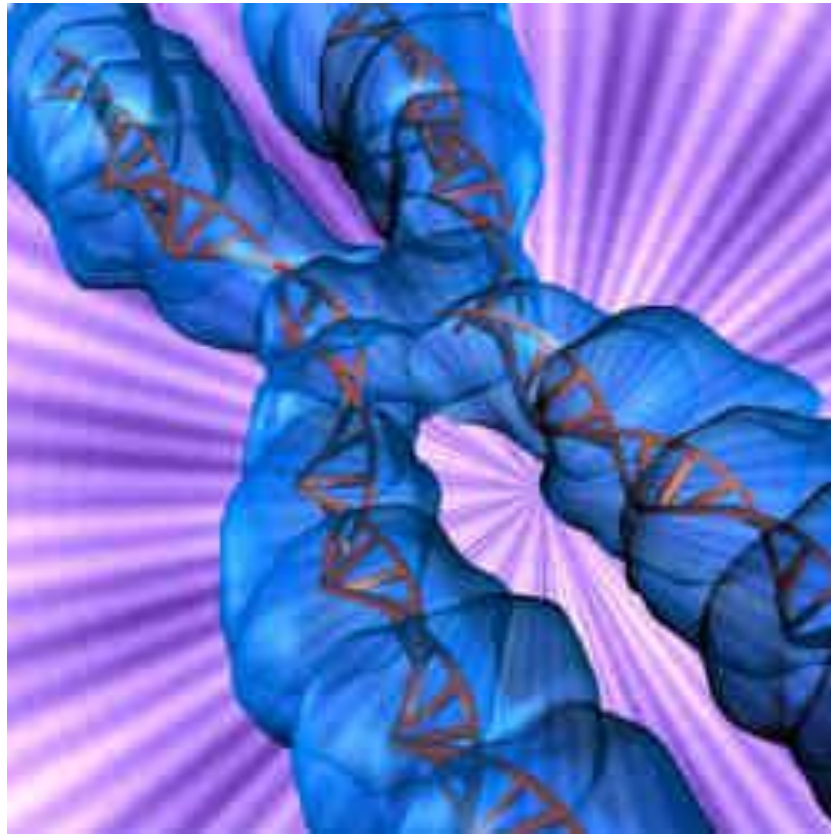


Материальные основы наследственности



Структура ДНК

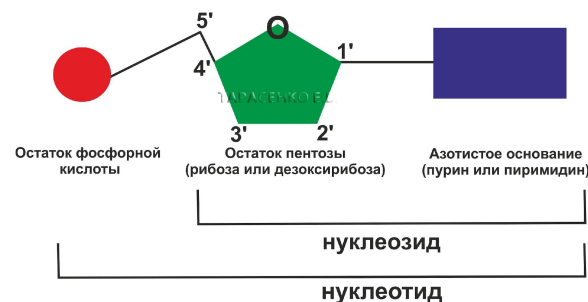
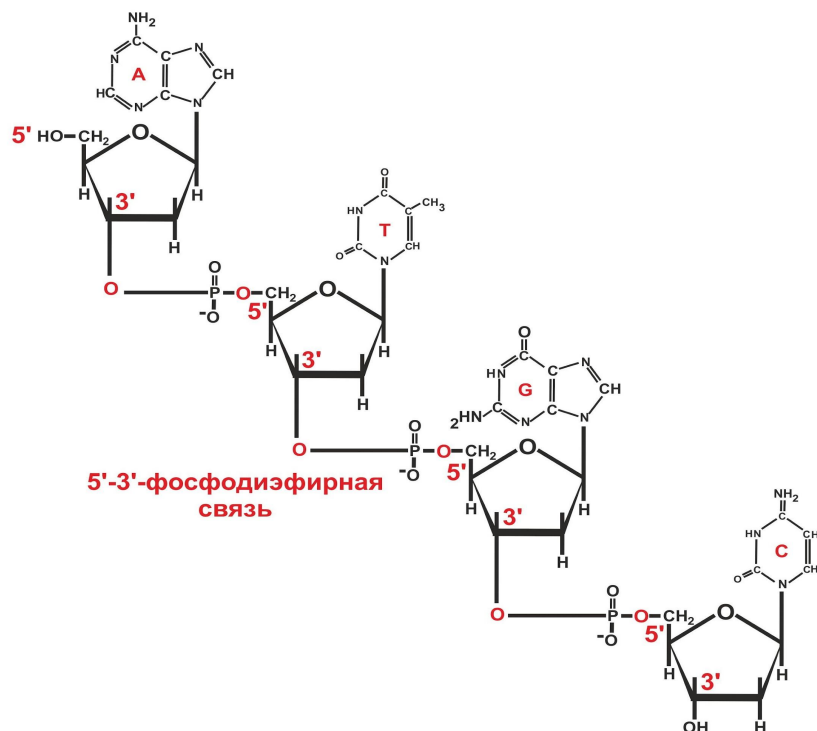
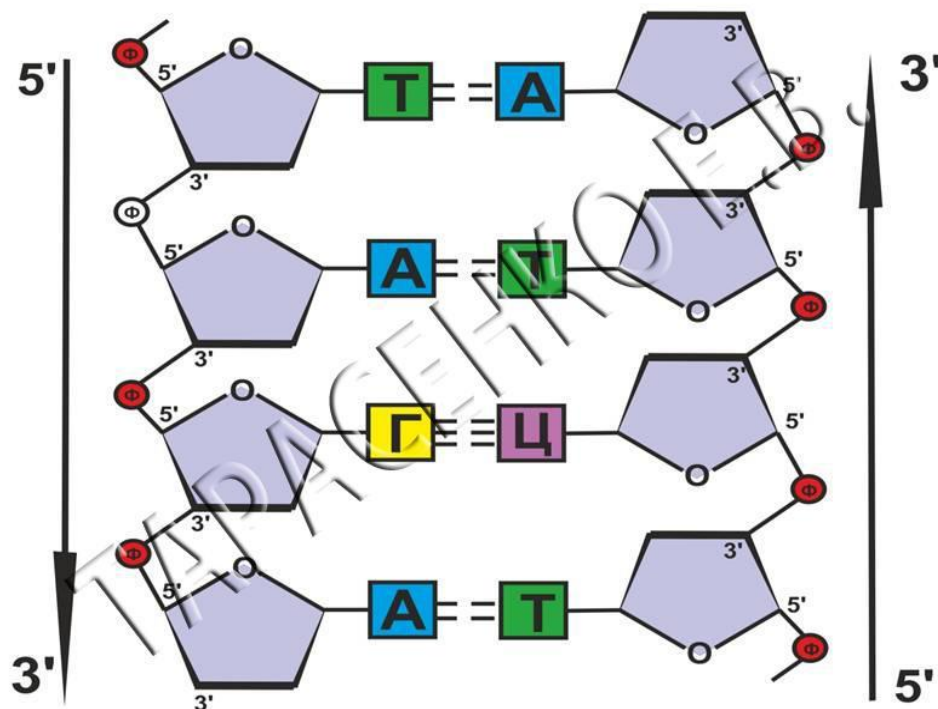


Схема строения нуклеотида



Первичная структура ДНК.
Нуклеотиды соединяются ковалентной 5'-3' фосфодиэфирной связью.



Вторичная структура ДНК.
Цепи ДНК антипараллельны, азотистые основания соединяются по принципу комплементарности.

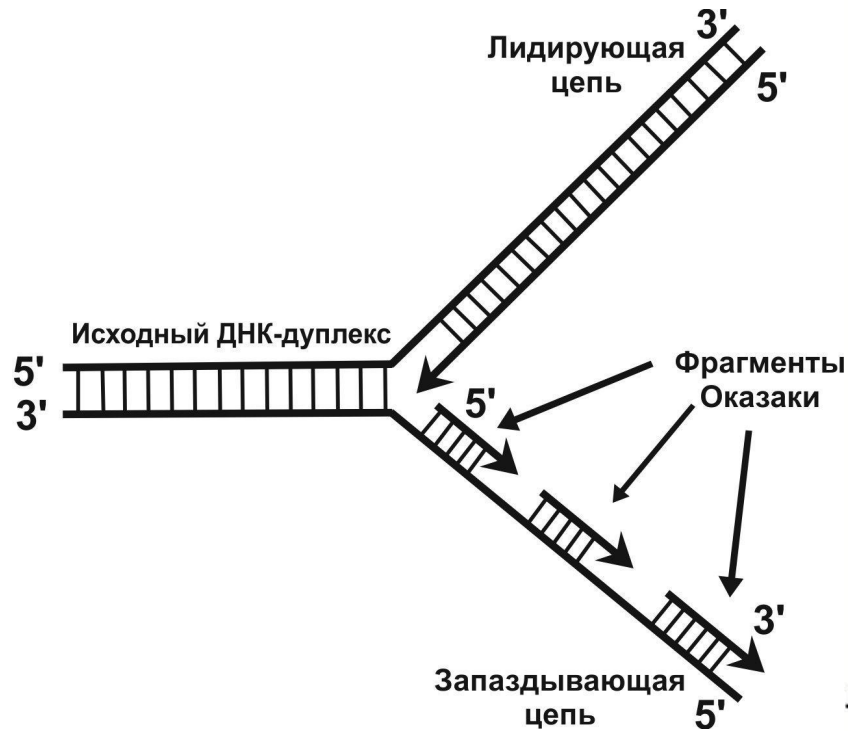
Генетический код

- Генетический код обладает рядом особенностей. Во-первых, в коде отсутствуют «знаки препинания», то есть сигналы, показывающие начало и конец кодонов. Во-вторых, 3 нуклеотидных триплета (УАГ, УАА, УГА) не соответствуют никакой аминокислоте, а обозначают конец полипептидной цепи, а кодон АУГ сигнализирует о начале цепи, либо (если он в середине последовательности) об аминокислоте метионине.

