

## **Раздел 2. Нуклеиновые кислоты.**

### **Занятие 6. Структурная организация ДНК:**

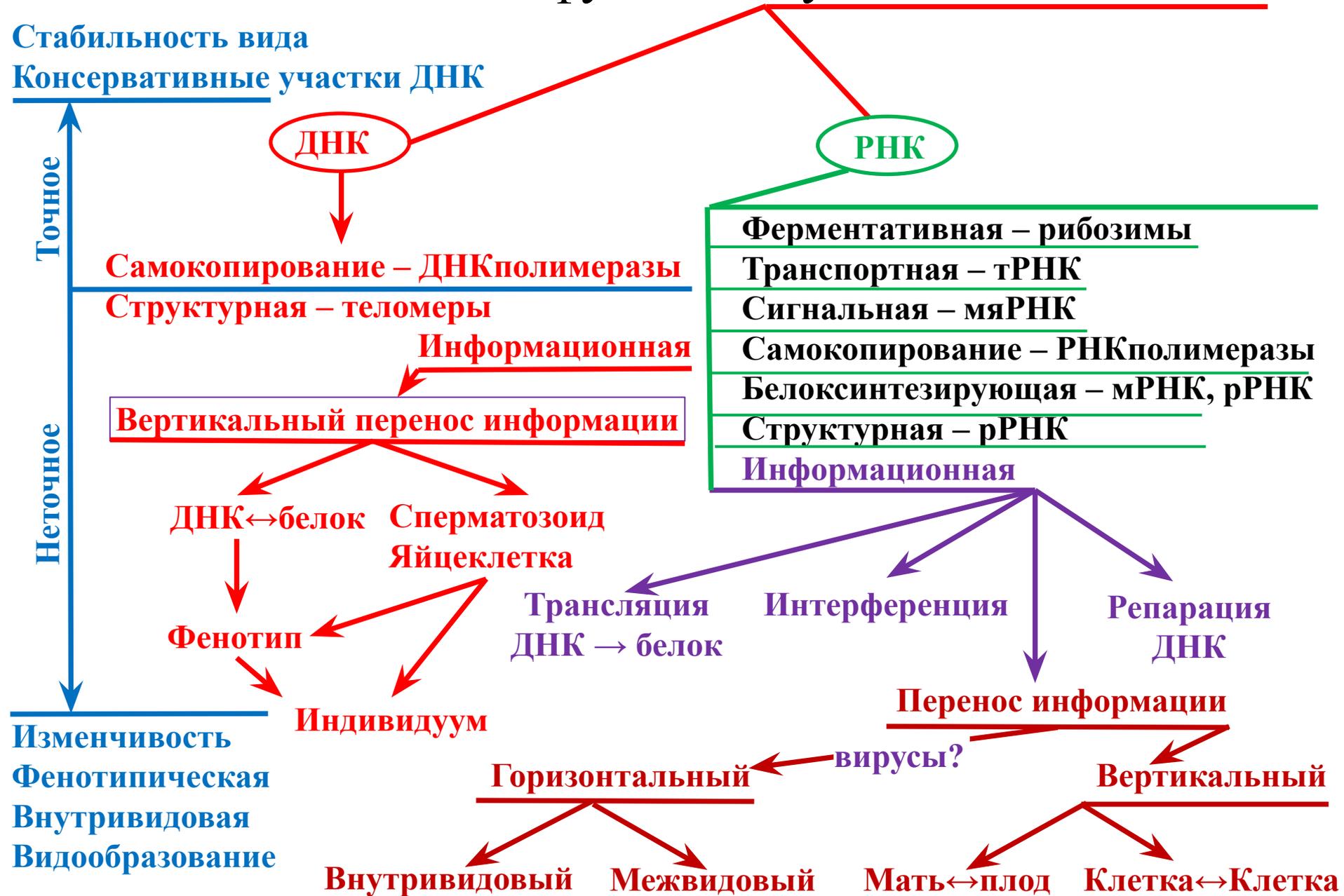
- Химическая структура и пространственная организация ДНК и РНК, стабилизирующие взаимодействия в структурах.  
Гетерокомплексы с ДНК.
- Полиморфизм ДНК.
- Экстраядерные, транспозируемые ДНК.

**Вопрос 1.** Химическая структура и пространственная организация ДНК и РНК, стабилизирующие взаимодействия в структурах.

**Нуклеиновые кислоты (НК)** – гетерополимеры, мономерами которых являются **нуклеотиды**.

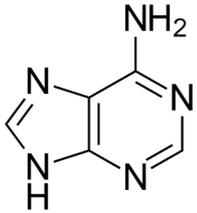
НК содержатся во всех без исключения живых организмах и являются не только хранителем и источником генетической информации, но и выполняют ряд других жизненно важных функций.

# ЖИЗНЕННО ВАЖНЫЕ ФУНКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

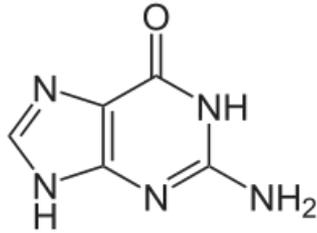


В **НК** присутствуют азотистые основания двух типов – производные пурина (пуриновые) – аденин (А), гуанин (Г) и производные пириимидина (пириимидиновые) – цитозин (Ц), урацил (У) и тимин (Т).

Пурины

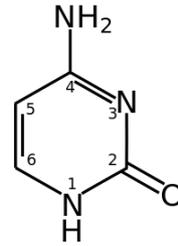


Аденин

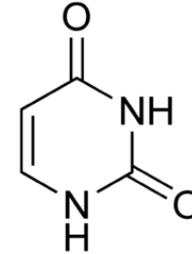


Гуанин

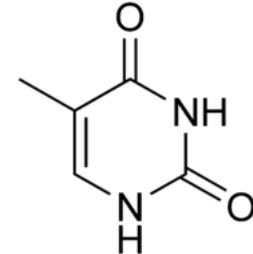
Пириимидины



Цитозин

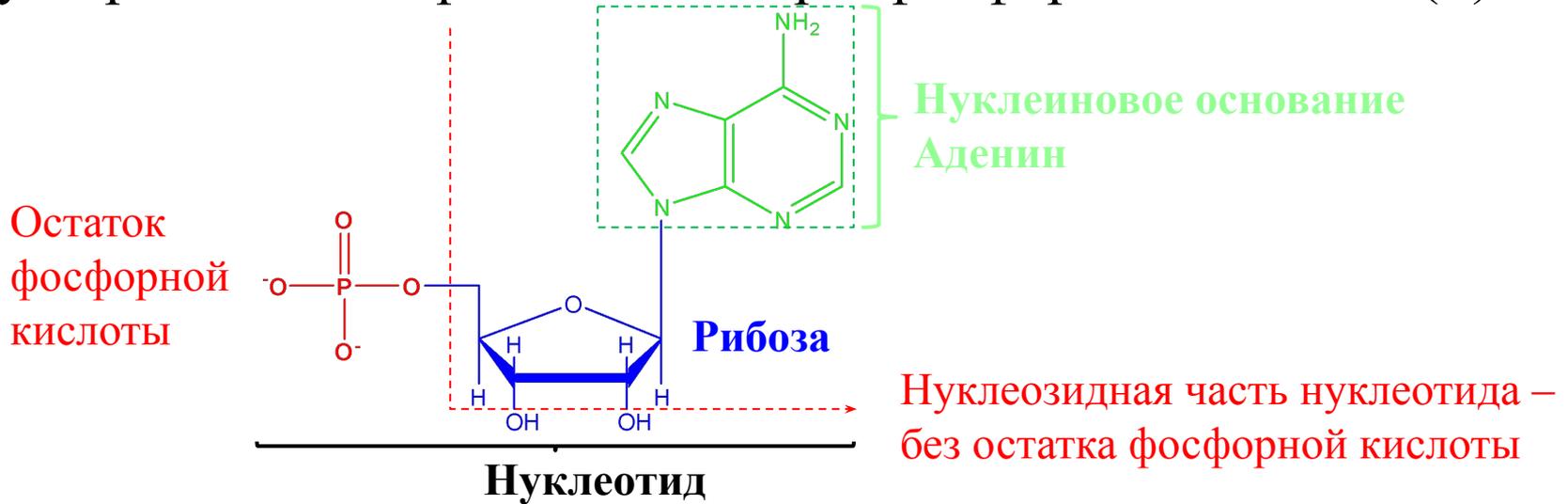


Урацил



Тимин (Метилурацил)

**Нуклеотид** состоит из азотистого основания, связанного с ним пятиуглеродного сахара и остатка ортофосфорной кислоты (Р).

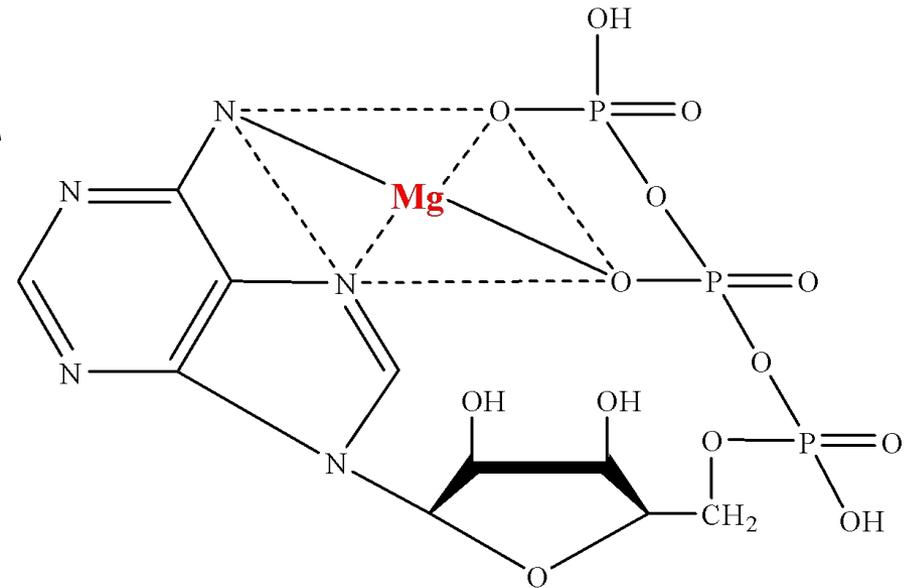


Каждый нуклеотид получает название по входящему в него азотистому основанию, например адениловая кислота (или аденозинмонофосфат — АМФ):

аденин — рибоза — Р.

АМФ может фосфорилироваться с образованием аденозиндифосфата — АДФ (аденин—рибоза—Р ~ Р); фосфорилирование последнего приводит к образованию аденозинтрифосфата (АТФ).

Аденозинтрифосфат Mg соль



**В клетке АТФ существует только в виде магниевой соли — комплексон.**

**Каждая молекула АТФ передает  $Mg^{2+}$  в активный центр ДНК и РНК полимераз.**

**Без  $Mg^{2+}$  в активном центре катализ невозможен.**

Джоуль – это работа, совершаемая при перемещении точки приложения силы, равной одному ньютону, на расстояние одного метра в направлении действия силы.

$$1 \text{ Дж} = 1 \text{ Н} \cdot \text{м} = 1 \text{ кг} \cdot \text{м}^2 / \text{с}^2$$

Калория – это количество теплоты, необходимое для нагревания 1 грамма воды на 1 градус Цельсия при стандартном атмосферном давлении 101 325 Па.

В электричестве джоуль означает работу, которую совершают силы электрического поля за 1 секунду при напряжении в 1 вольт для поддержания силы тока в 1 ампер

$$1 \text{ кал} = 4,1868 \text{ Дж точно}$$

Ньютон – это сила, изменяющая за 1 секунду скорость тела массой 1 кг на 1 м/с в направлении действия силы. Таким образом,  $1 \text{ Н} = 1 \text{ кг} \cdot \text{м} / \text{с}^2$ .

Универсальным энергетическим аккумулятором в клетке является АТФ.

Присоединение остатка фосфорной кислоты к АДФ с использованием энергии окисления (при дыхании) или света (при фотосинтезе) представляет «зарядку». Отщепление фосфата от АТФ с образованием АДФ сопровождается выходом энергии — «разрядка».

При гидролитическом отщеплении остатка фосфорной кислоты от АТФ высвобождается 12,6 кДж, гидролиз же второй или третьей фосфатной связи в АТФ дает около 33,6 кДж.

Энергия макроэргической связи АТФ расходуется в клетке на разные виды работ. Кроме АТФ, макроэргическими соединениями являются другие трифосфатнуклеотиды (ГТФ, ЦТФ, УТФ, ТТФ), освобождающие при гидролизе концевой фосфатной связи большое количество энергии.

