Пластический обмен

Пластический обмен

- Репликация – удвоение ДНК.
- Транскрипция – процесс синтеза РНК по матрице ДНК;
- Трансляция – процесс синтеза белка по матрице РНК
- Фотосинтез – образование сахара за счет энергии солнца;
- Хемосинтез – образование сахара за счет энергии окисления неорганических молекул
- Синтез жирных кислот.
- Гликонеогенез – образование глюкозы из лактата (цикл Кори).

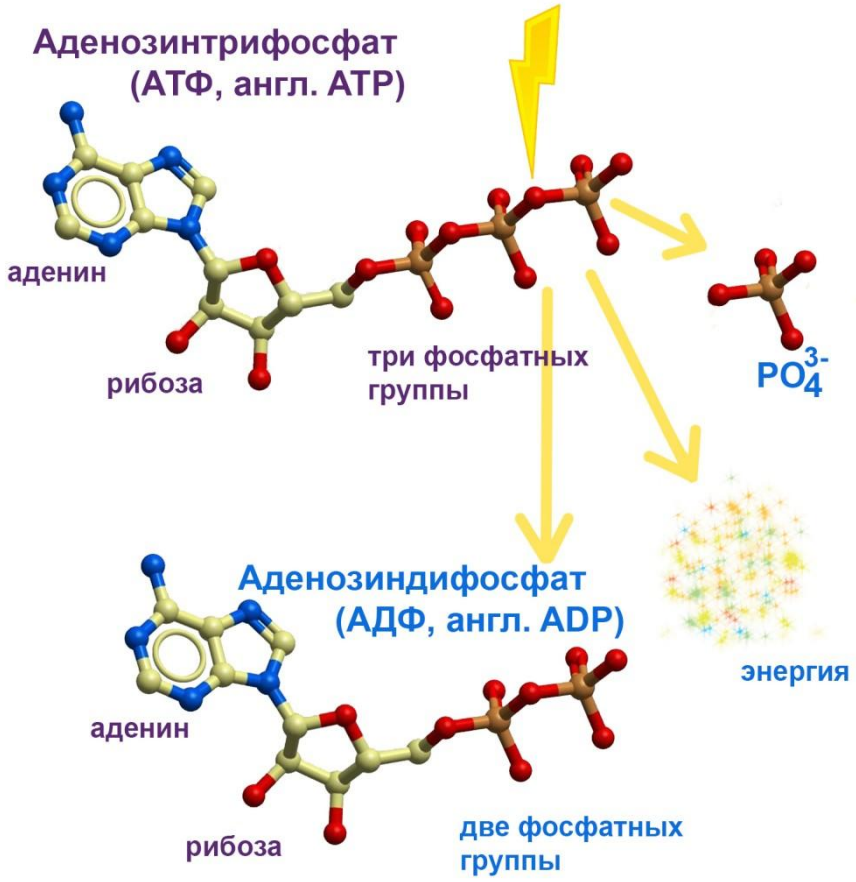
Пластический обмен

По другому называется анаболизмом. Всегда проходит с затратой энергии.

- В процессе фотосинтеза используется физическая энергия фотонов;
- В хемосинтезе энергия окисления вещества (металлов и неметаллов);
- В синтезе нуклеиновых кислот, жиров и сахаров в клетках грибов, растений и животных используется энергия молекул аденинтрифосфорной кислоты (АТФ), а именно разрушается высокоэнергетическая связь между фосфорными кислотами (макроэргическая связь).

Аденинтрифосфорная кислота

- В латинской литерации также обозначается как аденозинтрифосфорная кислота (АТФ).
- Потеряв одну фосфорную группу называется аденинди фосфорная кислота (АДФ), две – аденинмонофосфорная кислота (АМФ).
- АДФ и АМФ могут вновь присоединять к себе остатки фосфорных кислот.
- Связи между ними называются фосфо-ангидридными.
- Связь между АТФ и рибозой называется фосфоэфирной связью.



Как работает АТФ

- АТФ отдает свою фосфатную группу субстрату или ферменту. При этом происходит упругое изменение молекулы белка за счет того, что вешает/присоединяет фосфатную группу (фосфорилирует).
- Форма белка меняется. Это похоже на взведенный курок, натянутую титеву. Это состояние не стабильное.
- Упругое сопротивление молекулы белка приводит к сбрасыванию молекулы фосфорной кислоты, возвращает форму белка и попутно меняет субстрат в продукт.

Репликация ДНК - удвоение

- Происходит в ядре.
- Расплетение и удвоение ДНК происходит за счет ДНК-полимеразы.
- Репликация (удвоение цепочки) происходит от 3’ к 5’ концу.
- Происходит на S-фазе жизненного цикла клетки.
- Образование новой цепочки идет с затратой энергии.

Репликация ДНК (копирование)

- Механизм копирования называется **полуконсервативным**, так как матрицей новой молекуле ДНК служит одна нить материнской ДНК; Из них образуется новая двунитевая молекула (старая+новая);
- Новая цепочка ДНК образуется по принципу **комплементарности** – взаимоподходимости азотистых оснований материнской и новой молекул ДНК: А–Т и Г–Ц.
- **Каждая молекула ДНК состоит из одной цепи исходной родительской молекулы и одной вновь синтезированной цепи**.

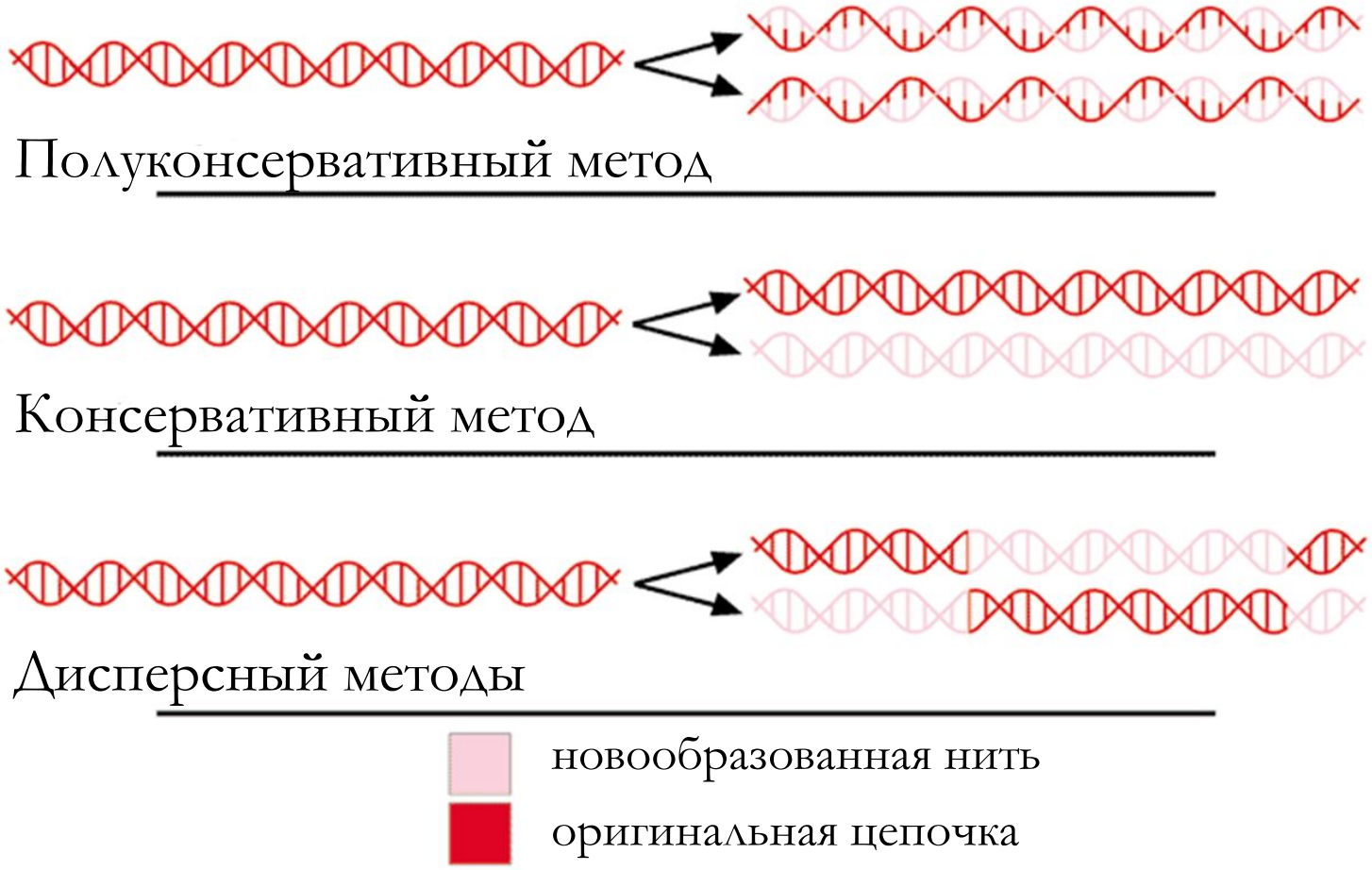
Описание репликации

Этапы репликации:

1. Синтез комплементарной цепи (**ДНК-полимераза**);
2. Разрезание водородных связей двух нитей материнской цепочки ДНК (**хеликаза**)
3. Раскручивание двойной спирали ДНК (**топоизомераза**);
4. Соединение нуклеотидов друг с другом в новой цепочки ДНК (сшивание **лигазой**);

