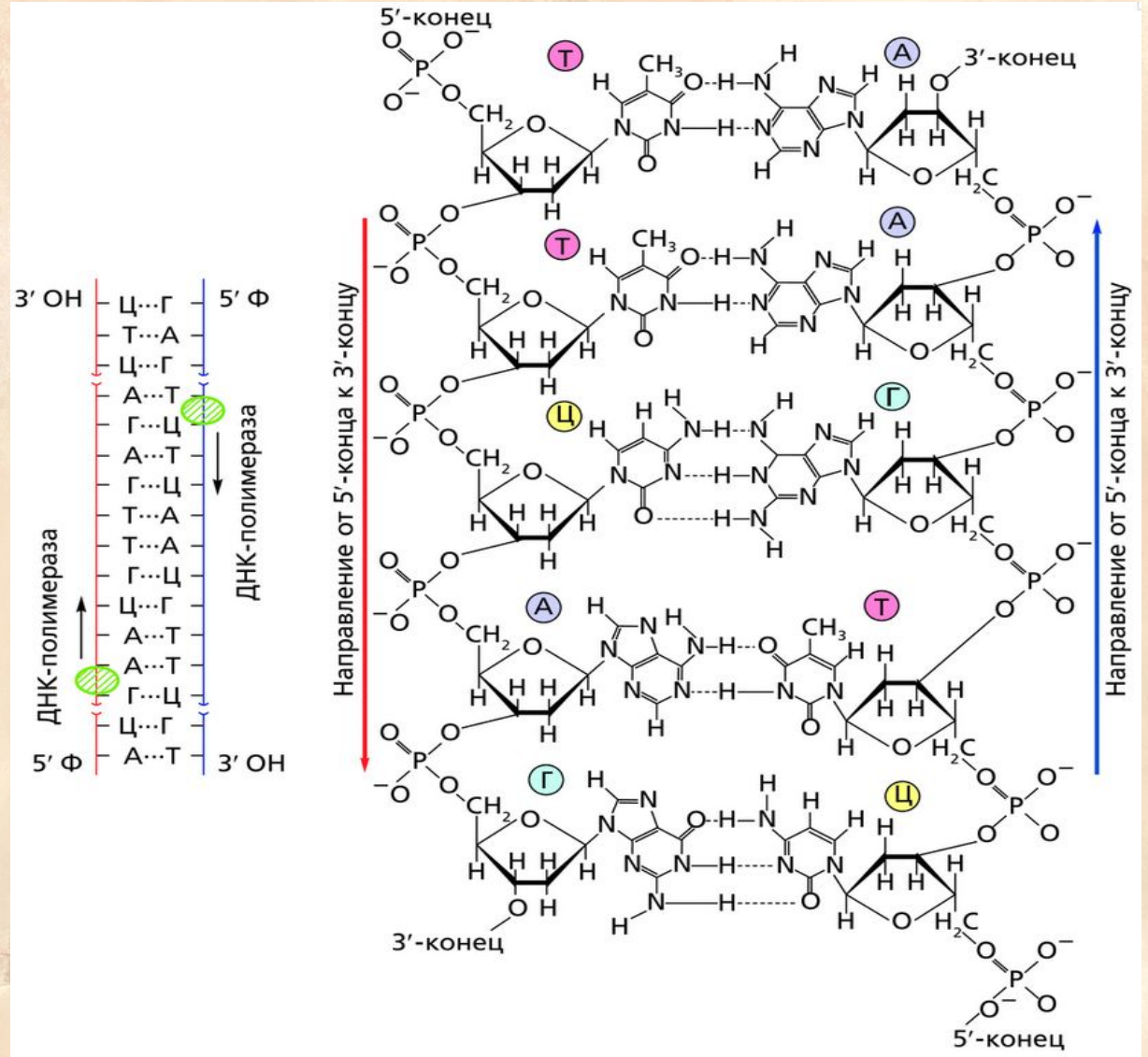
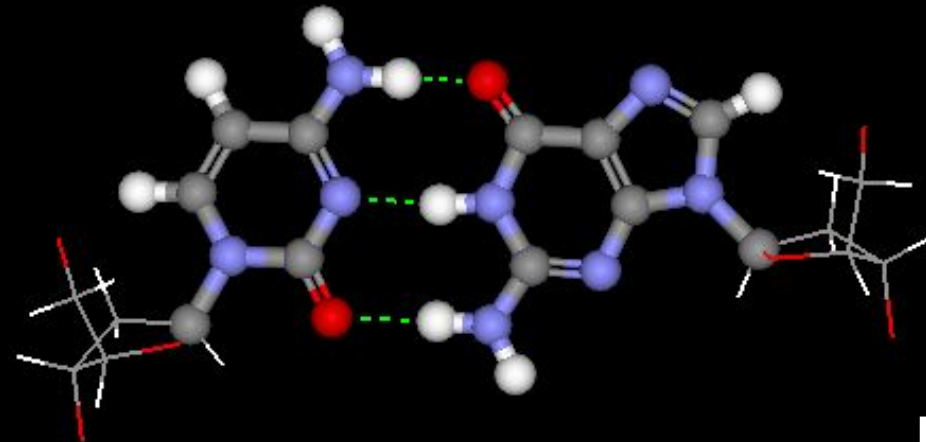


