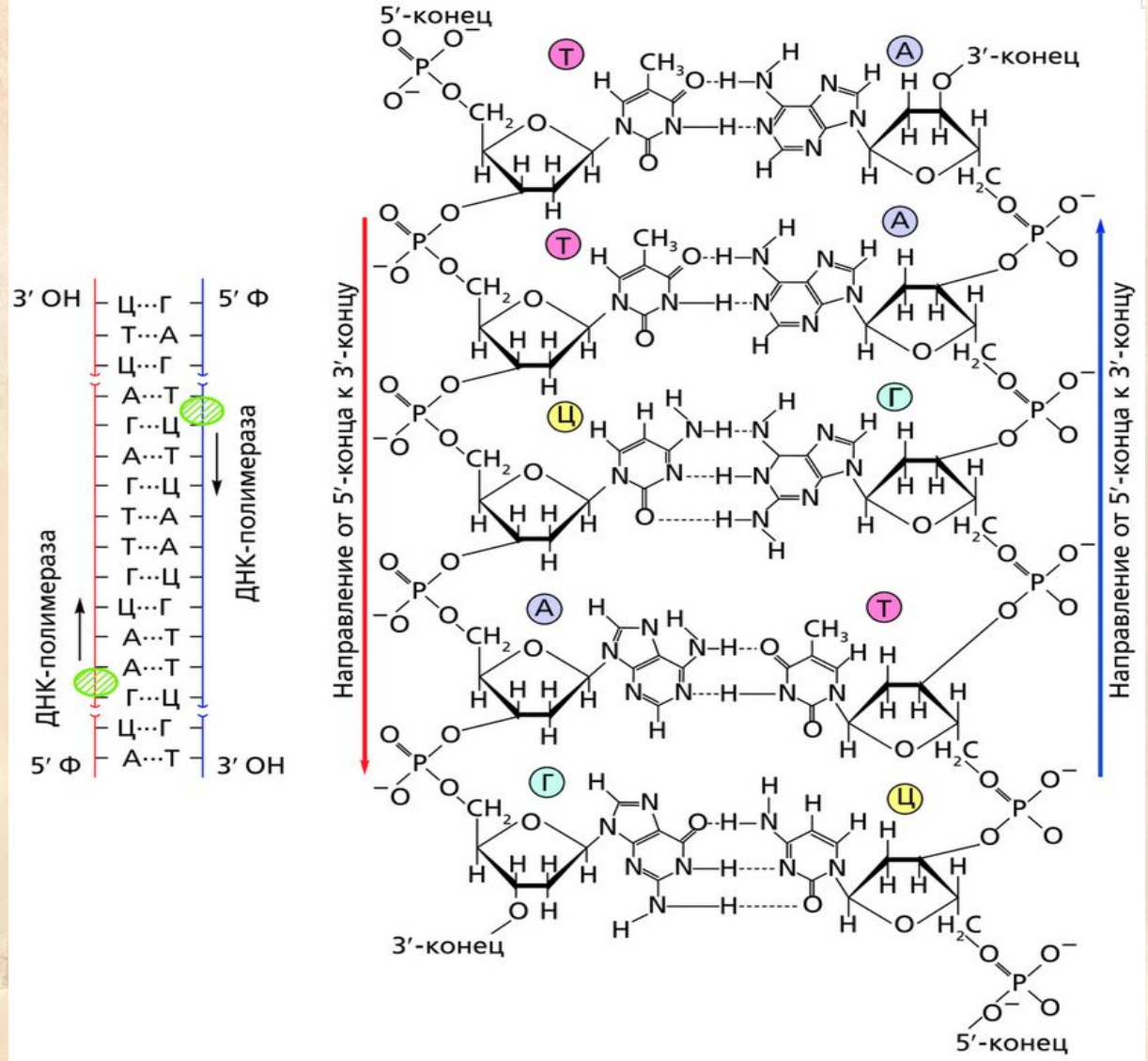
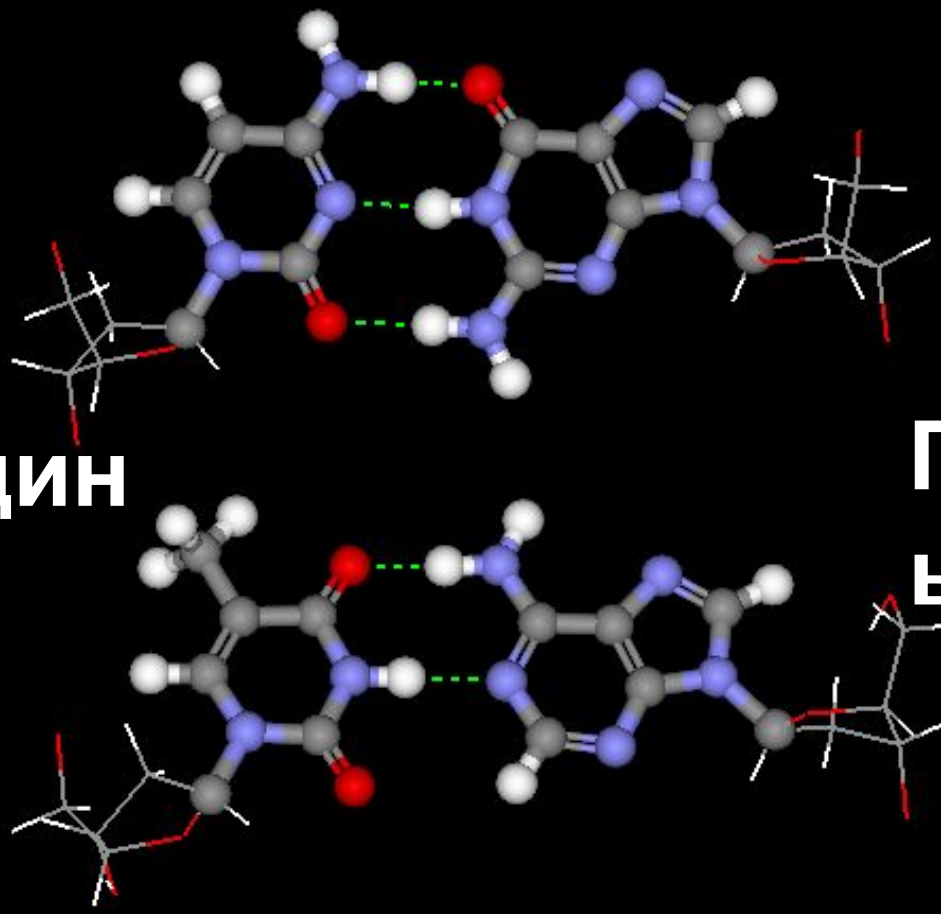
ДНК – двойная спираль из разнонаправленных полинуклеотидных цепей



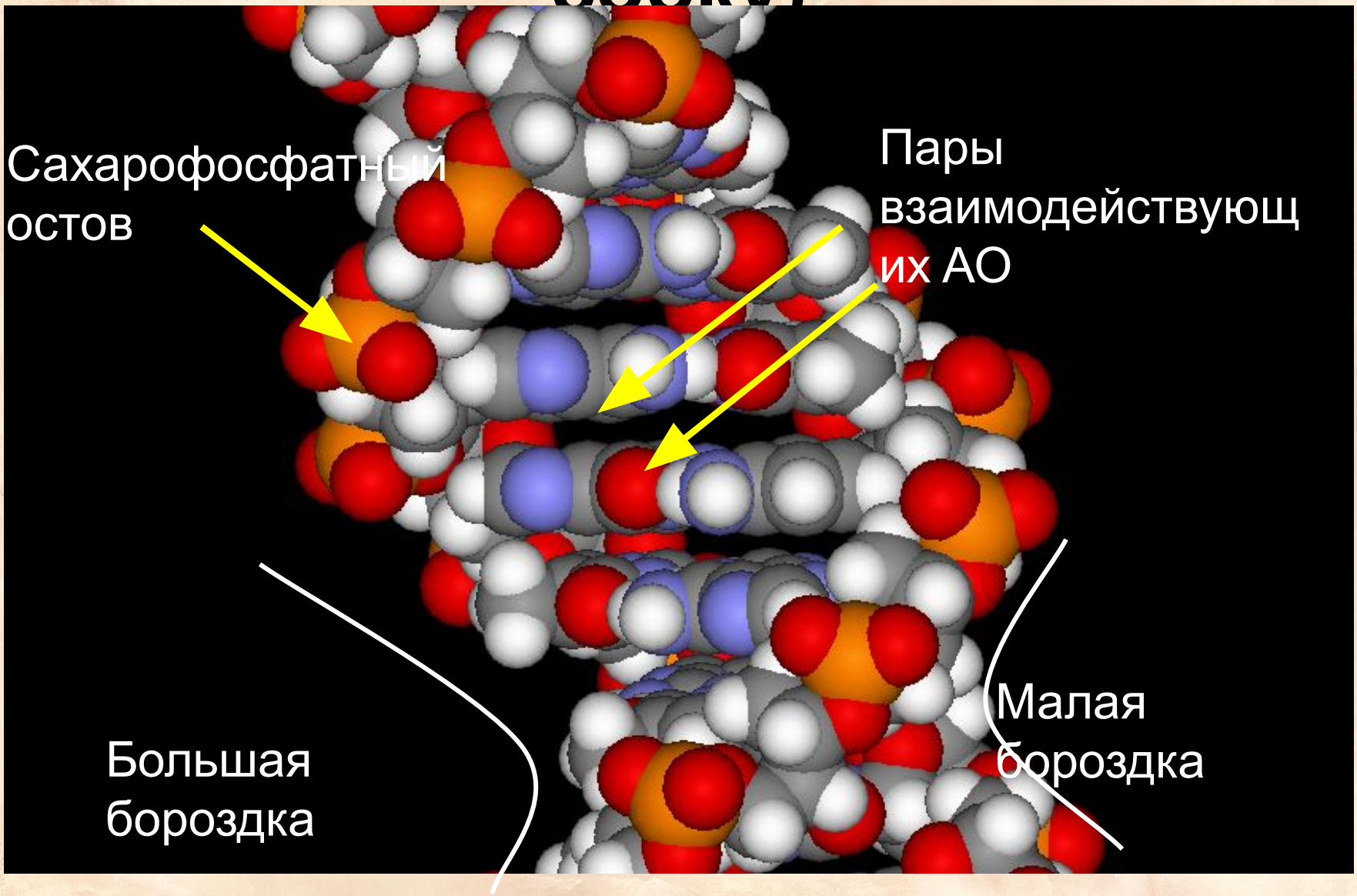
Комплементарные пары АО



Пиримидины

Пурины

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

ГЕНОТИП (ген)