Пользуясь предыдущим слайдом, вычислите работу, которая может

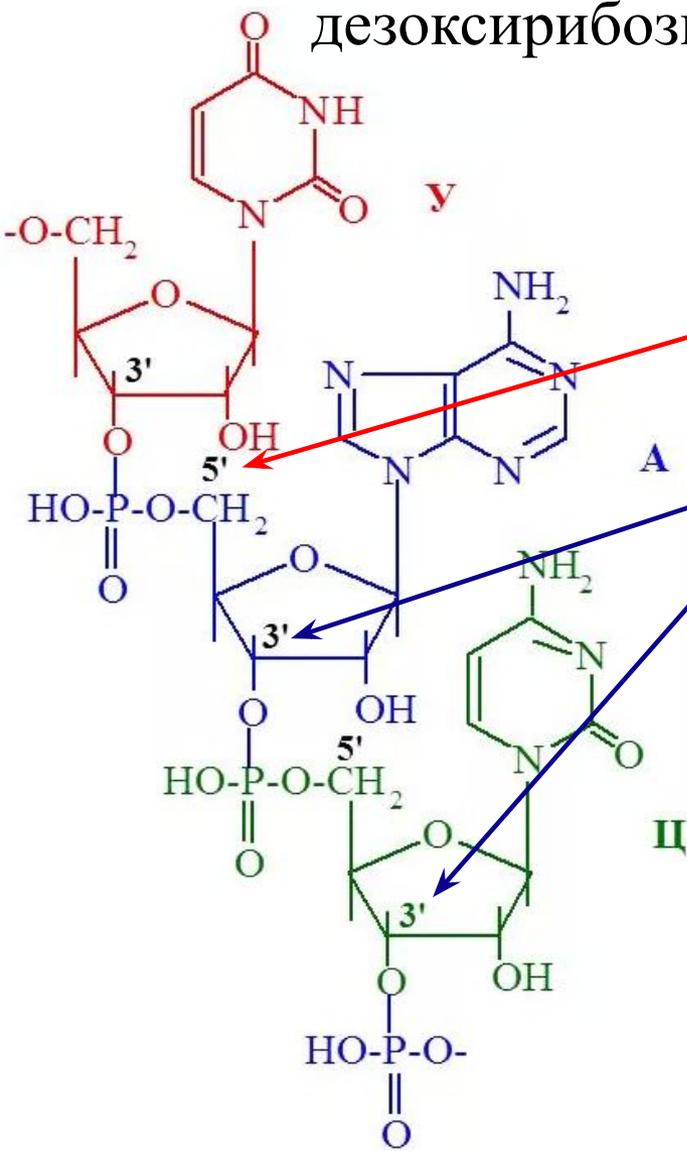
При образовании НК нуклеотиды соединяются друг с другом с помощью фосфорно-эфирной связи, возникающей между остатком фосфорной кислоты у пятого атома рибозы или дезоксирибозы и гидроксилем третьего атома сахара.

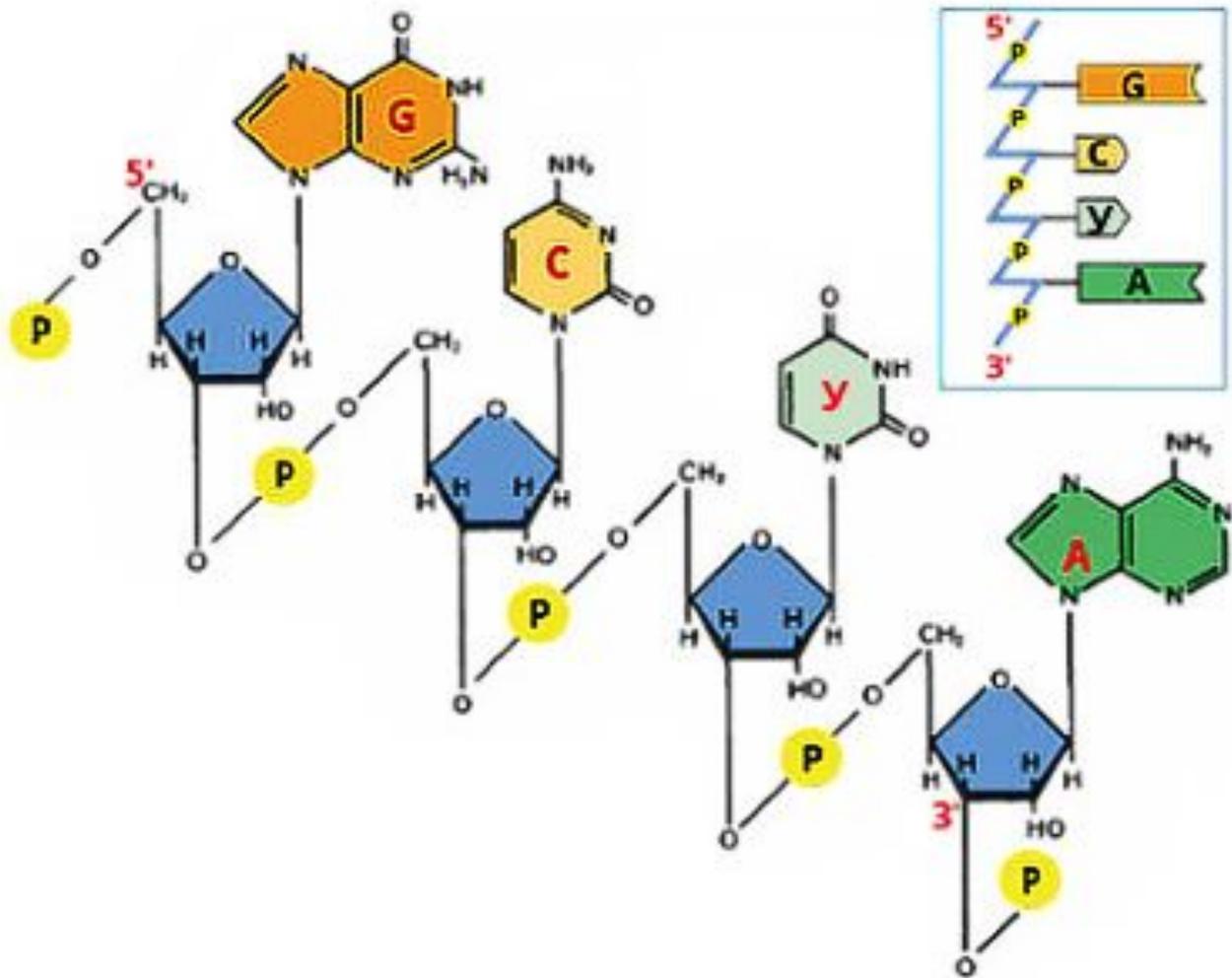
Образуемая полинуклеотидная

цепочка имеет два конца:

5', где расположена несвязанная фосфатная группа, и

3', у которой находится свободная группа ОН при третьем атоме пентозы.





Нуклеотиды РНК, состоящие из фосфорной кислоты, рибозы и азотистого основания, соединены между собой 3', 5'-фосфодиэфирными связями, это придает полярность полинуклеотидной цепи молекулы РНК. Пентозофосфатный остов удерживает азотистые основания.

## Функции 2'-гидроксила

2'-гидроксил делает:

- 1) невозможным сворачивание двуцепочечной РНК в В-спираль, но позволяет ей формировать сложные трехмерные структуры, которые для ДНК недоступны;
- 2) РНК нестабильной, легко мутирующей и быстро разрушающейся.

Отсутствие 2'-гидроксила в **дезоксирибозе** делает ДНК более структурно податливой и поэтому более устойчивой к модификациям и повреждениям, что потенциально полезно для носителя генетической информации. Именно поэтому ДНК, но не РНК, способна сохраняться в природе веками.

# НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

ДНК

РНК

Двухцепочечн  
ые

Одноцепочечн  
ые

Двухцепочечн  
ые

Одноцепочечн  
ые

Линейны  
е

Кольцев  
ые

Линейны  
е

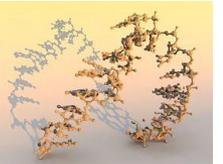
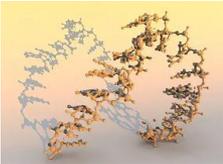
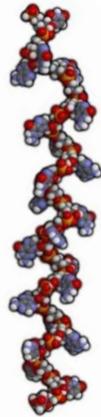
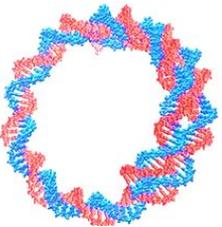
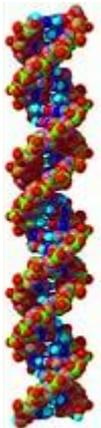
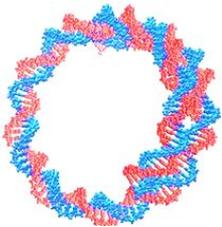
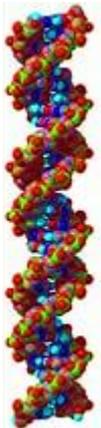
Кольцев  
ые

Линейны  
е

Кольцев  
ые

Линейны  
е

Кольцев  
ые



# Номенклатура нуклеотидов, образующих ДНК и РНК

Азотистое основание	Нуклеозид	Нуклеотид	Трёхбуквенное обозначение	Однобуквенный код
Аденин	Аденозин	Аденозинмонофосфат	АМФ	A
Гуанин	Гуанозин	Гуанозинмонофосфат	ГМФ	G
Цитозин	Цитидин	Цитидинмонофосфат	ЦМФ	C
Урацил	Уридин	Уридинмонофосфат	УМФ	U
Тимин	Тимидин	Тимидинмонофосфат	ТМФ	T

Виды РНК	Размер в нуклеотидах
gРНК – геномные РНК	10000-100000
mРНК – информационные (матричные) РНК	100-100000
tРНК – транспортные РНК	70-90
rРНК – рибосомные РНК	несколько дискретных классов от 100 до 500000
sРНК – малые РНК	100-300 несколько семейств
Рибозимы	200
Вирусные РНК	

# Семейство малых РНК

Антисмысловая РНК (**aRNA**) – закрывают участок мРНК-мишени от транскрипции.

МикроРНК (**miRNA**) – останавливают транскрипцию некоторых генов (22 нуклеотида).

Малые ядерные РНК, мя-РНК (**snRNA**) – сплайсинг, поддержка целостности теломер.

Малые ядрышковые РНК (**snoRNA**) – короткие с двумя неспаренными основаниями на концах – сплайсинг тРНК, мРНК, мяРНК.

Короткие РНК (**shRNA**) – образуют шпильки, выключают экспрессию генов.

Двухцепочечные РНК (**siRNA**) – участвуют в противовирусных ответах (21 нуклеотид).

пиви-РНК (**piRNA**) – связываются с особым типом белка – piwi прекращают экспрессию при сперматогенезе (26-30 нуклеотидов).

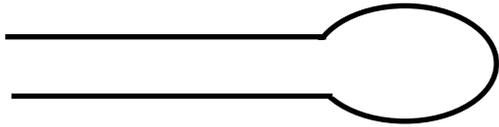
мт-РНК (**mtRNA**) – необычный тип РНК, который действует в качестве тРНК и мРНК, обнаружены во многих бактериях и пластидах. При остановке рибосомы на дефектных мРНК без стоп-кодонов, тмРНК присоединяет небольшой пептид, направляющий белок на деградацию.

Гид (редактор) РНК (**gRNA**) – редактирует молекулы ДНК и всех типов РНК

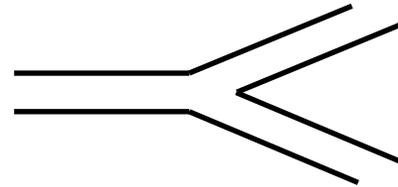
- Молекулы РНК имеют вторичную структуру – шпильки, петли, спирали.
- Для образования вторичной структуры необходимо наличие палиндромных последовательностей.
- tРНК имеют третичную структуру.
- ssRNA богаты вторичными и третичными структурами.

Третичными структурами обусловлены каталитические свойства рибозимов (RNA + enzyme = Ribozyme).

