой для диагностики острого панкреатита путём определения не общей амилазы плазмы крови, а именно **панкреатической изоамилазы**.

Креатинфосфокиназа — изотип этого фермента, экспрессируемый в сердце, отличается по составу от креатинфосфокиназы скелетных мышц. Это позволяет дифференцировать повреждения миокарда (например, при инфаркте миокарда).

Общий план строения имеют
иммуноглобулины, или антитела, -
специфические белки, вырабатываемые В-
лимфоцитами

в ответ на попадание в организм
чужеродных структур, называемых
антигенами. В организме человека
вырабатывается около 10^7 клонов
В-лимфоцитов, каждый из которых
специализирован на выработке одного из

10^7 видов иммуноглобулинов

IgG



IgE



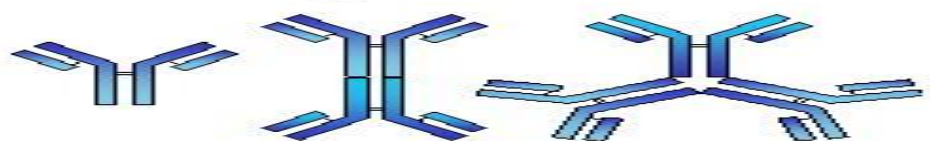
IgD



IgM



IgA



**Полиморфизм различных
белков настолько велик,
что можно говорить о
биохимической
индивидуальности и
уникальности каждого
человека !**

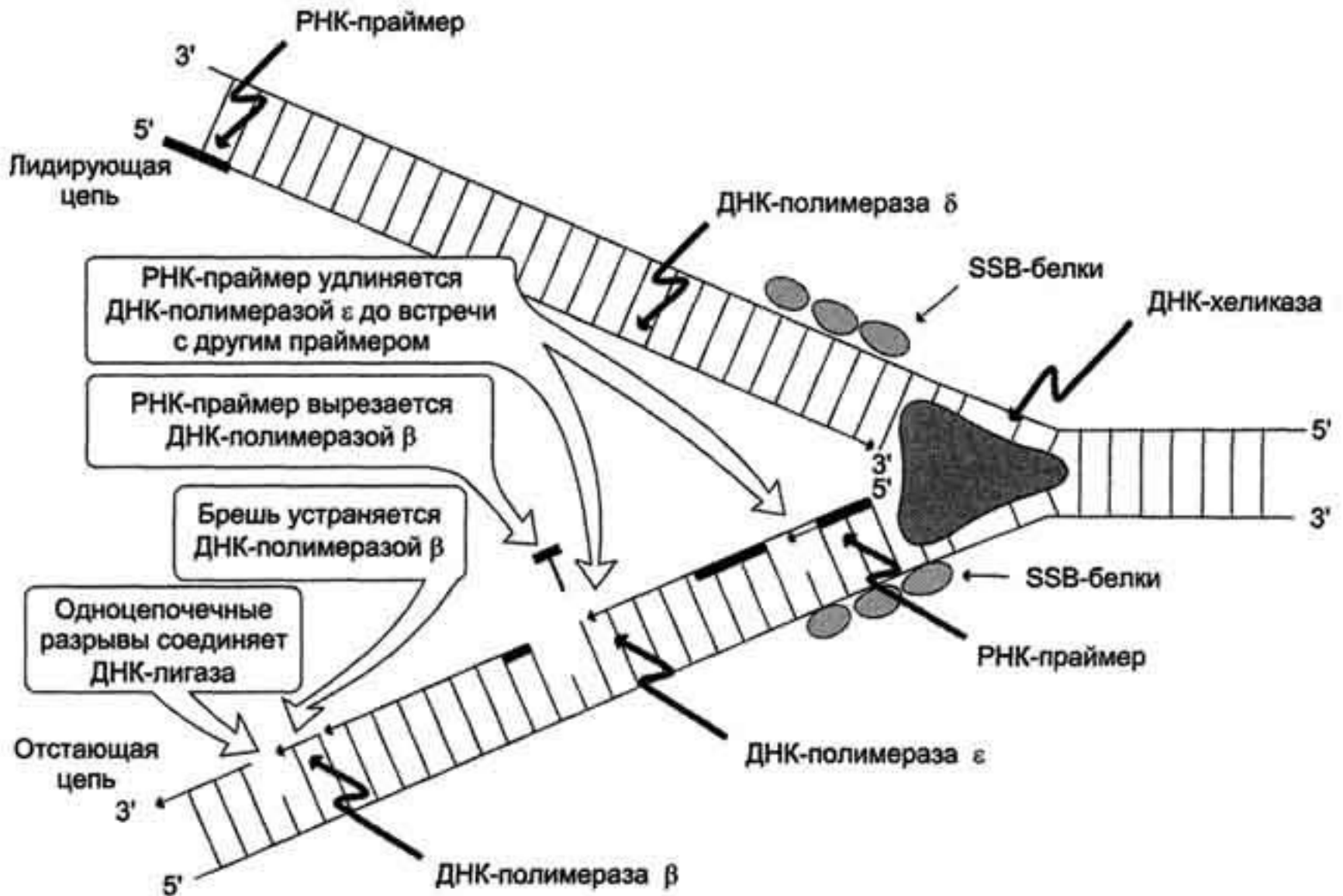
Использование ДНК-технологий в медицине.

Полимеразная цепная реакция.

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), предложен в 1983 г. Карри Муллисом (Нобелевская премия, 1993 г.).

-
- Полимеразная цепная реакция [ПЦР (PCR)] позволяет многократно **воспроизводить (амплифицировать)** выбранный фрагмент ДНК. Для этого нужно иметь в своем распоряжении два олигонуклеотида (**праймера**), каждый из которых будет гибридизоваться с одной из цепей на противоположных концах подлежащего амплификации фрагмента ДНК, достаточное количество **дезоксирибонуклеозидтрифосфатов** и специальную термостабильную **ДНК-полимеразу**. Праймер синтезируют, а полимеразу получают из термостабильных бактерий.
- На первой стадии двунитевую ДНК нагревают до 90°C для разделения цепей и получения одонитевой ДНК (а). Затем смесь охлаждают, чтобы произошла гибридизация с праймерами (б). Комплементарные цепи ДНК синтезируются в обоих направлениях, начиная от праймеров (в). Этот циклический процесс (цикл 1) повторяют с той же самой реакционной смесью (цикл 2, 3 и т.д.) 20-30-кратно. Двунитевые фрагменты ДНК, равные по длине расстоянию между двумя праймерами, начинают накапливаться после третьего цикла. Их количество удваивается после каждого цикла до тех пор, пока почти все синтезированные фрагменты не будут соответствовать первоначальному фрагменту, ограниченному праймерами. Циклы нагревания и охлаждения проводятся в термостате-амплификаторе с программируемым температурным режимом.

репликация



СИНТЕЗ БЕЛКА