Репликация РНК

ФЕНОТИП (экспрессия гена)

посттрансляционная модификация

УЧАСТНИКИ МАТРИЧНЫХ БИОСИНТЕЗОВ

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

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

Примерно 1/5 генома фага фХ174

Геномы живых организмов

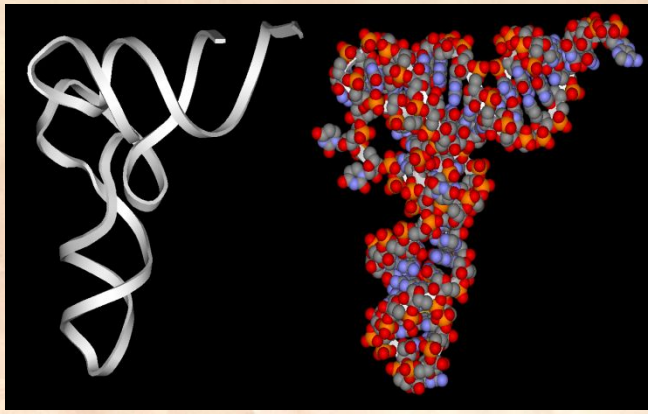
Организмы	Число пар оснований	Длина (м)
Фаги и вирусы	$10^3 – 10^5$	$\sim 10^{-6}$
Бактерии	$10^6 – 10^7$	$\sim 10^{-3}$
Дрожжи	$10^7 – 10^8$	$\sim 10^{-2}$
Животные	$10^9 – 10^{10}$	~ 1

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 Rs (+ 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

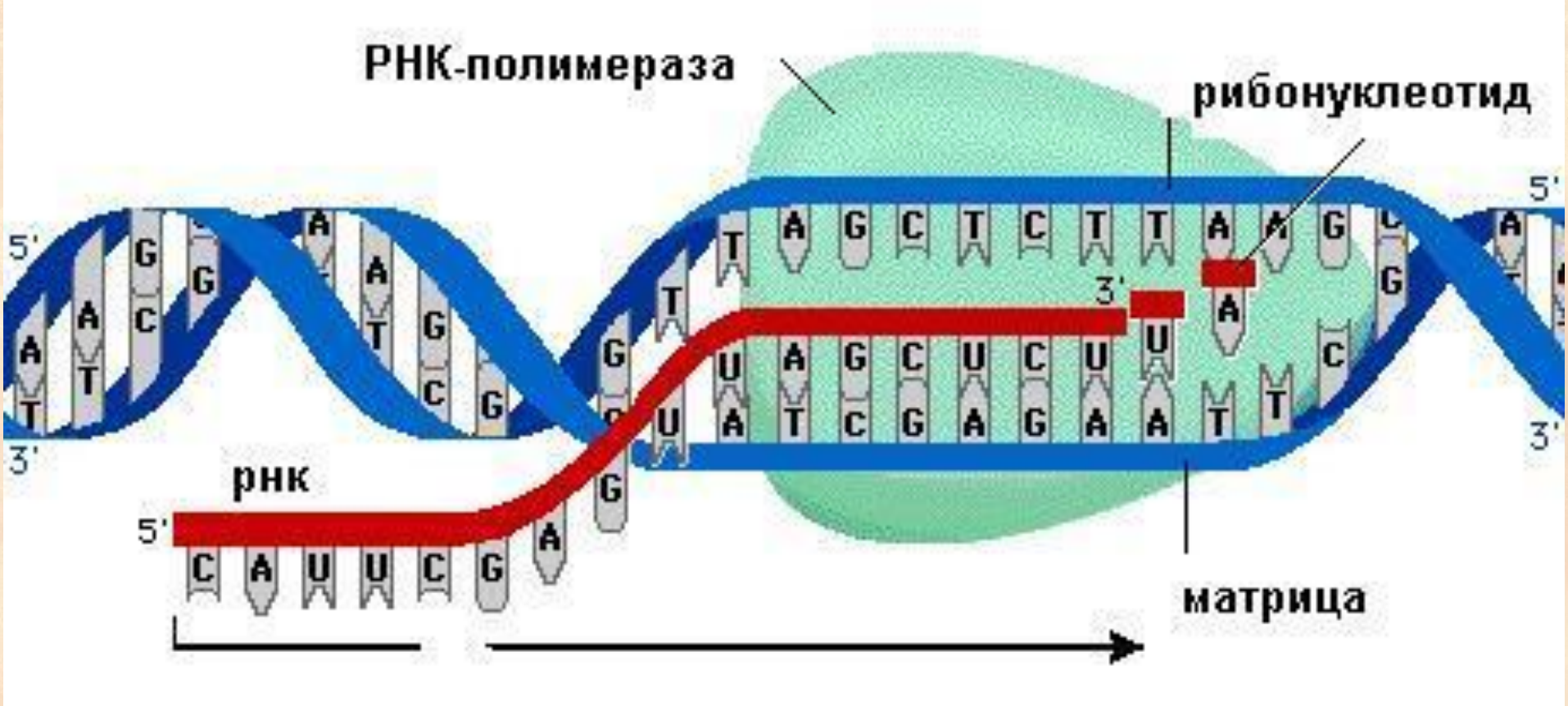
Центральная догма без “наворотов”

ДНК —Транскрипция→ РНК —Трансляция→ Белок

ДНК —Репликация↓ ДНК

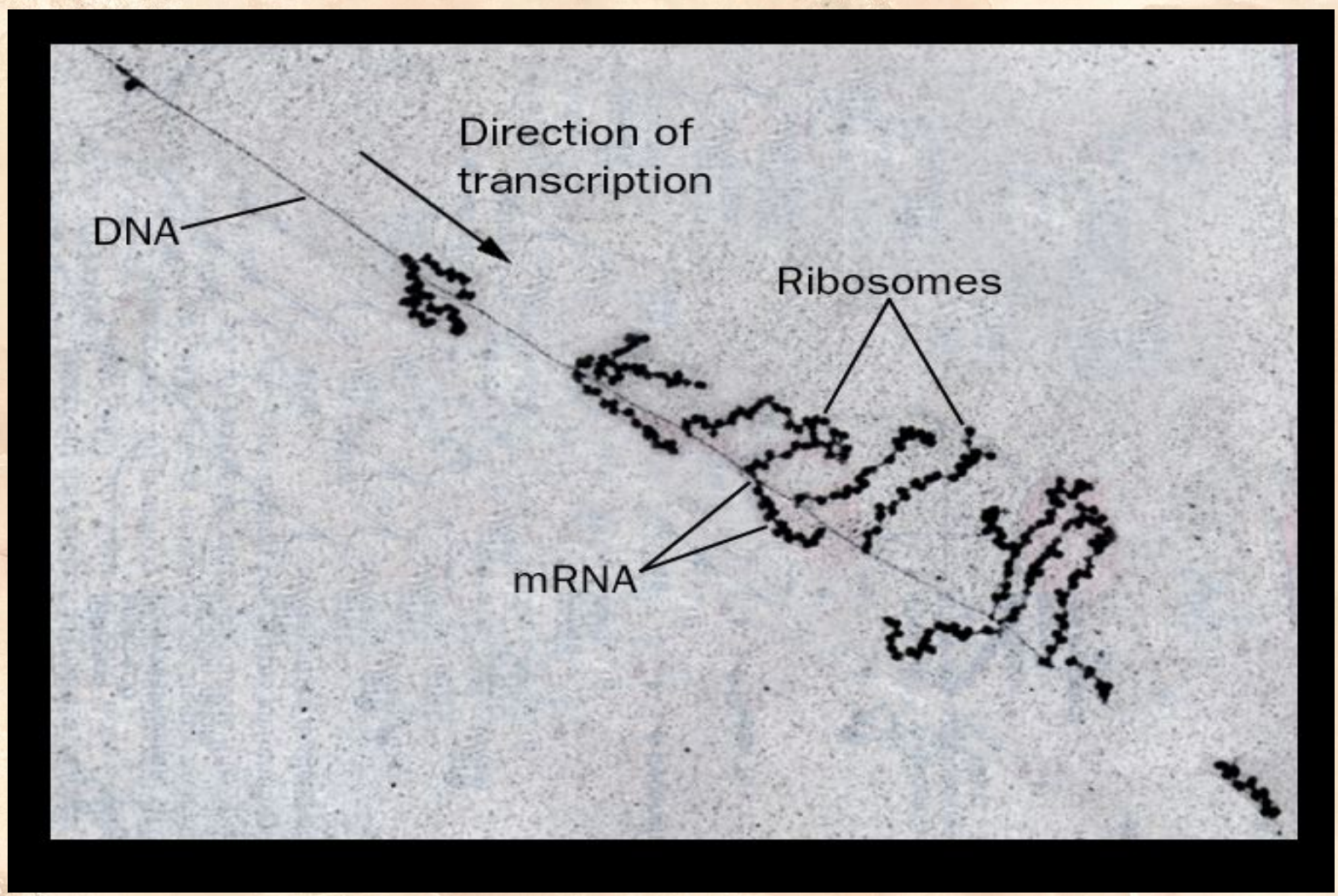
Три основных матричных биосинтеза обеспечивают реализацию генетической информации (проявление фенотипа) и передачу дочерним клеткам при делении.