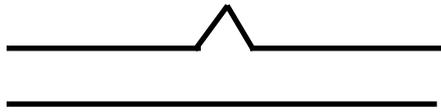
# Структурные мотивы РНК



Шпилька



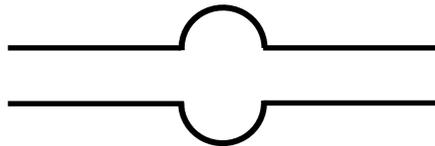
Y-образное разветвление



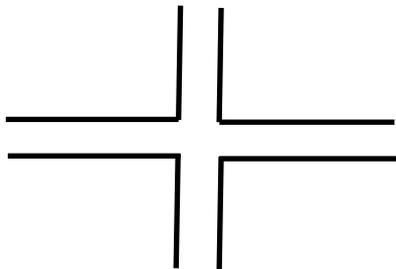
Выпетливание нуклеотида



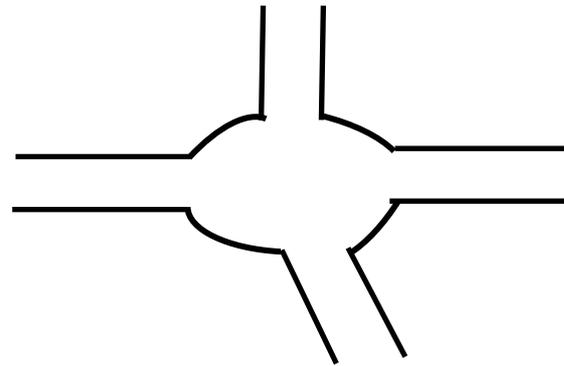
Выпетливание шпильки



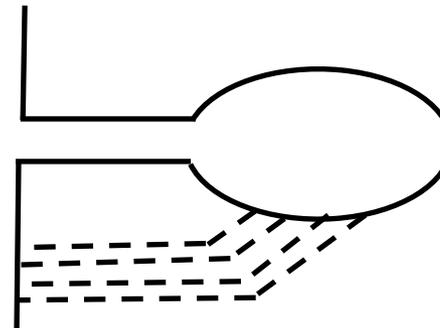
Выпетливание двух шпилек



Разветвление



Шпилька с разветвлениями



Псевдоузел

**Транспортные РНК (tРНК)** – короткие молекулы (70-90 нукл.), имеющие вторичную, и третичную структуры.

Вторичная структура – "**клеверный лист**".

Последовательность **ССА** на 3'-конце одинакова для всех tРНК.

К концевому аденозину (**А**) присоединяется **аминокислота**.

Наличие в tРНК тимина (**Т**), псевдоуридина (**Ψ**) в (ТΨС-петле), и дигидроуридина (ДГУ) (в D-петле) – минорных, т.е. редко встречающихся в РНК нуклеотидов, указывает на особенности ее строения, необходимые для безошибочного узнавания ферментами, для защиты от действия рибонуклеаз (поэтому **tРНК** – долгоживущие, в отличие от **mРНК**).

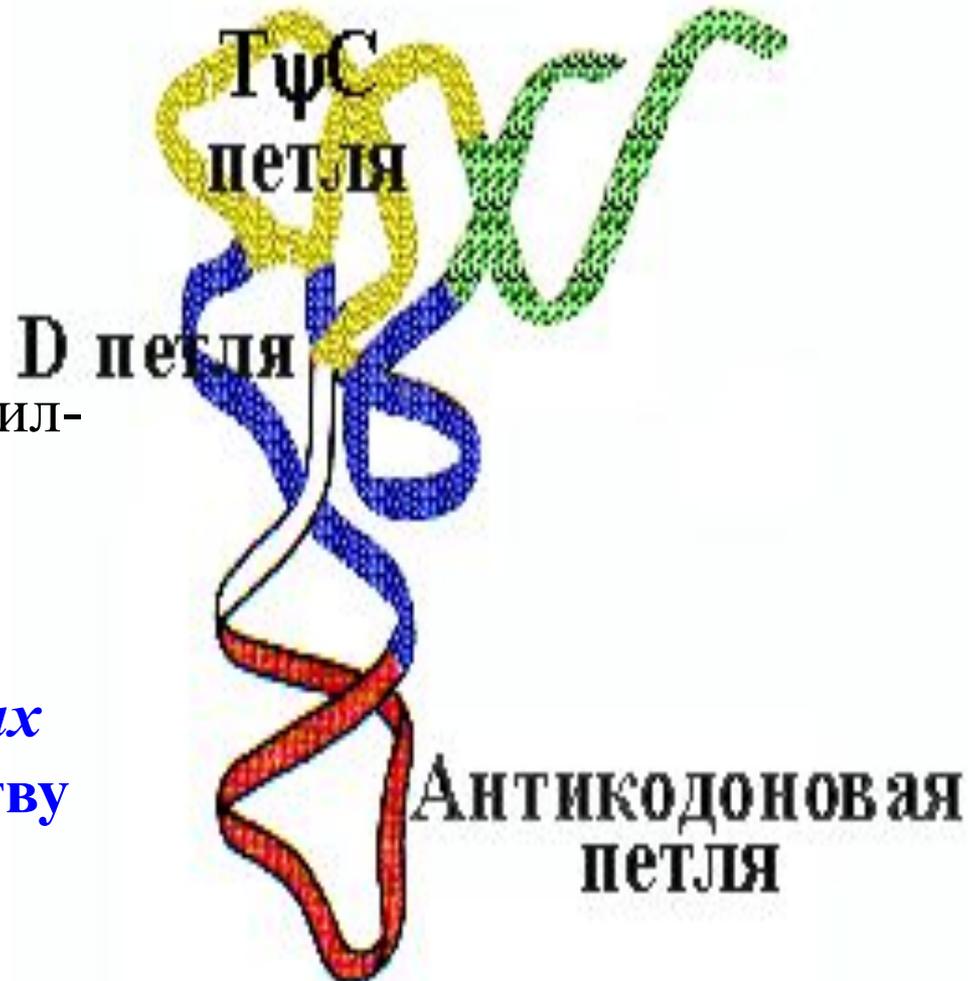


# Структура транспортной РНК

Третичная структура в проекции на плоскость имеет форму бумеранга.

*Разнообразие первичных структур tРНК – 61+1 – по количеству кодонов (соответственно числу антикодонов в tРНК) + формил-метиониновая tРНК, у которой антикодон такой же, как у метиониновой tРНК.*

*Разнообразие третичных структур – 20 (по количеству аминокислот).*



**Рибосомные rРНК** выполняют функцию каркасов субъединиц рибосом и принимают участие в синтезе полипептидов

**23S rРНК** входит в каталитический пептидилтрансферазный центр

**16S rРНК** необходима для установки на 30S субъединице иницирующего кодона mРНК

**5S rРНК** – для правильной ориентации аминоацил-tРНК на рибосоме.

**Все rРНК обладают развитой вторичной структурой: около 70% нуклеотидов собрано в шпильки.**

**S** – **Свэдберг** – внесистемная единица измерения коэффициента седиментации, который определяется как отношение скорости осаждения частиц, взвешенных в воде, к центробежному ускорению в центрифугах и ультрацентрифугах.

# Малые РНК

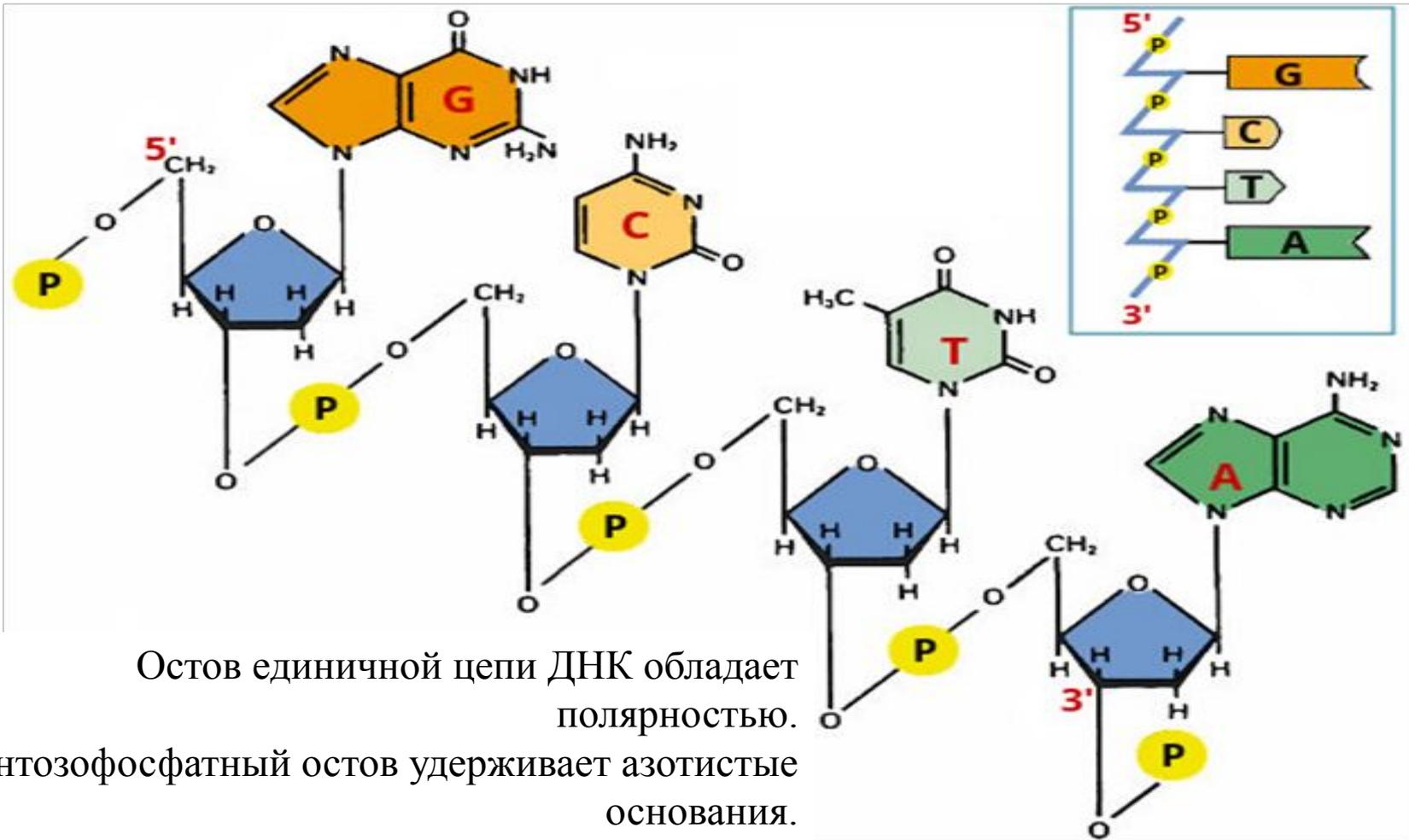
*sРНК* обнаружены в количестве  $10^3$ - $10^5$  копий на клетку.

Они обогащены урацилом, поэтому называются **U1, U2...** Размер от 100 до 300 нукл.

Кодируются в ядре, но работают как в ядре (**small nuclear - SN**), так и в цитоплазме (**small cytoplasmic - SC**). в ядре **snРНК** входят в состав РНП (рибонуклеопротеидные комплексы), участвующих в полиаденилировании и сплайсинге в цитоплазме входят в состав информосом.

Малая РНК **U4** присутствует в комплексах, участвующих в полиаденилировании. Если получить антитела к белкам, связывающимся с U4, то не происходит полиаденилирования и сплайсинга.

**(При красной волчанке вырабатываются антитела к белкам комплекса с U4)**



## Структура дезоксирибонуклеиновой кислоты

Полинуклеодитные цепочки первичной структуры ДНК достигают гигантских размеров, поэтому образуются с определенными закономерностями.

### Правила Чаргаффа

- сумма пуриновых нуклеотидов равна сумме пиримидиновых нуклеотидов, т. е.  $A+G / C+T = 1$
- содержание аденина равно содержанию тимина ( $A = T$ , или  $A/T=1$ );
- содержание гуанина равно содержанию цитозина ( $G = C$ , или  $G/C = 1$ );
- количество б-аминогрупп равно количеству б-кетогрупп оснований, содержащихся в ДНК:  $G + T = A + C$ ;
- изменчива только сумма  $A + T$  и  $G + C$ . Если  $A+T > G+C$ , то это АТ-тип ДНК; если  $G+C > A+T$ , то это ГЦ-тип ДНК.
- Эти правила говорят о том, что при построении ДНК должно соблюдаться довольно строгое соответствие (спаривание) не пуриновых и пиримидиновых оснований вообще, а конкретно тимина с аденином и цитозина с гуанином.

# Основные функции ДНК

Воспроизведение и передача генетической информации в поколениях клеток и организмов. Эта функция обеспечивается процессом репликации.

ДНК является носителем генетической информации, что обеспечивается фактом существования генетического кода.