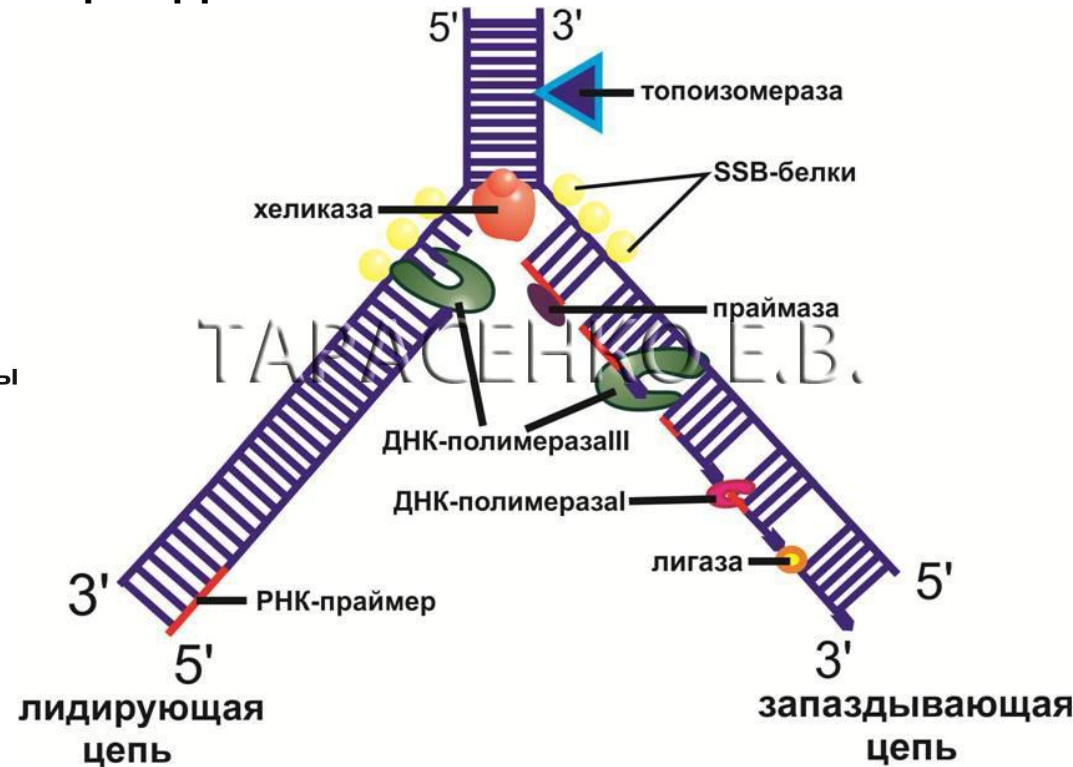
		Вторая буква кодонов							
		У		Ц		А		Г	
Первая буква кодонов	У	УУ ^У Phe	УУ ^Ц Phe	УЦ ^У Ser	УЦ ^Ц Ser	УА ^У Tyr	УА ^Ц Tyr	УГ ^У Cys	УГ ^Ц Cys
	Ц	УУ ^А Leu	УУ ^Г Leu	УЦ ^А Ser	УЦ ^Г Ser	УА ^А Стоп	УА ^Г Стоп	УГ ^А Стоп	УГ ^Г Trp
	А	ЦУ ^У Leu	ЦУ ^Ц Leu	ЦЦ ^У Pro	ЦЦ ^Ц Pro	ЦА ^У His	ЦА ^Ц His	ЦГ ^У Arg	ЦГ ^Ц Arg
	Г	ЦУ ^А Leu	ЦУ ^Г Leu	ЦЦ ^А Pro	ЦЦ ^Г Pro	ЦА ^А Gln	ЦА ^Г Gln	ЦГ ^А Arg	ЦГ ^Г Arg
	У	АУ ^У Ile	АУ ^Ц Ile	АЦ ^У Thr	АЦ ^Ц Thr	АА ^У Asn	АА ^Ц Asn	АГ ^У Ser	АГ ^Ц Ser
	Ц	АУ ^А Ile	АУ ^Г Met	АЦ ^А Thr	АЦ ^Г Thr	АА ^А Lys	АА ^Г Lys	АГ ^А Arg	АГ ^Г Arg
	А	ГУ ^У Val	ГУ ^Ц Val	ГЦ ^У Ala	ГЦ ^Ц Ala	ГА ^У Asp	ГА ^Ц Asp	ГГ ^У Gly	ГГ ^Ц Gly
	Г	ГУ ^А Val	ГУ ^Г Val	ГЦ ^А Ala	ГЦ ^Г Ala	ГА ^А Glu	ГА ^Г Glu	ГГ ^А Gly	ГГ ^Г Gly

- Возможность воспроизведения генов заложена в структуре ДНК – в комплементарности ее оснований – и заключается в разъединении комплементарных полинуклеотидных цепей и последующей достройке новых комплементарных цепей из нуклеотидов клетки. То есть, в структуре ДНК заложена возможность **конвариантной редупликации**

РЕПЛИКАЦИЯ ДНК



Направление синтеза
дочерних цепей при
репликации



Ферменты репликации прокариот

Ферменты репликации

Название фермента	Функция фермента
геликаза	обеспечивает расплетение двойной спирали путем разрыва водородных связей.
топоизомераза	снимает суперспирализацию перед репликативной вилкой
праймаза (РНК-полимераза)	синтезирует РНК-затравку
<u>ДНК-полимеразы прокариот:</u> ДНК-полимераза III ДНК-полимераза II ДНК-полимераза I	• осуществляет элонгацию в направлении 5'-3' от 3'-ОН-затравки; • 3'-5' – экзонуклеаза • осуществляет элонгацию в направлении 5'-3' от 3'-ОН-затравки; • 3'-5' – экзонуклеаза; • является вспомогательным ферментом • осуществляет элонгацию в направлении 5'-3' от 3'-ОН-затравки при застраивании брешей; • 3'-5' – экзонуклеаза; • 5'-3' – экзонуклеаза; • осуществляет репарацию.
<u>ДНК-полимеразы эукариот:</u> ДНК-полимераза α ДНК-полимераза δ ДНК-полимераза ϵ ДНК-полимераза β ДНК-полимераза γ ДНК-полимераза ζ	существует в виде комплекса с праймазой, осуществляет синтез праймеров на обеих цепях ДНК (инициация) осуществляет синтез лидирующей цепи, 3'-5' – экзонуклеаза осуществляет синтез отстающей цепи, 3' - 5' - экзонуклеаза заполнение брешей при эксцизионной репарации осуществляет репликацию митохондрий синтез ДНК на поврежденной матрице при SOS-ответе.
лигаза	осуществляет «сшивание» соседних фрагментов Оказаки.
теломераза	репликация теломерных участков (только эукариоты). Теломеры (от др.-греч. τέλος — конец и μέρος — часть) — концевые участки хромосом. Теломерные участки хромосом характеризуются отсутствием способности к соединению с другими хромосомами или их фрагментами и выполняют защитную функцию.

Центральная догма молекулярной биологии (Ф. Крик, 1958)



- Линейная последовательность мономеров ДНК (дезоксирибонуклеотидов) определяет линейную последовательность мономеров в ходе матричных процессов **репликации** (кольцевые стрелки) и **транскрипции**, т.е. синтеза РНК по матрице ДНК (сплошные прямые стрелки). Последовательность рибонуклеотидов РНК определяет последовательность аминокислотных остатков в белках и в матричном процессе **трансляции**. Обратное кодирование невозможно.