Транскрипция – синтез РНК на матрице ДНК



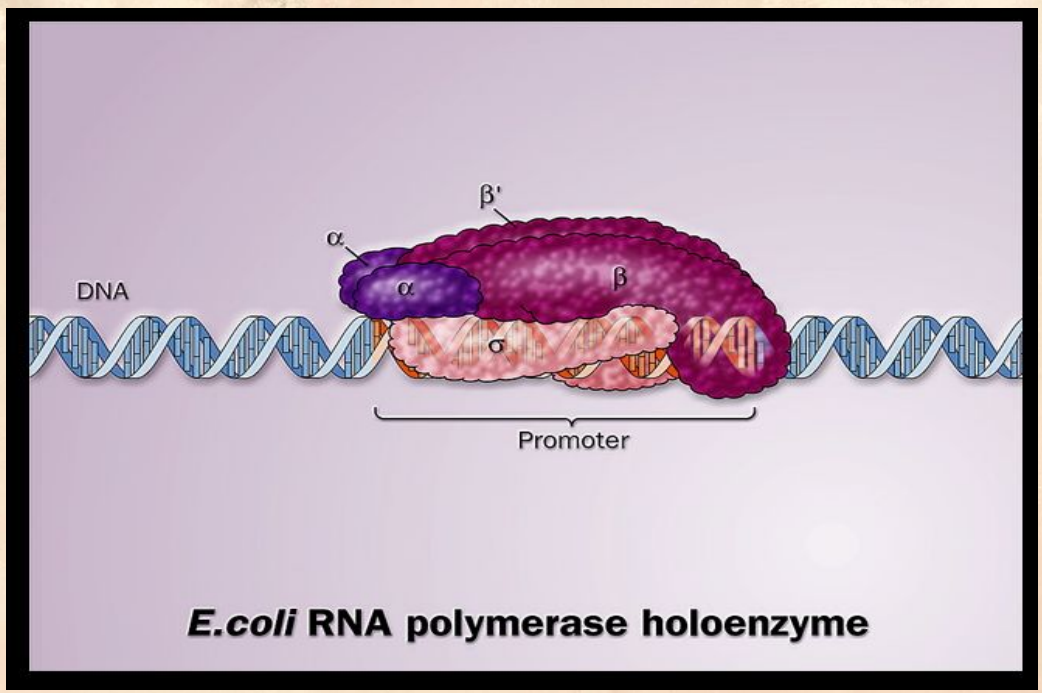
Транскрипция

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

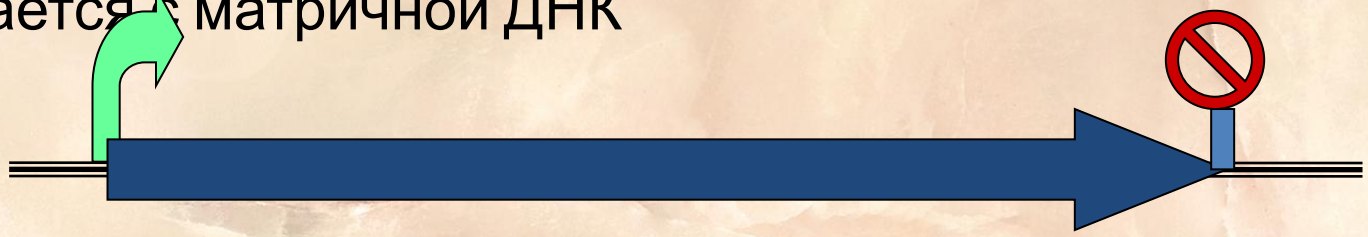


Транскрипция

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

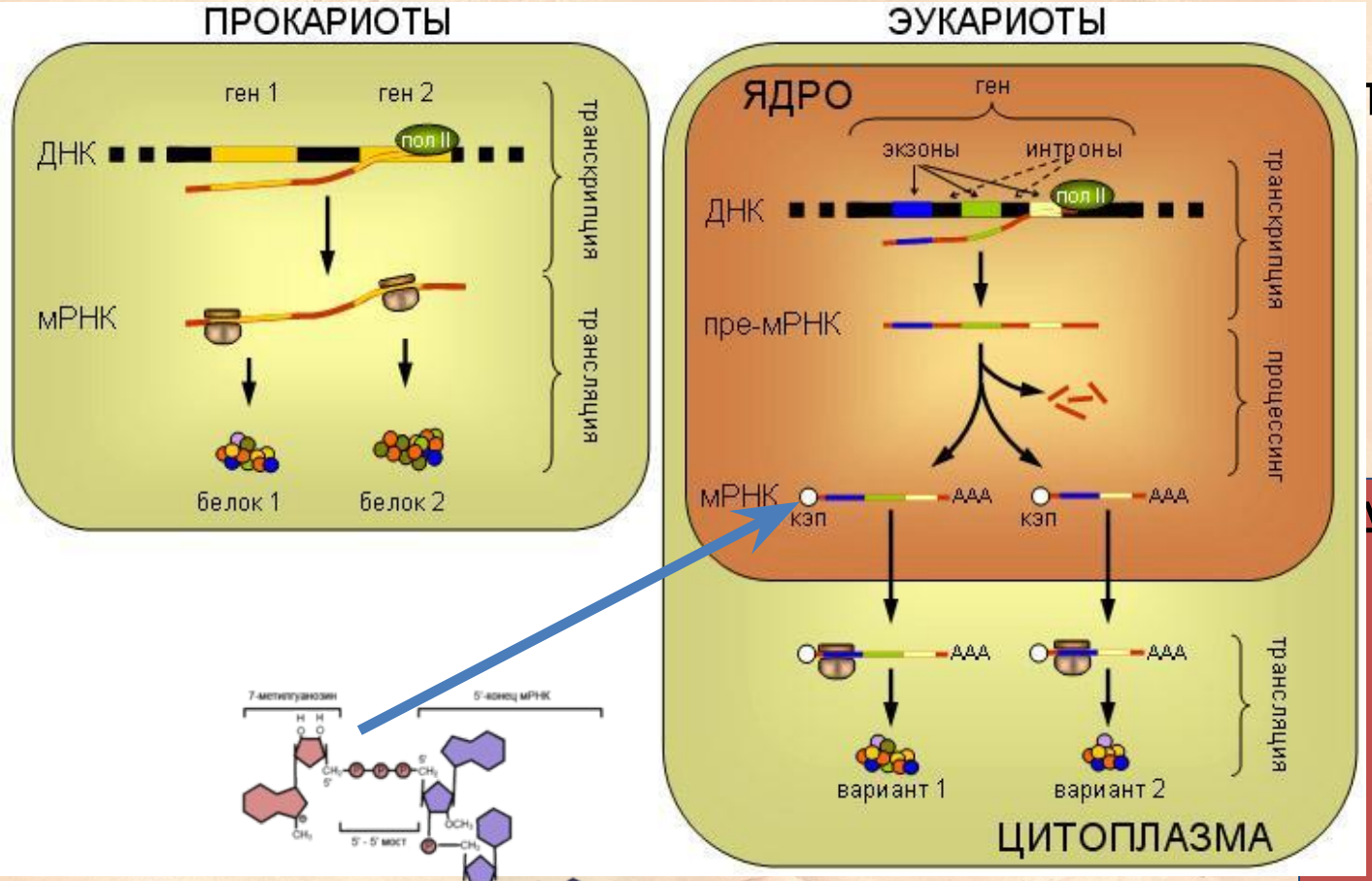
Гилберт-бокс (-35)

Прибноу-бокс (-10)

- *recA* ttgatactgtat---gagcatacagtataat
- *rpsL* ttgacacctttc--ggcatcgccctaaaat
- *aroF* ttgaaaacttta---ctttatgtgttatcgt
- *lpdA* tttaaaaattgtt--aacaattttgtaaaat
- *cyoA* tttacagtaatgt--aaccttcccgtaaaat
- *uvrD* ttggcatctctg---acctcgctgatataat
- *atpI* ttgaaatcacgg---gggcgcaccgtataat
- *tonB* ttgaatatgattgc-tatttgcatttaaaat
- *rpsU* tttacaaagcagca-gcaattgcagtaaaat
- *cirA* ttgataattgtta--tcgtttgcattatcgt
- *fur* ttttcatttaggc--gtggcaattctataat
- *ampC* ttgtcacgctga---ttggtgtcgttacaat
- uvrB gtgatgaactgttt-ttttatccagtataat
- *argC* ttgacacacct----ctggtcatgatagtat
- *rpmH* ttgactccggagt--gtacaattattacaat
- *rplT* ttaacgttttta---actttttaattagaat
- *gyrA* tttacctcaaactgcgcggctgtgttataat

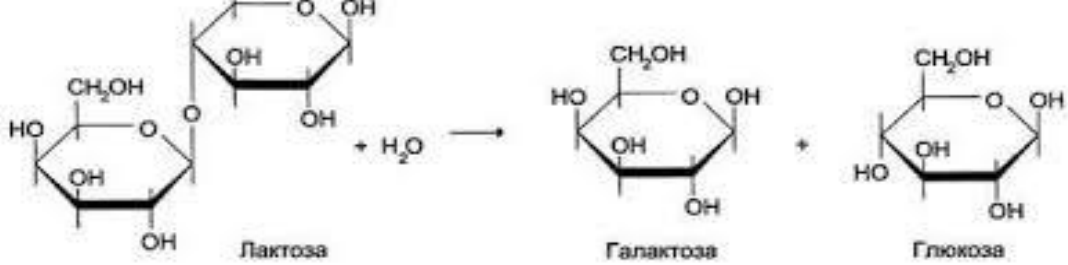
Особенности транскрипции у эукариот – Процессинг РНК

(сплайсинг, кепирование, поладенилирование)



Процесс транскрипции и трансляции разнесен во времени и пространстве

Альтернативный сплайсинг позволяет считывать с одного гена несколько вариантов белка!