Реализация генетической информации в виде белков, а также любых других соединений, образующихся с помощью белков-ферментов. Эта функция обеспечивается процессами транскрипции и трансляции.

# Формы организации двухцепочечной ДНК

ДНК может формировать несколько типов двойных спиралей. В настоящее время известно шесть форм (А, В, С, D, Е и Z-форма).

**Молекула ДНК высокой влажности получила название В-формы.** Это доминирующий структурный тип ДНК при физиологических условиях (низкая концентрация соли, высокая степень гидратации) – основная форма двухцепочечной ДНК (модель Уотсона-Крика).

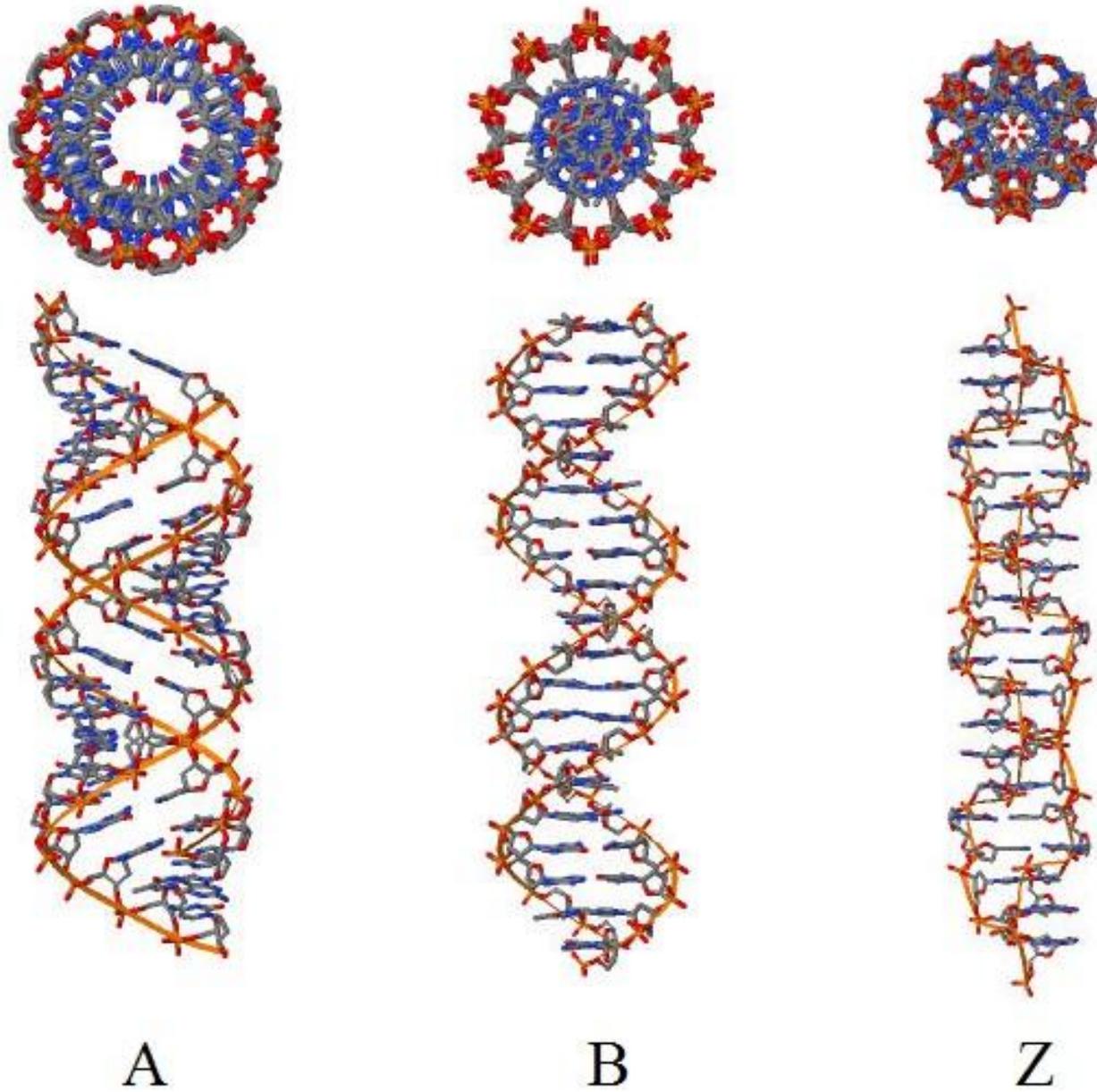
Шаг спирали такой молекулы равен 3,4 нм.

На виток приходится 10 комплементарных пар азотистых оснований.

Плоскости азотистых оснований перпендикулярны оси спирали.

Соседние комплементарные пары повернуты друг относительно друга на  $36^\circ$ .

Диаметр спирали  $20\text{\AA}$ , пуриновый нуклеотид занимает  $12\text{\AA}$ , а пиримидиновый –  $8\text{\AA}$ .



A

B

Z

**Z-форма ДНК** – образуется в местах B-формы ДНК, где пурины чередуются с пиримидинами или в повторах, содержащих метилированный цитозин.

**Молекула ДНК более низкой влажности получила название А-формы (модель Розалинд Франклин).**

А-форма образуется в условиях менее высокой гидратации и при более высоком содержании ионов  $\text{Na}^+$  или  $\text{K}^+$ . Эта более широкая правоспиральная конформация имеет 11 пар азотистых оснований на виток. Плоскости азотистых оснований имеют более сильный наклон к оси спирали, они отклонены от нормали к оси спирали на  $20^\circ$ . Отсюда следует наличие внутренней пустоты диаметром  $5\text{\AA}$ . Расстояние между соседними нуклеотидами составляет  $0,23$  нм, длина витка –  $2,5$  нм, диаметр спирали –  $2,3$  нм.

А-форму имеет спираль РНК-ДНК в комплексе матрица-затравка, а также спираль РНК-РНК и шпильчатые структуры РНК (2'-гидроксильная группа рибозы не позволяет молекулам РНК образовывать В-форму). А-форма ДНК обнаружена в спорах. Установлено, что А-форма ДНК в 10 раз устойчивее к действию УФ-лучей, чем В-форма.

**А-форму и В-форму называют каноническими формами ДНК.**

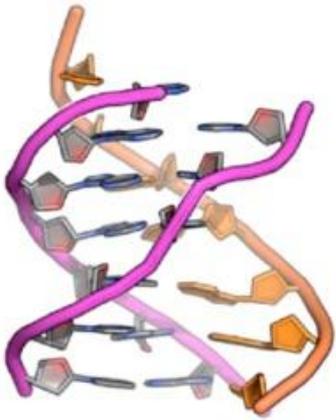
**Формы С-Е** также правоспиральные, их образование можно наблюдать только в специальных экспериментах, и, по-видимому, они не существуют *in vivo*. С-форма ДНК имеет структуру, сходную с В-ДНК. Число пар оснований на виток составляет 9,33, длина витка спирали равна 3,1 нм. Пары оснований наклонены на угол 8 градусов относительно перпендикулярного положения к оси. В С-форму могут переходить природные и синтетические полинуклеотиды ДНК.

С-форма является основой для построения трехцепочечных форм ДНК. **I-мотив**, или **ДНК I-формы**, состоит из двух параллельных С-нитей, интеркалированных по принципу «от головы до хвоста».

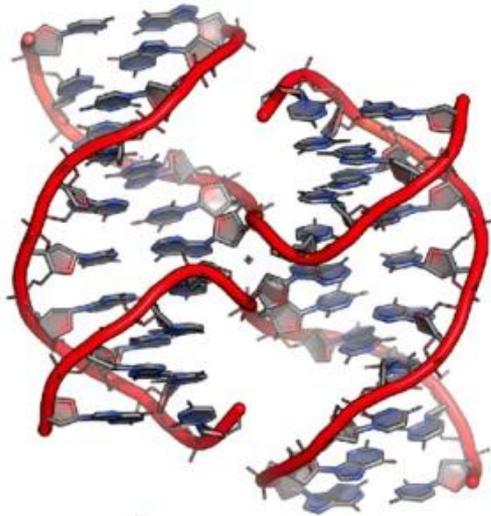
**Н-форма ДНК** и тройные спирали ДНК – образуются при наличии в одной цепи нормального Уотсон-Криковского дуплекса участка, содержащего только пурины, и во второй цепи, соответственно, комплементарные им пиримидины.

**G-квадруплекс (G-4)** – четырехцепочечная спираль ДНК, где 4 гуаниновых основания из разных цепей образуют G-квартеты (G-тетрады), скрепленные водородными связями с образованием G-квадруплексов.

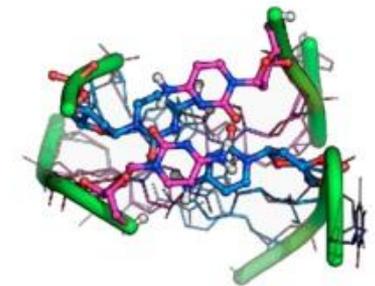
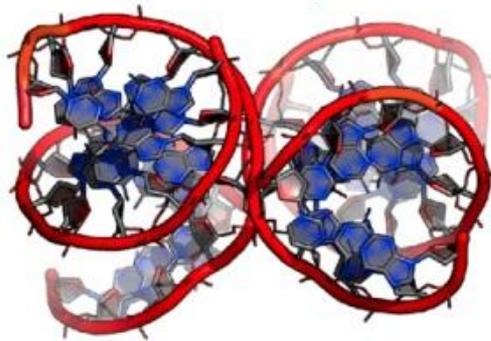
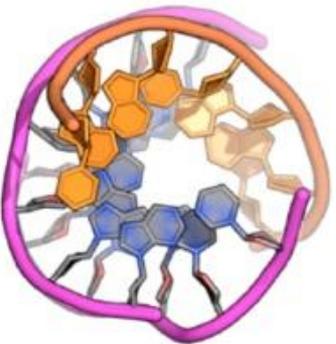
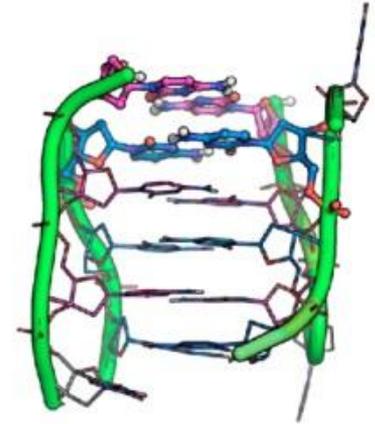
H-DNA



Holliday Junction



i-Motif

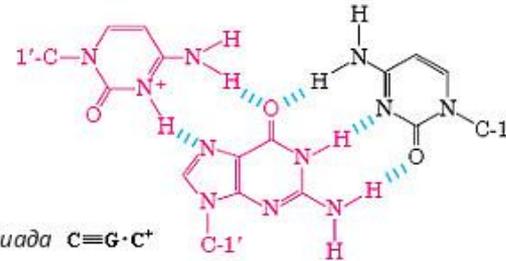
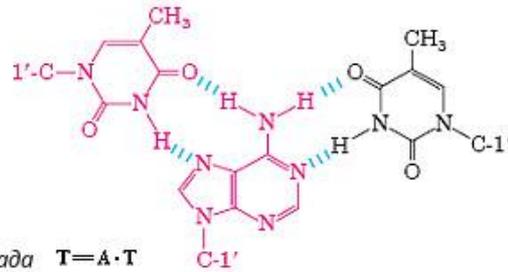


См. слайд 27

См. слайд 27

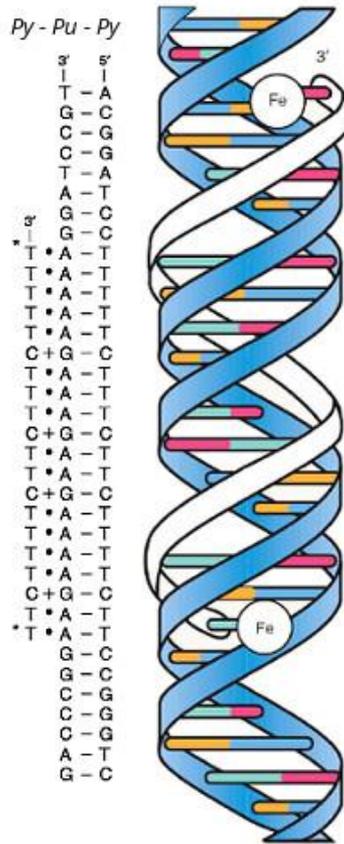
**Холидеевское соединение –**  
образование трехцепочечной  
ДНК при участии С-формы

# Тройная спираль ДНК (H-форма)

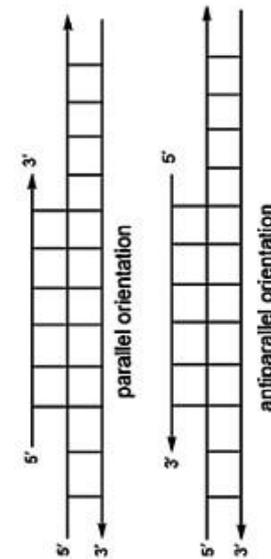


**Составляющие блоки Р<sub>у</sub>-Р<sub>и</sub>-Р<sub>у</sub> триплекса - каноническая изоформная TAT и CGC триады.**

Хугстеновское спаривание показано между основаниями красного цвета. Уотсон-кривовское спаривание между основанием красного и черного цвета.