Структура и функции гена

- Ген в современном представлении это цистрон.
Цистрон – это единица генетической функции, которая включает кодирующий участок молекулы ДНК и регуляторные элементы для синтеза макромолекул живых организмов

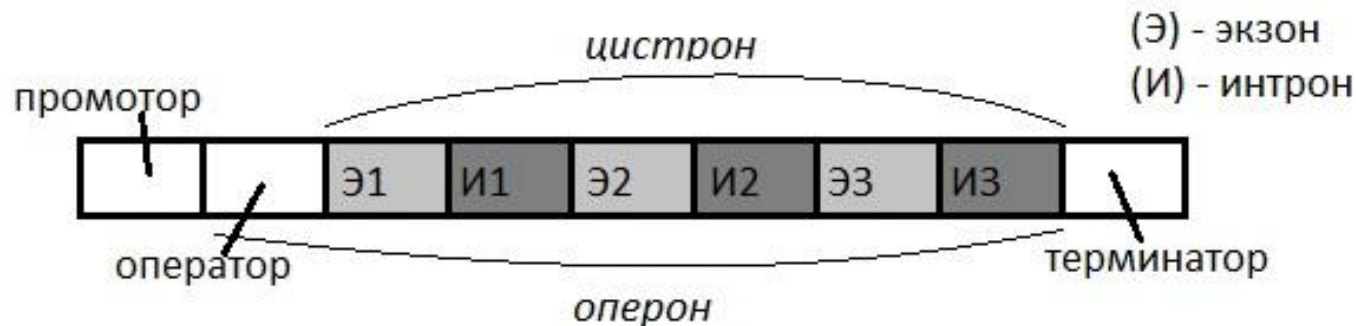
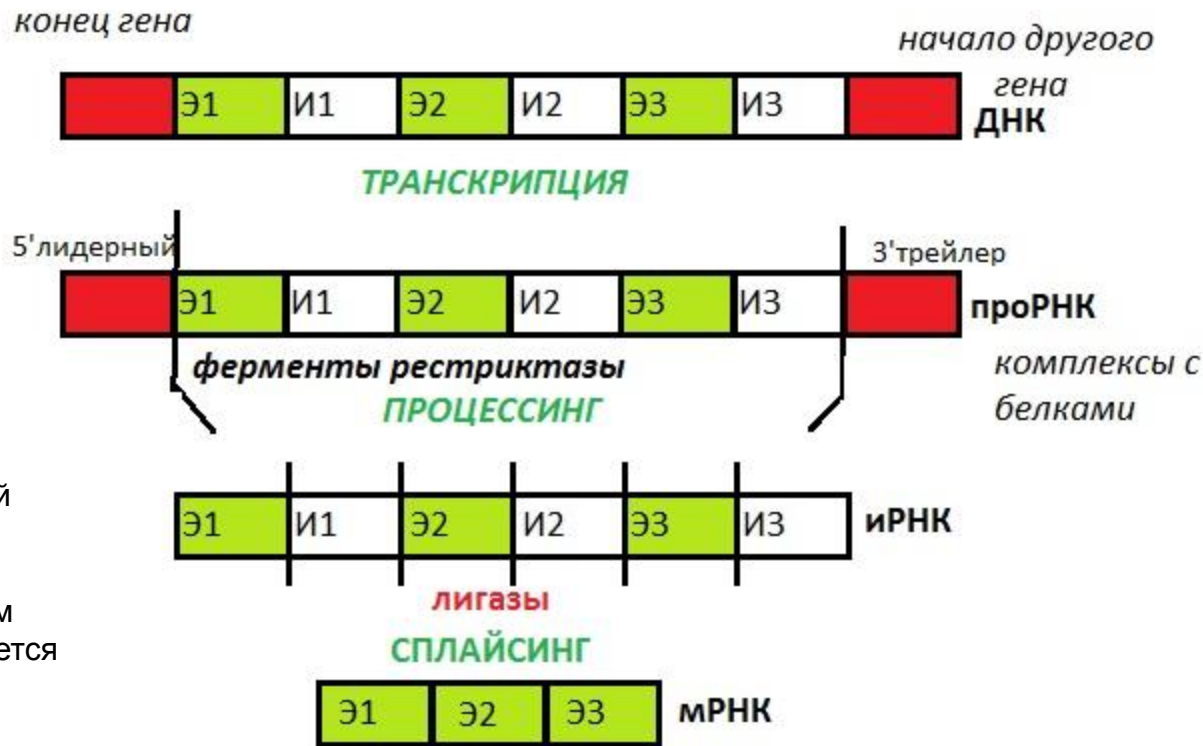


Схема гена включает: 1 – сайт инициации транскрипции - **Промотор** – определяет место прикрепления ДНК-полимеразы и он является началом гена, определяет ДНК-матрицу, с которой будет считываться информация; 2 - **Регуляторный сайт** и **Операторный сайт** Промотора; 3 – **экзоны** (несущие генетическую информацию участки); 4 – **интроны** (не несущие генетическую информацию участки); 4 – сайт **терминации** транскрипции. Оператор вместе с цистроном составляет **оперон**.

Цистрон – несет генетический код. С него снимается информация на информационную РНК (матричную).

Транскрипция

Транскрипция – переписывания. Т.е. это процесс синтеза иРНК с ДНК.

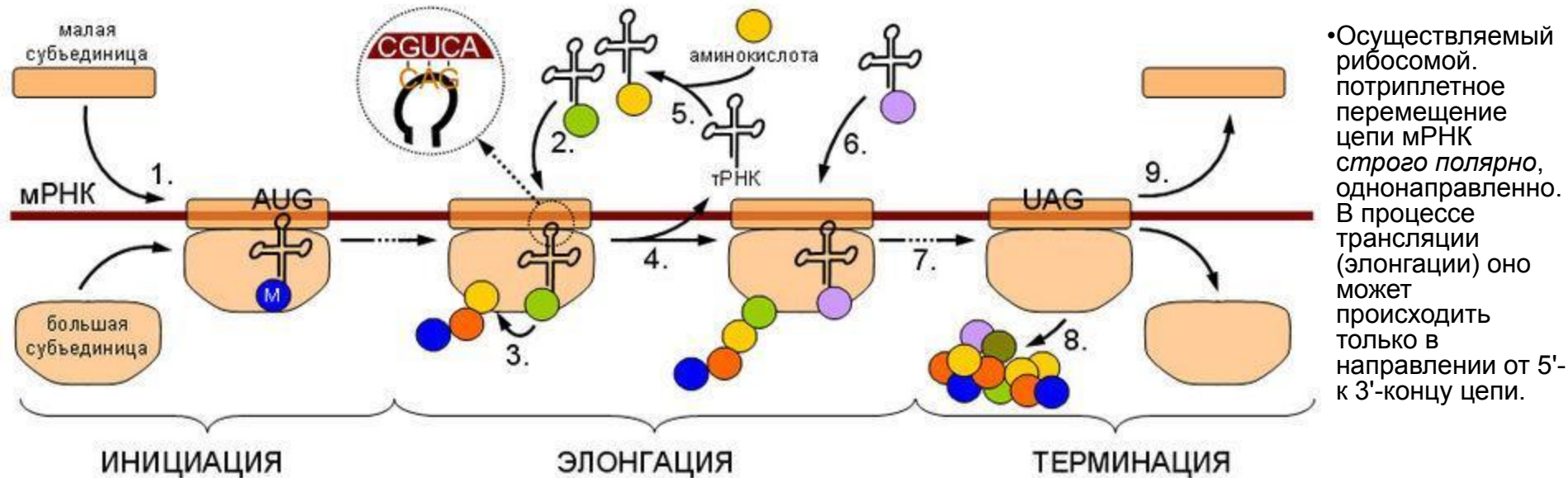


5'конец проРНК – лидерный участок располагается перед стартовым кодоном. 3'конец – трейлерный следует за кодоном терминатора. У эукариот стартовым кодоном всегда является – АУГ, У бактерий – ГУГ.

В результате транскрипции формируется проРНК – это предшественник иРНК, который состоит не только из кодирующих участков, но и соседних участков с данным геном. Далее ферменты рестриктазы отрезают лишние участки с начала соседних генов, рестриктазы отрезают друг от друга экзоны и интроны – это **процессинг**. В результате процессинга формируется иРНК. Затем ферменты лигазы сшивают информативные участки – экзоны между собой. Этот процесс называется **сплайсингом**. В результате его формируется мРНК.

Трансляция

- (от лат. *translatio* — перевод) — процесс синтеза белка из аминокислот на матрице информационной (матричной) РНК (иРНК, мРНК).



Общая схема трансляции.

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

Элонгация. 2. Узнавание текущего кодона соответствующей ему аминоацил-тРНК (комплементарное взаимодействие кодона мРНК и антикодона тРНК увеличено).

3. Присоединение аминокислоты, принесённой тРНК, к концу растущей полипептидной цепи.

4. Продвижение рибосомы вдоль матрицы, сопровождающееся высвобождением молекулы тРНК.