ДНК – двойная спираль из разнонаправленных полинуклеотидных цепей

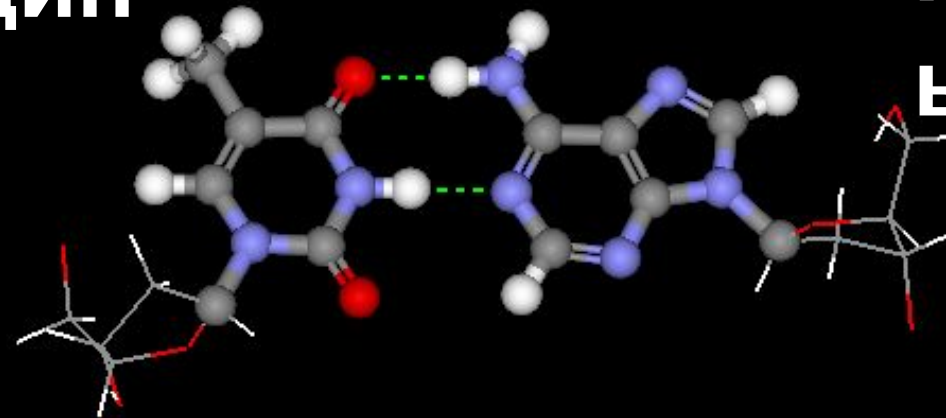


Комплементарные пары АО

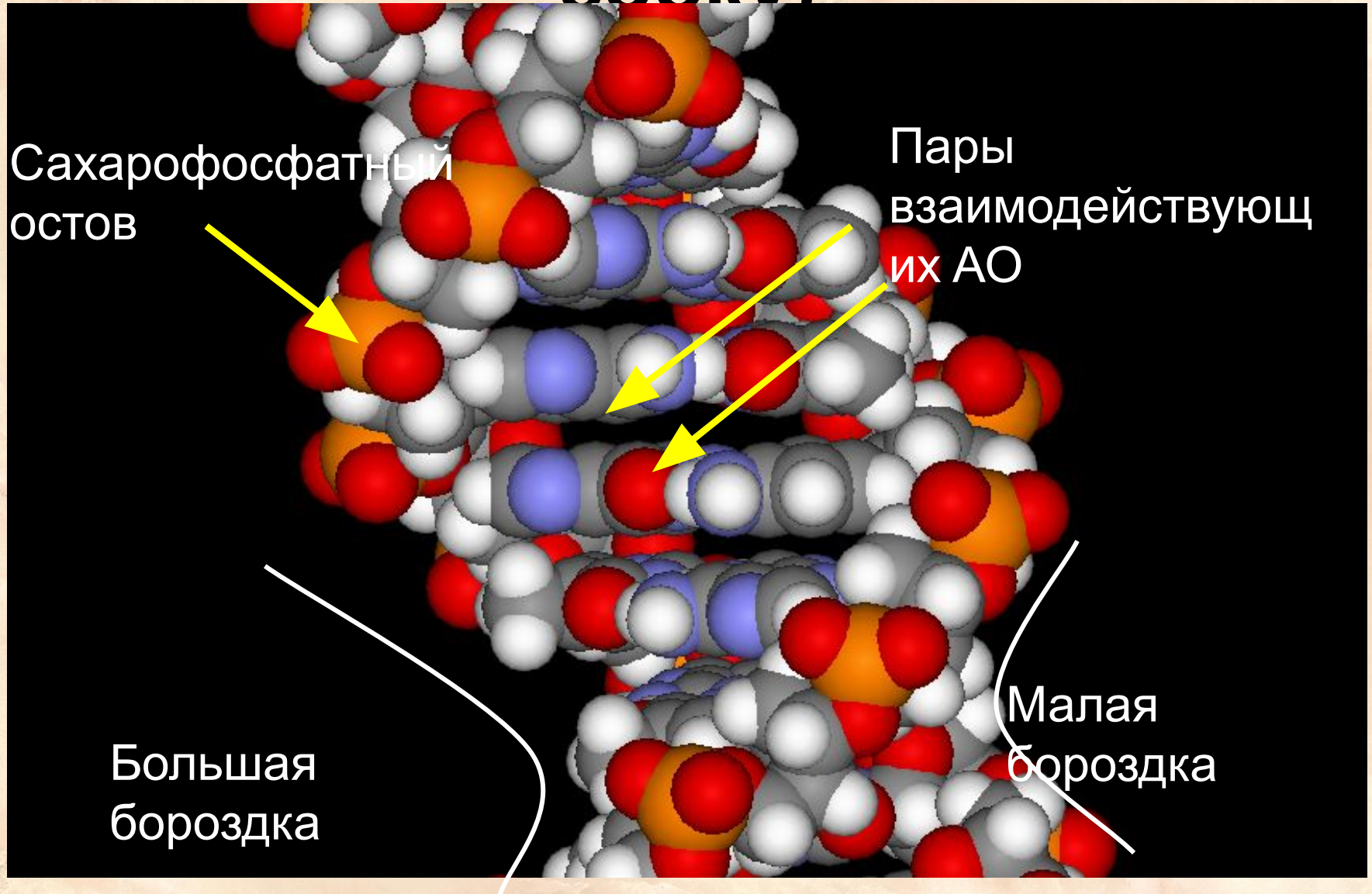


**Пиримидин
ы**

**Пурин
ы**



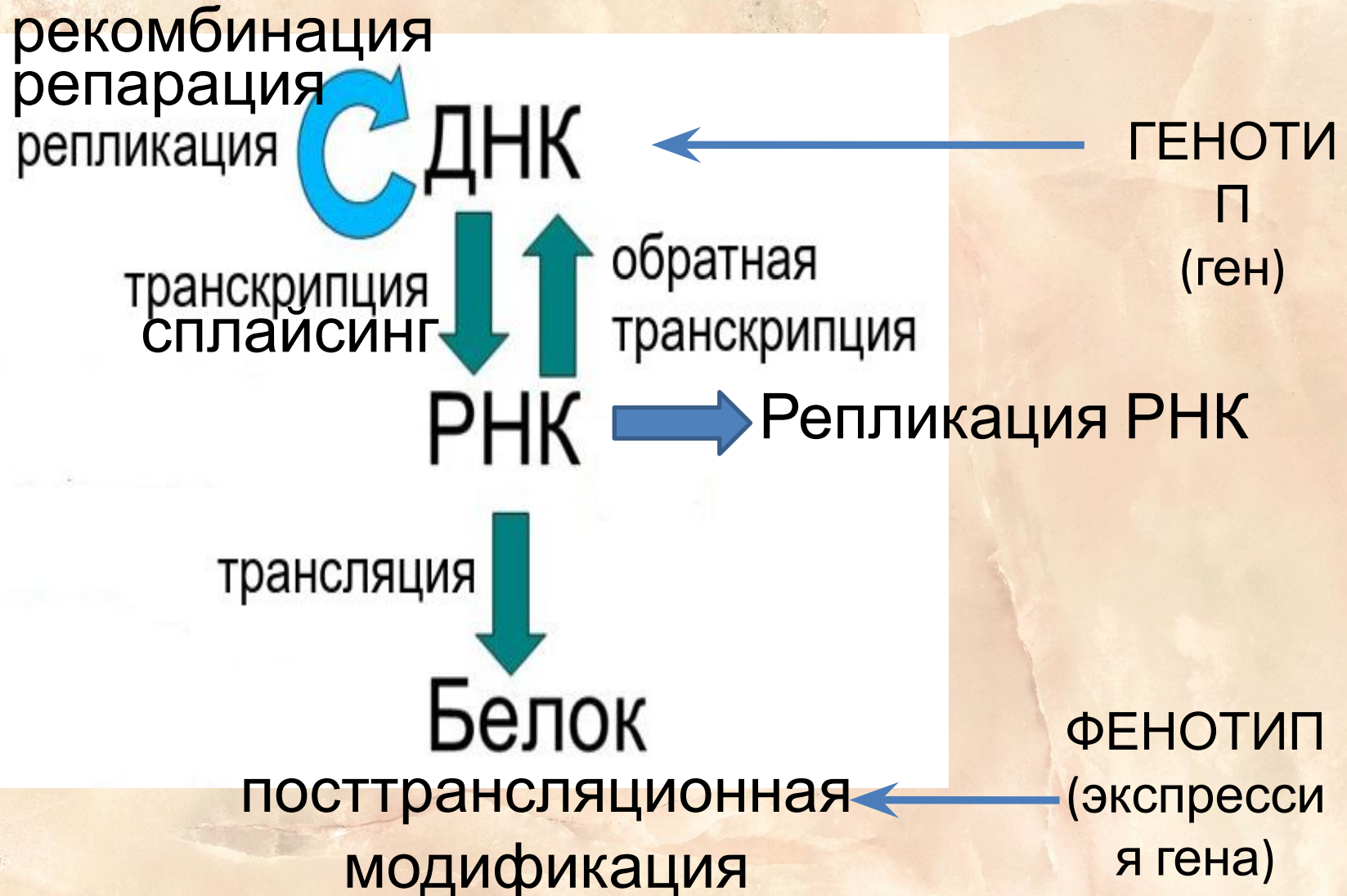
Двойная спираль ДНК (вид сбоку)



Матричные биосинтезы

Особый тип биохимических процессов (реакций), в ходе которых каталитически синтезируются нерегулярные биополимеры, причем последовательность мономерных остатков в них определяется в соответствии с матрицей – исходной молекулой-клише.

Информационные потоки в клетке – основная догма биологии



УЧАСТНИКИ МАТРИЧНЫХ БИОСИНТЕЗОВ

ДНК – геном организма. ДНК – матрица для
репликации и транскрипции

```
1   gagttttatc gcttccatga cgcagaagtt aacactttcg gatattttctg atgagtcgaa
61  aaattatcct gataaagcag gaattactac tgcttgttta cgaattaaat cgaagtggac
121 tgctggcgga aatgagaaa attcgaccta tccttgcgca gctcgagaag ctcttacttt
181 gcgacctttc gccatcaact aacgattctg tcaaaaactg acgcgttgga tgaggagaag
241 tggcttaata tgcttggcac gttcgtcaag gactggttta gatatgagtc acattttggt
301 catggtagag attctcttgt tgacatttta aaagagcgtg gattactatc tgagtccgat
361 gctgttcaac cactaatagg taagaaatca tgagtcaagt tactgaaca tccgtacggt
421 tccagaccgc tttggcctct attaagctca ttcaggcttc tgccgttttg gatttaaccg
481 aagatgattt cgattttctg acgagtaaca aagtttggat tgctactgac cgctctcgtg
541 ctcgtcgctg cgttgaggct tgcgtttatg gtacgctgga ctttgtggga taccctcgtc
601 ttcctgctcc tgttgagttt attgctgccg tcattgctta ttatgttcat cccgtcaaca
661 ttcaaacggc ctgtctcatc atggaaggcg ctgaatttac ggaaaacatt attaatggcg
721 tcgagcgtcc ggttaaagcc gctgaattgt tcgcgtttac cttgcgtgta cgcgcaggaa
781 aactgacgt tcttactgac gcagaagaaa acgtgcgtca aaaattacgt gcggaaggag
841 tgatgtaatg tctaaaggta aaaaacgttc tggcgctcgc cctggtcgtc cgcagccggt
901 gcgaggtact aaaggcaagc gtaaaggcgc tcgtcttttg tatgtaggtg gtcaacaatt
961 ttaattgcag gggcttcggc cccttacttg aggataaatt atgtctaata ttcaaacctgg
```

Примерно 1/5 генома фага фХ174

Геномы живых организмов

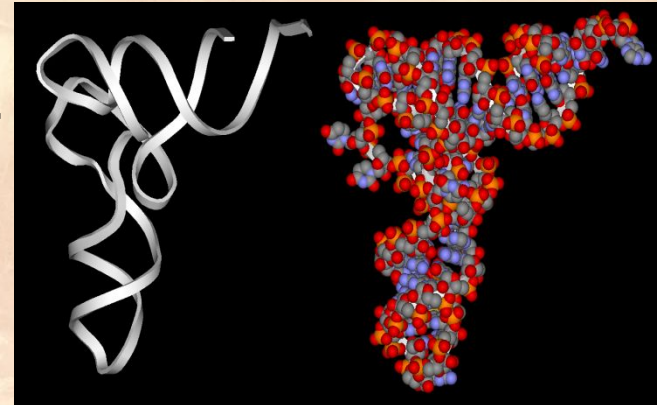
Организмы	Число пар оснований	Длина (м)
Фаги и вирусы	$10^3 - 10^5$	$\sim 10^{-6}$
Бактерии	$10^6 - 10^7$	$\sim 10^{-3}$
Дрожжи	$10^7 - 10^8$	$\sim 10^{-2}$
Животные	$10^9 - 10^{10}$	~ 1

Человек – примерно 3,3 млрд пар нуклеотидов (100 толстенных томов, если напечатать весь геном без пробелов)

УЧАСТНИКИ МАТРИЧНЫХ БИОСИНТЕЗОВ

РНК: разные виды, разное строение – разные функции

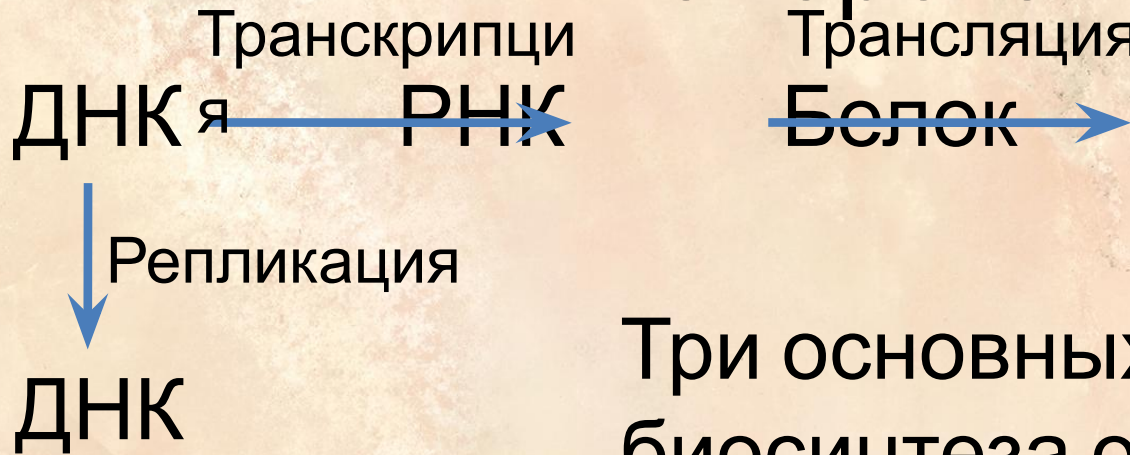
- мРНК - перенос информации от ДНК к белку (сотни-тысячи нуклеотидов, обычно линейная структура)
- хранение генетической информации (вирусы)
- рРНК - структура R_s (+ катализ)
- рибозимы - катализ, сплайсинг
- тРНК - трансляция
- регуляция