Сплошной черной линией показаны уотсон-кривовские пары, прерывистой - хугстиновское взаимодействие в большой бороздке дуплекса двойной ДНК при образовании триплекса.

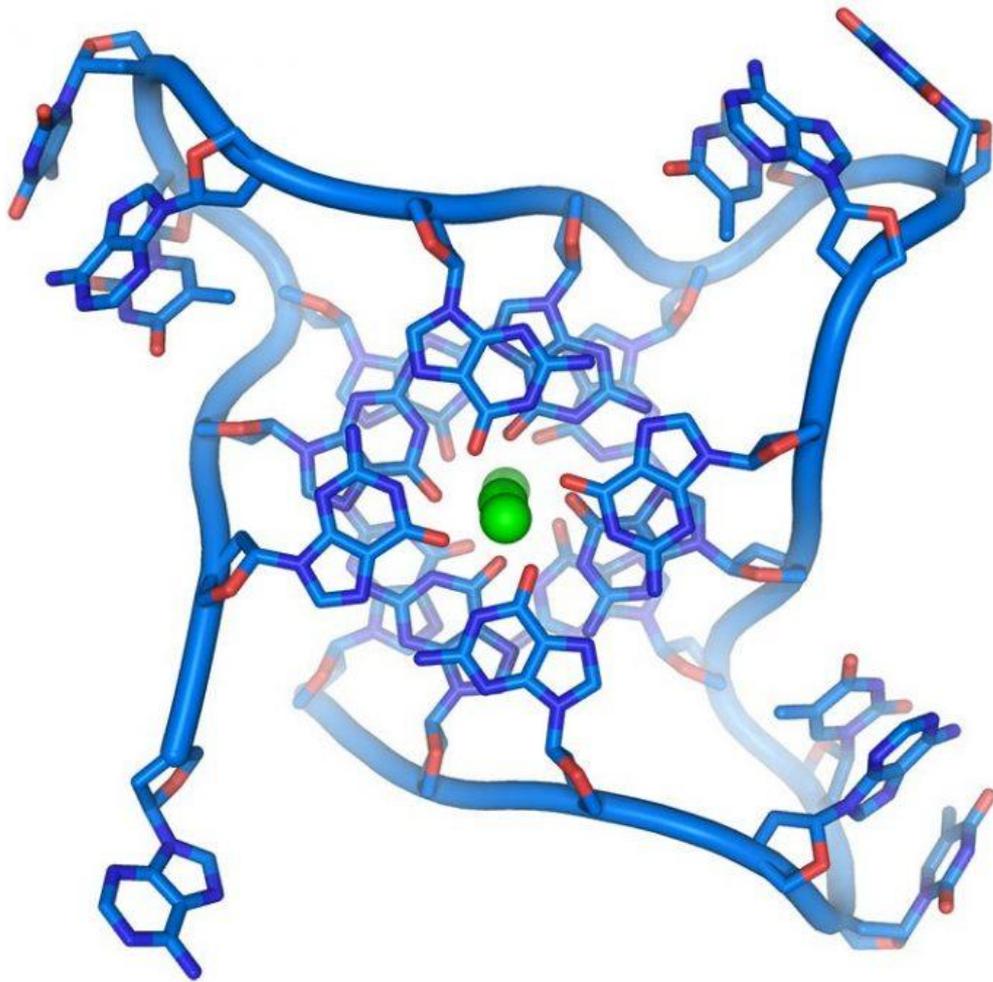


## Ориентации спирали ДНК

Схематическое изображение тройной спирали ДНК, антипараллельной и параллельной ориентации.

## Тройная спираль ДНК - Р<sub>у</sub>-Р<sub>и</sub>-Р<sub>у</sub>

Пуриновая цепь образует с пиримидиновой каноническую двойную спираль. Третья пуриновая цепь лежит в большой бороздке этой двойной спирали (отмечена белым). В подписи к рисунку уотсон-кривовское взаимодействие отмечено линией, хугстиновское взаимодействие отмечено звездочкой, плюсом отмечены места протонирования для стабилизации триплекса.



Очень большое сходство, да?  
TTAGGG — мы  
TTAGG — насекомые  
TTTAGGG — растения

G-квадруплекс – 4-х цепочная форма укладки ДНК в теломерах.

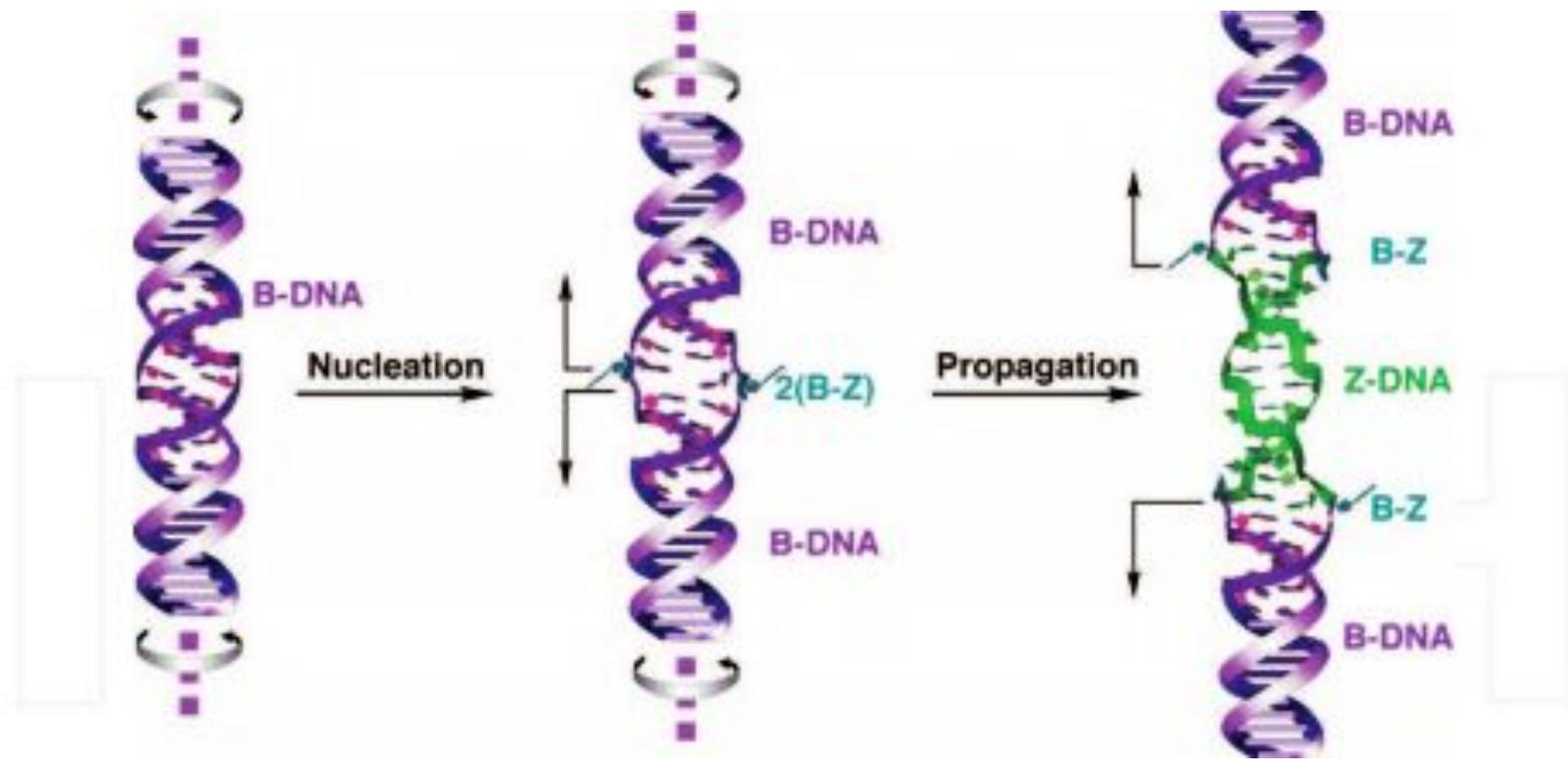
Теломеры всех позвоночных состоят из многочисленных повторов шести нуклеотидов TTAGGG, теломеры всех насекомых — из повторов TTAGG, в теломеры большинства растений — TTTAGGG.

**Z-форма ДНК** – левозакрученная спираль, образующаяся при нейтрализации отрицательного заряда на фосфодиэфирном каркасе, это наблюдается в участках ДНК, где пурины чередуются с пиримидинами (например, 5'-ГЦГЦГЦ-3'), или в повторах 5'-ЦГЦГЦГ-3', содержащих метилированный цитозин. При этом, другие участки ДНК в цепи остаются в классической В-форме.

Z-ДНК – наименее скрученная (12 пар оснований на виток) и наиболее тонкая из известных в природе.

Расстояние между соседними нуклеотидами составляет 0,38 нм, длина витка – 4,56 нм, диаметр Z-ДНК – 1,8 нм.

Кроме того, внешний вид этой молекулы ДНК отличается наличием одной бороздки. Z-форма ДНК была обнаружена в клетках прокариот и эукариот.



Переход В-формы в Z-ДНК. В-ДНК разматывается отрицательным суперсогласованием (вращение двух концов в разные стороны), что выдавливает две перевернутые пары оснований (два В-Z-перехода). Дальнейшее раскручивание образует левую Z-ДНК между двумя участками ДНК, крутящихся в противоположных направлениях.

# Третичная структура ДНК

**Третичная структура ДНК** образуется в результате дополнительного скручивания в пространстве двуспиральной молекулы – ее суперспирализации. Суперспирализация молекулы ДНК в эукариотических клетках осуществляется в форме комплексов с гистоновыми и негистоновыми белками.

## Гистоновые белки хроматина

Гистоны – простые белки, составляют до 50% хроматина. Во всех изученных клетках животных и растений обнаружено **пять основных классов гистонов:**

**H1, H2A, H2B, H3, H4,**

различающихся по размерам, аминокислотному составу и величине заряда (всегда положительный).

**Гистон H1**, представляет собой не уникальную молекулу, а класс белков, состоящих из нескольких близкородственных белков с перекрывающимися последовательностями аминокислот, их общим свойством является обогащенность лизином.

**Гистоны H3 и H4** относят к аргинин-богатым, из-за относительно высокого содержания в них этой аминокислоты. Эти гистоны являются наиболее консервативными из всех исследованных белков: их аминокислотные последовательности практически одинаковы даже у таких отдаленных видов как корова и горох (всего две аминокислотных замены).

**Гистоны H2A и H2B** – это умеренно обогащенным лизином белки. У различных объектов внутри этих групп гистонов обнаруживаются межвидовые вариации в их первичной структуре, в последовательности аминокислот.

**Гистон H1** млекопитающих состоит из одной полипептидной цепи, содержащей примерно 215 аминокислот. Размеры других же гистонов варьируют от 100 до 135 аминокислот. Все они спирализованы и скручены в глобулу диаметром около 2,5 нм, содержат необычно большое количество положительно заряженных аминокислот лизина и аргинина.

Гистоны могут быть ацетилированы, метилированы, фосфорилированы, поли(АДФ)-рибозилированы, а гистоны H2A и H2B – ковалентно связаны с убиквитином. Предполагается, что в этом заключается их способность взаимодействовать с ДНК и обеспечивать один из механизмов регуляции действия генов.

Гистоны взаимодействуют с ДНК в основном через ионные связи (солевые мостики), образующиеся между отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК и положительно заряженными лизиновыми и аргининовыми остатками гистонов.

## Негистоновые белки хроматина

Выделено до 590 разных фракций ДНК-связывающих негистоновых белков. Их еще называют кислыми белками, так как в их структуре преобладают кислые аминокислоты (они являются полианионами).