Регуляция

негативная
(белок-репрессор)

позитивная
(САР-белок)

Катаболитная репрессия

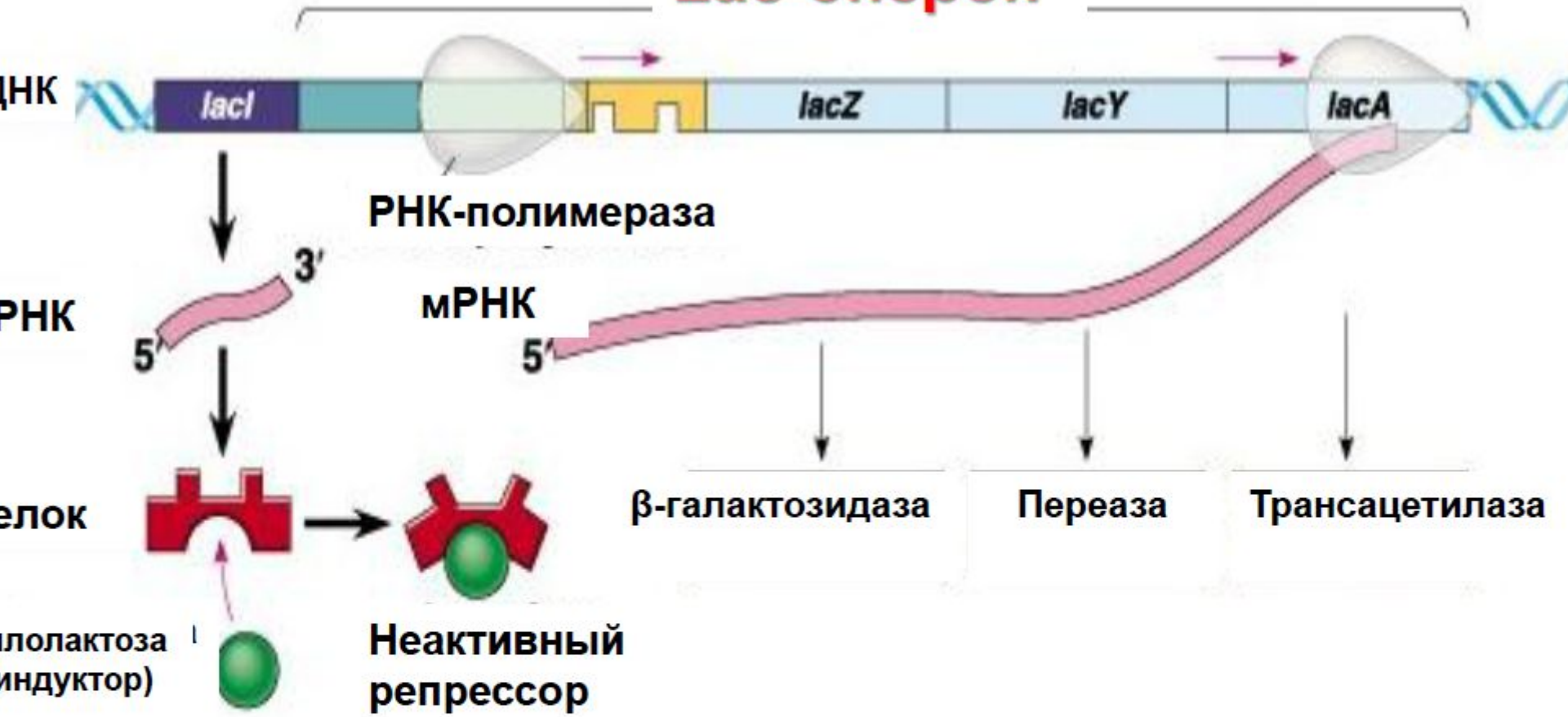
-лактоза, +глюкоза → **Оперон не работает**

-лактоза, -глюкоза → **Оперон не работает**

+лактоза, +глюкоза → **Оперон слабо активен**

+лактоза, -глюкоза → **Оперон максимально активен**

Lac-оперон



1961 г. *Франсуа Жакоб и Жак Моно* описали ставшую тепер
лассической модель оперона. Их концепция в значительной
ере была основана на изучении регуляции метаболизма
актозы у кишечной палочки E. coli. Молекулярный механизм
егуляции генов, участвующих в метаболизме лактозы, на
егодняшний 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

	A		T		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

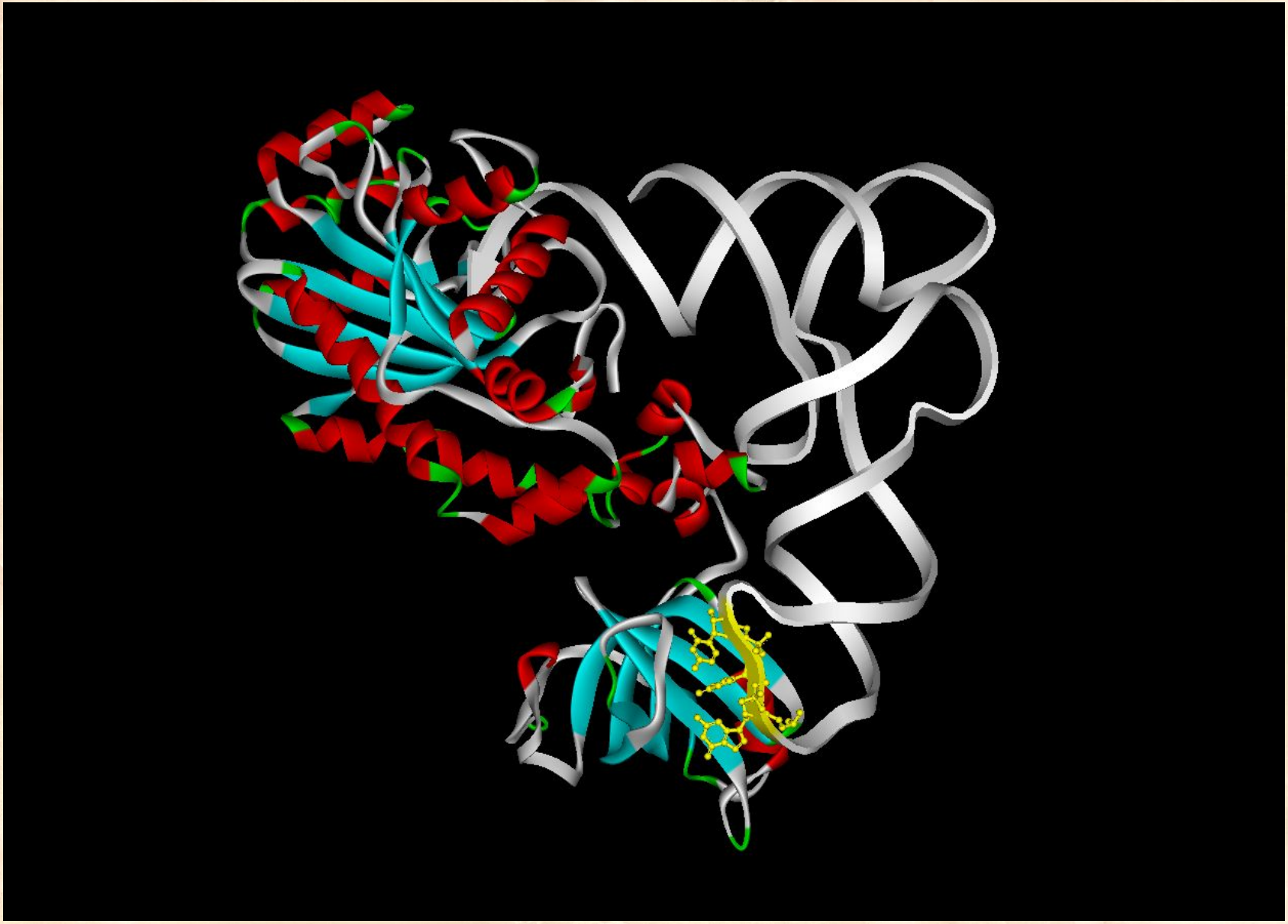
генетический код митохондрий млекопитающих