УЧАСТНИКИ МАТРИЧНЫХ БИОСИНТЕЗОВ

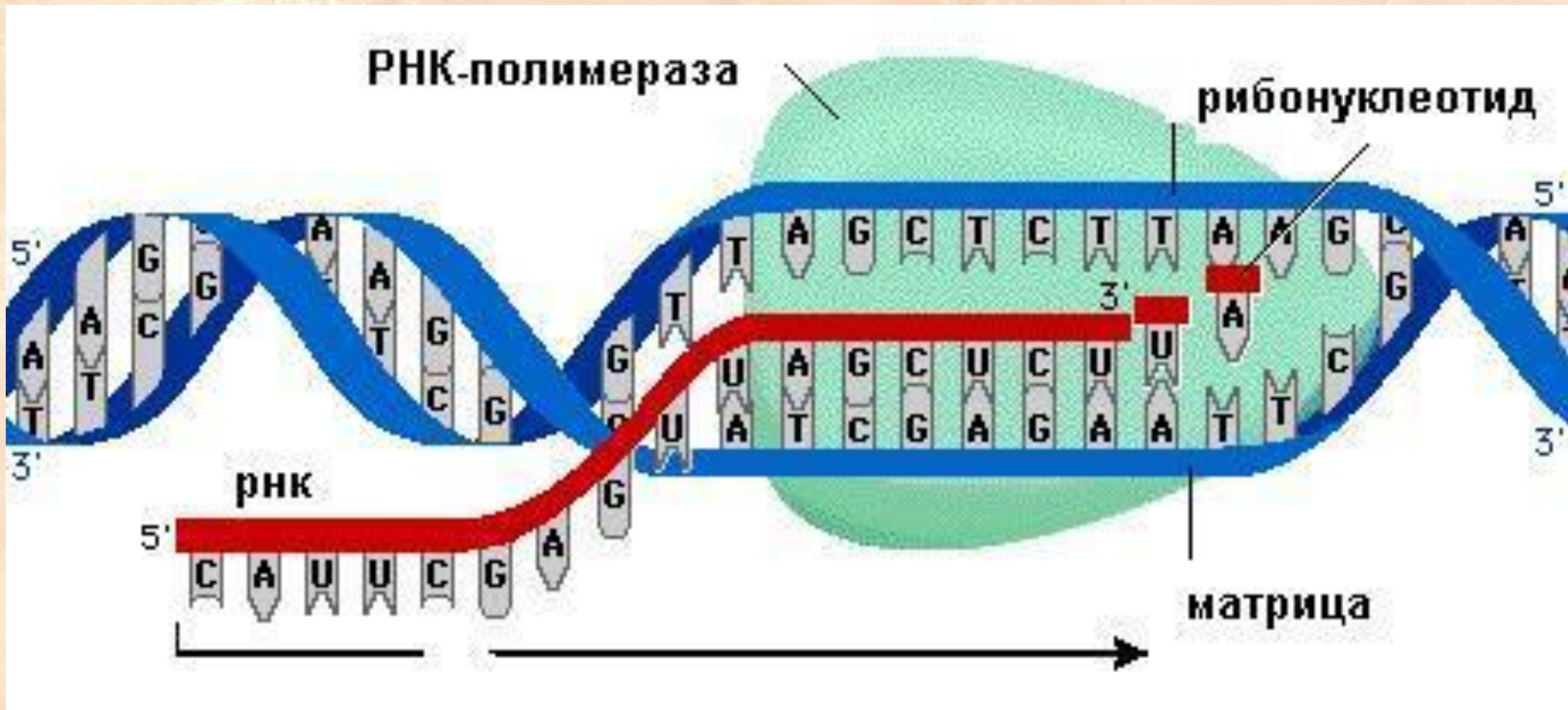
- ФЕРМЕНТЫ (ДНК-полимеразы, РНК-полимеразы и др.)
- Рибосомы (трансляция)
- Разнообразные белки – “факторы”
- Субстраты (вещества, из которых строятся биополимеры)
- Макроэрги (ГТФ и др.)
- И многое другое

Центральная догма без “наворотов”



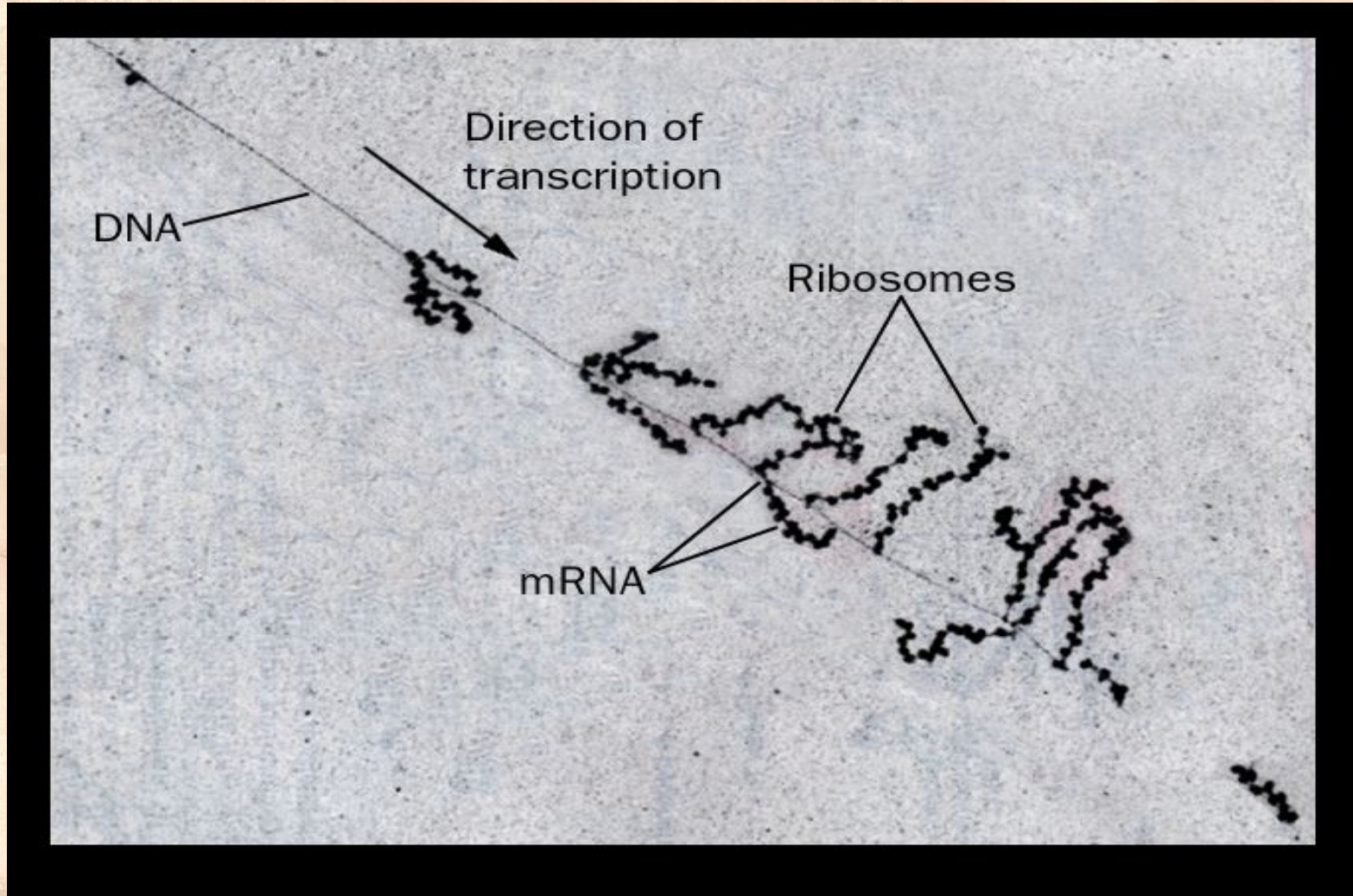
Три основных матричных биосинтеза обеспечивают реализацию генетической информации (проявление фенотипа) и передачу дочерним клеткам при делении.

Транскрипция – синтез РНК на матрице ДНК



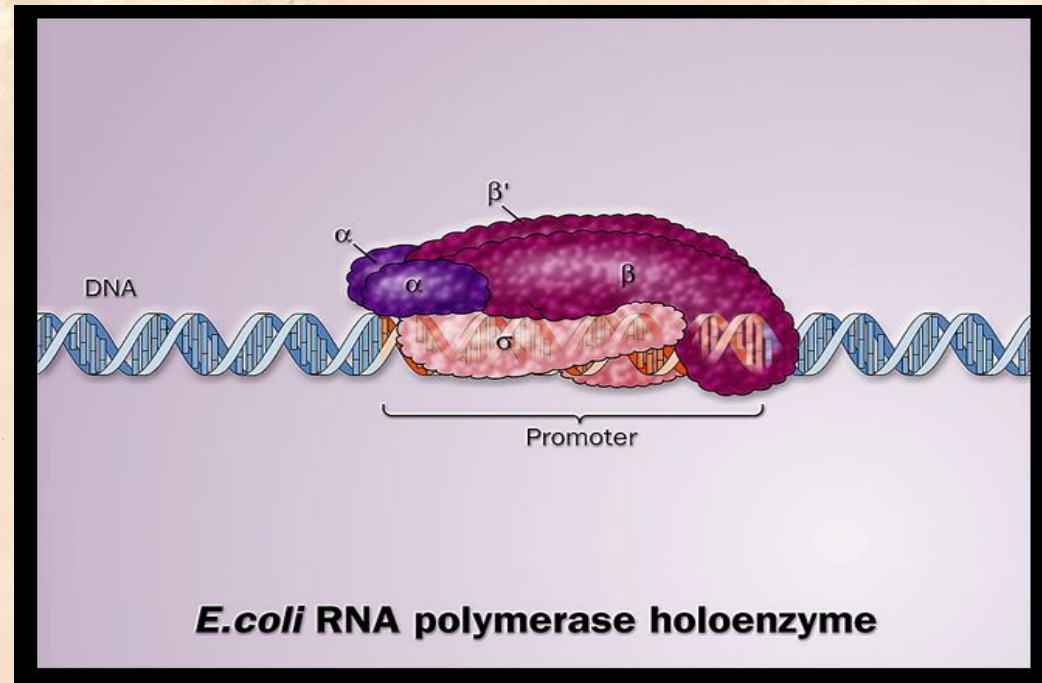
Транскрипция

У прокариот ДНК не отделено от цитоплазмы и транскрипция и трансляция идут одновременно

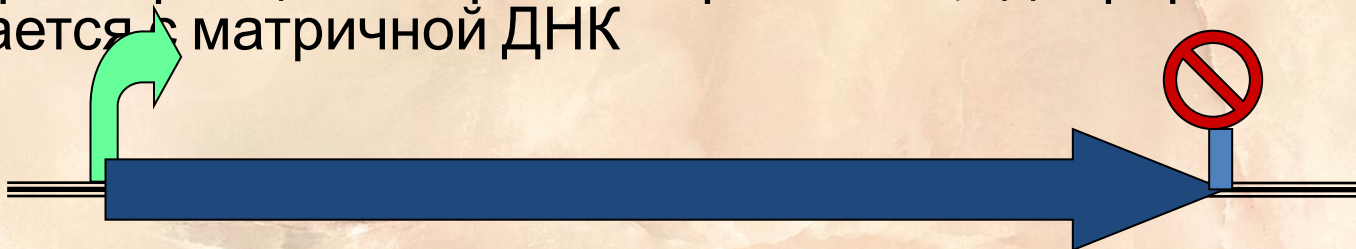


Транскрипция

Как РНК-полимераза узнает откуда начинать транскрипцию (начало гена)? Не копировать же все подряд? Нельзя начать с середины гена – получится бессмысленный белок.