С разнообразием негистоновых белков связывают специфическую регуляцию активности хроматина. Например, ферменты, необходимые для репликации и экспрессии ДНК, могут связываться с хроматином временно.

Другие белки, например, участвующие в различных процессах регуляции, связываются с ДНК только в специфических тканях или на определенных стадиях дифференциации. Каждый такой белок комплементарен определённой последовательности нуклеотидов ДНК (сайт ДНК).

## К этой группе белков относят:

- ✓ семейство сайт-специфических белков типа "цинковые пальцы". Каждый "цинковый палец" узнаёт определённый сайт, состоящий из 5 нуклеотидных пар.
- ✓ семейство сайт-специфических белков – гомодимеры. Фрагмент такого белка, контактирующий с ДНК, имеет структуру "спираль-поворот-спираль".
- ✓ белки высокой подвижности (НМГ-белки – от англ, high mobility gel proteins) – группа структурных и регуляторных белков, которые постоянно ассоциированы с хроматином. Они характеризуются высоким содержанием заряженных аминокислот. Благодаря небольшой молекулярной массе НМГ-белки обладают высокой подвижностью при электрофорезе в полиакриламидном геле.
- ✓ ферменты репликации, транскрипции и репарации.

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 ДНК.

## Структурная организация ДНК в хромосомах (уровни компактизации)



Участок двойной спирали ДНК



**Нуклеосомный уровень**

ДНК намотана на белковые "бусины" - белки - гистоны с образованием нуклеосомной нити.



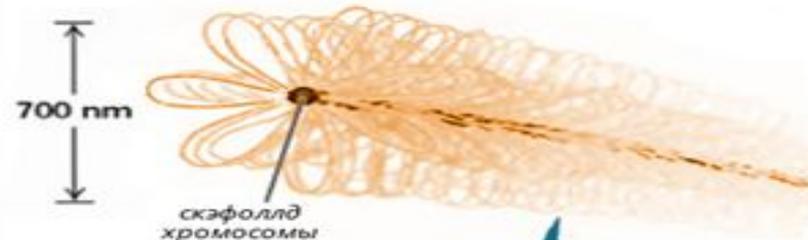
**Соленоидный уровень**

Скручивание нуклеосомной нити с образованием хроматинового волокна - фибриллы. Компактная укладка "бусин" по типу соленоида или супербида.



**Петлевой уровень**

Упаковка хроматиновых фибрилл петлями. Петли фиксируются специальным белковым матриксом (скэфолд).



**Доменный уровень**

Образование петельных доменов, которые своим основанием прикрепляются к белковому матриксу в SAR (scaffold attachment regions) областях - фрагментах ДНК с высоким содержанием А/Т пар нуклеотидов.



**Хромосомный уровень**

последний (высший) уровень компактизации ДНК. Митотическая хромосома, состоящая из двух хроматид.

## Вопрос 2. Полиморфизм ДНК.

ДНК полиморфизм — существование у одного вида различий по нуклеотидной последовательности.

Источником ДНК-полиморфизма служат **мутации**, которые могут не только передаваться потомком, но и размножаться в популяции.

Когда один из вариантов нуклеотидных последовательностей определенного участка ДНК выявляется более чем у 1% особей, то такую вариабельность чаще всего называют ДНК-полиморфизмом, если же менее 1% — просто мутацией.

*Отличие между мутациями и полиморфизмом достаточно условно.*

# Причины возникновения мутаций – внешние:

Космическая и солнечная радиация (УФ, рентгеновское излучение); земная радиация.

Мутагены окружающей среды (в основном – антропогенной природы: промышленные и бытовые отходы, ядерные взрывы; удобрения и ядохимикаты, мутагены пищевых продуктов, лекарства).

а еще ацетальдегид,  
акролеин, и  
полоний



Нитрозамины – образуются из алкалоидов табака ( злокач. опухоли легких, пищевода...).

В жареном мясе → гетероциклические амины, в копченом → полициклические гидрокарбонаты

**Причины возникновения мутаций – внутренние:**  
Инфекции – вирусные. Размножаясь в клетках хозяина, вирусные частицы встраивают «хозяйские» гены в свою ДНК.

Ошибки при репликации ДНК (недостаточно эффективная работа систем репарации). Каждый раз, когда клетка делится, копируется  $> 3$  млрд. нуклеотидов!

Феномен точного удвоения молекулы ДНК, в основе которого лежит комплементарность оснований этой молекулы, составляет молекулярную основу наследственности и обеспечивает будущее всего вида.

Чем больше раз копируется (реплицируется) ДНК, тем больше в ней накапливается ошибок.

Ошибки репликации – причина того, что у новорожденного человека, «мужских» мутаций в среднем в 5 раз больше, чем «женских».

Ооцит – до мейоза проходит через 25 митозов.

Число митозов, через которое проходит сперматогоний до мейоза, зависит от возраста мужчины:

- если 18 лет – 100 митозов
- если 50 лет – 800 митозов

РЕЗУЛЬТАТ:

От матери ребенок получает в среднем 15 мутаций, независимо от ее возраста.

От отца — в зависимости от возраста:

отцу 20 лет — 25 мутаций,

отцу 40 лет — 65,

отцу 50 лет — 85 мутаций.

Мутации продолжают происходить после зачатия!  
Только в головном мозге к моменту рождения наблюдается до 400 мутаций.

## Виды генетического полиморфизма:

полиморфизм единичных нуклеотидов –

**SNP (Single Nucleotide Polymorphisms)** –

самый распространенный тип

вариабельности нуклеотидных

последовательностей ДНК (99% всех

измененных вариантов).

Мы отличаемся друг от друга в 1

позиции нуклеотидов из 800 – 1000.

**SNP – основная причина индивидуальных генетических различий.**

Короткие тандемные повторы – STR

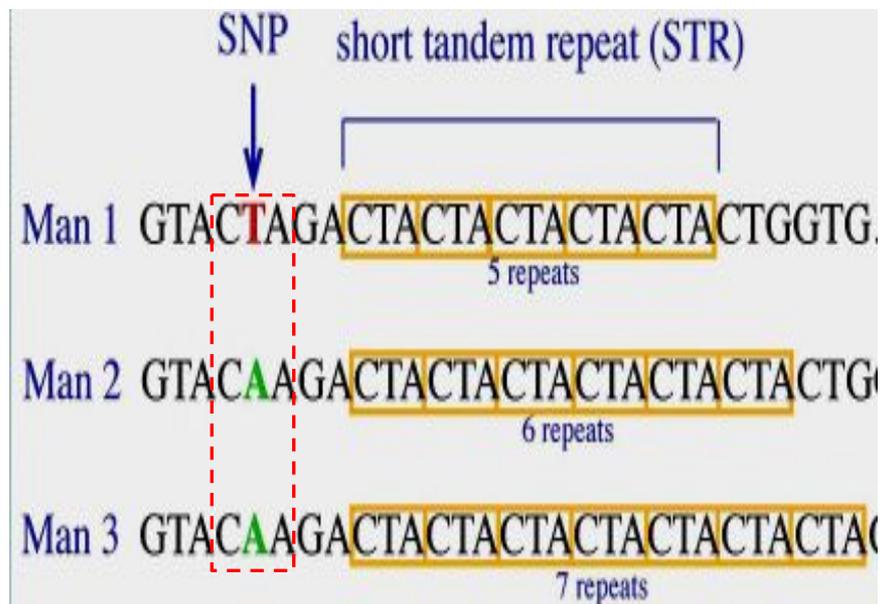
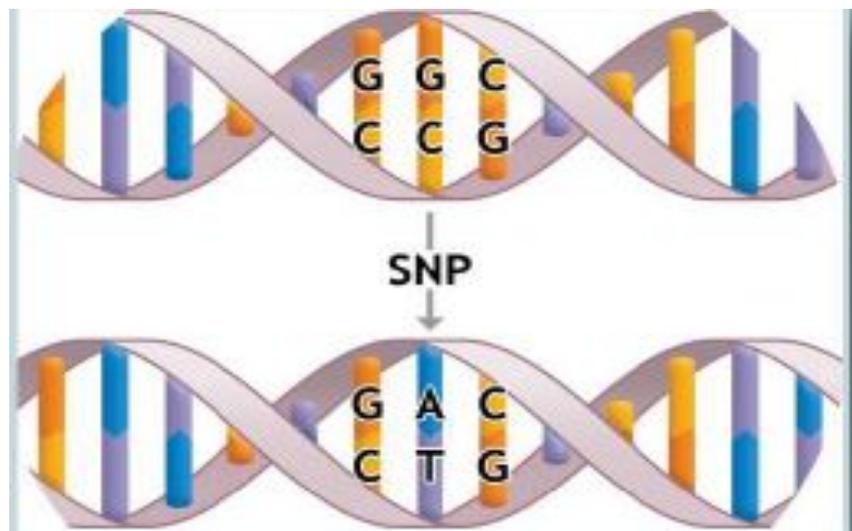
**(Short Tandem Repeat)** – различие в

числе коротких нуклеотидных

последовательностей (мини- (>7) и

микросателлиты (1-7)).

**STR являются причиной некоторых наследственных болезней только у человека.**



**SNP** отвечают за наличие качественно новых свойств организма, частота их распространения отличается между различными этническими или географическими группами, в соответствии с определенными условиями жизнедеятельности конкретной популяции.

В отдельных случаях **SNP** могут приводить к аминокислотным заменам с развитием моногенного заболевания.

Так, во многих странах Азии и Африки, где взрослые не пьют молоко, лактаза перестает синтезироваться после пятилетнего возраста. При этом, употребление коровьего молока приводит к расстройству пищеварения.

У части европейцев упомянутый фермент синтезируется вследствие наличия мутации в регуляторной области кодирующего гена LCT, а именно: C-13910T, G-22018C и др., которые появились около 9-10 тыс. лет назад после появления молочного животноводства.

Платой за повышение выживания и приспособленность гетерозиготных носителей мутаций может быть гибель гомозиготных носителей, которые встречаются на порядок реже.

Например, в гетерозиготном состоянии мутация гена *HEXA* обуславливает невосприимчивость к микобактериям туберкулеза, в гомозиготном – наследственное заболевание Тея-Сакса.

Носители мутации серповидно-клеточной анемии не болеют малярией.

Мутации гена *CFTR* (а именно:  $\Delta F508$ ,  $G542X$ ,  $R553X$ ,  $W1282X$ ,  $N1303K$ ,  $dele2,3(21kb)$  и др.), которые приводят к нарушению регуляции водно-электролитного баланса, в гомозиготном состоянии вызывают муковисцидоз, а в гетерозиготном – снижают интенсивность выделения жидкости через стенки кишечника.

**Ген HEXA** – ген гексозаминидазы А локализуется на 15-ой хромосоме человека в позиции q23-q24 (Takeda K., 1990; Nakai H., 1991).

**Ген HBB** – его мутация приводит к замене глутаминовой кислоты в шестом положении  $\beta$ -цепи гемоглобина на валин, вследствие чего синтезируется аномальный гемоглобин S, который в условиях гипоксии полимеризуется и образует длинные тяжи, в результате чего эритроциты приобретают серповидную форму. В гетерозиготном состоянии обеспечивает устойчивость к малярии.

**Ген CFTR Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator** – ген трансмембранного регуляторного белка, мутация которого вызывает муковисцидоз, локализуется на 7-ой хромосоме в локусе q31.2.

Если мутация не несет угрозы существованию вида, или даже является полезной, то в течение некоторого времени она распространяется среди популяции. Это приводит к тому, что около 90% сравнительных нуклеотидных последовательностей различных людей будут отличаться по отдельным основаниям, что называют полиморфизмом простых нуклеотидов.

# Размер **STR** областей в геномах

Варьирует между таксонами:

- У **дрожжей** он достигает 20%.
- У **млекопитающих** до 60%
- У **растений** может превышать 80%.





# Классификация STR

1. По взаимной ориентации

- ✓ прямые,
- ✓ инвертированные,
- ✓ симметричные повторы,
- ✓ палиндромы,
- ✓ комплементарные палиндромы



**А роза упала на лапу Азора – текстовая симметрия.**

**Палиндромы** (перевертыши) – одинаковое чередование нуклеотидов вдоль цепи справа налево и слева направо («шалаш»). Палиндром характеризуется наличием инвертированных повторов последовательностей оснований имеющих симметрию второго порядка относительно двух цепей ДНК.

Такие последовательности являются самокомплементарными и имеют склонность к образованию **шпилечных** или **крестообразных** структур. Шпильки помогают регуляторным белкам узнавать место считывания генетического текста ДНК хромосом.