	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

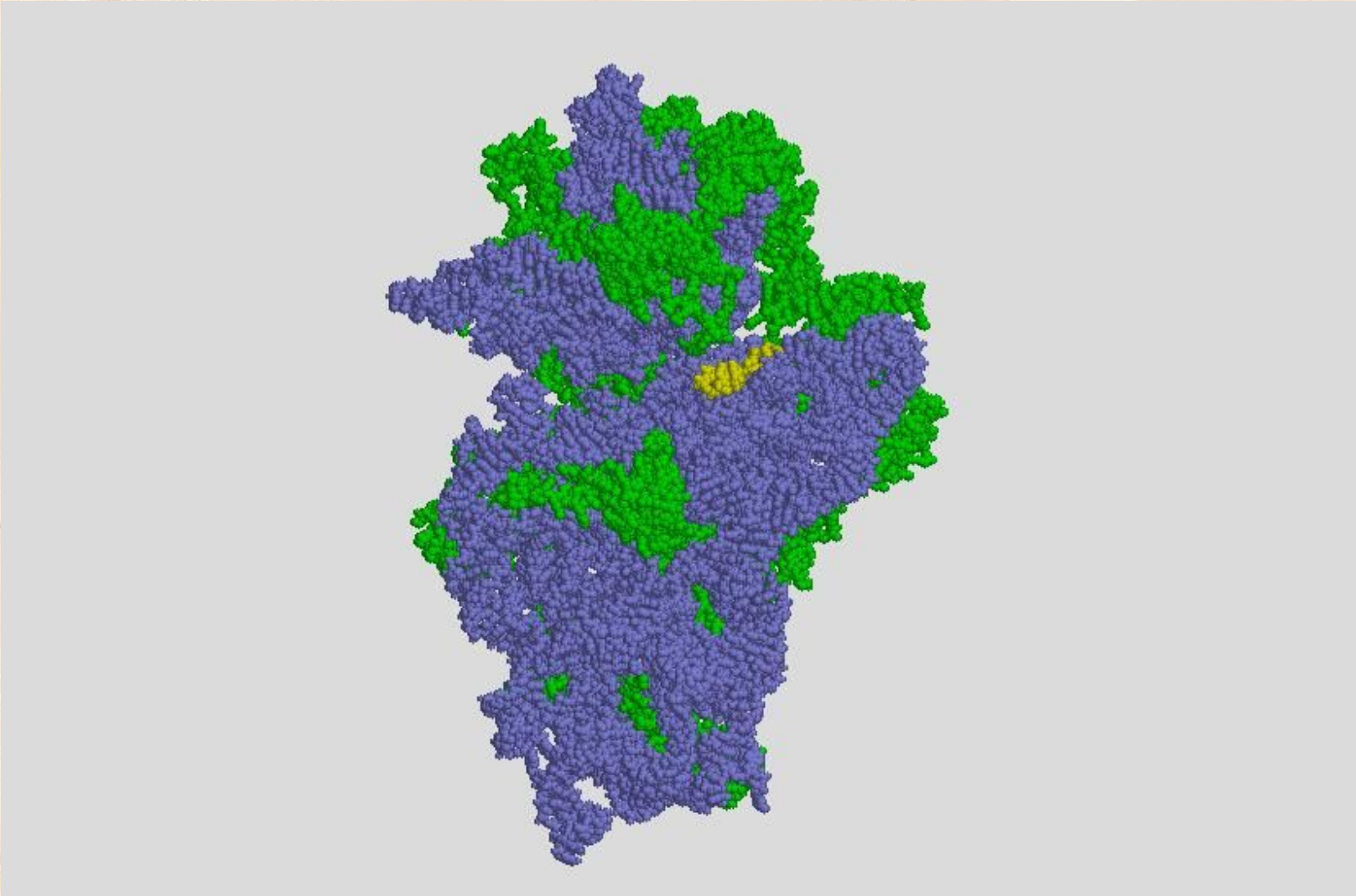


Состав рибосомы

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

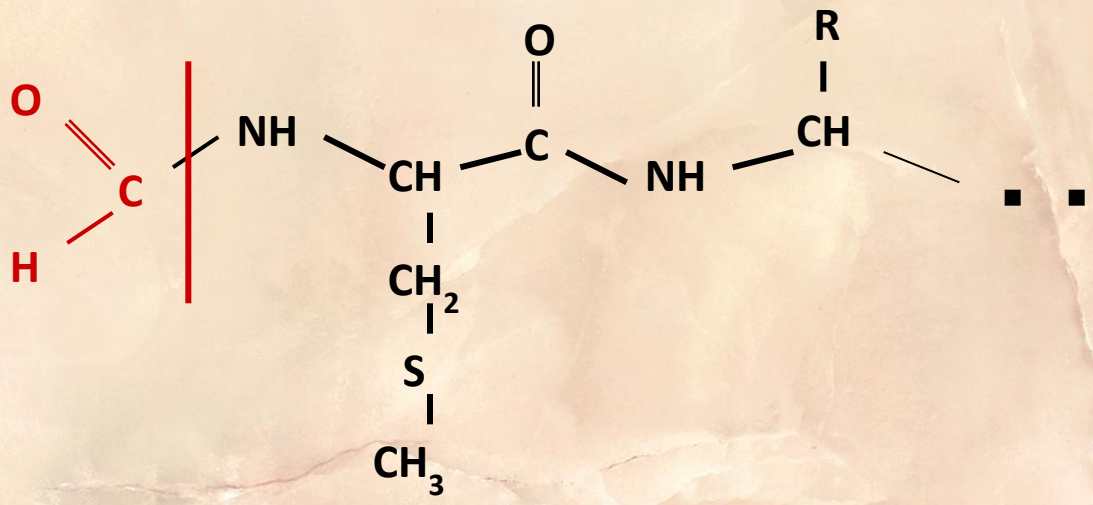
Рибосомные гены многократно дуплицированы

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

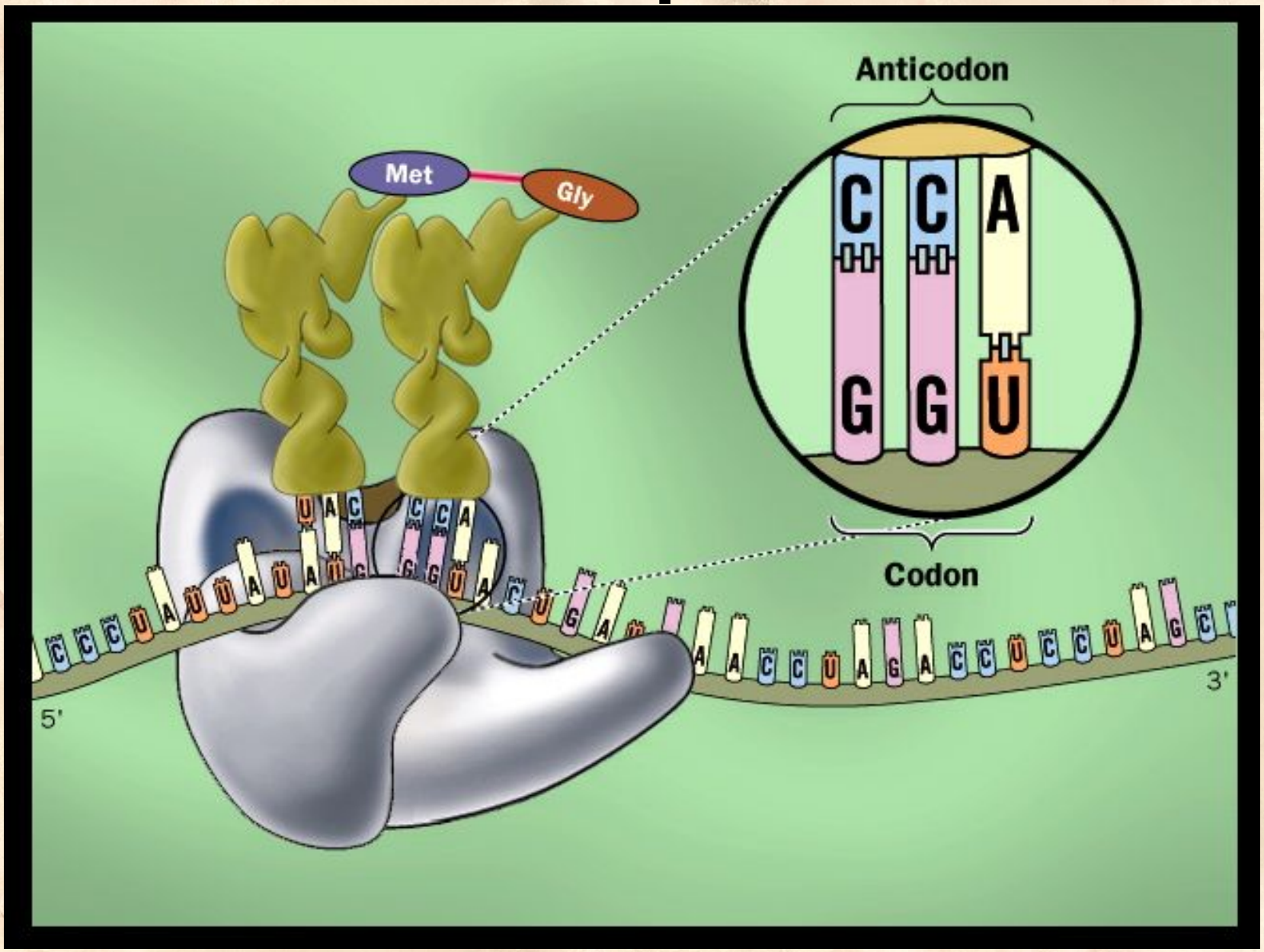
dnaN	ACATTATCCGTTAGGAGGATAAAA**ATG**
gyrA	GTGATACTTCAGGGAGGTTTTTTA**ATG**
serS	TCAATAAAAAAAGGAGTGTTTCGC**ATG**
bofA	CAAGCGAAGGAGATGAGAAGATTC**ATG**
csfB	GCTAACTGTACGGAGGTGGAGAAG**ATG**
xpaC	ATAGACACAGGAGTCGATTATCTC**ATG**
metS	ACATTCTGATTAGGAGGTTTCAAG**ATG**
gcaD	AAAAGGGATATTGGAGGCCAATAA**ATG**
spoVC	TATGTGACTAAGGGAGGATTCGCC**ATG**
ftsH	GCTTACTGTGGGAGGAGGTAAGGA**ATG**
pabB	AAAGAAAATAGAGGAATGATACAA**ATG**
rplJ	CAAGAATCTACAGGAGGTGTAACC**ATG**
tufA	AAAGCTCTTAAGGAGGATTTTAGA**ATG**
rpsJ	TGTAGGCGAAAAGGAGGGAAAATA**ATG**
rpoA	CGTTTTGAAGGAGGGTTTTAAGTA**ATG**
rplM	AGATCATTTAGGAGGGGAAATTCA**ATG**