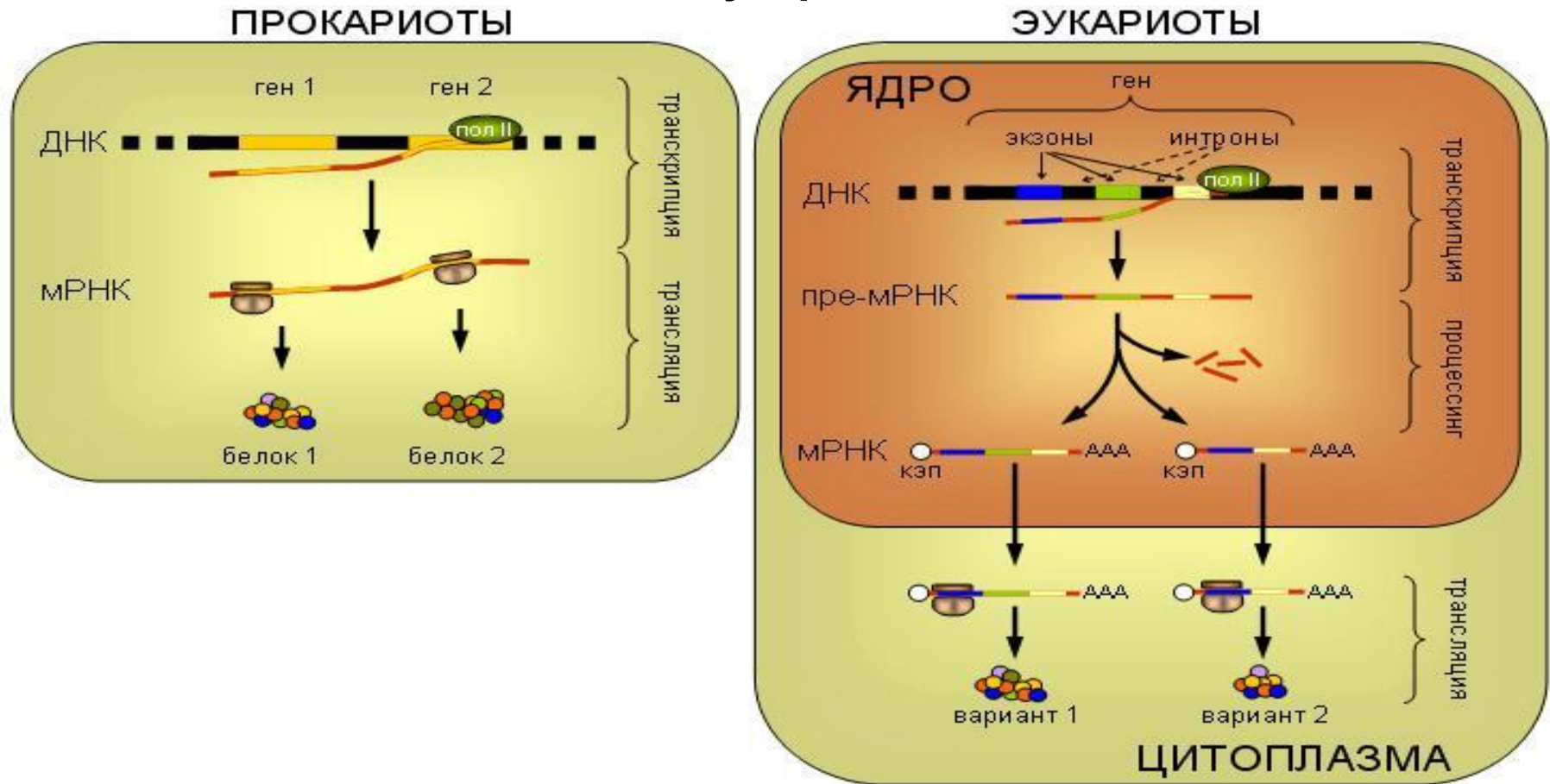
5. Аминоацелирование высвободившейся молекулы тРНК соответствующей ей аминоацил-тРНК-синтетазой.

6. Присоединение следующей молекулы аминоацил-тРНК, аналогично стадии (2).

7. Движение рибосомы по молекуле мРНК до стоп-кодона (в данном случае UAG).

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

Принципиальная схема реализации генетической информации у про- и эукариот.



- ПРОКАРИОТЫ.** У прокариот синтез белка рибосомой (**трансляция**) пространственно не отделён от **транскрипции** и может происходить ещё до завершения синтеза мРНК РНК-полимеразой. Прокариотические мРНК часто **полицистронные**, то есть содержат несколько независимых генов.
- ЭУКАРИОТЫ.** мРНК эукариот синтезируется в виде предшественника, про-мРНК, претерпевающего затем сложное стадийное созревание — **процессинг**, включающий присоединение **кэп-структуры** к 5'-концу молекулы, присоединение нескольких десятков остатков аденина к ее 3'-концу (**полиаденилирование**), выщепление незначущих участков — **интронов** и соединение друг с другом значащих участков — **экзонов** (**сплайсинг**). При этом соединение экзонов одной и той же пре-мРНК может проходить разными способами, приводя к образованию разных зрелых мРНК, и в конечном итоге разных вариантов белка (**альтернативный сплайсинг**). Только мРНК, успешно прошедшая процессинг, экспортируется из ядра в цитоплазму и вовлекается в трансляцию.

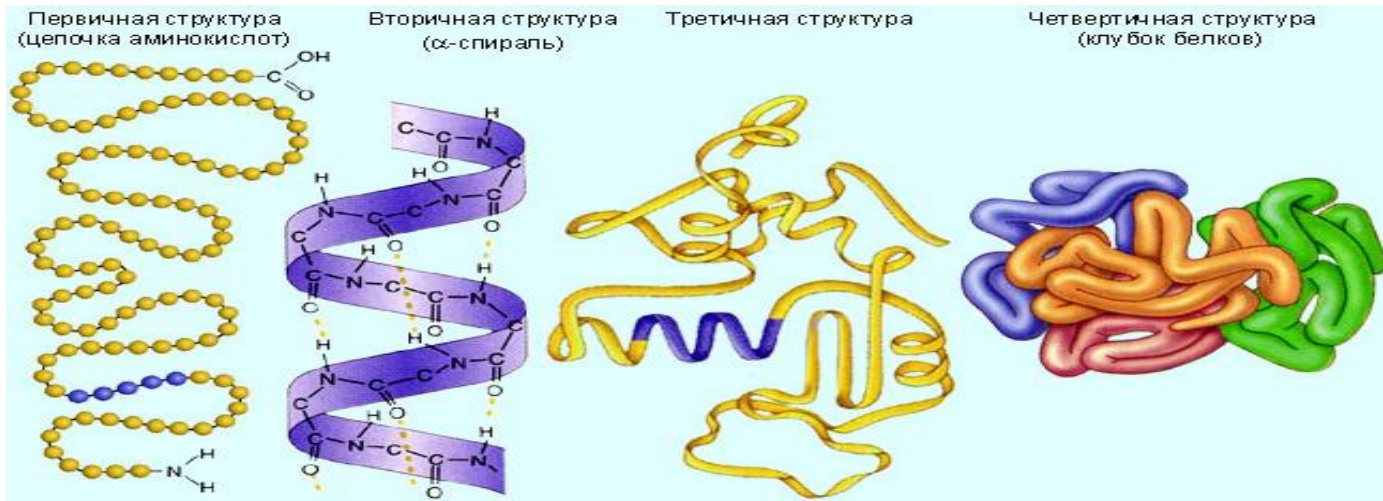
Регуляция белкового синтеза

регуляция синтеза белка происходит на основе кибернетического принципа обратной связи, то есть у клетки имеется способ для сообщения о результате, полученном после изменения белкового синтеза. Обратные связи могут быть положительными (упрощенно: “чем больше вещества А, тем сильнее его синтез”), и отрицательными (чем больше А, тем слабее его синтез”).

В регуляции синтеза белка на любом уровне участвуют следующие виды молекул:

- – регуляторные участки нуклеиновых кислот (ДНК или мРНК),
- – регуляторные белки, способные связываться с ДНК (в том числе – белки, называемые белковыми факторами)
- – вспомогательные белки, не способные связываться с ДНК или РНК, но нужные для изменения активности регуляторных белков или других вспомогательных белков
- – небелковые вещества, влияющие на активность вспомогательных

белков

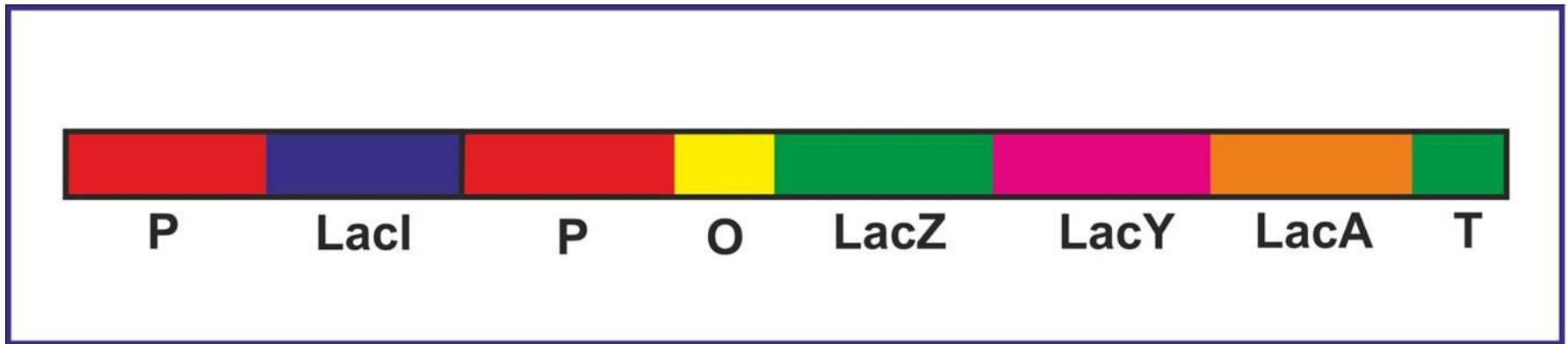


Принципы регуляции биосинтеза белка на уровне транскрипции

Опероны не являются самостоятельной системой, а «подчиняются» **генам-регуляторам**, отвечающим за начало или прекращение работы оперона.