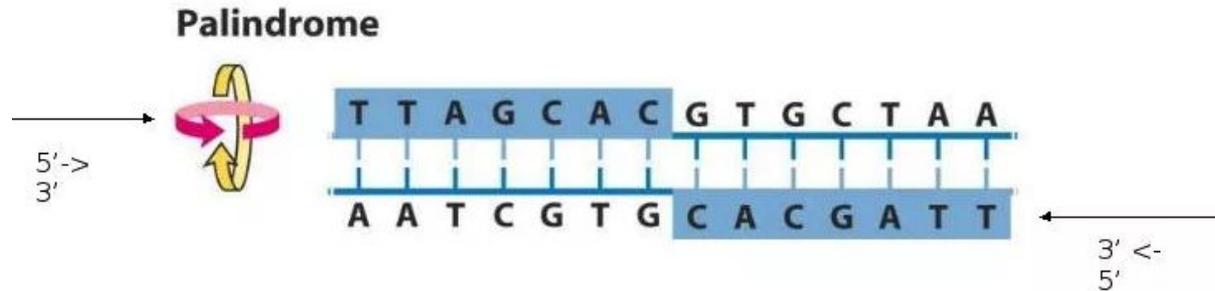
Если инвертированный повтор присутствует в одной и той же цепи, ДНК такая последовательность называется **зеркальным** повтором.

Зеркальные повторы не обладают свойствами самокомплементарности и, поэтому не способны к формированию шпилечных или крестообразных структур.

Наличие в составе РНК или одноцепочечных ДНК самокомплементарных последовательностей служит основной причиной сворачивания в растворах нуклеиновой цепи в определенную пространственную структуру, отличающуюся формированием множества «шпилек».

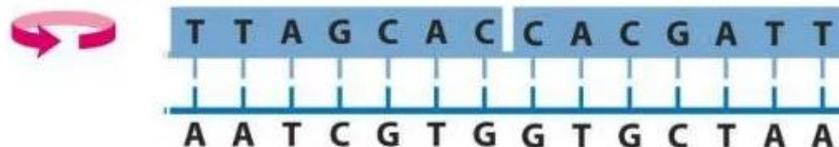
**Палиндромы** – специфические последовательности в двуцепочечной ДНК, обладающие симметрией второго порядка. Это означает, что при повороте двуцепочечной последовательности на  $180^\circ$  относительно оси, перпендикулярной к плоскости в которой расположены основания, их положения в двух цепях ДНК не изменятся.

Для наложение одного повтора на другой его необходимо вначале повернуть на  $180^\circ$  относительно горизонтальной оси, а затем на  $180^\circ$  относительно вертикальной оси (как это показано цветными стрелками).



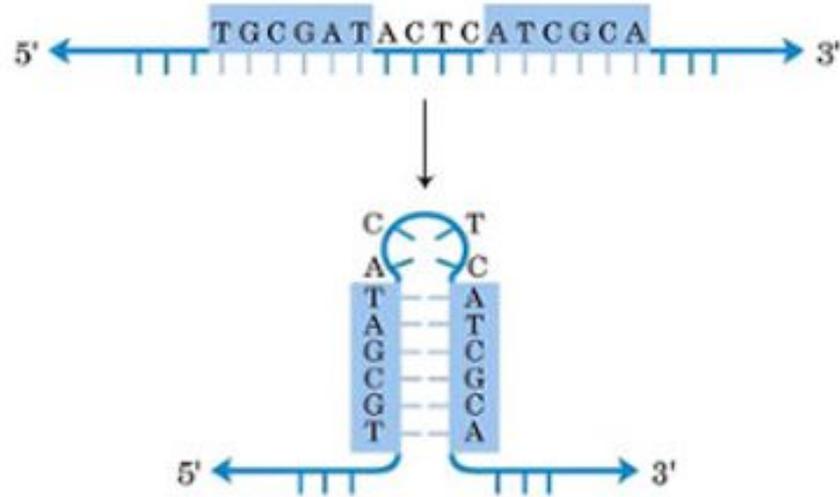
**Зеркальные повторы** – специфические последовательности, отличающиеся симметрией в каждой цепи ДНК. Для наложения одного повтора на другой достаточно одного единственного поворота последовательности на  $180^\circ$  вокруг вертикальной оси (Nelson D.L., Cox M.M., Lehninger Principles of Biochemistry, W.H. Freeman (ed.) San Francisco, 2004).

**Mirror repeat**



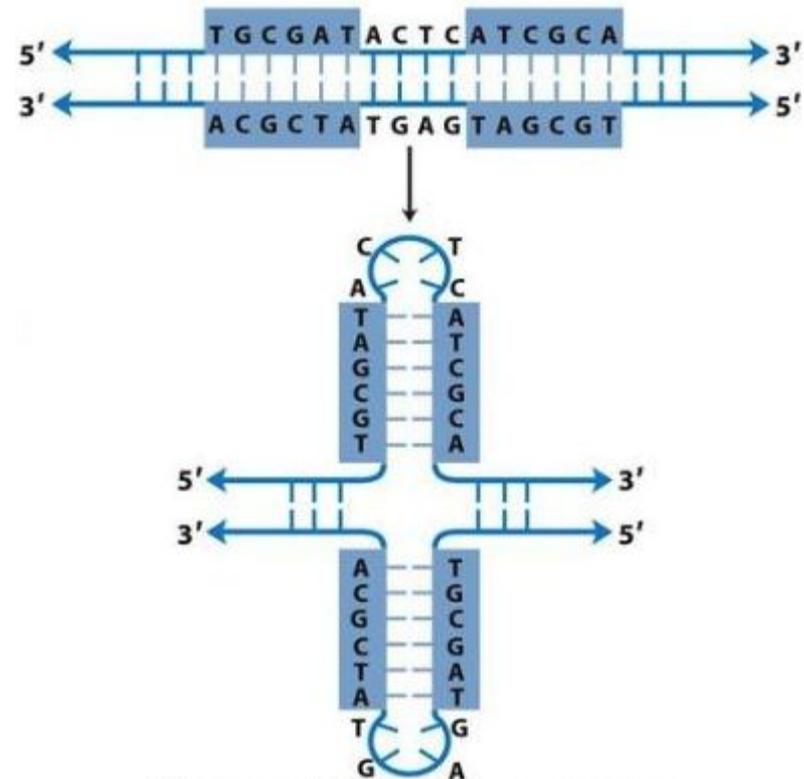
## Шпилечная структура РНК

Палиндромная последовательность в РНК, способная формировать альтернативную структуру за счет внутрицепочечного спаривания оснований. Шпилька, характерная для одноцепочечной РНК.

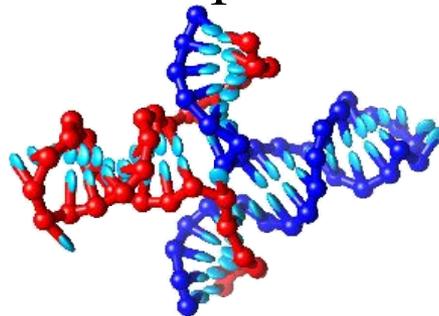


## Крестообразная структура ДНК

Палиндромная последовательность в ДНК, формирующая альтернативную структуру за счет внутрицепочечного спаривания оснований. Двойной участок ДНК, содержащий палиндром, образующий крестообразную структуру.



Крестообразная структура



# Классификация повторов

2. На основе ренатурации

- ✓ Быстрые повторы
- ✓ Умеренные повторы
- ✓ Уникальные гены

# Сателлитная ДНК

## ДНК с тандемно-организованными высокоповторенными

У некоторых видов эти повторы составляют большинство геномной ДНК. Например, у кенгуровой крысы (*Dipodomys ordii*) более 50% всего генома состоит из трех повторенных последовательностей: ААG (2,4 млрд. копий), ТТАGGG (2,2 млрд. копий) и АСАAGCGGG (1,2 млрд. копий)



# Классификация спутников

1. **Микроспутники** – от 1 до 10 пар оснований в основном повторяющемся блоке
2. **Миниспутники** – с большим числом пар оснований в индивидуальном повторе

# Виды сателлитов

## 1. Классические сателлиты

**Сателлит 1**, имеющий элементарную повторяющуюся единицу длиной **42 н. п.** и обнаруженный на хромосомах 3 , 4 , 13 , 14 , 15 , 21 , 22 ;

**Сателлит 2**, имеющий элементарную повторяющуюся единицу длиной **5 н. п.** и обнаруженный на хромосомах 1 , 2 , 10 , 16 ;

**Сателлит 3**, имеющий элементарную повторяющуюся единицу длиной **5 н. п.** и обнаруженный на хромосомах 1 , 5 , 9 , 10 , 13 , 14 , 15 , 17 , 20 , 21 , 22 , Y ;

**н. п.** – нуклеотидных пар

# Виды сателлитов

2.  **$\alpha$ -сателлитные повторы**, имеющие элементарную повторяющуюся единицу длиной **171 н. п.** и обнаруженные на всех хромосомах человека;
3.  **$\beta$ -сателлитные повторы**, имеющие элементарную повторяющуюся единицу длиной **68 н. п.** и обнаруженные на хромосомах 1 , 3 , 9 , 13 , 14 , 15 , 21 , 22 , Y ;
4.  **$\gamma$ -сателлитные повторы**, имеющие элементарную повторяющуюся единицу длиной **220 н. п.** и обнаруженные на хромосомах 8 , X
5. **сателлитные повторы** , имеющие элементарную повторяющуюся единицу длиной **48 н. п.** и обнаруженные на хромосомах 13 , 14 , 15 , 21 , 22 , Y ;
6. **Sn5-сателлитные повторы**, обнаруженные на хромосомах 2 , 13 , 14 , 15 , 20 , 21 , 22 (длина повторяющейся единицы неизвестна).

# Особенности сателлитов

1. Эта ДНК никогда не транслируется и встречается в **конститутивном гетерохроматине**

В хромосоме чередуются участки гетерохроматина и эухроматина.

- ✓ Участки хромосом, которые в зависимости от стадий клеточного цикла могут быть в состоянии как гетеро-, так и эухроматина называют **факультативным гетерохроматином**.
- ✓ Участки, которые всегда уплотнены – **конститутивный гетерохроматин**. В нем, как правило, генов нет.

2. **Сателлитная ДНК обязательно располагается в центромерном районе**

В местах расположения сателлитной ДНК максимально компактизована. В конститутивном гетерохроматине все четыре уровня упаковки ДНК представлены даже в интерфазе.

# Особенности сателлитов

3. Сателлитная ДНК всегда располагается тандемно по 100-200 единиц в блоке.
4. У недавно образовавшихся на одной территории близких видов сателлитная ДНК разная.

## 2. Умеренные повторы

Транскрибируемые и транслируемые или только транскрибируемые последовательности ДНК

Гены	Гены	Регуляторные участки
Транскрибируемые и транслируемые Гены белков рибосом, гистоновые гены, гены мембранных белков, цитоскелетных белков, гены иммуноглобулинов	Транскрибируемые Гены rРНК, sРНК, tРНК	Энхансерные модули, ori Репликации, промоторы и терминаторы транскрипции

# 1. Классификация генов (в том числе уникальные гены (3))

## 1. Уникальные гены, имеющие специализированную функцию.

Например, глобиновый, инсулиновый и другие гены. Они экспрессируются лишь в определенных клетках.

## 2. Уникальные гены, обладающие общими функциями, экспрессирующиеся в подавляющем большинстве клеток.

Эти гены плохо изучены.

## 3. Множественные сгруппированные гены.

Это гены rРНК, часть генов tРНК, часть гистоновых генов.

## 4. Множественные рассеянные гены.

Это оставшаяся часть гистоновых генов, оставшиеся гены tРНК и большинство генов sРНК, а так же МДГ (мобильные диспергированные (рассеянные) гены).



## II. Классификация генов

1. **гены «домашнего хозяйства»** (кодируют то, что всегда нужно любой клетке независимо от типа ткани: гистоновые гены, гены tРНК, rРНК и т.п.)
2. **гены «роскоши»** (это гены, которые экспрессируются в клетках определенных тканей и в определенное время).