Где начинается трансляция? прокариоты

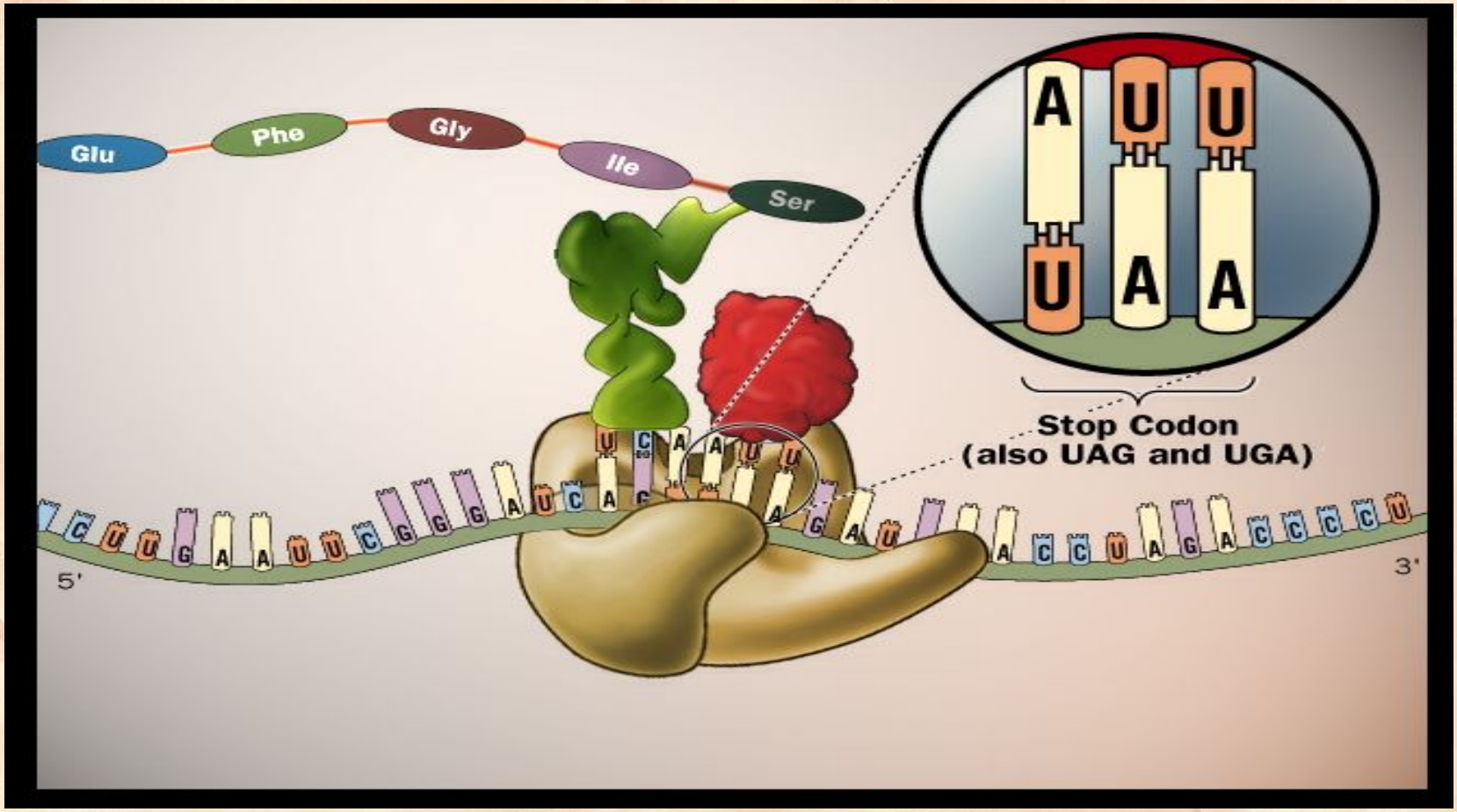
dnaN	ACATTATCCGTT**AGGAGG**ATAAAA**ATG**
gyrA	GTGATACTTCA**GGAGG**TTTTTTA**ATG**
serS	TCAATAAAAAA**AGGAG**TGTTTCGC**ATG**
bofA	CAAGCGA**AGGAG**ATGAGAAGATTC**ATG**
csfB	GCTAACTGTA**CGGAGG**TGGAGAAG**ATG**
xpaC	ATAGACAC**AGGAG**TCGATTATCTC**ATG**
metS	ACATTCTGATT**AGGAGG**TTTCAAG**ATG**
gcaD	AAAAGGGATAT**TGGAGG**CCAATAA**ATG**
spoVC	TATGTGACTAA**GGAGG**ATTCGCC**ATG**
ftsH	GCTTACTGTGGG**AGGAGG**TAAGGA**ATG**
pabB	AAAGAAAA**TAGAGG**AATGATACAA**ATG**
rplJ	CAAGAATCTAC**AGGAGG**TGTAACC**ATG**
tufA	AAAGCTCTTA**AGGAGG**ATTTTAGA**ATG**
rpsJ	TGTAGGCGAAA**AGGAGG**GAAAATA**ATG**
rpoA	CGTTTTGA**AGGAGG**GTTTTAAGTA**ATG**
rplM	AGATCATTT**AGGAGG**GGAAATTCA**ATG**

Последовательность Шайна-Дальгарно (SD)

Элонгация трансляции

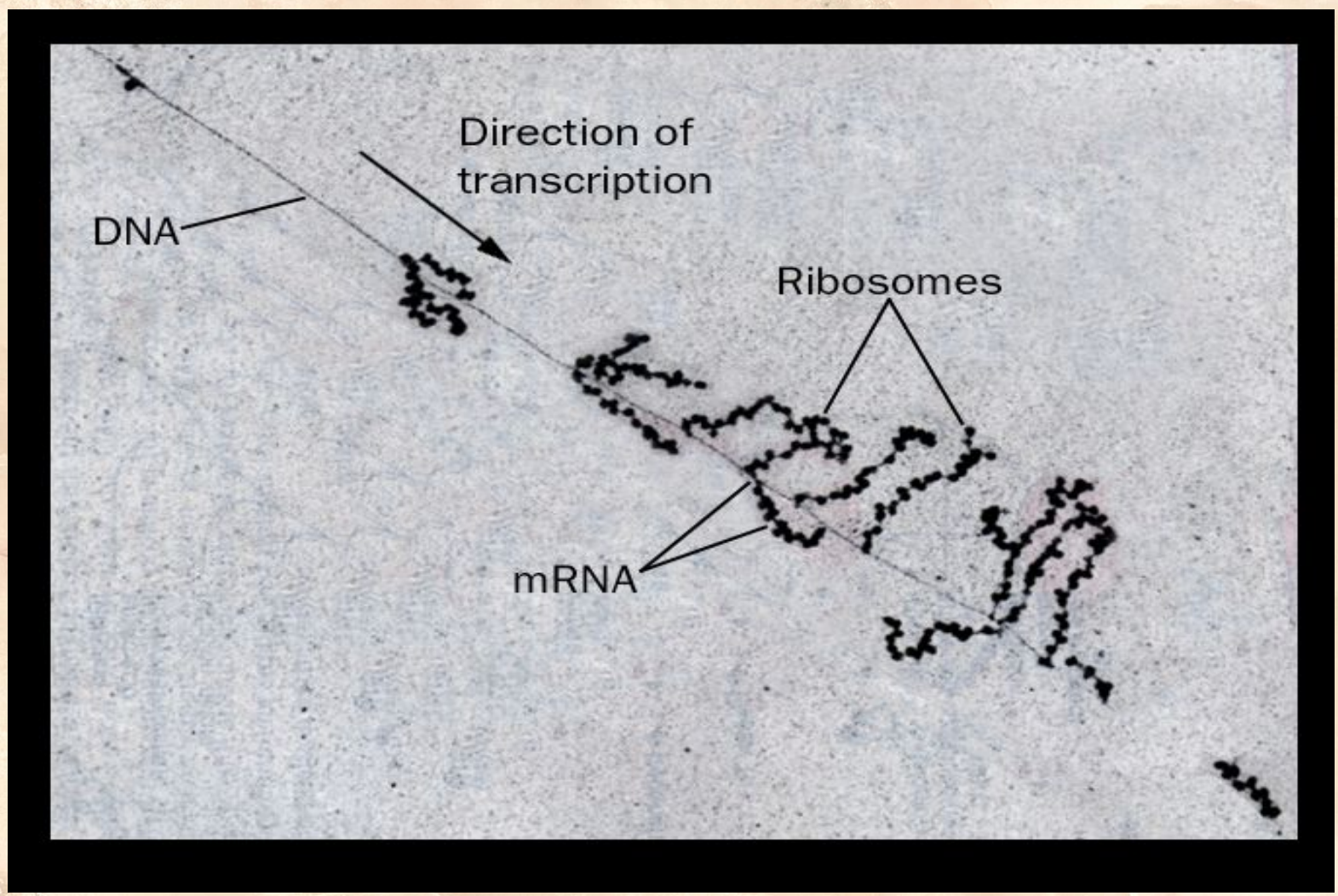


Терминация трансляции



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

Трансляция, полисомы у прокариот



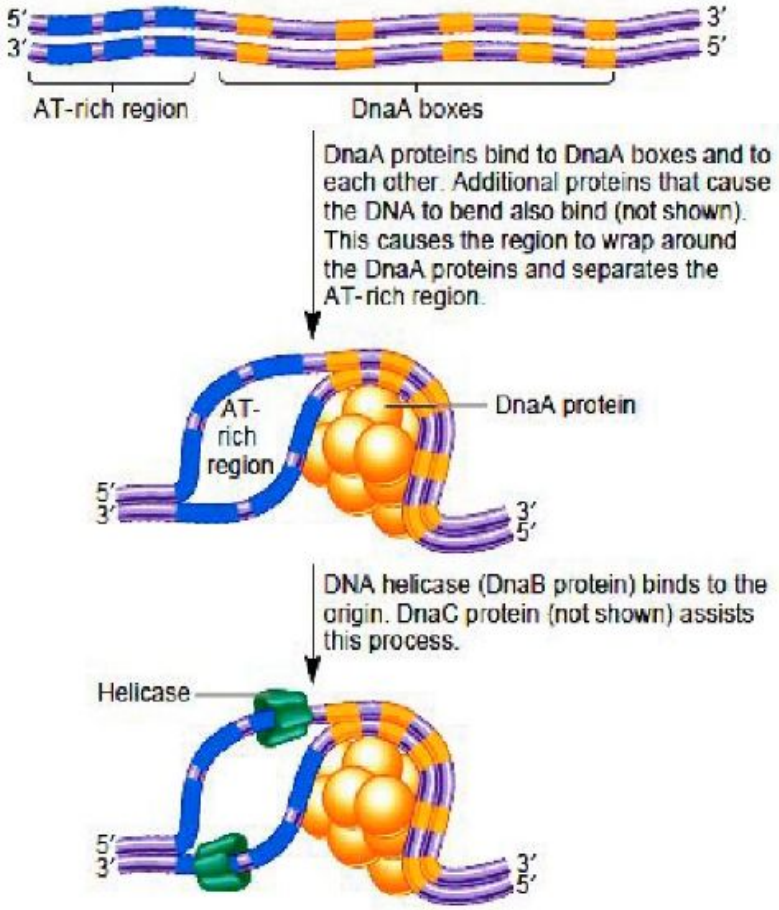
Как подошли к репликации?