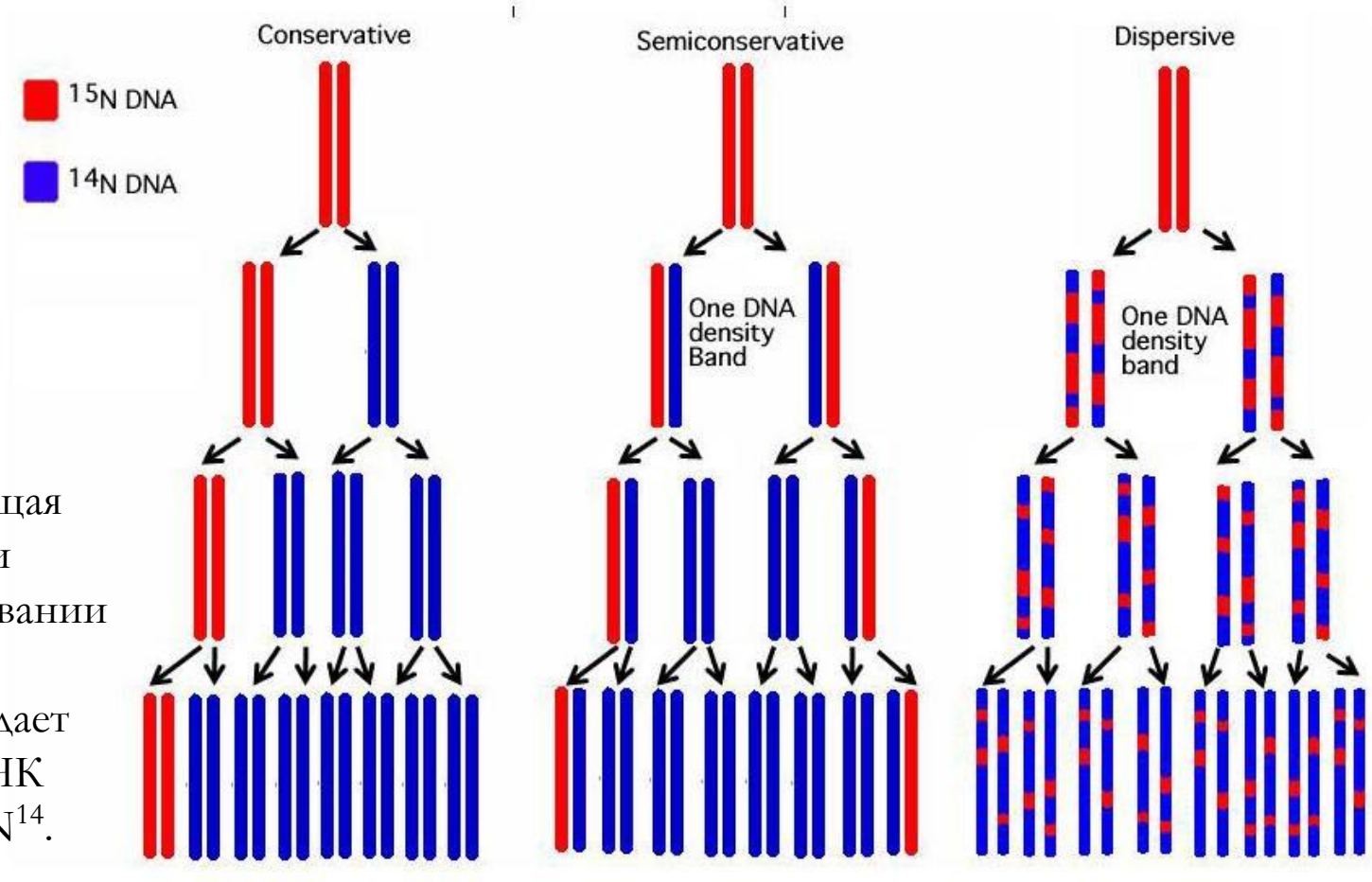
В настоящее время этот механизм считается доказанным благодаря опытам Мэтью Мезельсона и Франклина Сталя (**1958** г.)

Три первоначальные гипотезы репликации ДНК

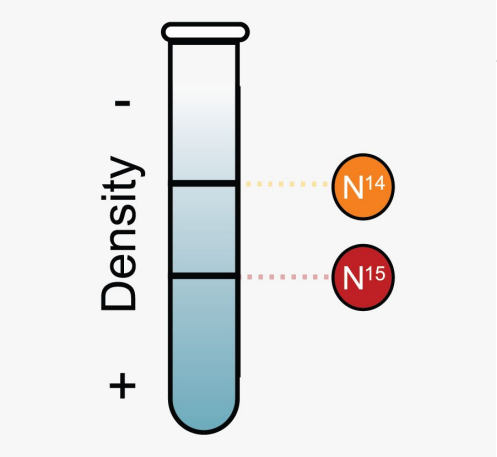


Три первоначальные гипотезы репликации ДНК

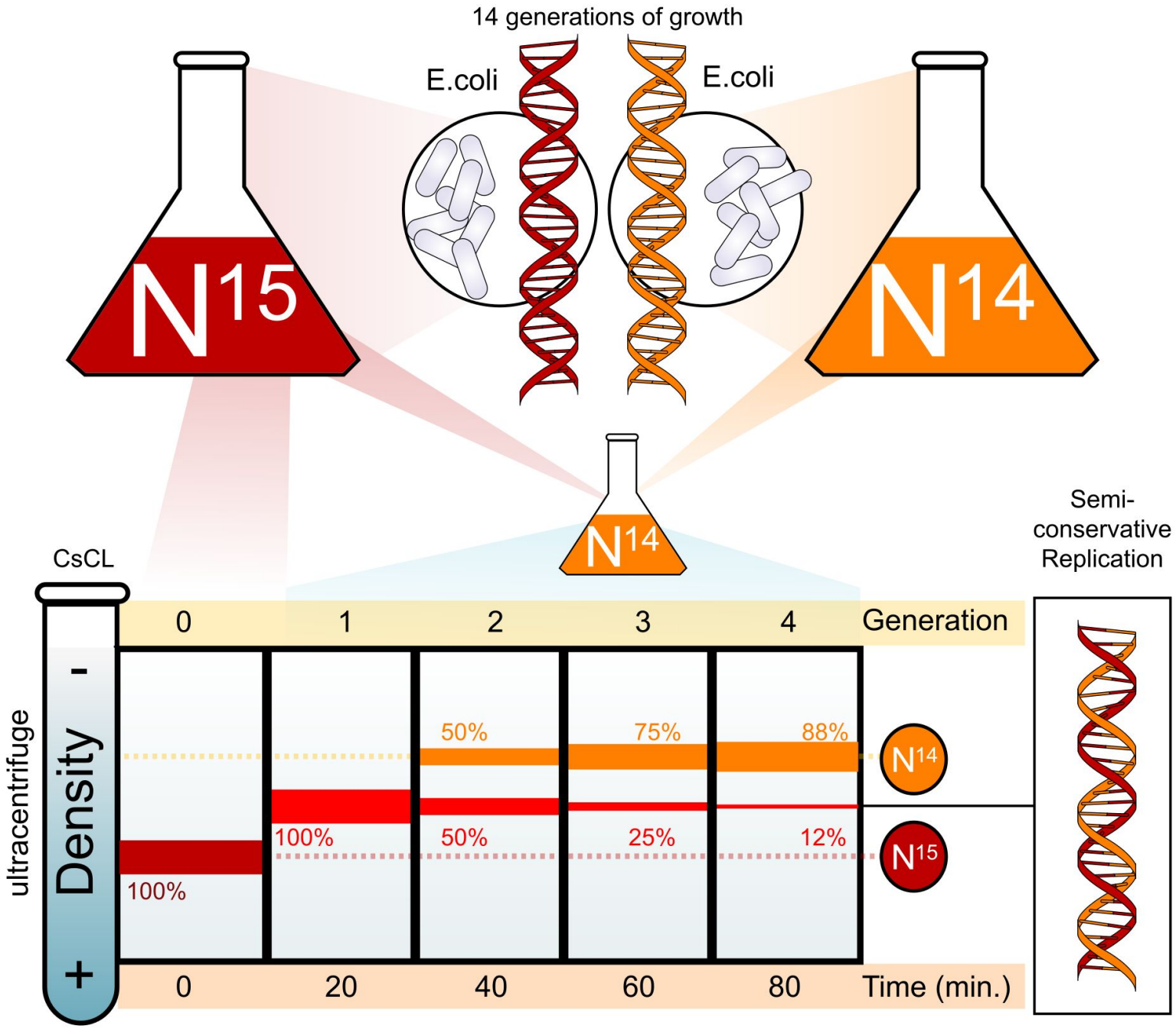
- Консервативный;
- Полуконсервативный;
- Дисперсный.



Изначальная ДНК включает изотоп N^{15}



ДНК, содержащая изотоп N^{15} при центрифугировании в градиенте плотности оседает глубже, чем ДНК состоящая из N^{14}.


14 generations of growth
E.coli
E.coli
N15
N14
N14
CsCL
ultracentrifuge
Density
-
+
0
1
2
3
4
Generation
50%
75%
88%
100%
50%
25%
12%
100%
N14
N15
0
20
40
60
80
Time (min.)
Semi-
conservative
Replication

Репликационная вилка

- В процессе репликации ферментом **хеликазой** разрушающей **водородные связи между нуклеотидами** и разделяющей ДНК на две отдельные нити образуется **репликационная вилка**.
- Репликационная вилка движется со скоростью порядка 100 000 пар нуклеотидов в минуту у прокариот и 500—5000 — у эукариот.

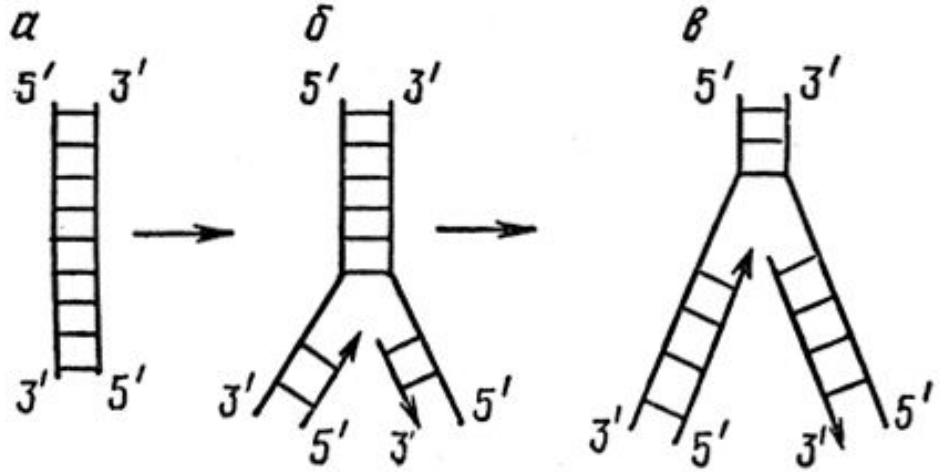


Схема синтеза ДНК: а – интактная (неактивная) молекула ДНК; б, в - продвижение вилки репликации вдоль молекулы ДНК.