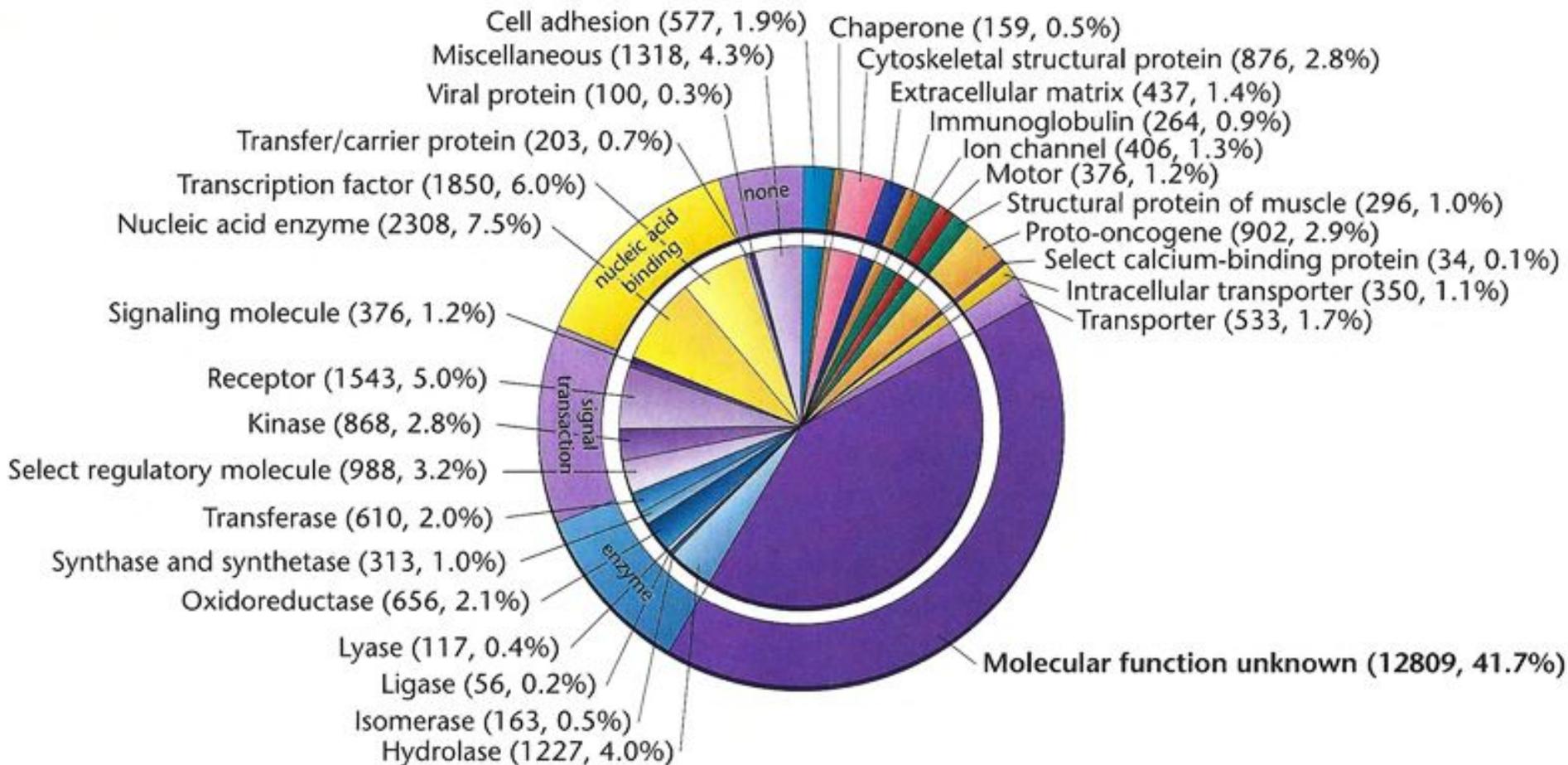




# Структура генома человека

1. **63-74%** длины генома занимают межгенные пространства, а половина из них – повторы.
2. Ген человека внутри «пустой»: **95%** внутригенной ДНК – интроны.
3. Общая длина белок кодирующей ДНК около **1%** от геномной ДНК человека.
4. Длина, кодирующей ДНК человека, лишь в **3** раза больше длины генома бактерий.

# Распределение функций генов человека



## **Вопрос 3. Экстраядерные, транспозлируемые, вирусные ДНК.**

Экстраядерные (экстрахромосомных) ДНК  
прокариот и эукариот:

1. ДНК плазмид (бактерии, низшие грибы и др.).
2. ДНК органелл (митохондрии, хлоропласты, кинетопласты).
3. ДНК амплифицированных и транспозлируемых генов

# Плазмиды

интегративные  
плазмиды  
(эписомы)

мобилизующие  
плазмиды  
(конъюгативные)

мобилизуемые  
плазмиды  
(неконъюгативные)

F-плазмиды

Hly-плазмиды

трансмиссивные  
плазмиды

R-плазмиды

Col-плазмиды

Ent-плазмиды

**Плазмиды** — внехромосомные **мобильные генетические структуры**, представляющие собой замкнутые кольца двунитчатой ДНК, их отличительной способностью является автономное копирование (реплицирование).

**Эписомы** могут включаться (интегрировать) в хромосому и реплицироваться вместе с ней.

**Трансмиссивные** (конъюгативные) плазмиды могут передаваться из одной бактерии в другую.

**Нетрансмиссивные** плазмиды не могут передаваться из одной бактерии в другую.

**R-плазмиды**, несут гены, ответственные за множественную устойчивость к лекарственным препаратам — антибиотикам, сульфаниламидам и др..

**F-плазмиды** — половой фактор бактерий, определяющий их способность к конъюгации и образованию половых пилей через которые происходит перенос основной молекулы ДНК или трансмиссивные плазмиды.

**Ent-плазмиды**, детерминируют продукцию энтеротоксина.

**Col-плазмиды** — колицинов.

**Hly-плазмиды** — гемолизинов.

Известны плазмиды, контролирующие разрушение многих органических соединений и др. свойства. Благодаря фактору переноса эти плазмиды конъюгативны.

**Мобилизуемые (неконъюгативные) плазмиды** не содержат детерминантов, придающих бактериальным клеткам свойства генетических доноров, и поэтому они не способны самостоятельно передаваться от одних клеток к другим.

**Мобилизующие (конъюгативные) плазмиды** осуществляют перенос мобилизуемых плазмид в реципиентные клетки.

Плазмиды могут определять вирулентность бактерий, например возбудителей чумы, столбняка, способность почвенных бактерий использовать необычные источники углерода, контролировать синтез белковых антибиотикоподобных веществ — бактериоцинов, детерминируемых плазмидами бактериоциногении, и т. д.

Существование множества других плазмид у микроорганизмов позволяет полагать, что аналогичные структуры широко распространены у самых разнообразных микроорганизмов.

Плазмиды подвержены рекомбинациям, мутациям, могут быть элиминированы (удалены) из бактерий, что, не влияет на их основные свойства. Благодаря быстрому самокопированию и возможности конъюгационной передачи плазмид внутри вида, между видами или даже родами плазмиды играют важную роль в эволюции бактерий.

**Митохондриальные ДНК** характеризуются небольшими размерами.

Например, размеры молекул ДНК митохондрий разных животных (включая плоских червей, насекомых и млекопитающих) составляют 15 700 — 20 000, человека — 16 569 п. о.

У трипаносом и парамеций он равен 22 000 и 40 000 п. о.; хлоропластов 12 000 — 200 000 п. о., у дрожжей — 78 000 п. о.

Во многих случаях показано, что ДНК митохондрий и хлоропластов сплошь состоит из нуклеотидных последовательностей, гомологичных последовательностям хромосомной ДНК.

**Митохондриальный** геном человека состоит из 37 генов, которые кодируют собственные рибосомные РНК (12S- и 16S-рРНК.) и 22 разные транспортные РНК, а также разные полипептиды, включая субъединичные компоненты I, II, III оксидазы цитохрома С, субъединицы АТФазы, цитохрома В и девяти других белков, функции которых не известны.

Геном хлоропластов ряда высших растений состоит из 120 генов. Они кодируют 4 рибосомных РНК, 30 рибосомных белков, часть субъединиц хлоропластной РНК-полимеразы, часть белков, содержащихся в фотосистемах I и II, белковые субъединицы АТФ-синтетазы и отдельных ферментов цепи транспорта электронов, а также белковую субъединицу рибулозобисфосфаткарбоксидазы и очень многих тРНК. Хлоропластный геном очень сходен с бактериальным геномом, как по организации, так и по функциям.

В митохондриальном геноме человека, вероятно, интроны, но в ДНК хлоропластов некоторых высших растений, а также в ДНК митохондрий грибов интроны обнаружены. Считают, что хлоропластные геномы высших растений остаются без изменений примерно несколько миллионов лет. Возможно, что такая древность характерна и для митохондриальных геномов млекопитающих, включая человека.

ДНК, входящая в состав **кинетопластов** состоит из тысяч кольцевых двухцепочечных молекул размером 20-38 (макси-кольца) или 0,5-2,5 (мини-кольца) тыс. п. о.; макси-кольца идентичны митохондриальной ДНК эукариот, в то время как биологическая роль мини-колец пока окончательно неясна;

**Кольцевая ДНК** характерна для трипаносом отряда *Kinetoplastida*.

**ДНК амплифицированных генов.** Эта ДНК встречается в форме экстрахромосомных кольцевых молекул. Например, когда эукариотические клетки культивируют в средах с лекарственными веществами, то происходит селекция резистентных клеток с повышенным количеством копий гена, контролирующего резистентность. Клетки многих опухолей содержат также экстрахромосомные амплифицированные гены. **Эти молекулы** встречаются в цитозоле, в ядре и митохондриях клеток многих организмов-эукариотов.

Почти половину генома человека составляют различные транспозируемые элементы (transposable elements, TEs). Они делятся на два основных класса: ДНК транспозоны (DNA transposones) и ретроэлементы (retroelements).

ДНК-транспозоны меняют эволюционную траекторию своего хозяина благодаря следующим механизмам:

- 1) через изменение функции генов путем вставок генов, регуляторных элементов, «перетасовок» экзонов и интронов;
- 2) через индукцию хромосомных перестановок;
- 3) как источники кодирующей и не кодирующей ДНК, которая позволяет появляться различным генетическим новинкам, таким как новые гены и регуляторные последовательности.

Транспозлируемые элементы клеток-прокариот перемещаются по маршруту хромосома → плаزمиды → другая плаزمиды → хромосома.

Перемещение транспозонов обеспечивается специализированным репликативным процессом, который не связан с генерацией экстрахромосомных форм.

В экспериментальных условиях любой транспозон можно включить практически в любую плазмиду.

Генетические элементы, сходные с транспозируемыми, существуют также в клетках эукариотов, где они представлены разными повторяющимися последовательностями ДНК. Одни из этих элементов транспозируются в результате повторного включения (реинсерции) в геном продукта реверсивной транскрипции (копии РНК). Такие элементы получили название ретроэлементов (**ретротранспозонов**).

Напротив, другие элементы транспозируются прямо через копии ДНК.

Наиболее известными ретроэлементами являются ретротранспозоны с короткими терминальными повторами. Такими являются ретротранспозоны I или R2 у дрозофил, Line — у млекопитающих, *ingi* — у трипаносом.

Копии этих ретротранспозонов кодируют белки, необходимые для обратной транскрипции, т. е. их транспозиция осуществляется с использованием РНК в качестве интермедиата.

К этой категории ретроэлементов принадлежат также последовательности с длинными терминальными повторами, в частности последовательности  *copia* и  *gypsy* дрозофил, TУ-фактор дрожжей и LI — элементы у млекопитающих.

У этих последовательностей повторы достигают 500 п. о. Ретротранспозонами многие считают также последовательности, которые, помимо инсерционной способности, обладают инфицирующими свойствами, это отдельные ретровирусы: лейкоза птиц, лейкемии млекопитающих, иммунодефицита млекопитающих.

# Использованная литература:

1. <https://nplus1.ru/news/2016/08/04/2primehydroxy>
2. Решетников Р. В., Копылов А. М., Головин А. В. Классификация G-квадруплексных ДНК по углу вращения квадруплекса и планарности G-квартетов // Журнал Acta Naturae (русскоязычная версия), № 4, том 2, 2010
3. Иванов В.И. А-ДНК. Биология // Соросовский образовательный журнал, N1, 1998.
4. Тодоров И.Н. Митохондрии: окислительный стресс и мутации митохондриальной ДНК в развитии патологий, процессе старения и апоптозе // Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева, т. LI, N 1, 2007.
5. Решетников Р. В., Копылов А. М., Головин А. В. Классификация G-квадруплексных ДНК по углу вращения квадруплекса и планарности G-квартетов. Журнал Acta Naturae (русскоязычная версия), № 4, том 2, 2010
6. Иванов В.И. А-ДНК. Биология // Соросовский образовательный журнал, N1, 1998.
7. Тодоров И.Н. Митохондрии: окислительный стресс и мутации митохондриальной ДНК в развитии патологий, процессе старения и апоптозе // Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева, т. LI, N 1, 2007.