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

Репликация – удвоение ДНК, матричный синтез ДНК на ДНК

Инициация репликации у прокариот

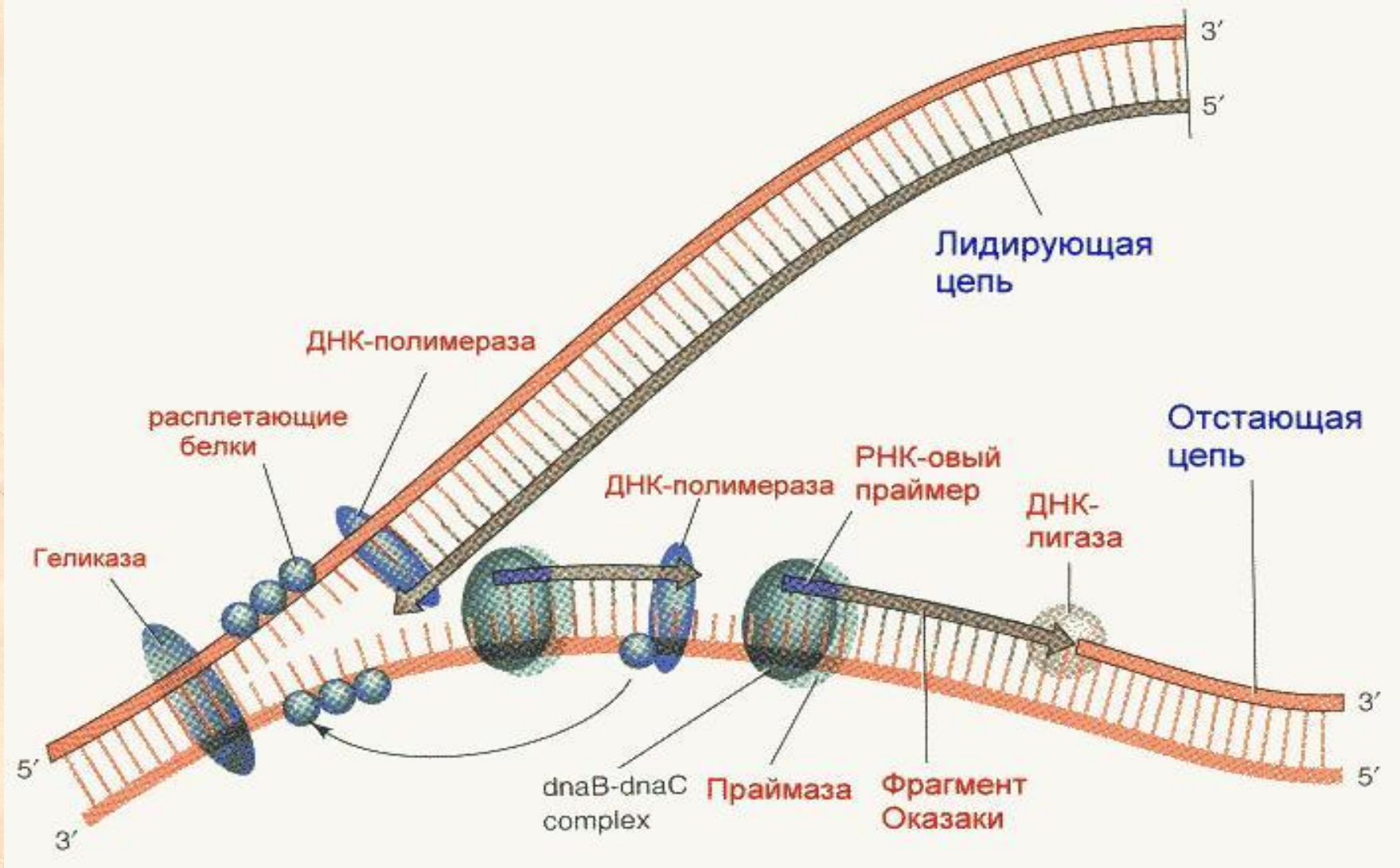
- Инициация репликации у E. coli происходит в регионе oriC
- Основной белок-инициатор - DnaA
- После распознавания ориджина происходит локальное плавление ДНК и привлечение ДНК-геликаз



Участники репликации

- Хеликаза
- SSB белки
- Топоизомеразы и гираза
- 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

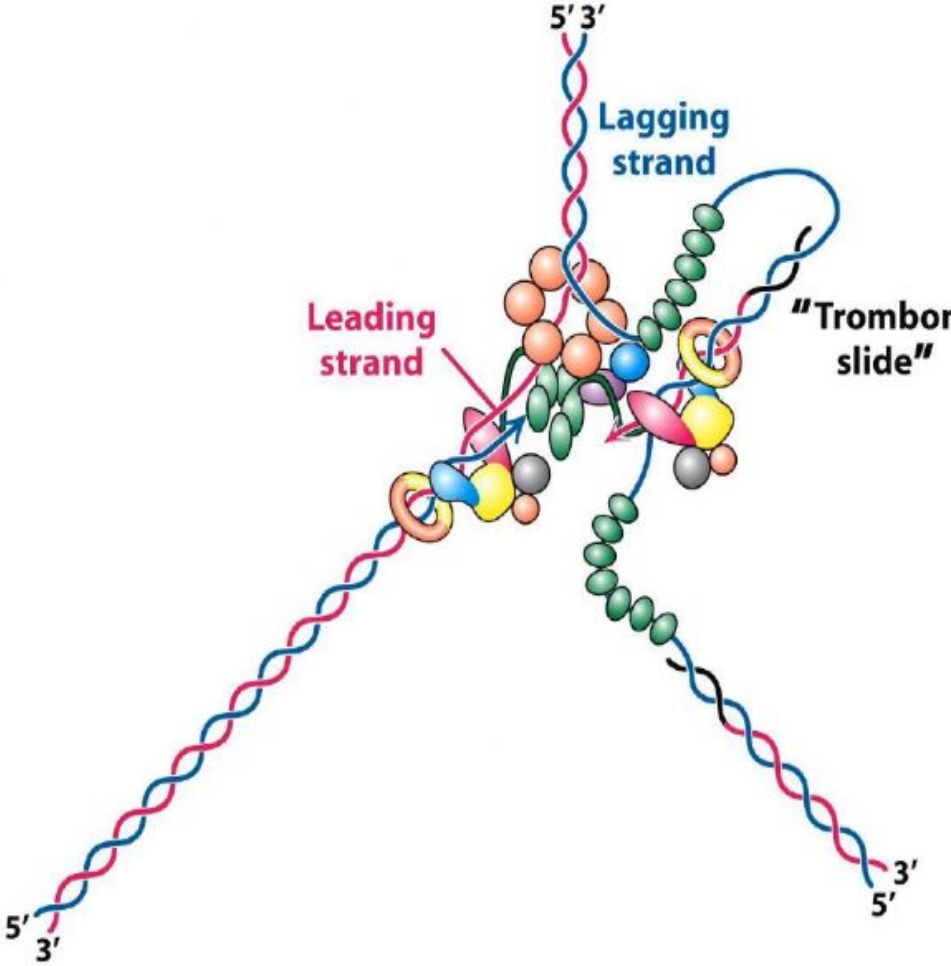


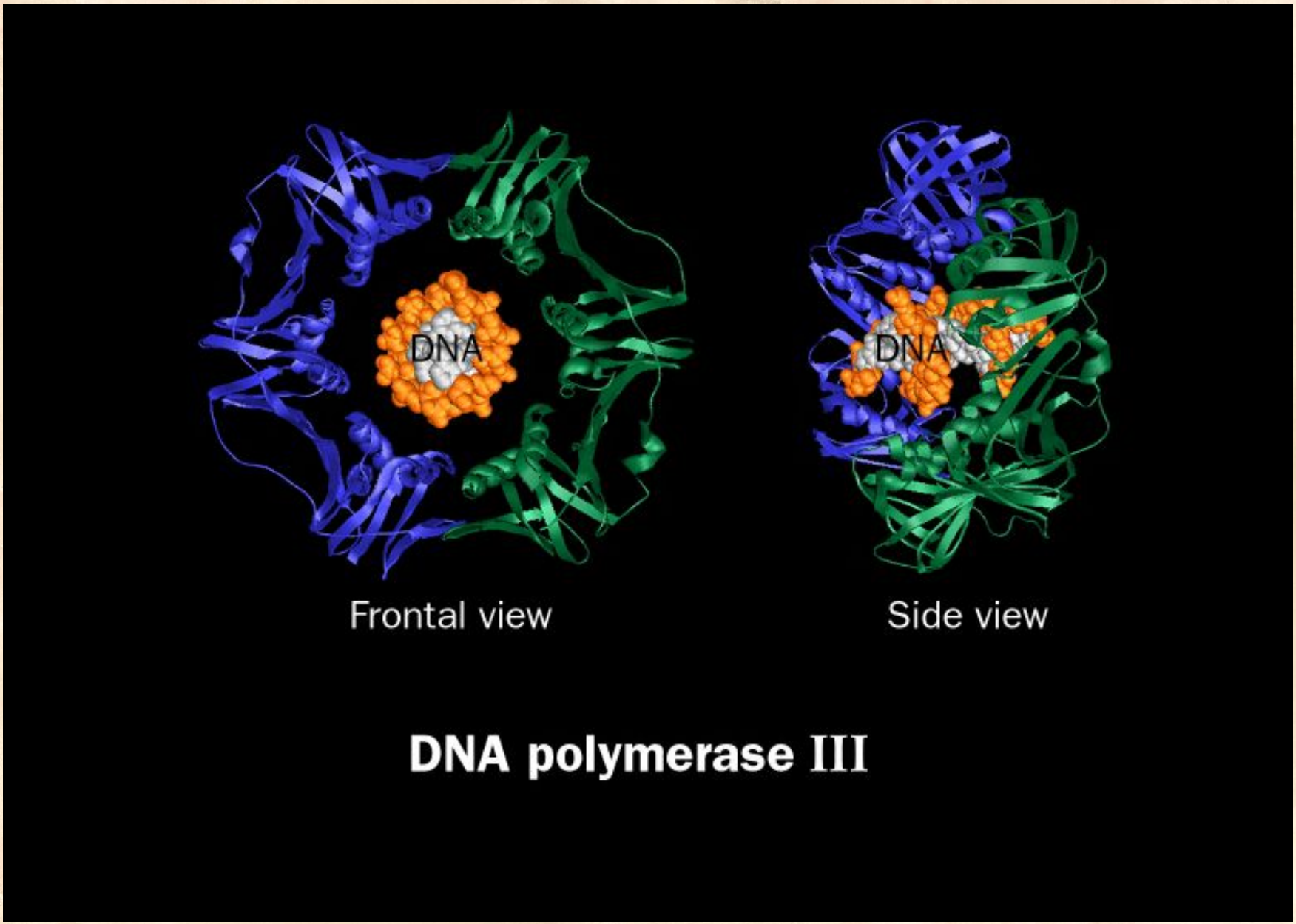
Figure 28.23
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