Генная регуляция синтеза белка у прокариот

Структура лактозного оперона *E. coli* (Тарасенко Екатерина Владимировна)



P - промотор (место присоединения РНК-полимеразы)

O - оператор (место присоединения регуляторного белка)

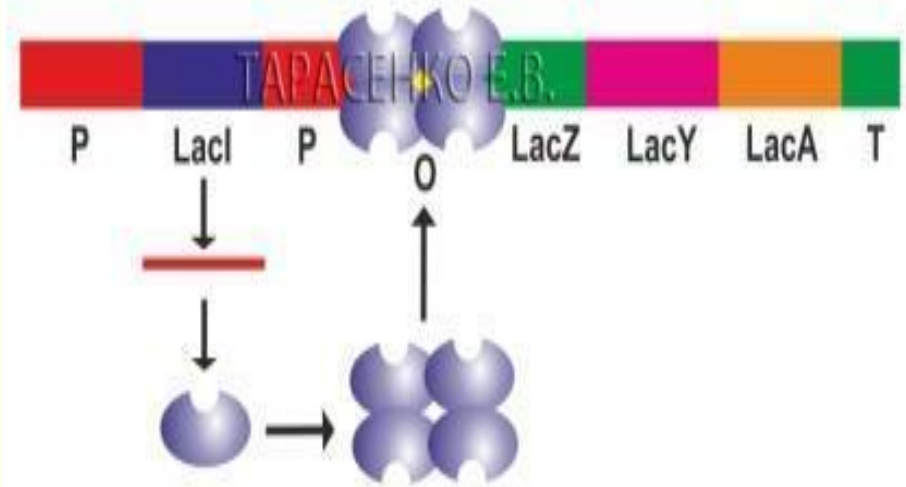
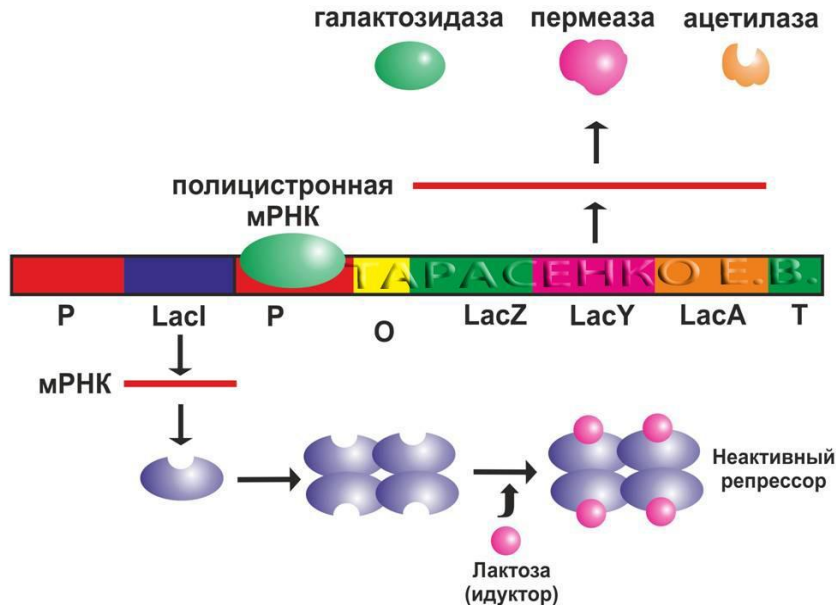
T - терминатор (место окончания транскрипции)

LacZ, LacY, LacA - структурные гены (гены ферментов метаболизма лактозы)

LacI - ген, кодирующий синтез белка репрессора

lacZ кодирует фермент β -галактозидазу, которая расщепляет дисахарид лактозу на глюкозу и галактозу. *lacY* кодирует β -галактозид пермеазу, мембранный транспортный белок, который переносит лактозу внутрь клетки. *lacA* кодирует β -галактозид трансацетилазу, фермент, переносящий ацетильную группу от ацетил-КоА на бета-галактозиды.

Механизм регуляции лактозного оперона (индуцируемый оперон)



В присутствии лактозы белок-репрессор неактивен, он не может присоединиться к оператору и происходит индукция оперона

При отсутствии лактозы белок-репрессор является активным, присоединяется к оператору и блокирует работу оперона.

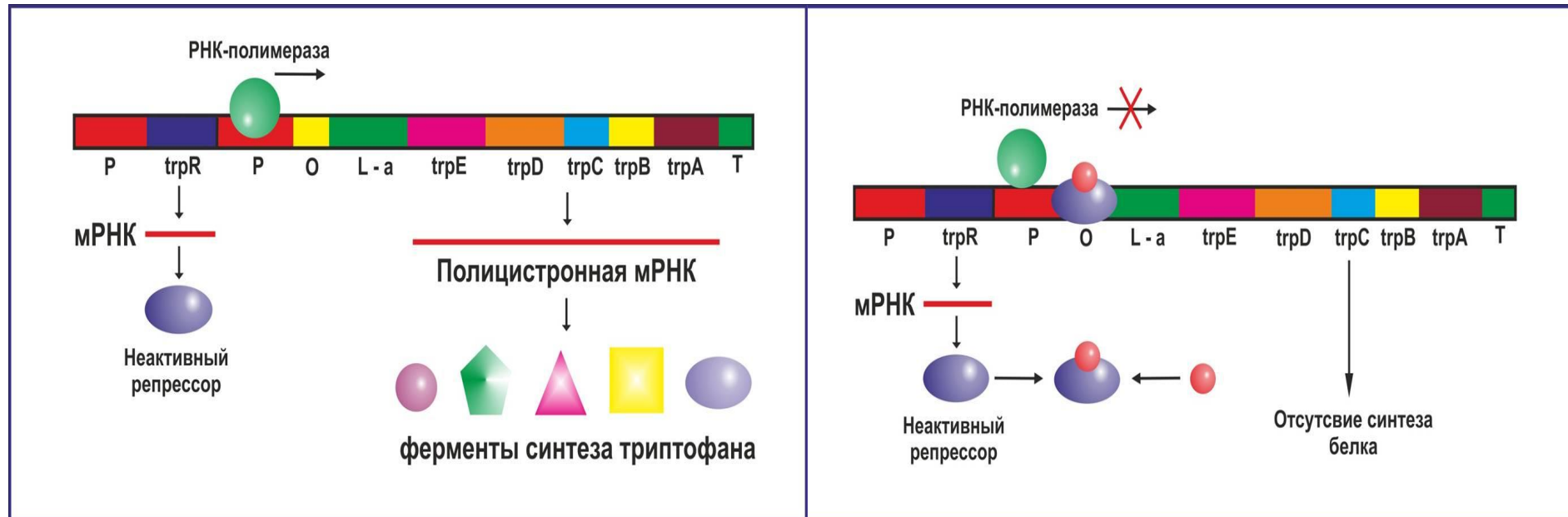
Процесс открыт в 1965 году биохимиками Жакобом Моно и Андре-Мишель Львов. За это открытие они получили Нобелевскую премию. Ученые использовали метод меченых атомов. Они обнаружили, что как только в среду вносят лактозу, то дрожжи начинают вырабатывать ферменты, ее расщепляющие. Ген-регулятор ответственен за синтез специального **белка-репрессора** (угнетатель), который имеет сродство с геном оператором и легко связывается с ним. Если в среде нет лактозы, то репрессор “забивает” оператор или блокирует его и РНК полимераза не может пройти на структурные гены и синтеза фермента не происходит. Если в среде культивирования есть лактоза, то нарушается сродство репрессора с оператором и путь для РНК-полимеразы свободен. Она проходит на структурные гены, обеспечивая синтез иРНК. Далее на основе ее информации синтезируется фермент В-галактозидаза, расщепляющий лактозу. Таким образом геном может находиться как в активном, так и в пассивном состоянии.

Структура триптофанового оперона E. coli

Состоит из 5 цистронов, кодирующих четыре фермента заключительного этапа образования триптофана.