- Начало транскрипции – промотор – место посадки РНК-полимеразы
- Конец транскрипции – терминатор – место, где фермент сваливается с матричной ДНК



Промоторы

Гилберт-бокс
(-35)

Прибноу-бокс
(-10)

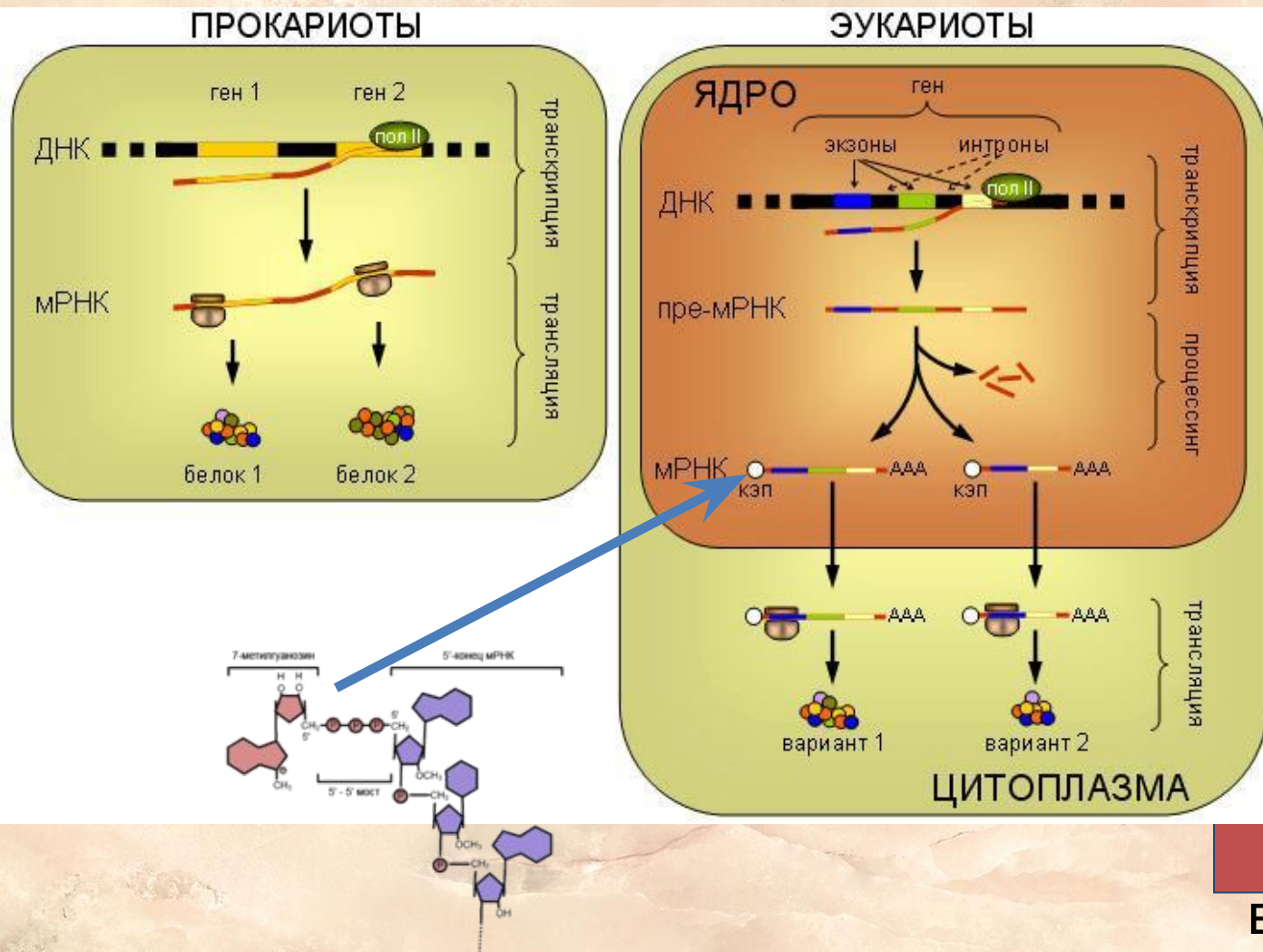
• <i>recA</i>	ttgatactgtat---	gagcatacagttataat
• <i>rpsL</i>	ttgacaccttttc--	ggcatcgccctaaaat
• <i>aroF</i>	ttgaaaacttta---	ctttatgtgttatcgt
• <i>lpdA</i>	tttaaaaattggtt--	aacaattttgtaaaat
• <i>cyoA</i>	tttacagtaatgt--	aaccttcccgtaaaat
• <i>uvrD</i>	ttggcatctctg---	acctcgctgatataat
• <i>atpI</i>	ttgaaatcacgg---	gggcgcaccgtataat
• <i>tonB</i>	ttgaatatgattgc-	tatttgcatttaaaaat
• <i>rpsU</i>	tttacaagcagca-	gcaattgcagtaaaaat
• <i>cirA</i>	ttgataattgtta--	tcgtttgcattatcgt
• <i>fur</i>	ttttcatttaggc--	gtggcaattctataat
• <i>ampC</i>	ttgtcacgctga---	ttggtgtcgttacaat
• <i>uvrB</i>	gtgatgaactgttt-	ttttatccagttataat
• <i>argC</i>	ttgacacacct----	ctggtcatgatagtat
• <i>rpmH</i>	ttgactccggagt--	gtacaattattacaat
• <i>rplT</i>	ttaacgttttta---	actttttaattagaat
• <i>gyrA</i>	tttacctcaaac	tgcgcggctgtgtttataat

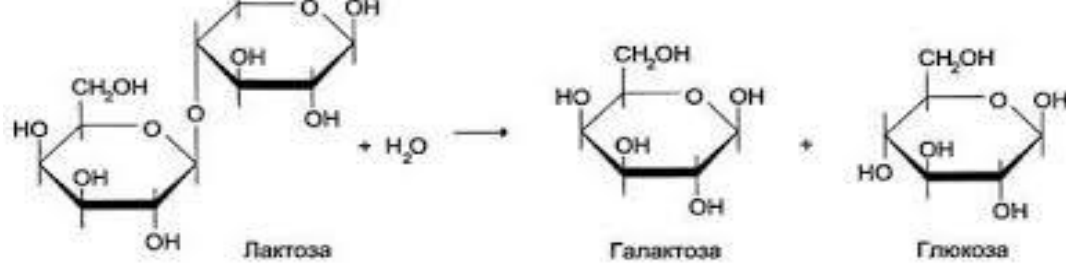
Особенности транскрипции у эукариот – Процессинг РНК

(сплайсинг, кепирование, полиаденилирование)

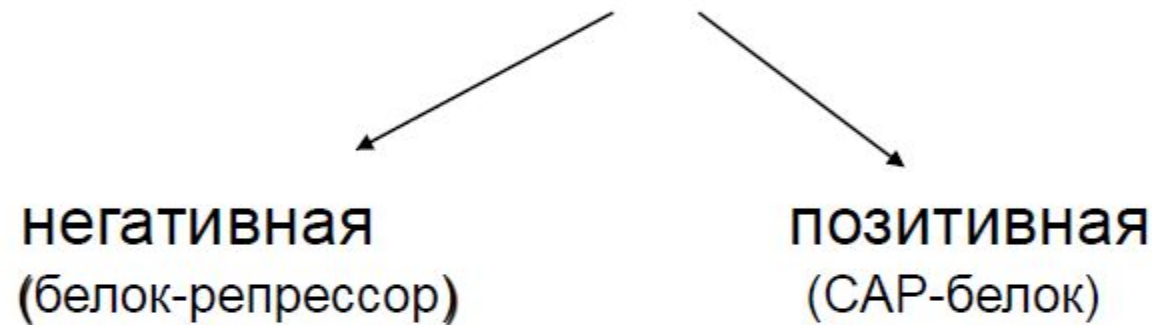
Процесс транскрипции и трансляции разнесен во времени и пространстве

Альтернативный сплайсинг позволяет считывать с одного гена несколько вариантов белка!





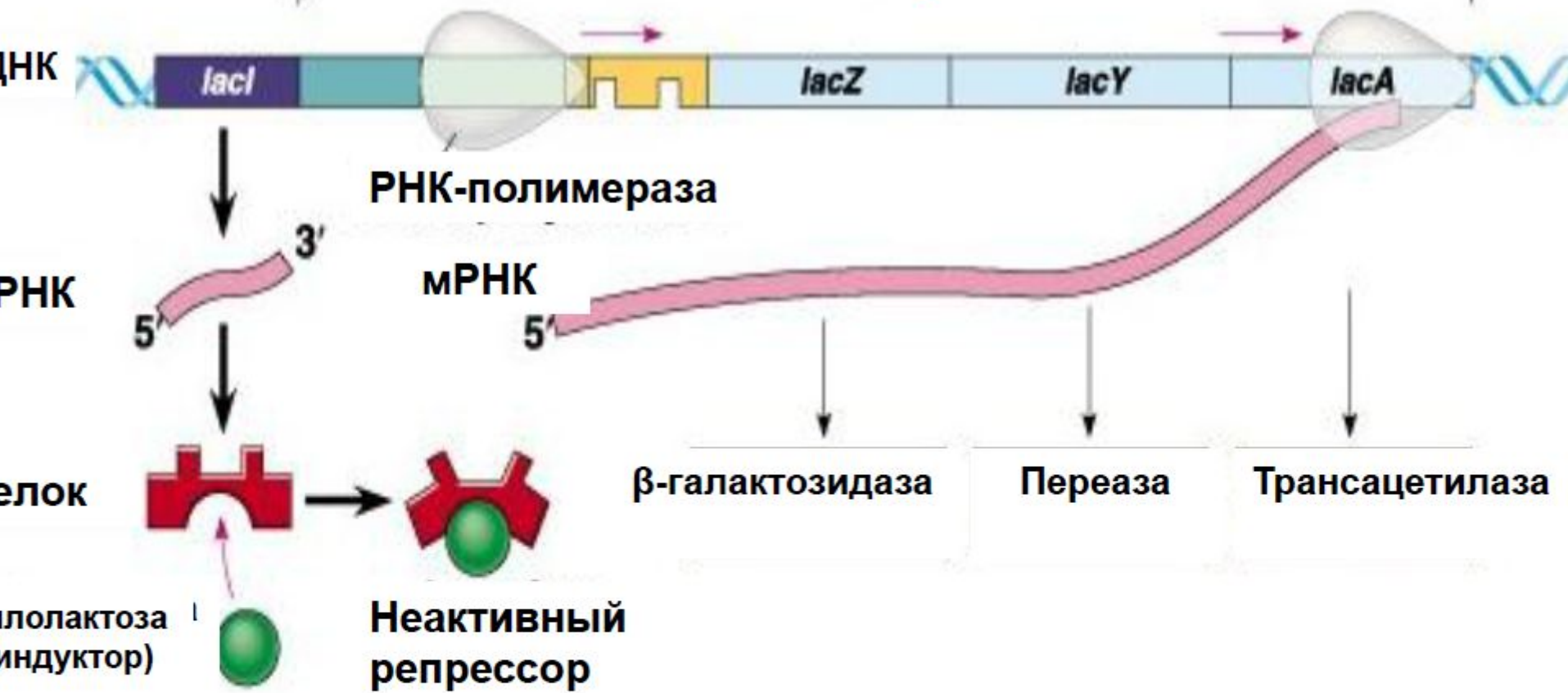
Регуляция



Катаболитная репрессия

- | | | |
|---------------------------|---|-----------------------------------|
| -лактоза, +глюкоза | → | Оперон не работает |
| -лактоза, -глюкоза | → | Оперон не работает |
| +лактоза, +глюкоза | → | Оперон слабо активен |
| +лактоза, -глюкоза | → | Оперон максимально активен |

Лас-оперон



1961 г. *Франсуа Жакоб и Жак Моно* описали ставшую теперь классической модель оперона. Их концепция в значительной мере была основана на изучении регуляции метаболизма **лактозы** у кишечной палочки *E. coli*. Молекулярный механизм регуляции генов, участвующих в метаболизме лактозы, на сегодняшний день наиболее изучен.