Репликационная вилка

- Особенность ДНК полимераза движется по цепочки ДНК исключительно в одну сторону: от 3’-конца к 5’-концу цепочки. 3’- и 5’-конец номера углеродов в молекуле сахара. По первой цепочке ДНК-полимераза движется за репликационной вилкой.
- Так как цепочки антипараллельны, то по второй цепочке ДНК-полимераза двигаться в сторону репликационной вилки не может. Фермент достраивает отдельные фрагменты постепенно.

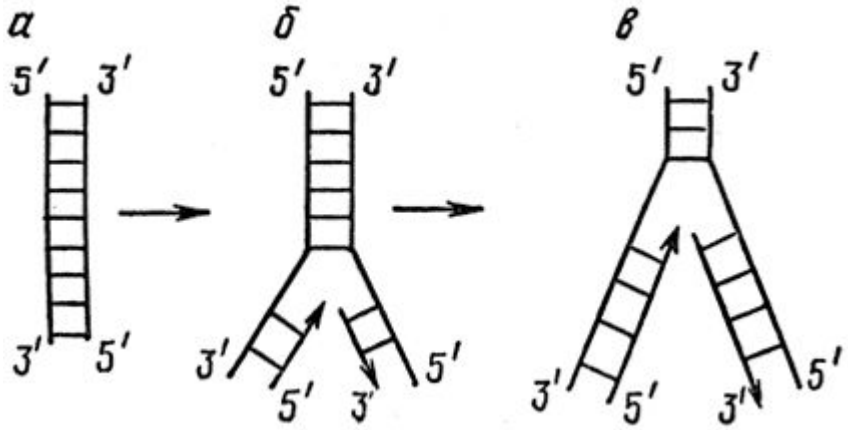


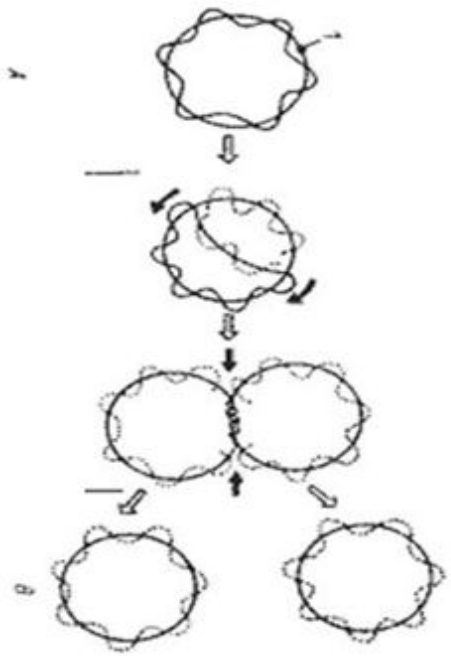
Схема синтеза ДНК: а – интактная (неактивная) молекула ДНК; б, в - продвижение вилки репликации вдоль молекулы ДНК.

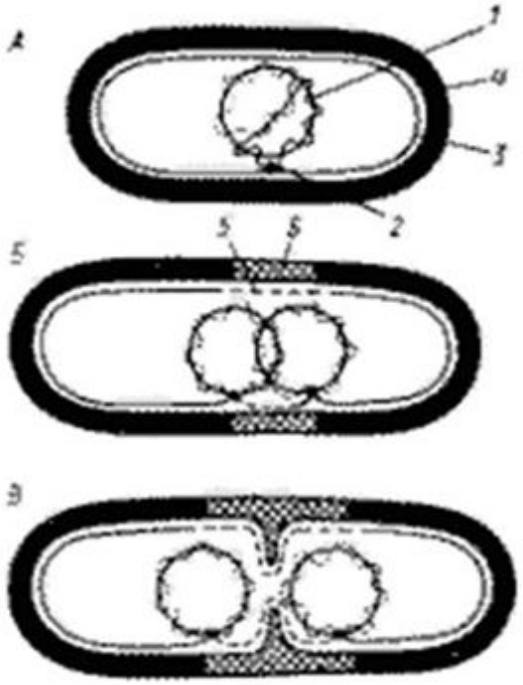
Репликон

- **Репликóн** — молекула или участок ДНК или РНК, реплицирующийся из одной точки начала репликации.
- Гипотеза о **репликоне** как единице репликации была впервые высказана Ф. Жакобом, С. Бреннером и Ф. Кузином в 1964 году.
- Нуклеоид прокариот представлен одним репликоном с одной точкой начала репликации.
- В каждой эукариотической хромосоме имеется множество репликонов. Размер репликонов меньше чем у прокариотов.

Монорепликонная репликация

- У прокариот репликация начинается в одной точки ori* и идет в обе стороны по кольцевой молекуле ДНК. Ori* от слова origin (начало).





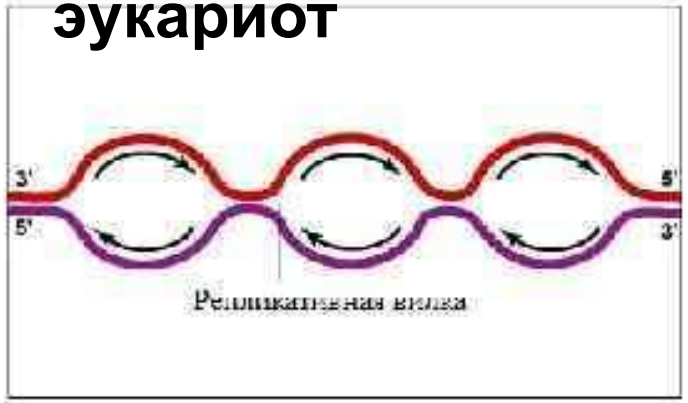
Репликация у доядерных и ядерных форм клеток

Прокариоты: циклическая ДНК, репликация начинается с одного конца. ДНК полимераза проходит всю ДНК непрерывно. Нуклеоид представляет из себя один репликон. Происходит в **цитоплазме**.

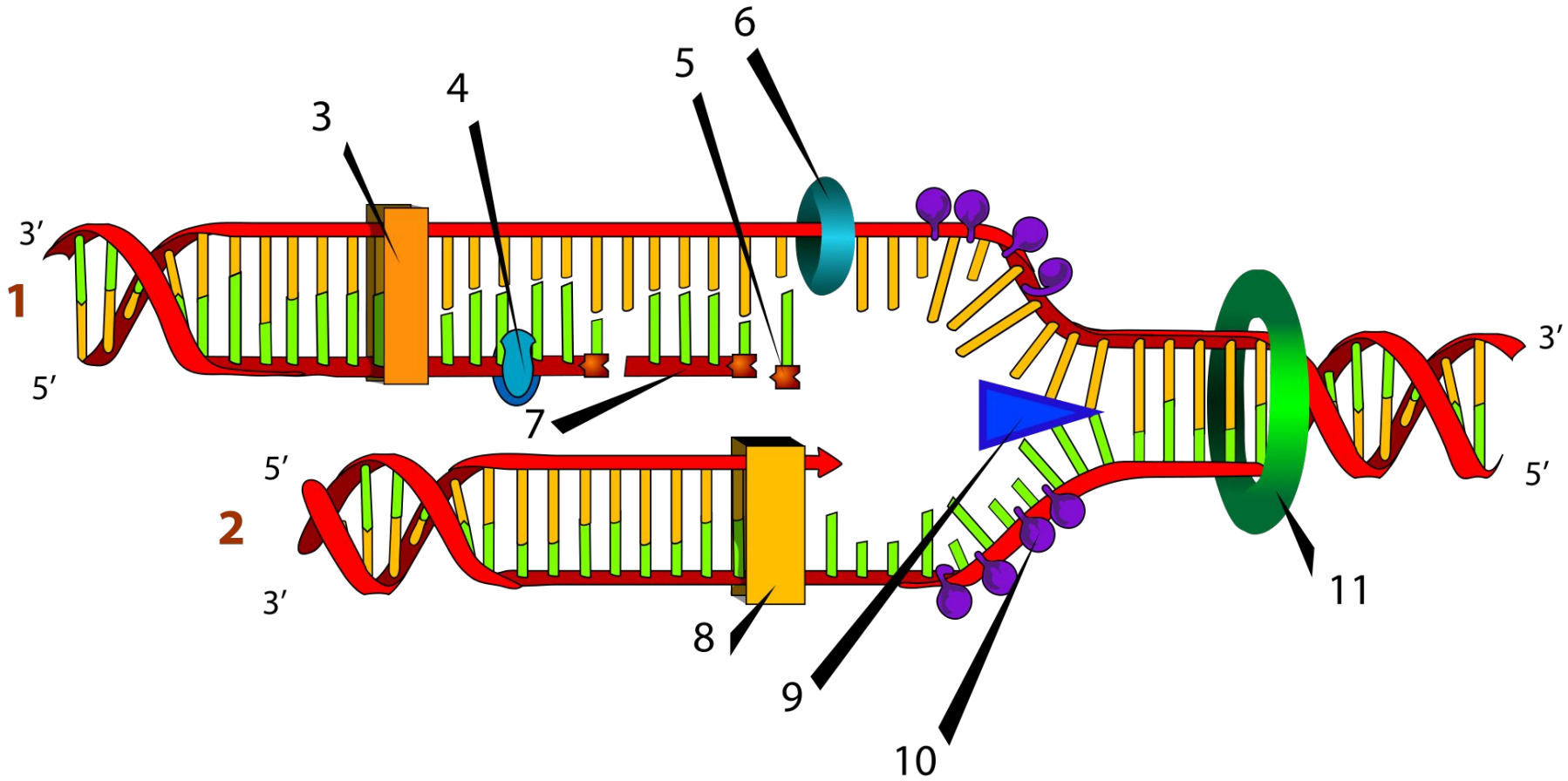
Эукариоты: ДНК длиннее, линейная. Несколько молекулы ДНК (хромосом) в клетке. Репликация одновременно начинается на тысячи участках. Происходит в **ядре**.

Нуклеоид прокариот

Хромосома эукариот



Репликационная вилка



Схематическое изображение процесса репликации, цифрами отмечены: (1) запаздывающая нить, (2) лидирующая нить, (3) ДНК-полимераза (Polα), **(4) ДНК-лигаза**, (5) РНК-праймер, (6) праймаза, (7) фрагмент Оказаки, (8) ДНК-полимераза (Polδ), **(9)хеликаза**, (10) одиночная нить со связанными белками, (11) топоизомераза.