Механизм регуляции триптофанового оперона (репрессибельный оперон)



При недостатке триптофана оперон включен **При избытке триптофана оперон выключен**

В отличие от lac-репрессора, trp-репрессор синтезируется в неактивной форме, поэтому не может сразу после своего синтеза блокировать оператор. В активную форму trp-репрессор переводит присоединение к нему корепрессора – триптофана. Активный trp-репрессор присоединяется к оператору, что приводит к невозможности построения мРНК на основе структурных генов оперона. В результате синтез белков-ферментов для синтеза триптофана становится невозможен.

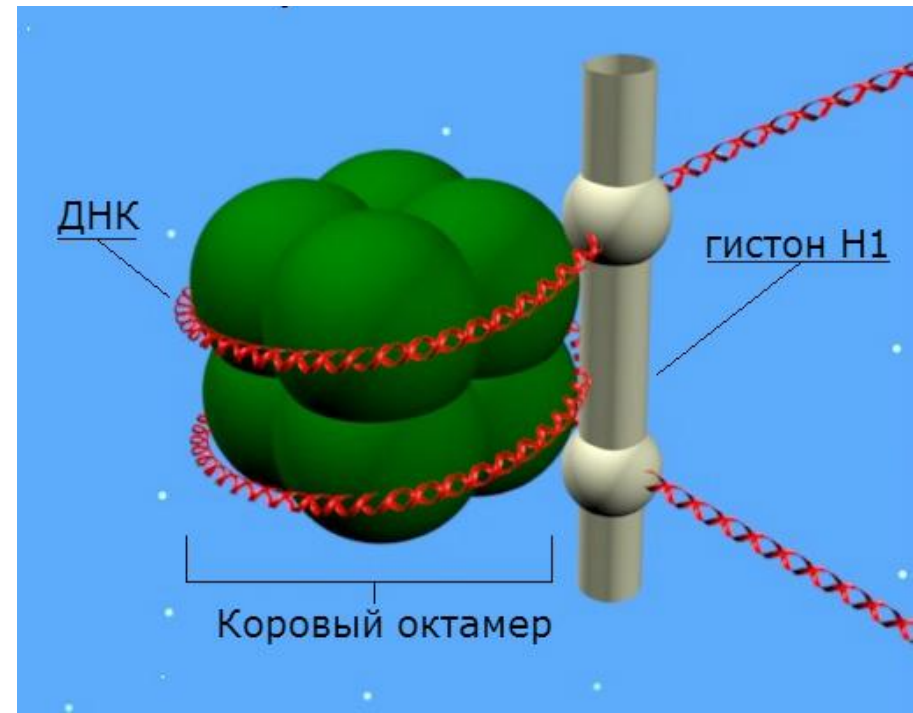
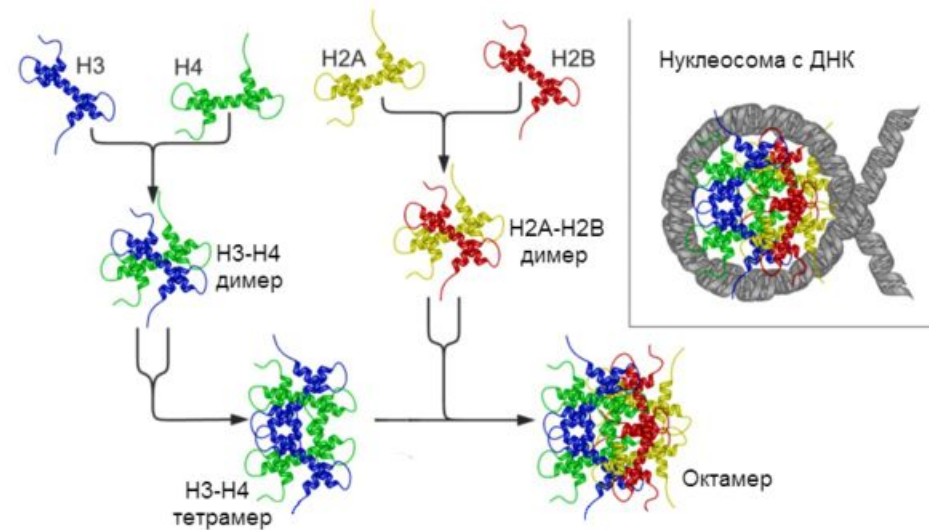
Регуляция на стадии транскрипции у эукариот

Способы регуляции синтеза белка у эукариот более разнообразны, сложны и часто сильно отличаются от прокариотических.

- В отличие от прокариот, у эукариот большинство генов “выключено”, репрессировано (работают механизмы, запрещающие синтез с них каких-либо продуктов), поэтому регуляция направлена на их “включение”.
- Второй особенностью эукариот является возможность более “плавной” регуляции. Если у прокариот скорость синтеза белка может принимать очень ограниченное число значений (“выключено” – “включено” или, в лучшем случае, с добавлением к этим крайним нескольких промежуточных положений), то у эукариот число возможных уровней интенсивности белкового синтеза резко возрастает.
- Третьей особенностью эукариот является широкое использование ими принципов комбинирования (составления комбинаций): целый управляющий “сигнал” регуляторного воздействия, компонент системы регуляции или сама “пропись” белка (при альтернативном сплайсинге) составляется, как в детском конструкторе, из определенного набора элементов. Относительно небольшое количество белковых факторов инициации транскрипции, образуя на промоторах разных генов разные сочетания, дают возможность РНК-полимеразе II выбрать нужный ген и начать его транскрибировать, а необходимая активность каждого гена эукариот регулируется сочетанным влиянием большого количества генов-регуляторов.
- В качестве четвертой особенности можно указать активное использование эукариотами стратегии наработки мРНК не по потребности данного момента, а более или менее заранее, впрок. Такие метаболически стабильные мРНК необязательно сразу вступают в трансляцию, а их активность избирательно регулируется во времени и во внутриклеточном пространстве путем активации – инактивации.

Процесс регуляции синтеза белка у эукариот с помощью белков-гистонов

- Гистоновые и негистоновые белки – антогонисты (противоположны по хим. свойствам). Гистоны препятствуют считыванию генетической информации с ДНК, а негистоновые наоборот стимулируют синтез НК. И если гистоны фосфорилируются (разрушаются), то белки изменяются и открывается свободный участок в молекуле ДНК. На этом участке возможно считывание генетической информации, то есть идет транскрипция – синтез иРНК. Таким образом это самый быстрый способ регуляции белкового синтеза.



Организация генетического материала



Хромосома

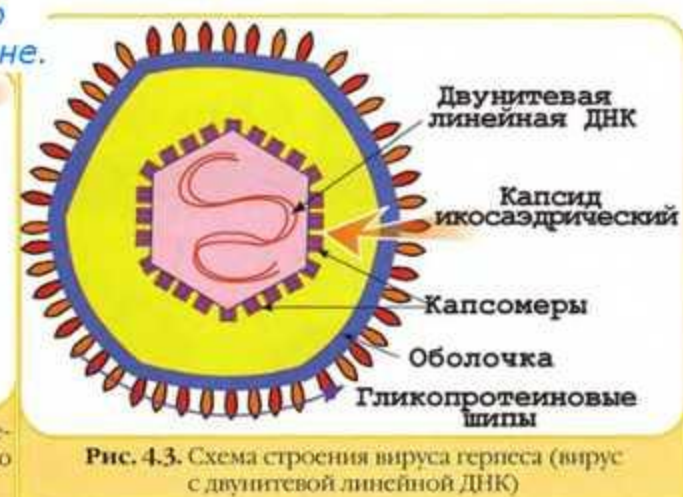
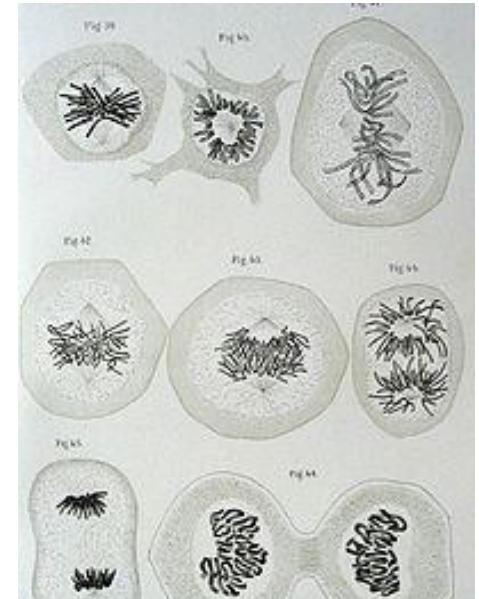
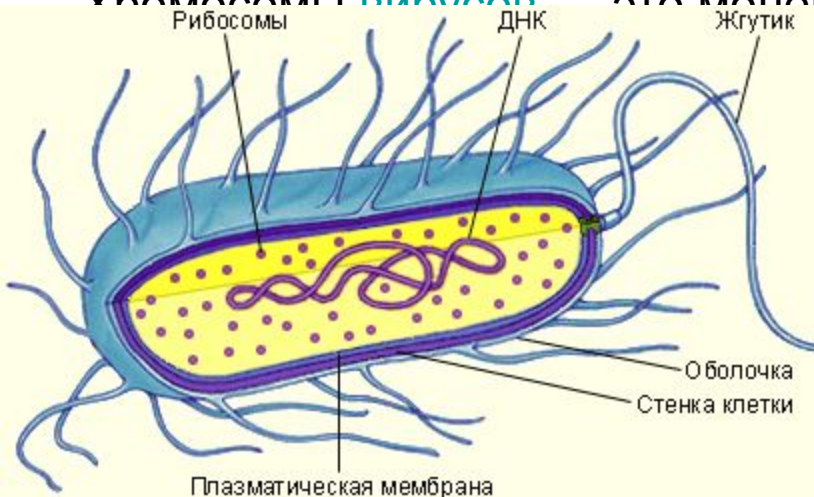
- это структура, которая содержит нуклеиновую кислоту и функция которой состоит в хранении, реализации и передаче наследственной информации.