Источник углерода	Уровень активности фермента (β -галактозидазы)	Наименование процесса
Глюкоза	~ 0.0	Индукции нет
Лактоза	1,000	Индукция
Лактоза + глюкоза	~ 0.0	Катаболитная репрессия

Трансляция – рибосомальный синтез белка на матрице мРНК

Если синтез РНК по матрице ДНК основывался на принципе комплементарности, то как строить АК последовательность по нуклеотидной последовательности РНК?

АК – 20

Нуклеотидов РНК – 4

Нужен шифр, чтоб закодировать 20 АК =
генетический код

Одна АК кодируется триплетом (3) нуклеотидов
кодон

Универсальный генетический код

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

генетический код митохондрий млекопитающих

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

Действующие лица

- Аминоацил-тРНК-синтетазы – осуществляют **декодирование**
- Транспортные РНК (тРНК) – посредник, переносит аминокислоту к кодону
- Матричная РНК (мРНК) – промежуточный носитель информации
- Рибосомы – осуществляют матричный синтез
- Факторы – белки, которые помогают рибосоме (в частности снабжают процесс энергией –GTP)

Аминоацил-тРНК-синтетаза и тРНК

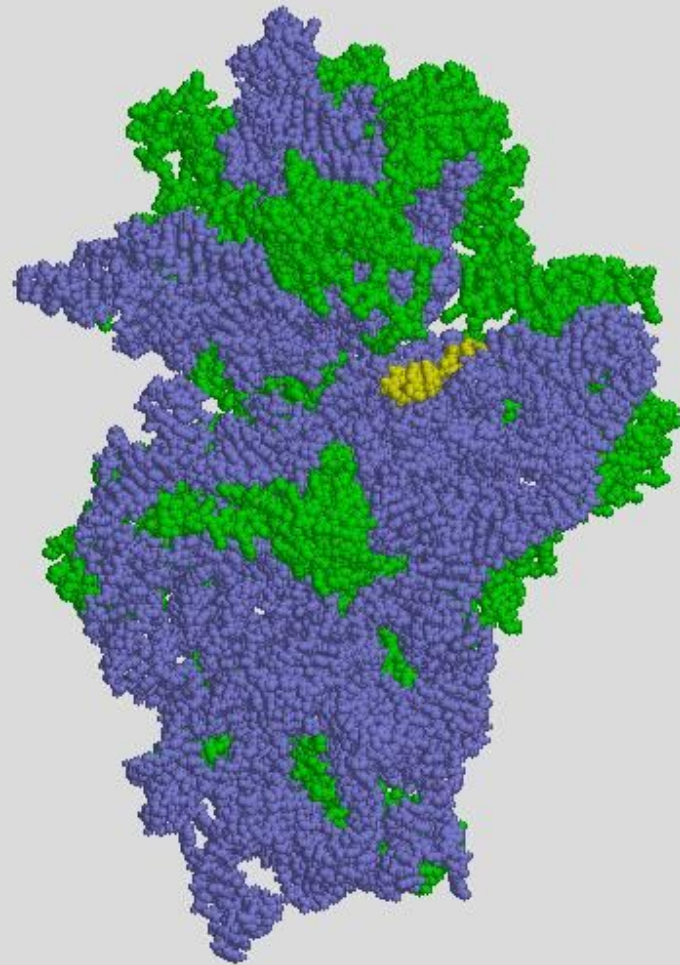


Состав рибосомы

- Две субчастицы: 30S и 50S
- Рибосомная РНК (рРНК):
 - 5S
 - 16S
 - 23S
- Около 50 белков

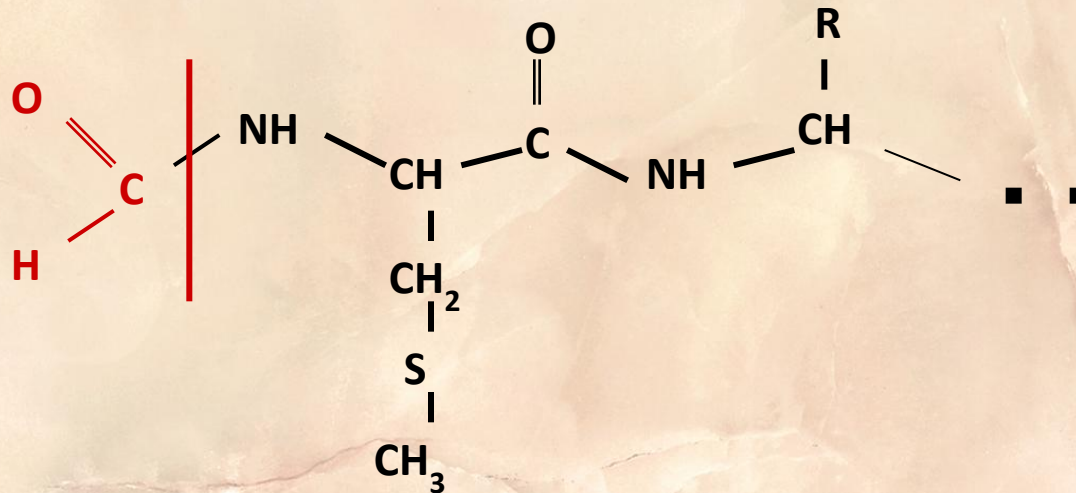
Рибосомные гены многократно дублированы

Структура рибосомы (малая субчастица)



Инициаторный кодон

- В бактериях бывают **ATG** (*Met*) и **GTG** (*Val*)
- В эукариотах только **ATG** (*Met*)
- **Всегда начинается с f-Met :**



Где начинается трансляция? прокариоты

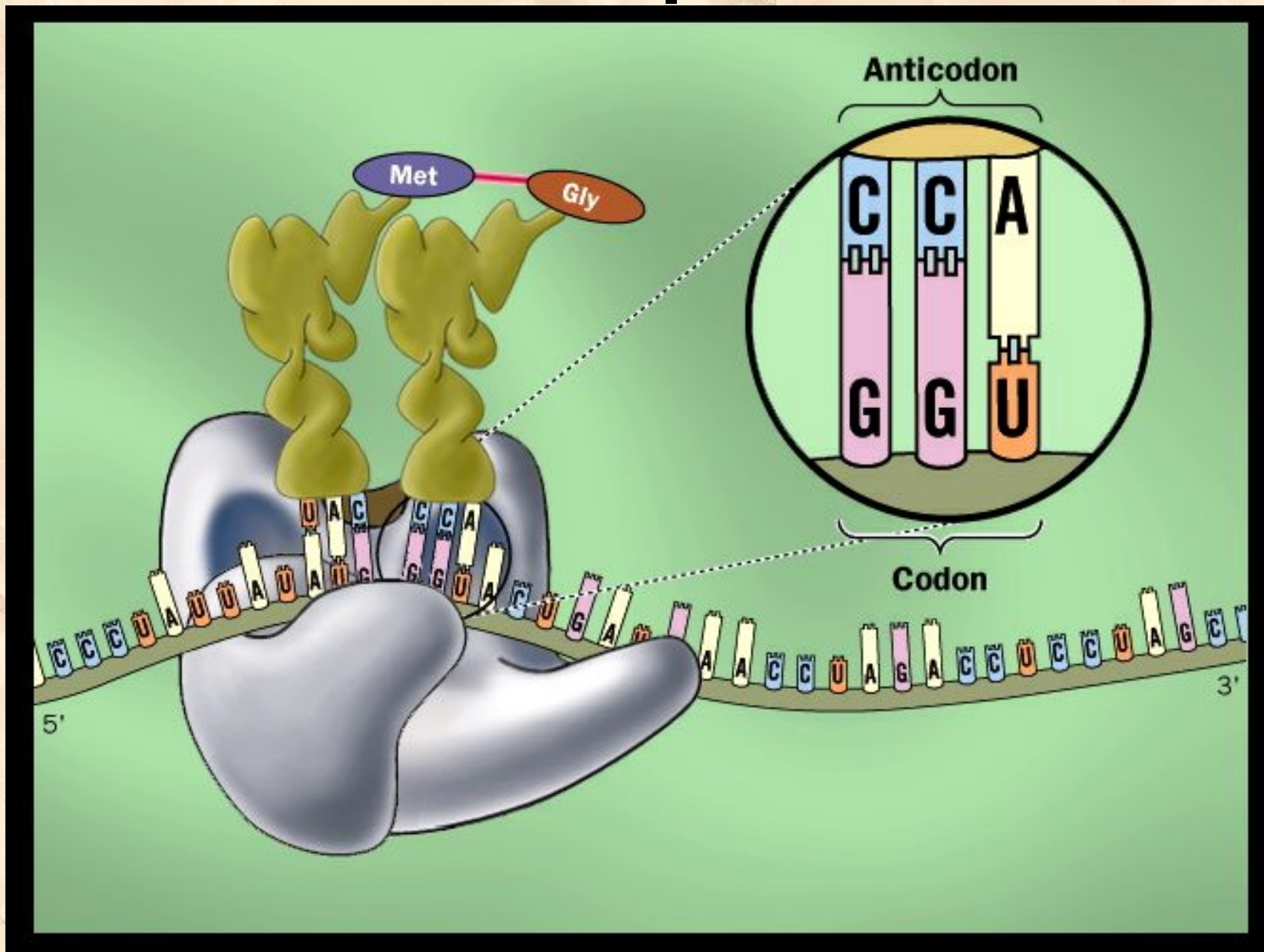
<i>dnaN</i>	ACATTATCCGTTAGGAGGATAAAAA ATG
<i>gyrA</i>	GTGATACTTCAGGGAGGTTTTTTTA ATG
<i>serS</i>	TCAATAAAAAAAGGAGTGTTTCGC ATG
<i>bofA</i>	CAAGCGAAGGAGATGAGAAGATTC ATG
<i>csfB</i>	GCTAACTGTACGGAGGTGGAGAAG ATG
<i>xpaC</i>	ATAGACACAGGAGTCGATTATCTC ATG
<i>metS</i>	ACATTCTGATTAGGAGGTTTCAAG ATG
<i>gcaD</i>	AAAAGGGATATTGGAGGCCAATAA ATG
<i>spoVC</i>	TATGTGACTAAGGGAGGATTCGCC ATG
<i>ftsH</i>	GCTTACTGTGGGAGGAGGTAAGGA ATG
<i>pabB</i>	AAAGAAAATAGAGGAATGATACAA ATG
<i>rplJ</i>	CAAGAATCTACAGGAGGTGTAACC ATG
<i>tufA</i>	AAAGCTCTTAAGGAGGATTTTAGA ATG
<i>rpsJ</i>	TGTAGGCGAAAAGGAGGGAAAATA ATG
<i>rpoA</i>	CGTTTTGAAGGAGGGTTTTAAGTA ATG
<i>rplM</i>	AGATCATTTAGGAGGGGAAATTCA ATG