Описание репликации

- Принципиально, чтобы к моменту деления клетки ДНК была реплицирована полностью и при этом только один раз. Это обеспечивается определёнными механизмами регуляции репликации ДНК. Репликация проходит в три этапа:
- инициация репликации
- элонгация
- терминация репликации

Синтез белка включает следующие стадии

1. Транскрипция (по матрице ДНК синтезируется иРНК);
2. Трансляция (по матрице иРНК синтезируется белок);
3. Активация (формирование четвертичной структуры, связь с кофакторами и другими классами органических веществ, модификация, фолдинг).

Теория гена

Информация о строении белка содержится в гене. Ген – это структурная единица ДНК. Ген состоит из последовательности нуклеотидов. Последовательность нуклеотидов с 3’ конца к 5’ концу определяет последовательность аминокислот в молекуле белка.

Отклонения

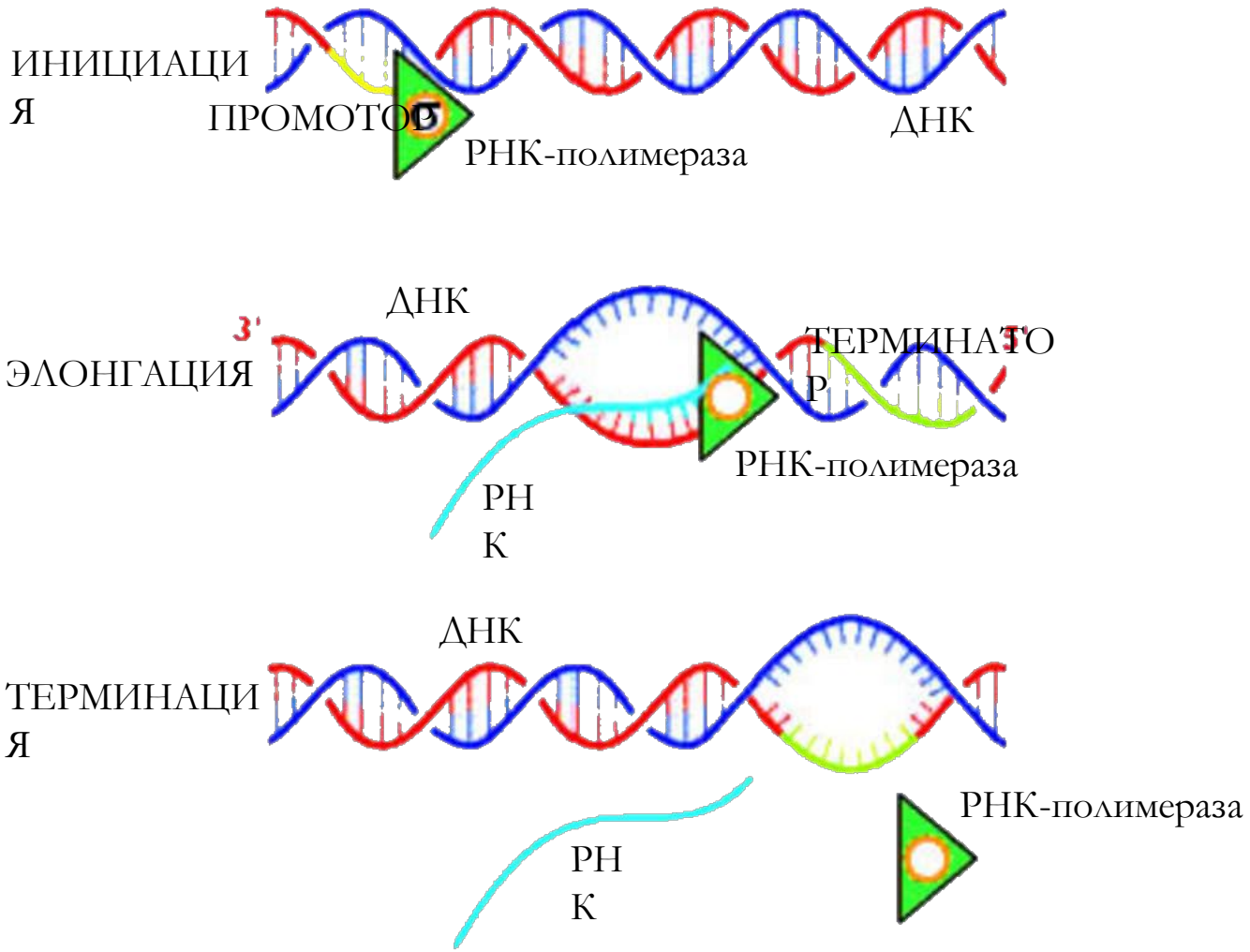
- Первый пример отклонения от стандартного генетического кода был открыт в 1979 году при исследовании генов митохондрий человека. С того времени было найдено несколько подобных вариантов, включая многообразные альтернативные митохондриальные коды, например, прочитывание стоп-кодона УГА в качестве кодона, определяющего триптофан у микоплазм. У бактерий и архей ГУГ и УУГ часто используются как стартовые кодоны. В некоторых случаях гены начинают кодировать белок со старт-кодона, который отличается от обычно используемого данным видом

https://ru.wikipedia.org/wiki/Генетический_код

Транскрипция

- Транскрипция выполняется с помощью РНК-полимеразы;
- РНК-полимераза двигается с 3’ к 5’ концу по кодирующей цепочки ДНК;
- РНК-полимераза садится на особый участок ДНК – промотор.
- Дальнейшее движение-работа РНК-пз. зависит от состояние промотора. Если промотор открыт, то РНК-полимераза движется к информационной части гена. Если промотр закрыт репрессором, то она остается на месте.
- На состояние репрессора могу влиять активаторы и ингибиторы. Активаторы снимают репрессор, а ингибиторы удерживают репрессор на ДНК.
- РНК-полимераза заканчивает транскрипцию, когда достигает терминатора.

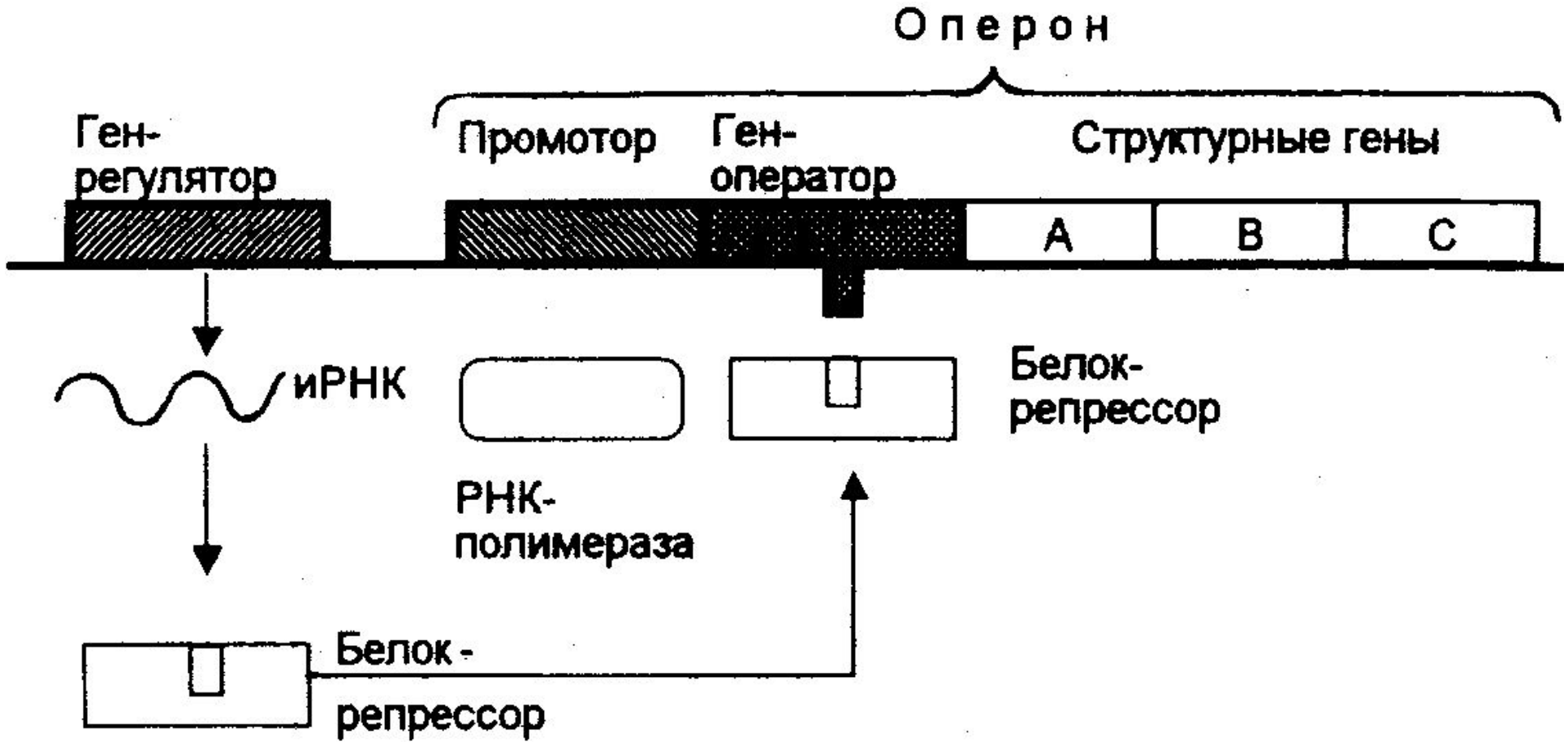
ТРАНСКРИЦИЯ



Посттранскрипционные механизмы

- После завершения трансляции РНК может претерпевать изменения.
- **РНК** скомпонованное из транскриптов с нескольких **экзонов** может быть разрезана на фрагменты – **процессинг**.
- Получившиеся фрагменты РНК комбинируются и склеиваются в зависимости от конкретной потребности клеток. Этот процесс называется **сплайсинг**.
- Промежутки между экзонами (не кодирующие, не информативные участки ДНК), как правило, не траскрибируются. В редких случаях они вырезаются из готовой иРНК. Эти «слепые» участки ДНК называются **интроны**. Они нужны для правильной ориентации экзонов ДНК.