Хромосомы эукариот — это ДНК-содержащие структуры в ядре, митохондриях и пластидах.

Хромосомы прокариот — это ДНК-содержащие структуры в ядре, митохондриях и пластидах.

Хромосомы прокариот — это ДНК-содержащие структуры в клетке без ядра.

Хромосомы вирусов — это молекулы



Строение хромосом эукариот

- Основу хромосомы составляет линейная макромолекула ДНК значительной длины. Например, в молекулах ДНК хромосом человека насчитывается от 50 до 245 миллионов пар азотистых оснований. У эукариот существует высокоорганизованная система укладки молекул ДНК как в интерфазном ядре, так и в митотической хромосоме.

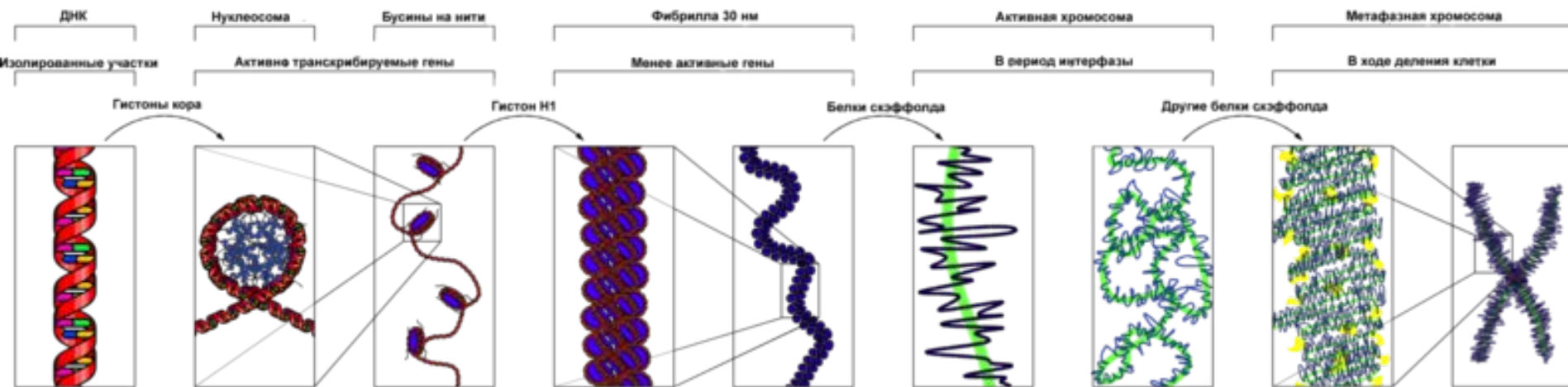
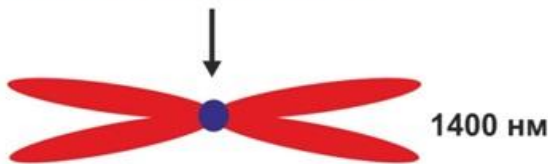
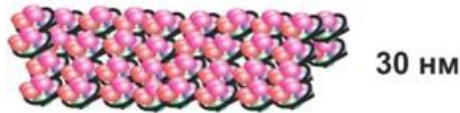


Схема упаковки хроматина

- Упаковка ДНК в хроматин обеспечивает многократное сокращение линейных размеров ДНК, необходимое для размещения её в ядре. При этом надо оставить доступными определённые последовательности ДНК для регуляторных факторов и ферментов транскрипции. Эти задачи решаются на уровне упаковки ДНК в хроматин, которая происходит в несколько этапов.



Этапы упаковки хроматина

1. Нуклеосома

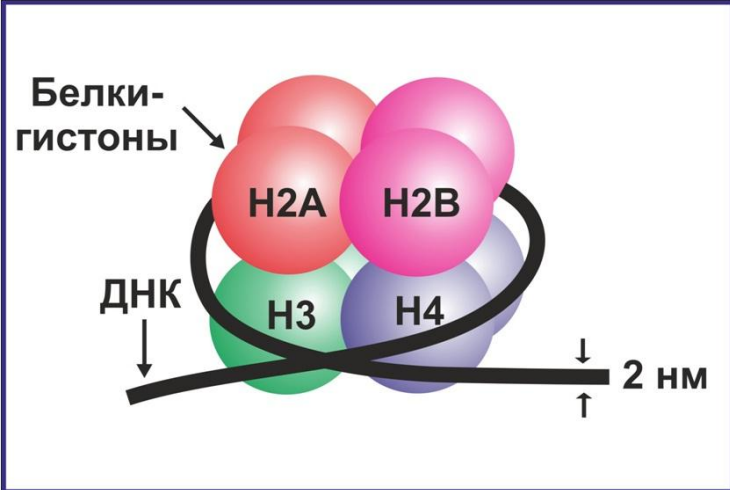
2. Нить нуклеосом (10 нм)

3. Хроматиновая фибрилла (соленоид, 30 нм)

4. Петельный уровень. Стабилизируется негистоновыми белками (300 нм)

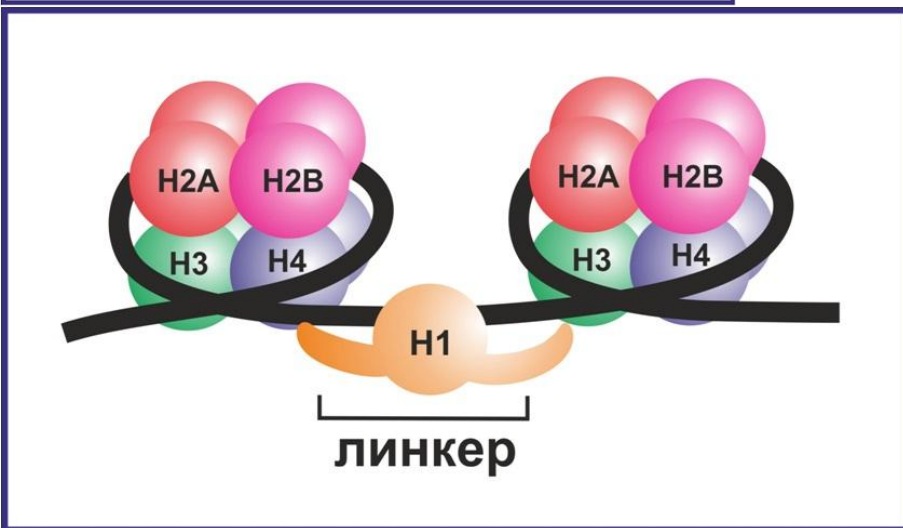
5. Интерфазная хромонема (хроматин, 700 нм)

6. Метафазная хромосома (1400 нм)



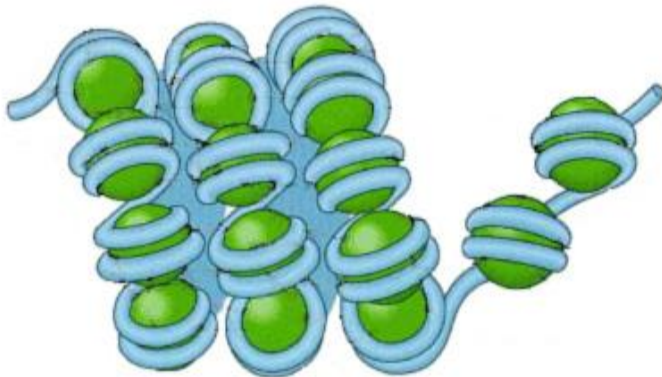
Нуклеосома

В состав гистонового кора входит 4 типа гистонов - Н2А, Н2В, Н3, Н4. На гистоновый кор наматывается ДНК длиной 145 н.п.