Где начинается трансляция? прокариоты

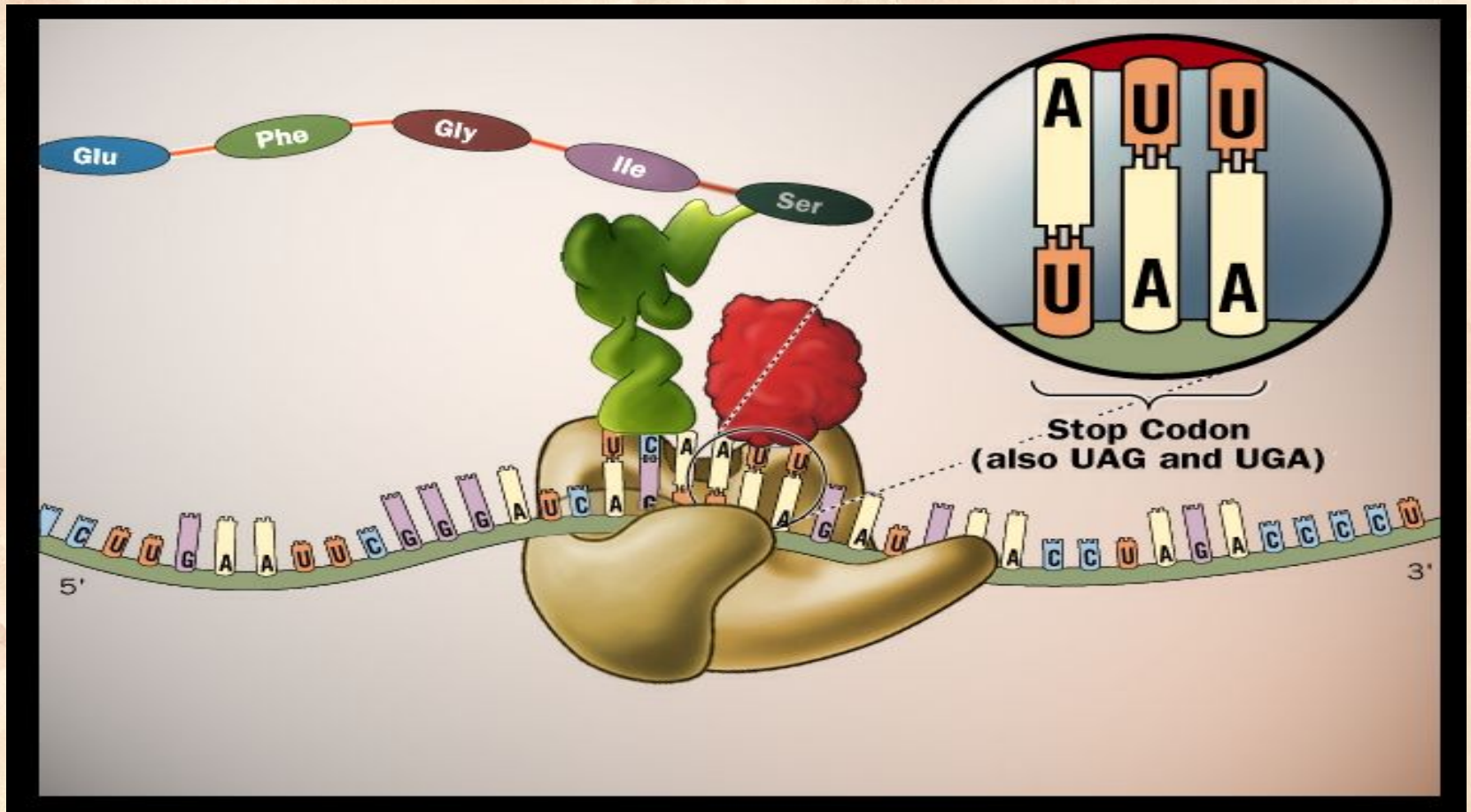
<i>dnaN</i>	ACATTATCCGTT AGGAGG ATAAAA ATG
<i>gyrA</i>	GTGATACTTCA GGGAGG TTTTTT ATG
<i>serS</i>	TCAATAAAAA AGGAGT GTTTCGC ATG
<i>bofA</i>	CAAGCGA AGGAGA TGAGAAGATT ATG
<i>csfB</i>	GCTAACTGTA CGGAGG TGGAGAAG ATG
<i>xpaC</i>	ATAGACAC AGGAGT CGATTATCTC ATG
<i>metS</i>	ACATTCTGATT AGGAGG TTTCAAG ATG
<i>gcaD</i>	AAAAGGGATAT TGGAGG CCAATA ATG
<i>spoVC</i>	TATGTGACTAA GGGAGG ATTCGCC ATG
<i>ftsH</i>	GCTTACTGTGGG AGGAGG TAAGGA ATG
<i>pabB</i>	AAAGAAAA TAGAGG AATGATACAA ATG
<i>rplJ</i>	CAAGAATCTAC AGGAGG TGTAACC ATG
<i>tufA</i>	AAAGCTCTTA AGGAGG ATTTTAGA ATG
<i>rpsJ</i>	TGTAGGCGAAA AGGAGG GAAAATA ATG
<i>rpoA</i>	CGTTTTGA AGGAGG GTTTTAAGTA ATG
<i>rplM</i>	AGATCATTT AGGAGG GGAAATTCA ATG

Последовательность Шайна-Дальгарно (SD)

Элонгация трансляции

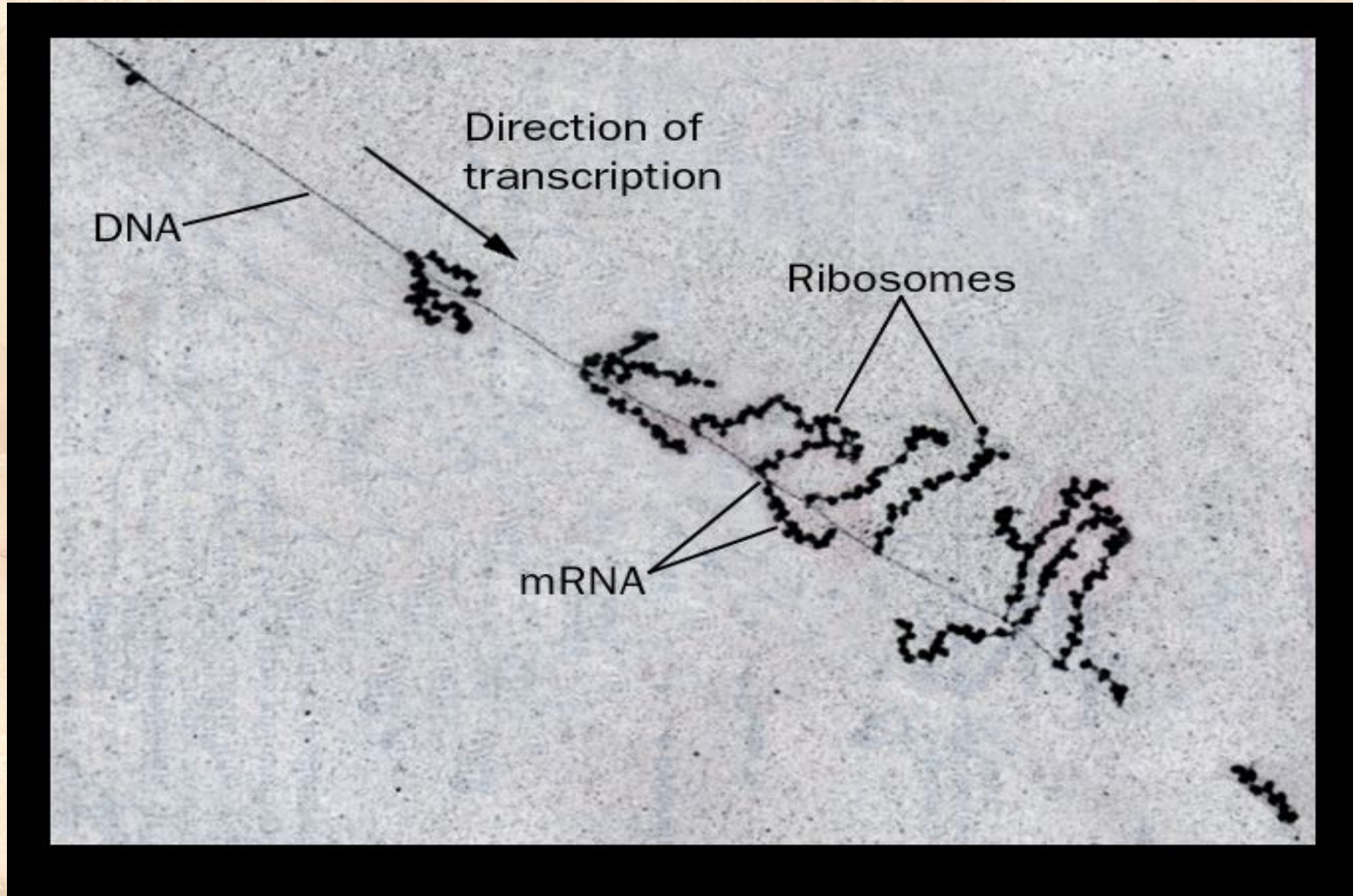


Терминация трансляции



Белок синтезировался, свернулся. Может пройти посттрансляционная модификация и активный белок начнет выполнять свою функцию – фенотип проявится

Трансляция, полисомы у прокариот



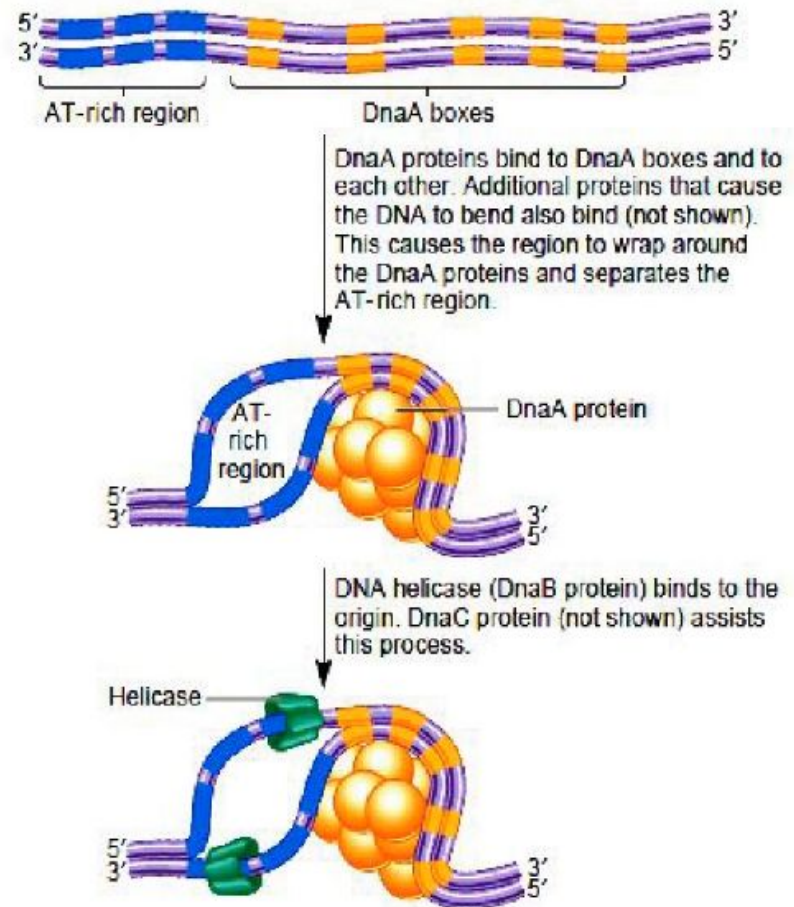
Как подошли к репликации?