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

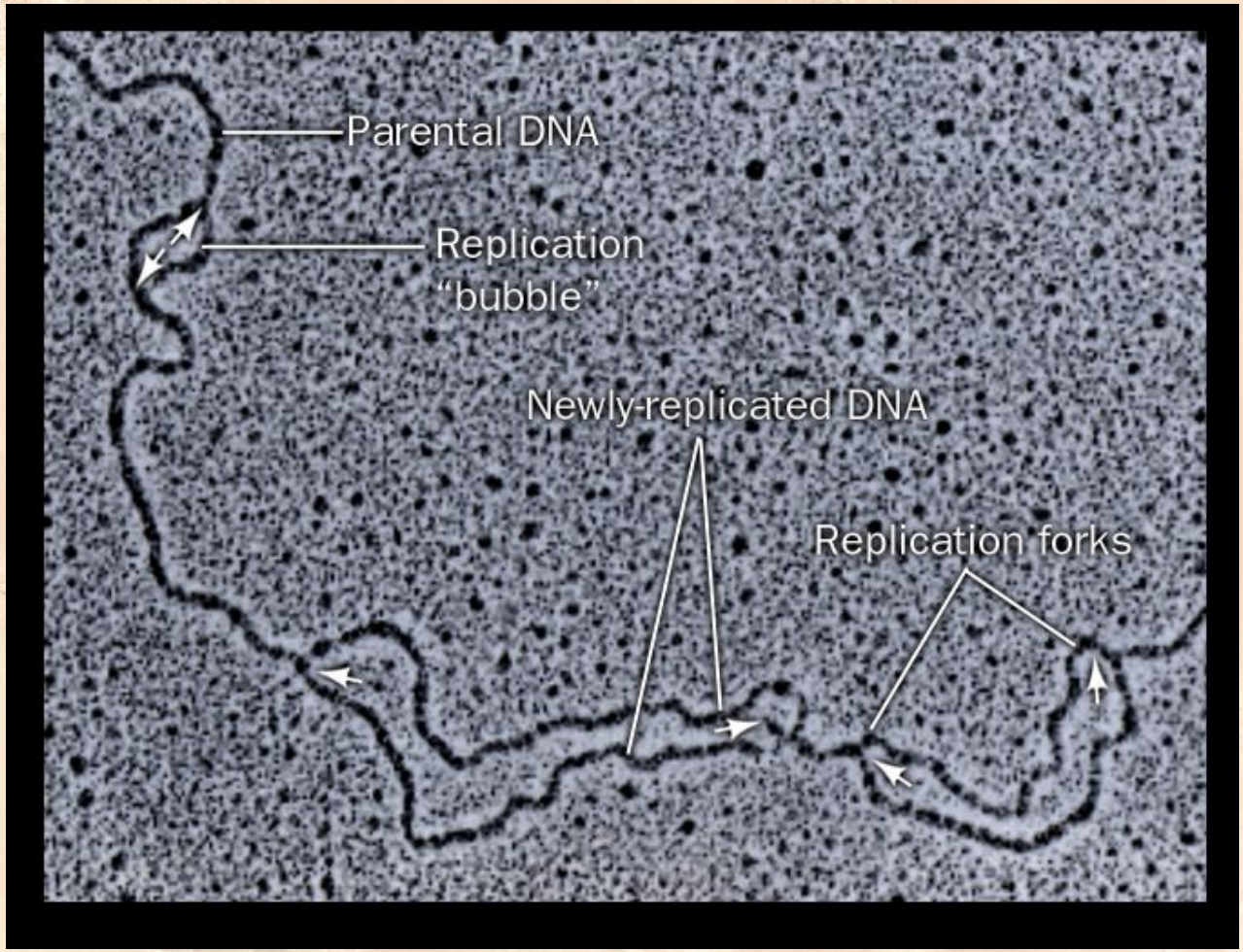
ДНК-полимераза III



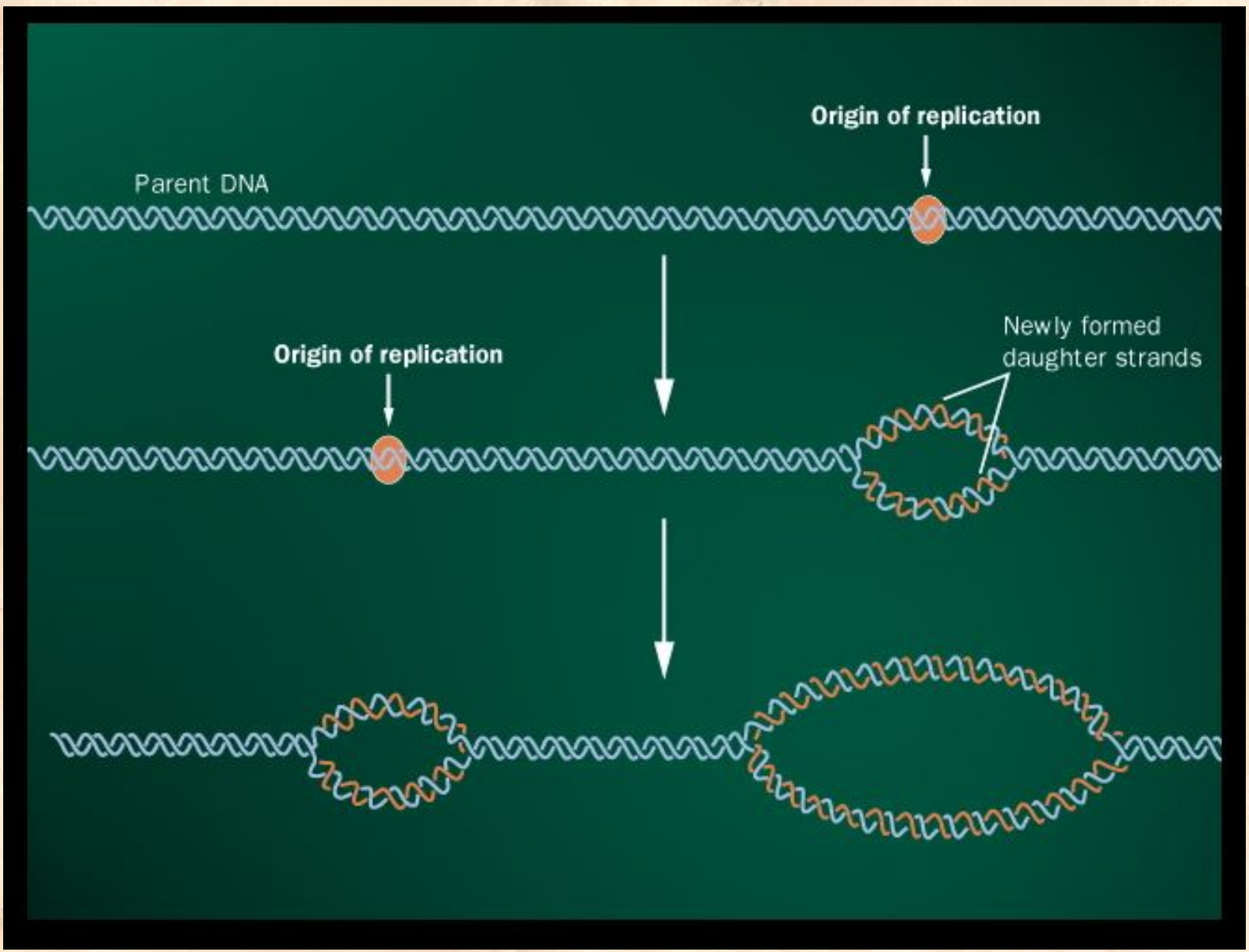
Polymerase family	Bacteria (*E. coli*)	Eukaryotes (human)	Archaea	Viruses	3′ to 5′ exonuclease activity	**Error rate (fidelity)	Enzymes used in assays
A	Pol I [*pol A*]	Pol γ (p140/p55/p55) Pol θ(p100/p90/p80) Pol υ	N.A.	T3, T5, T7	Yes	$\sim 10^{-5}$–10^{-7}	Klenow, Klen*Taq*, *Taq*, *Bst*, *Bsu*, T7
B	Pol II [*pol B*]	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, ϕ29	Yes	$\sim 10^{-6}$	T4, ϕ29, *9°N*, *KOD1*, *Pfu*, *Vent*
C	Pol III [*pol C*] core (α/ε/θ)	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