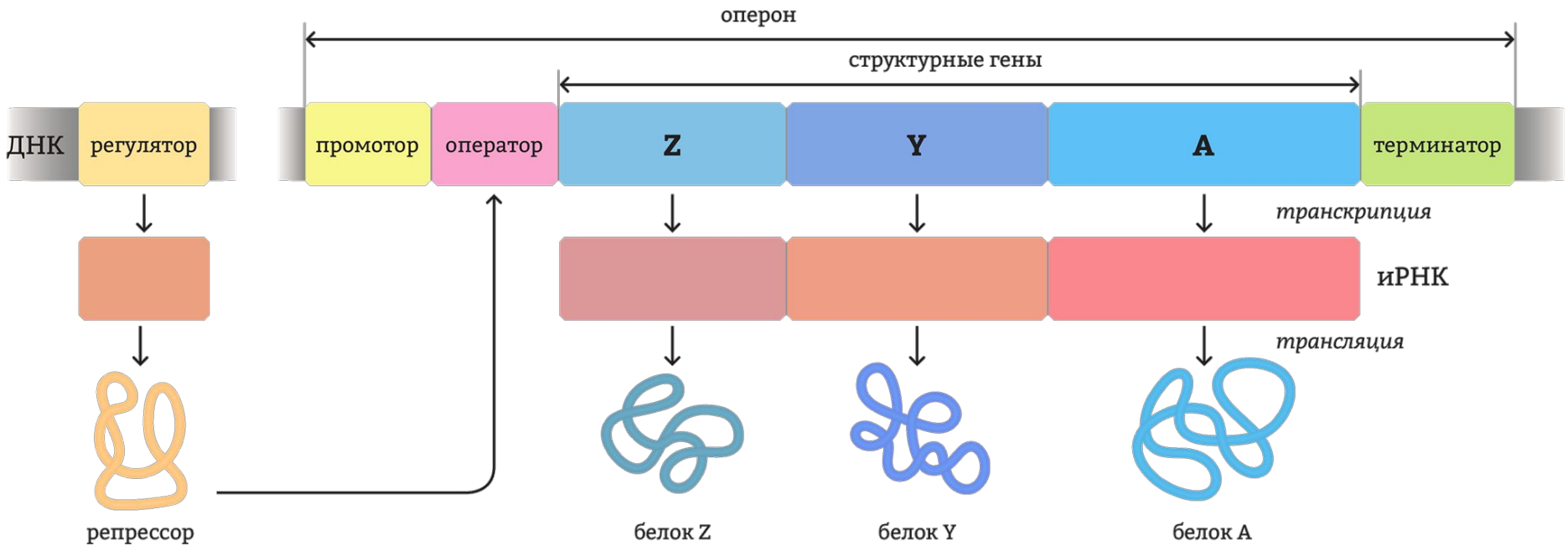
Механизм транскрипции у бактерий



СТРОЕНИЕ ГЕНОВ У ПРОКАРИОТ

Общий план строения генов у прокариот и эукариот не отличается – и те, и другие содержат регуляторную область с промотором и оператором, единицу транскрипции с кодирующей и нетранслируемыми последовательностями и терминатор. Однако организация генов у прокариот и эукариот отличается.

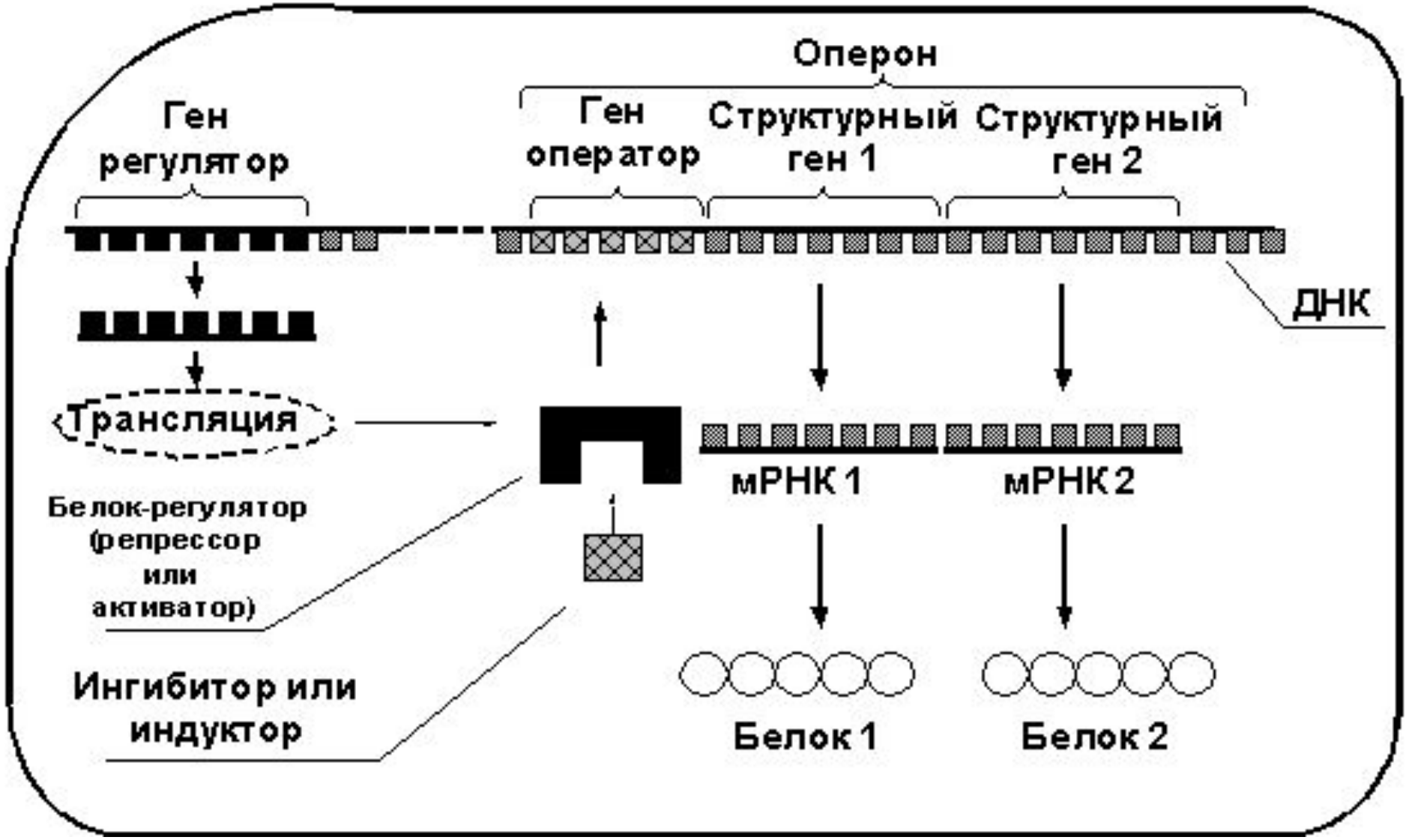
Для прокариот характерно объединение нескольких генов в единую функциональную единицу – **оперон**.



В начале и в конце оперона есть единые регуляторные области для нескольких структурных генов. С транскрибируемого участка оперона считывается одна молекула и-РНК, которая содержит несколько кодирующих последовательностей, в каждой из которых есть свой старт- и стоп-кодон. С каждого из таких участков синтезируется один белок. Таким образом, *с одной молекулы и-РНК синтезируется несколько молекул белка.*

Работу оперона могут регулировать другие гены, которые могут быть заметно удалены от самого оперона – **регуляторы**. Белок, транслируемый с этого гена называется **репрессор**. Он связывается с оператором оперона, регулируя экспрессию сразу всех генов, в нем содержащихся.