- Опыты Эйвери, правило Чартгафа, Уотсон и Крик
- Опыт Мезельсона и Сталя
- Артур Корнберг – ДНКП

Репликация – удвоение ДНК, матричный синтез ДНК на ДНК

Инициация репликации у прокариот

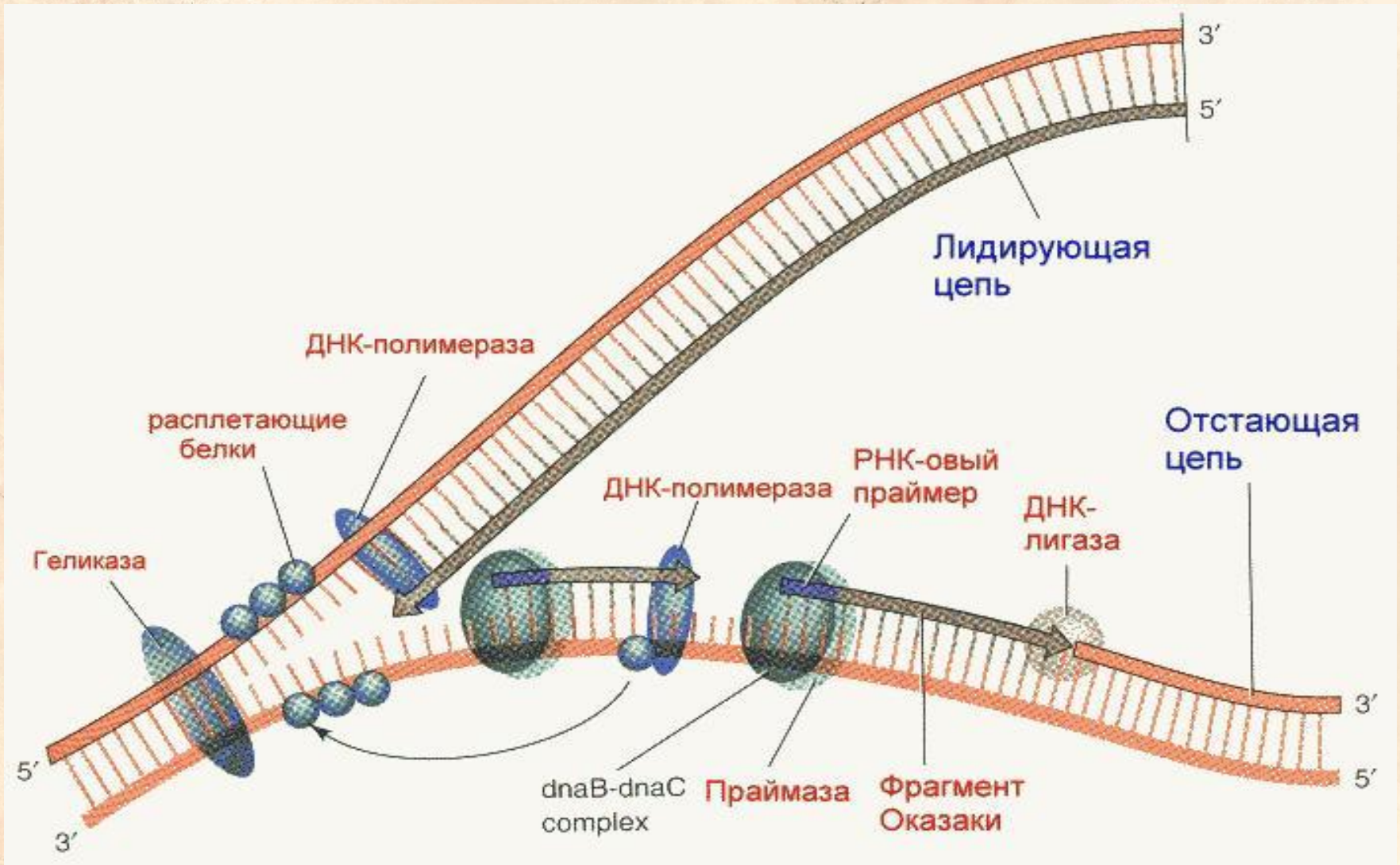
- Инициация репликации у *E. coli* происходит в регионе *oriC*
- Основной белок-инициатор - DnaA
- После распознавания ориджина происходит локальное плавление ДНК и привлечение ДНК-геликаз



Участники репликации

- Хеликаза
- SSB белки
- Топоизомеразы и гиразы
- Праймаза
- ДНК-полимеразы
- Лигаза
- Теломераза (у эукариот)
- Субстраты (dNTP)

Репликационная вилка



Модель "тромбона"

- Полимеразные комплексы на лидирующей и отстающей цепях сближены в пространстве
- Расплетенный, но еще не реплицировавшийся фрагмент отстающей цепи выпетливается

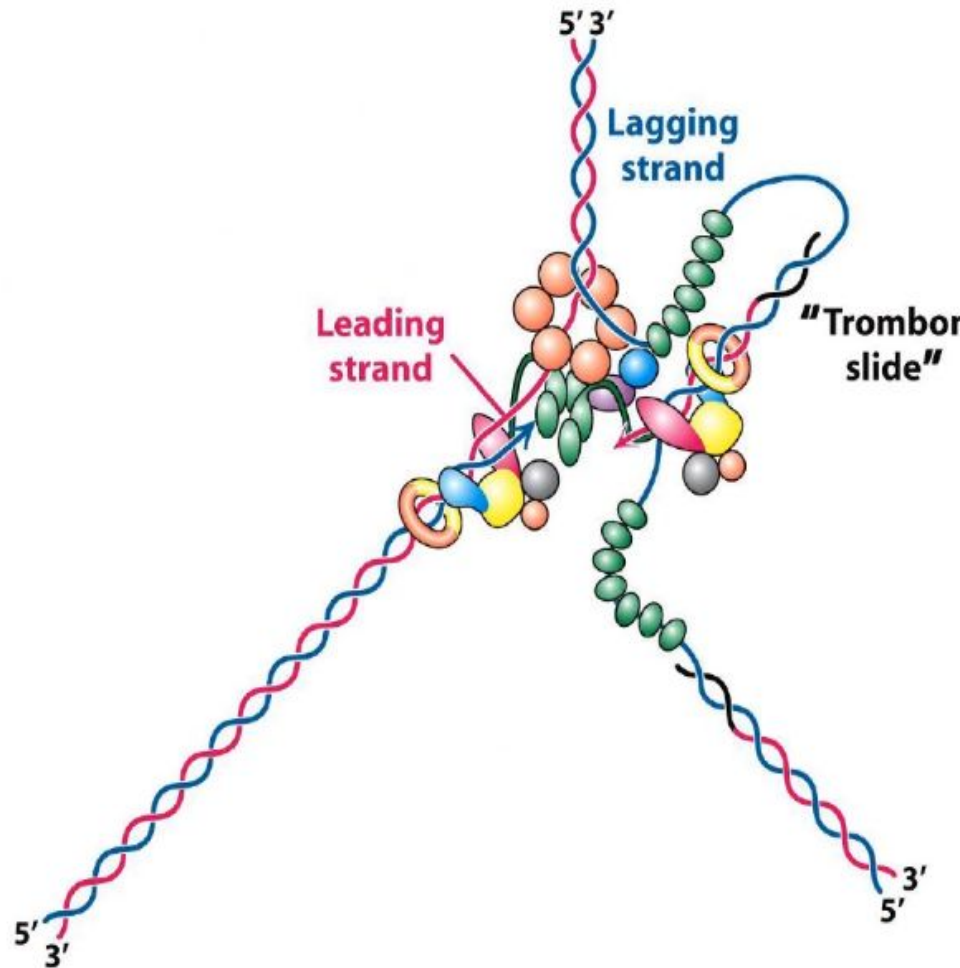


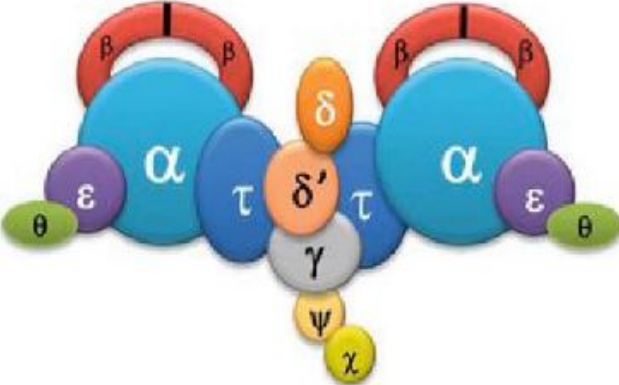


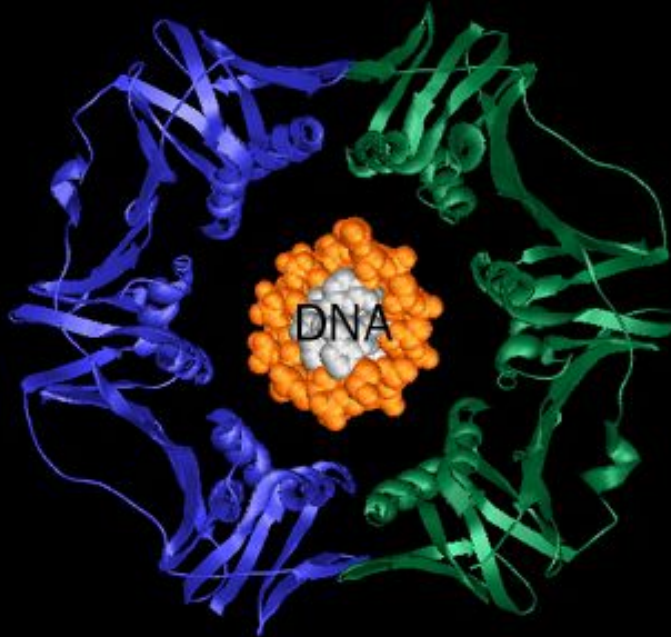


Figure 28.23
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

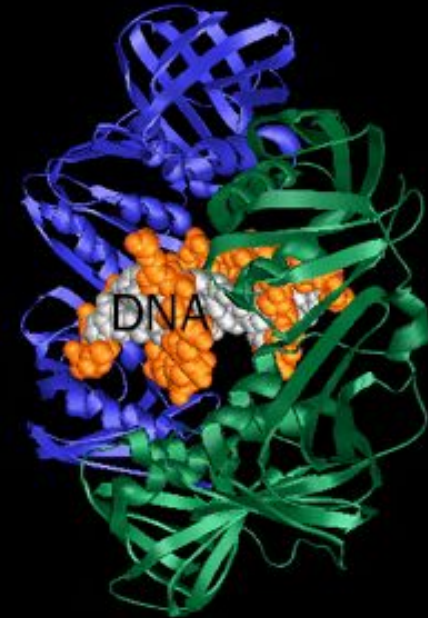
ДНК-полимеразы бактерий

	Pol I	Pol II	Pol III	Pol IV	Pol V
DNA polymerase family	A	B	C	Y	Y
Activity	5'-3' polymerase 3'-5' exonuclease 5'-3' exonuclease	5'-3' polymerase 3'-5' exonuclease	5'-3' polymerase 3'-5' exonuclease	5'-3' polymerase	5'-3' polymerase
					