Образование нити нуклеосом

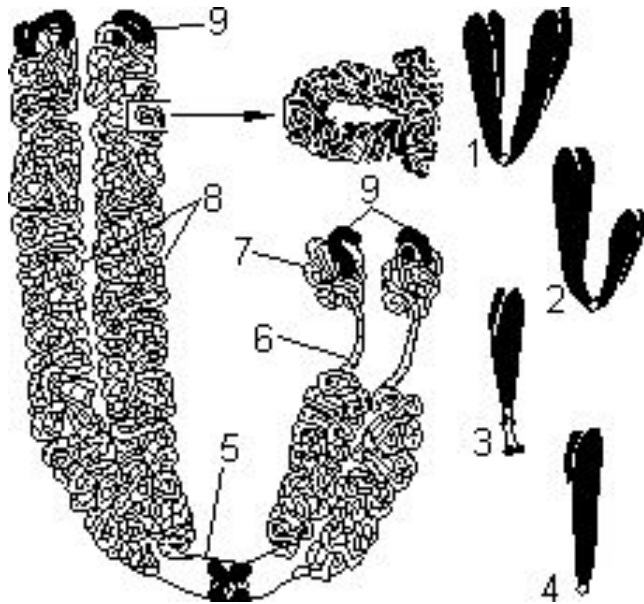
Гистон Н1 присоединяется к линкерной ДНК (ее длина может составлять у разных видов от 10 до 150 н.п.). Диаметр нуклеосомной нити составляет 10 нм.



плотная упаковка препятствует считыванию информации с ДНК.

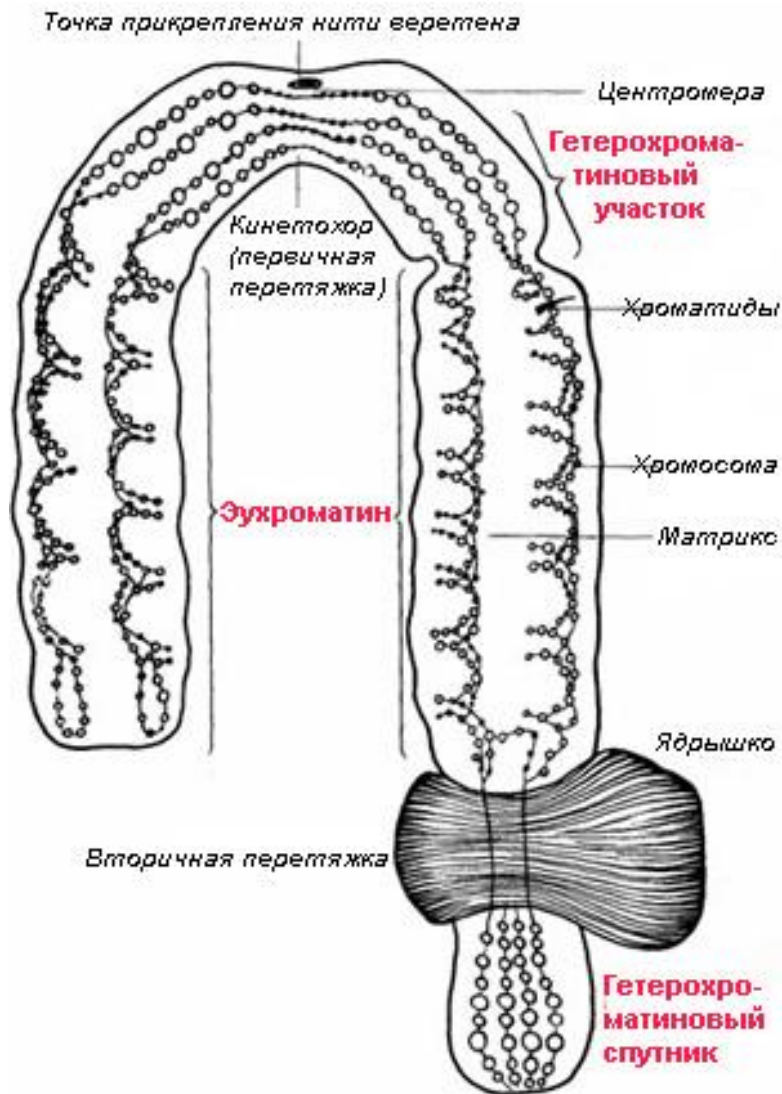
Морфология метафазных хромосом

- В митозе хромосомы преобразуются в плотно упакованные элементы, способные сопротивляться внешним воздействиям, сохранять свою целостность и форму



Хромосомы: 1 — метацентрическая;
2 — субметацентрическая;
3, 4 — ацентрические.

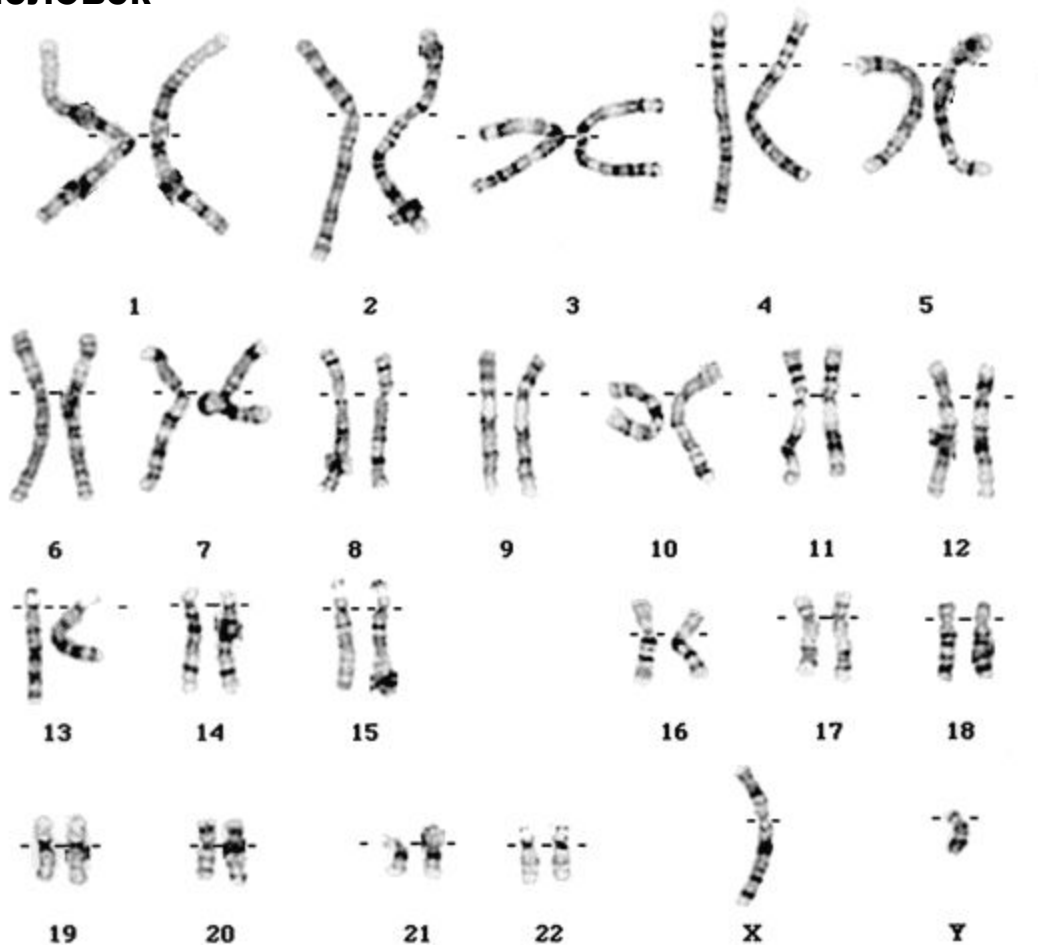
Строение хромосомы: 5 — центромера; 6 — вторичная перетяжка; 7 — спутник; 8 — хроматиды; 9 — теломеры. В области вторичных перетяжек хромосом находятся копии генов, несущих информацию о строении рРНК, поэтому такие хромосомы называются **ядрышкообразующими**.



- В зависимости от функционального состояния хроматина различают: **гетерохроматин (5)** и **эухроматин (6)**.
- Эухроматин — генетически активные, гетерохроматин — генетически неактивные участки хроматина.
- Эухроматин при световой микроскопии не различим, слабо окрашивается и представляет собой деконденсированные (деспирализованные, раскрученные) участки хроматина.
- Гетерохроматин под световым микроскопом имеет вид глыбок или гранул, интенсивно окрашивается и представляет собой конденсированные (спирализованные, уплотненные) участки хроматина.

Методы дифференциального окрашивания эухроматиновых Методы дифференциального окрашивания эухроматиновых районов хромосом, обеспечивающие выявление в эухроматиновых районах чередующихся сегментов, так называемых бэндов (англ. *band* — полоса, лента, тесьма), которые окрашиваются с различной

Дифференциальная GTG-окраска хромосом человека



Кариотип — совокупность сведений о числе, размерах и строении метафазных хромосом.

Аутосомы — хромосомы, одинаковые для мужского и женского кариотипов.

Половые хромосомы — хромосомы, по которым мужской кариотип отличается от женского. Хромосомный набор человека ($2n = 46$, $n = 23$) содержит 22 пары аутосом и 1 пару половых хромосом.