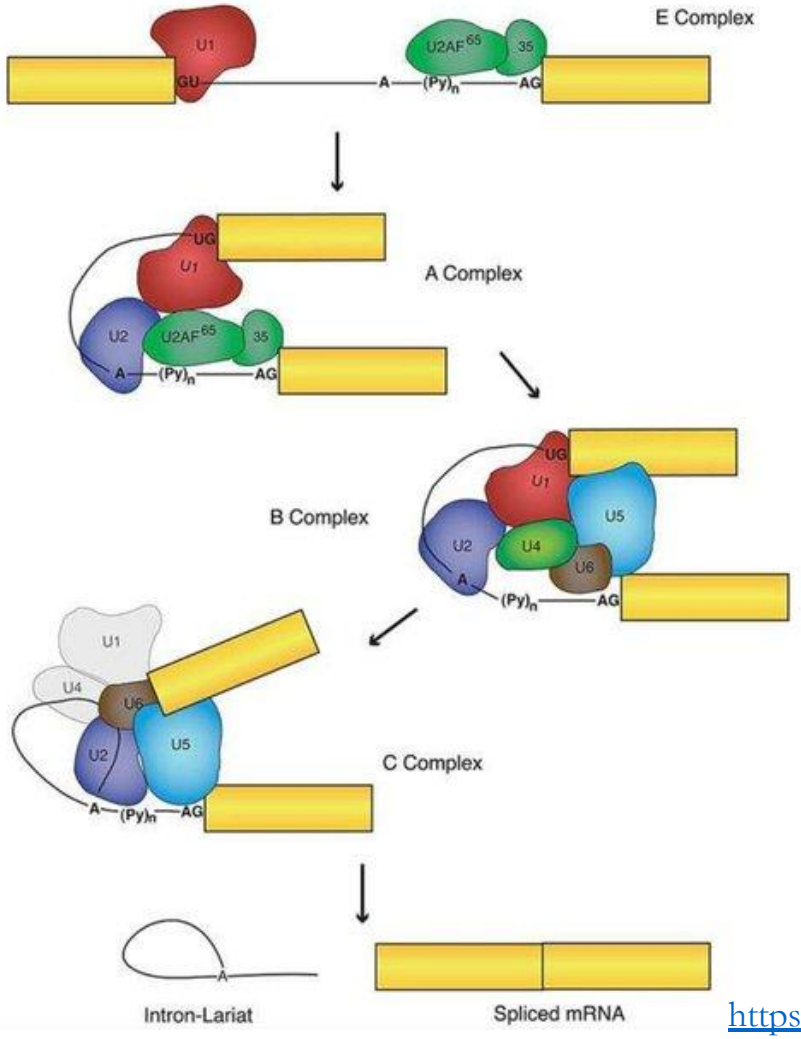
Механизм транскрипции у бактерий



Процессинг матричной РНК

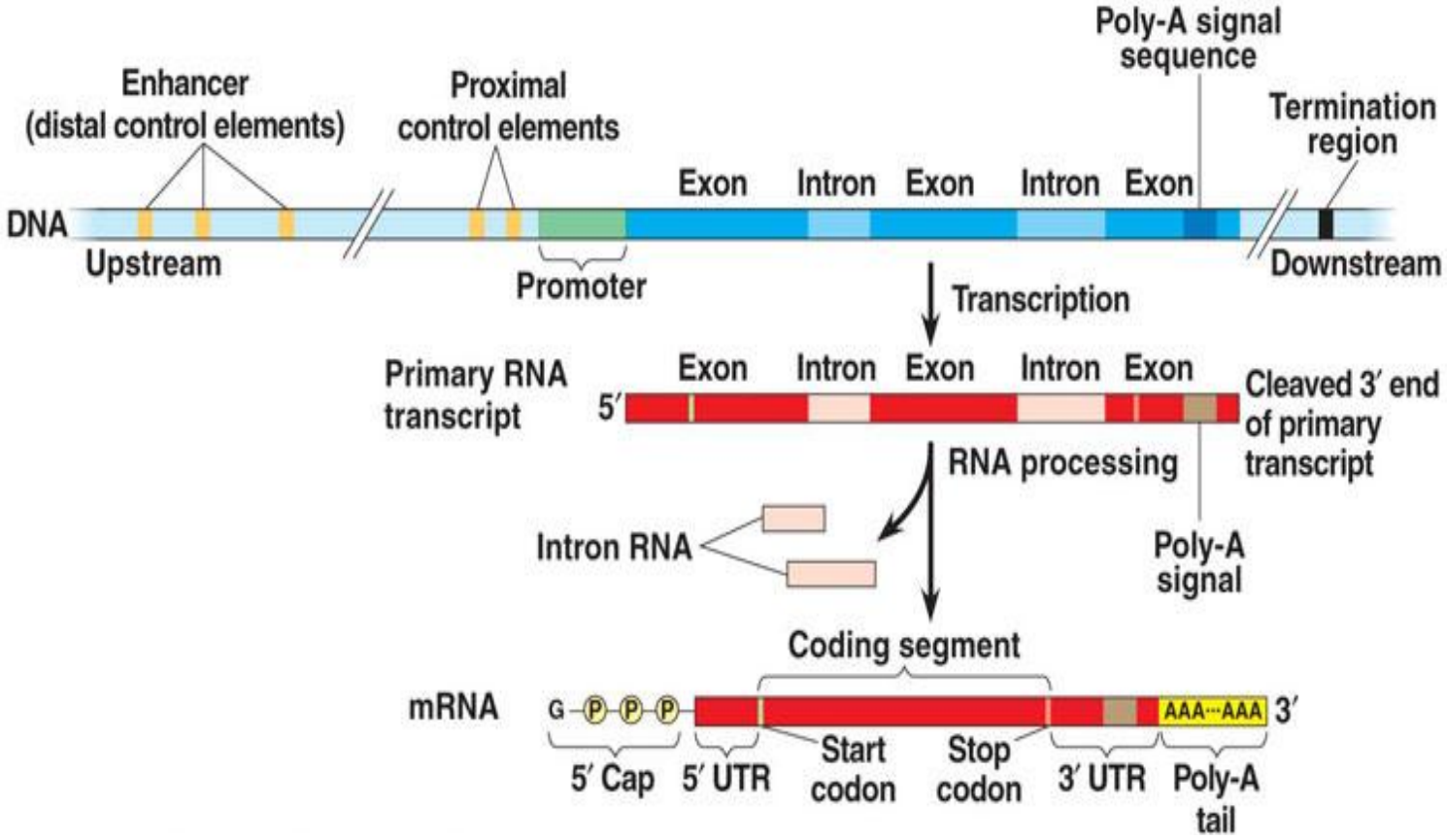
Сплайсинг первичных транскриптов мРНК

- Процесс "вырезания" интронов протекает при участии малых ядерных рибонуклеопротеинов (мяРНП)
- На первой стадии процесса мяРНП связываются с сайтами сплайсинга
- Далее к ним присоединяются другие мяРНП.
- При формировании структуры сплайсосомы 3'-конец одного экзона сближается с 5'-концом следующего экзона.
- Сплайсосома катализирует реакцию расщепления 3',5'-фосфодиэфирной связи на границе экзона с интроном.
- Последовательность интрона удаляется, а два экзона соединяются.
- Образование 3',5'-фосфодиэфирной связи между двумя экзонами катализируют мяРНК (малые ядерные РНК), входящие в структуру сплайсосомы.



https://en.ppt-online.org/347103

Механизм транскрипции у эукариот



Poly-A или Полиаденилирование — это процесс присоединения большого количества остатков аденозинмонофосфата (поли(А)-хвоста) к 3'-концу первичной мРНК (пре-мРНК).

Основные отличия организации генов про- и эукариот:

Прокариоты

- До 90% ДНК это гены, кодирующие белки
- Гены образуют «бригады» - опероны, с общим промотором и регулятором
- Гены как правило не имеют интронов
- Транскрипция и трансляция не разделены в пространстве и во времени
- Рибосомы 70S

Эукариоты

- Гены, кодирующие белки, составляют около 1 - 2% ДНК
- Каждый ген имеет свой промотор и несколько регуляторов
- Большинство генов состоят из интронов и экзонов
- Транскрипция и трансляция разделены в пространстве и во времени
- Рибосомы 80S

В чем сходства и отличия транскрипции бактерий и эукариот?

Сходства:

- 1) Синтез начинается с АУГ-кодона, кодирующего метионин;
- 2) В синтезе участвуют два участка рибосомы: пептидильный и аминоацильный.

Отличия у прокариот:

- 1) иРНК прокариот имеет несколько центров инициации трансляции (узнавание стартового кодона), терминации транслации (узнавание стоп-кодона и отделение продукта);
- 2) Не происходит сплайсинг (вырезание и сшивание участков) иРНК;
- 3) Трансляция начинается еще до завершения транскрипции, эти процессы не разделены во времени и пространстве, в отличие от эукариот.

https://studfile.net/preview/6066211/page:2/

РНК в цитоплазме

- Чтобы экзонуклеазы не разрушили РНК, она закрывается от них с 3’-конца cap-белком (место связывания с шаперонами, которые меняют конформацию РНК), а на стороне 5’-конце располагается поли-А последовательность, которая разрушается со временем, без потери смысловой информации.

Трансляция

- Трансляция идет с 5’ к 3’концу.
- В цитоплазме иРНК (информационная) соединяется с рибосомой (рибосомальная РНК + белок);
- Трансляция может протекать
  - В цитоплазме
  - На шероховатой ЭПС
- Причем новообразованный белок может попасть как внутрь шЭПС или застрять в мембране.
- тРНК доставляют аминокислоты к рибосоме по одной в соответствии с кодом иРНК.
- Рибосома соединяет аминокислоты в цепочку белка.

Стадии трансляции

- Инициация
  1. Связывание иРНК с малой субъединицей рибосомы.
  2. Присоединение к м. суб. первой тРНК
  3. Связывание большой субъединицы.
- Элонгация

  Удлинение белковой цепи за счет последовательного продвижения рибосомы по молекуле иРНК и переноса синтезируемого полипептида на вновь прибываемые молекулы тРНК. Удлинение происходит на С-конце.

  Аминокислота переходит с первой тРНК на вторую.
- Терминация

  Окончание синтеза. Рибосома достигает стоп-кодонов иРНК и распадается.

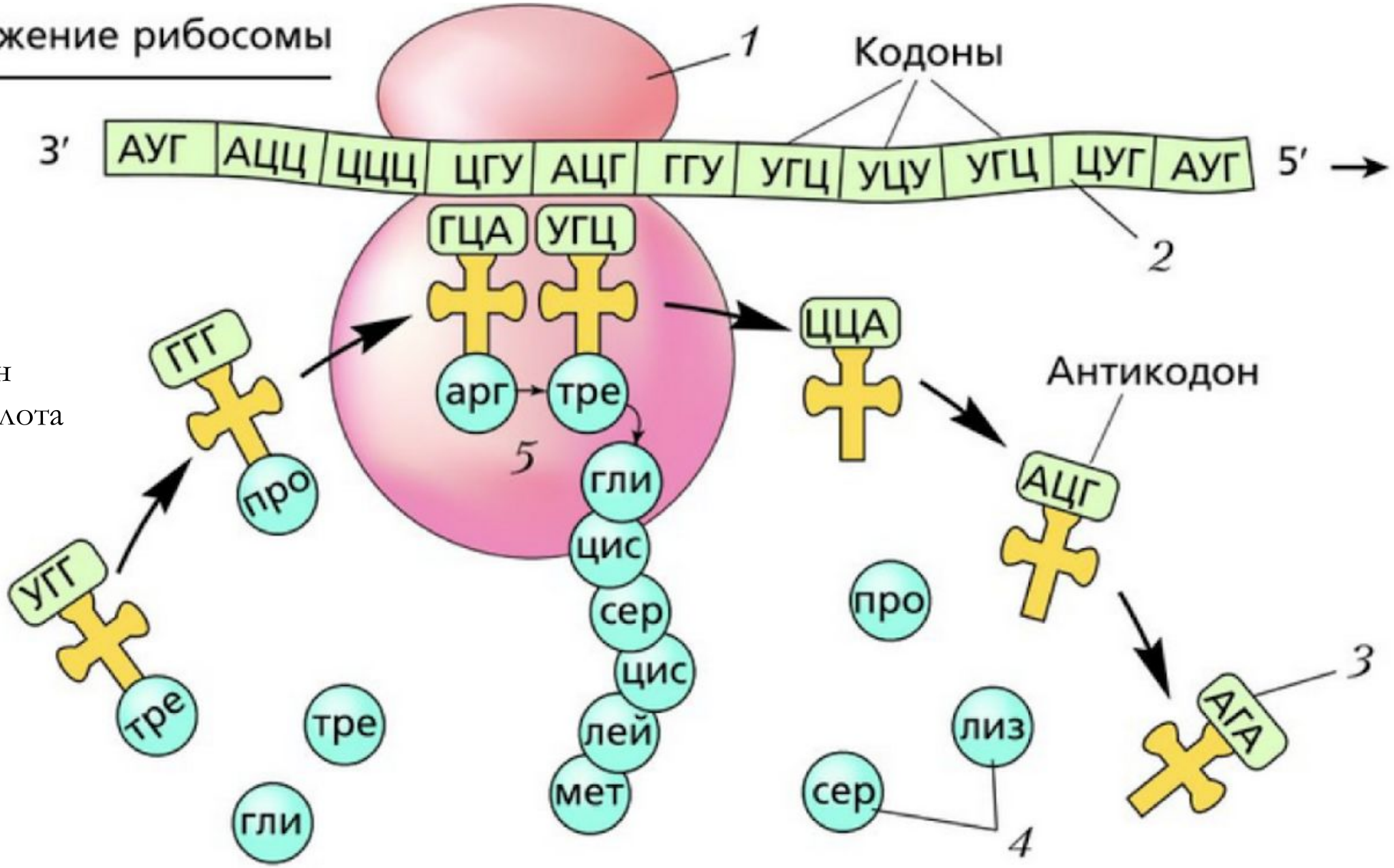
Принципы транскрипции:

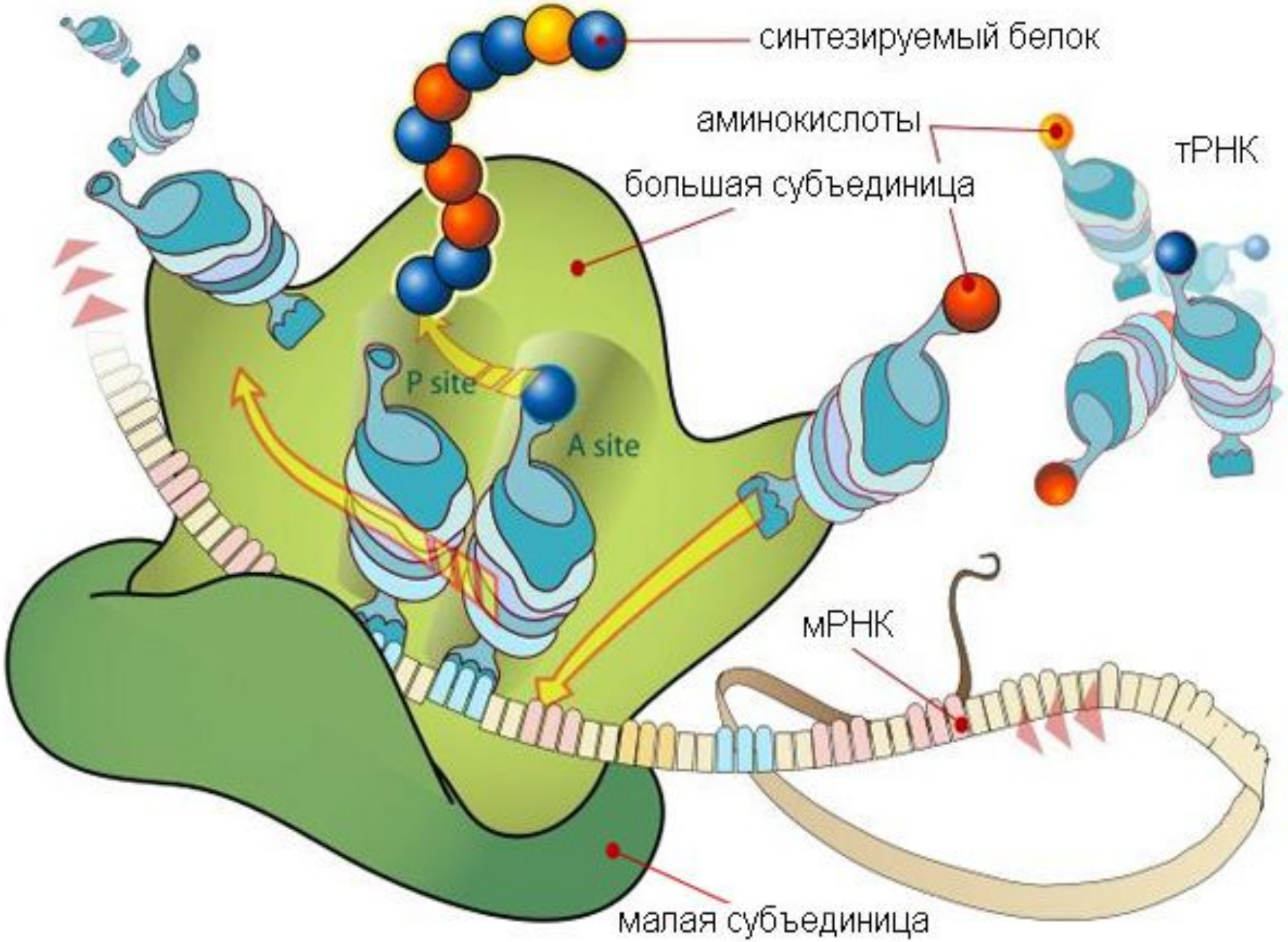
- 1. *Комплементарность*.
- 2. *Антипараллельность*.
- 3. *Униполярность*.
- 4. *Беззатравочность*.
- 5. *Асимметричность*.

- **РНК синтезируется комплементарно и антипараллельно транскрибируемой цепи ДНК. Рост цепи РНК идет только в направлении 5' → 3'. Для начала синтеза РНК фермент не нуждается в поли- или олигонуклеотидной затравке.**

- ***Первый нуклеотид в РНК всегда пурин в форме трифосфата.***

1 – малая субъединица рибосомы
2 – иРНК
3 – антикодон
4 – аминокислота
5 – большая субъединица рибосомы




синтезируемый белок
аминокислоты
тРНК
большая субъединица
P site
A site
мРНК
малая субъединица

Модель генетического кода

- Открыт Маршалом Ниренбенргом и С Очао в 1961
- Получили Нобелевскую премию 1968 г.
- Сейчас мы пользуемся таблицей или матрицей кода.
- Воспроизводима, на 99,9%, но поли УУУ (полиуридиновые участки на РНК) кодируют не только лейцин, но и фенилаланин.

Свойства генетического кода

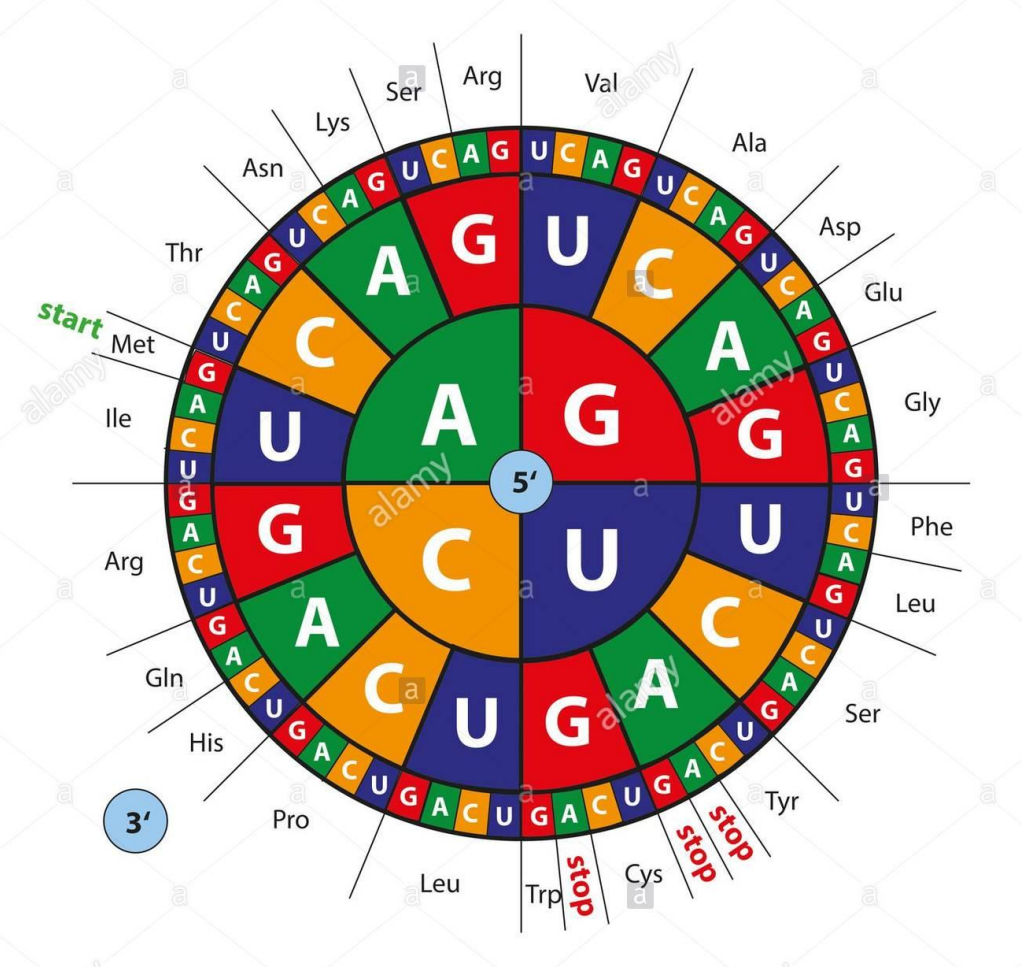
- **Триплетен** - каждая аминокислота кодируется тремя нуклеотидами. Эта последовательность в молекуле иРНК называется **кодоном**, а на тРНК – антикодоном;
- **Неперекрываем** – любой нуклеотид может входить в состав только одного триплета.
- **Специфичен** - каждые три нуклеотида участвуют единожды к кодирование аминокислоты;
- **Вырожден** или **избыточен** многие аминокислоты кодируются несколькими триплетами. На 20 аминокислот приходится 61 комбинация триплетов. В том числе старт кодон АУГ;
- **Универсален** - у всех живых организмов одни и те же аминокислоты задаются теми же кодонами.
- **Некодирующие** кодоны
  - ~~Старт кодон АУГ~~
  - Стоп кодоны УАА, УАГ, УГА

Процессы играет важную роль в

- Репликации – матричном синтезе новой цепочки ДНК по старой;
- Транскрипции – синтез РНК-полимеразой РНК по матрице транскрибируемой цепочки ДНК;
- Трансляции – узнавании кодонов иРНК антикодонами тРНК;
- Редактирование генома системой CRISPR/Cas9 - между спейсором и протоспейсором;
- Полимеразная цепная реакция – метод быстро искусственного синтеза ДНК по матрице малого количества РНК затравок (РНК-праймеры);
- РНК-интерференция – это процесс подавления экспрессии гена на стадии транскрипции, трансляции или деградации мРНК при помощи малых молекул РНК;