Number of molecules/cell					
- SOS	400	50 - 75	10 - 20	150 - 250	< 15
+ SOS	400	350 - 1000	10 - 20	1200 - 2500	200
Biological functions in the cell	DNA replication, Okazaki fragment maturation, DNA repair	DNA replication (backup DNA polymerase), DNA repair, TLS	DNA replication DNA repair	TLS	TLS

ДНК-полимераза III



Frontal view



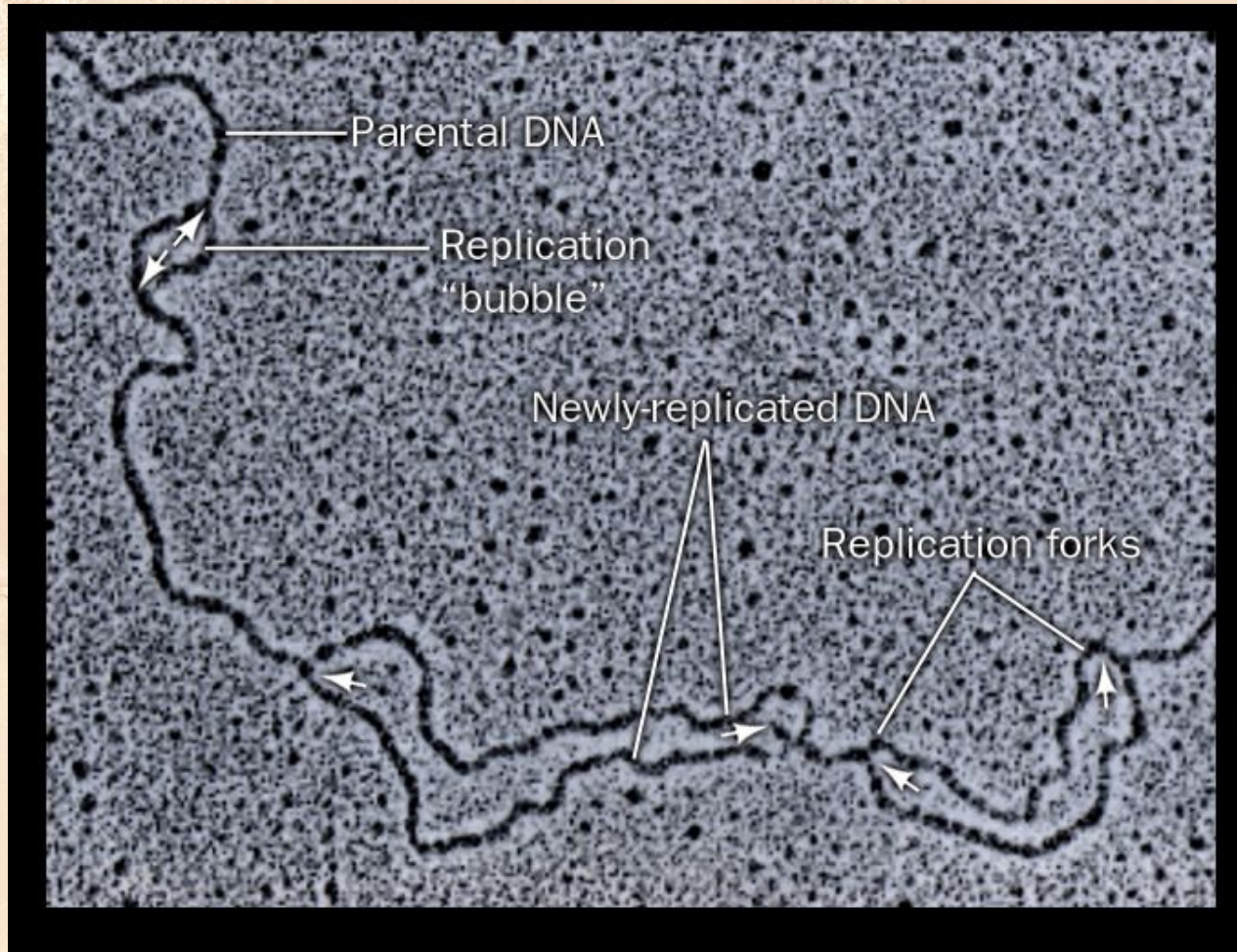
Side view

DNA polymerase III

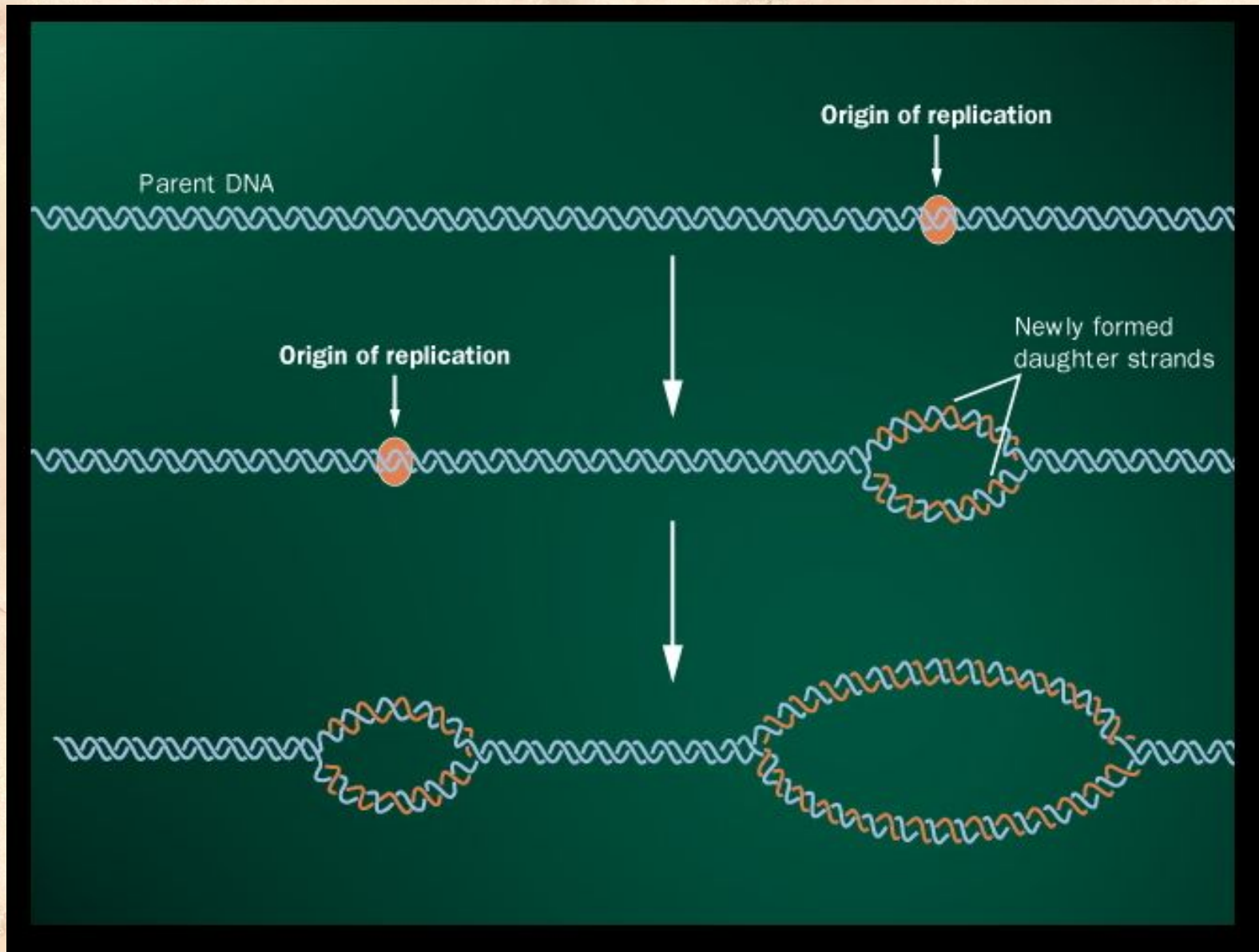
Polymerase family	Bacteria (<i>E. coli</i>)	Eukaryotes (human)	Archaea	Viruses	3' to 5' exonuclease activity	**Error rate (fidelity)	Enzymes used in assays
A	Pol I [<i>pol A</i>]	Pol γ (p140/p55/p55) Pol θ (p100/p90/p80) Pol ν	N.A.	T3, T5, T7	Yes	$\sim 10^{-5}$ – 10^{-7}	Klenow, KlenTaq, Taq, Bst, Bsu, T7
B	Pol II [<i>pol B</i>]	Pol α /primase (p180/p68/Pri2/Pri1) Pol δ (p125/p66/p50/p12) Pol ϵ (p260/p59/p17/p12) Pol ζ (p350/p24)	Pol BI Pol BII Pol BIII	HSV-1, RB69, T4, ϕ 29	Yes	$\sim 10^{-6}$	T4, ϕ 29, 9 ^o N, KOD1, Pfu, Vent
C	Pol III [<i>pol C</i>] core ($\alpha/\epsilon/\theta$)	N.A.	N.A.	N.A.	Yes	$\sim 10^{-6}$	N.A.
D	*N.A.	N.A.	Pol D (DP2/DP1)	N.A.	Yes	10^{-4} – 10^{-5}	N.A.

*In the bacterial column, the gene for each corresponding protein is indicated in the bracket. In the eukaryotic and archaeal column, the components of each holoenzyme are listed in the parentheses. *N.A. denotes "not applicable." **The unit for "Error Rate" is one error per incorporated base.*

Репликация – удвоение ДНК, матричный синтез ДНК на ДНК



Инициация репликации ДНК



Теломера

- Хромосома эукариот линейная
- Репликация начинается с праймера
- При каждой репликации конец хромосомы укорачивается
- Клетка человека может делиться 42 раза