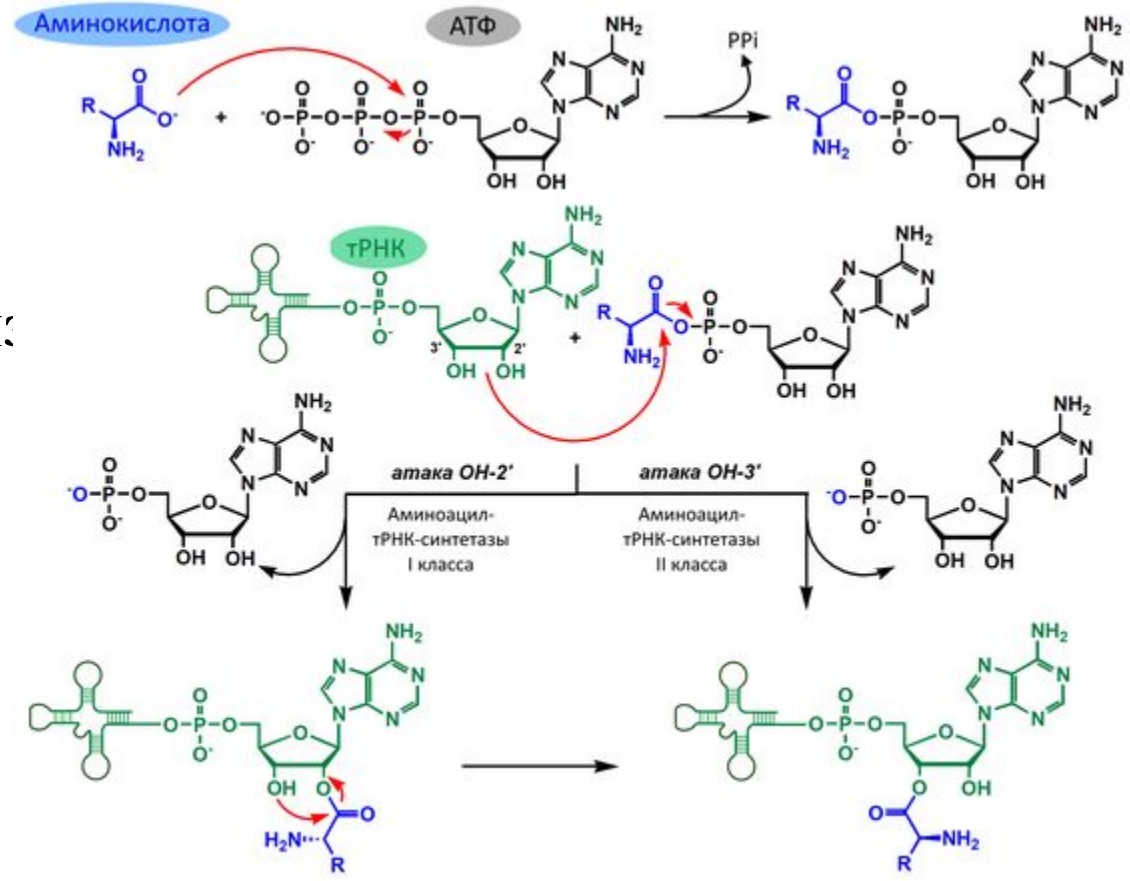
Таблица генетического кода

Первый нуклео-тид	Второй нуклеотид				Третий нуклео-тид
	У	Ц	А	Г	
"У	ФЕН	СЕР	ТИР	ЦИС	У
	ФЕН	СЕР	ТИР	ЦИС	Ц
	ЛЕЙ	СЕР	СТОП	СТОП	А
	ЛЕЙ	СЕР	СТОП	ТРИ	Г
Ц	ЛЕЙ	ПРО	ГИС	АРГ	У
	ЛЕЙ	ПРО	ГИС	АРГ	Ц
	ЛЕЙ	ПРО	ГЛН	АРГ	А
	ЛЕЙ	ПРО	ГЛН	АРГ	Г
А	ИЛЕ	ТРЕ	АСН	СЕР	У
	ИЛЕ	ТРЕ	АСН	СЕР	Ц
	ИЛЕ	ТРЕ	ЛИЗ	АРГ	А
	МЕТ	ТРЕ	ЛИЗ	АРГ	Г
Г	ВАЛ	АЛА	АСН	ГЛИ	У
	ВАЛ	АЛА	АСП	ГЛИ	Ц
	ВАЛ	АЛА	ГЛУ	ГЛИ	А
	ВАЛ	АЛА	ГЛУ	ГЛИ	Г



Синтез аминоацил-тРНК

Конечный продукт активации аминокислот: молекула тРНК, ковалентно связанная с аминокислотой через ацильную свя: между карбоксильной группой аминокислоты и 3 ОН группой рибозы тРНК.



Рамка считывания

- последовательность нуклеотидов в составе ДНК или РНК, потенциально способная кодировать белок.
- Нарушение рамки считывания происходит при встраивании одного или двух нуклеотидов (вставка) или выпадения одно или двух нуклеотидов (делеция). В этом случае получается совершенно новая последовательность аминокислот (первичная структура белка).
- При вставке или делеции трех нуклеотидов в первичной структуре появляется или отсутствует одна аминокислота.

Синонимы – омонимы генетического кода

- Определение соответствия кодону и аминокислоте наглядно продемонстрировано в таблице генетического кода РНК.
- Последовательность нуклеотидов не случайна. Они подобраны таким образом, что первые два нуклеотида определяют аминокислоту для восьми групп (модель Крика).
- В остальных группах на первые два нуклеотида может приходится по две аминокислоты.
- Систему ДНК-РНК-белок иногда называют речеподобием генетического кода.

http://wavegenetics.org/issledovania/model-geneticheskogo-koda/4/

Модель Маршала Ниренбенрга и С Очао 1961

Прямая расшифровка генетического кода осуществлена благодаря технике белкового синтеза в бесклеточных системах.

Ниренберг М. и Ледер Ф. подавали в бесклеточную систему тансляции E. coli различные олигорибонуклеотиды и показали, что индивидуальные фракции тририбонуклеотидов, ассоциированные с рибосомами, связывают определенные фракции тРНК, заряженные определенными мечеными аминокислотами.

В 1961 г. биохимики М. Ниренберг и Г. Маттеи изучали синтез белков в бесклеточной системе *E.coli*. В каждой из 20 пробирок имелись все клеточные компоненты бактерии (кроме нуклеиновых кислот) и все 20 аминокислот, одна из которых содержала радиоактивную метку. В одном из экспериментов в качестве матрицы добавили в реакционную смесь полиуридиловую кислоту (РНК, состоящую из урацилового нуклеотида). В результате в 1000 раз увеличилось включение меченой аминокислоты фенилаланина. Значит кодон UUU кодирует фенилаланин.

Параллельно с Нирнбергом и Маттеи начал изучать генетический код С. Очоа. С помощью фермента полинуклеотид-фосфорилазы (за его открытие Очоа в 1959 г. получил Нобелевскую премию) были синтезированы полинуклеотиды заданного состава. Эти матрицы стимулировали включение других меченых аминокислот в определенных пропорциях (табл.).

Мутации

- **Генные** - вставки, выпадения, замена нуклеотидов, триплетов, части гена; Ограничены размером гена;
- **Хромосомные** – делеция (выпадение), инверсия (разворот на 180), аддиция (добавление), транслокация (перенос) участков хромосомы (один или несколько генов) в границах одной хромосомы;
- **Геномные** – изменение числа одной хромосом (трисомия, или отсутствие хромосомы вариант анэуплодии) или всего набора (плоидность, триплоидные, тетраплоидные). Эти мутации ограничены генетическим набором одной клетки.
- См. Изменчивость.

Генные мутации. Причина - следствие

- **Замена** одного **нуклеотида** связана с изменением аминокислотного состава белка.
  - **Не изменится:** так как аминокислота, может кодироваться несколькими триплетами (правило вырожденности), то, несмотря на замену нуклеотида, триплет будет кодировать туже аминокислоту. Например, лейцин кодируется триплетами: ЦУУ, ЦУЦ, ЦУГ, ЦУА (замена третьего, вариабельного, нуклеотида не поменяет аминокислоту), а также УУГ, УУА.
  - **Изменится**, если поменяется не вариабельный нуклеотид.
- Если будет **вставка** или **выпадение** нуклеотида, то изменится **рамка считывания** и поменяется вся аминокислотная последовательность после точки мутации.
- Вставка или выпадения **триплета** приведет к потери или добавлению одной аминокислоты.

Хемосинтез

- **Хемосинтез** — способ автотрофного питания, при котором источником энергии для синтеза органических веществ из CO_2 служат реакции окисления неорганических соединений.

Хемосинтез

- **Железобактерии** (*Geobacter*, *Gallionella*) окисляют двухвалентное железо до трёхвалентного.
- **Серобактерии** (*Desulfuromonas*, *Desulfobacter*, *Beggiatoa*) окисляют сероводород до молекулярной серы или до солей серной кислоты.
- **Нитрифицирующие** бактерии (*Nitrobacteraceae*, *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*) окисляют аммиак, образующийся в процессе гниения органических веществ, до азотистой и азотной кислот, которые, взаимодействуя с почвенными минералами, образуют нитриты и нитраты.
- **Тионовые бактерии** (*Thiobacillus*, *Acidithiobacillus*) способны окислять тиосульфаты, сульфиты, сульфиды и молекулярную серу до серной кислоты (часто с понижением pH раствора), процесс окисления отличается от такового у серобактерий (в частности тем, что тионовые бактерии не откладывают внутриклеточной серы).
- **Водородные бактерии** (*Hydrogenophilus*) способны окислять молекулярный водород, являются умеренными термофилами (растут при температуре 50 °C)

Регуляция экспрессии генов

- https://biology.su/molecular/gene-activity
- https://studopedia.ru/5_169574_regulyatsiya-ekspressii-genov-u-prokariot.html

ДНК - аддукт

- https://yandex.ru/search/?clid=2332287&win=421&from=chromesearch&text=%D0%B0%D0%B4%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%82%D1%8B%20%D0%B4%D0%BD%D0%BA&lr=213

Ссылки

- http://biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Part61-392.html