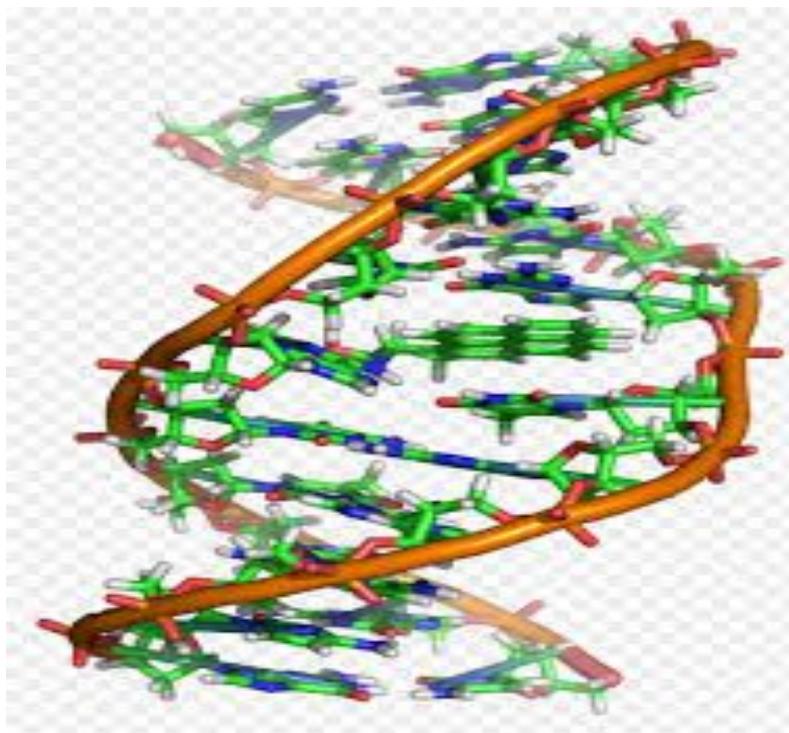


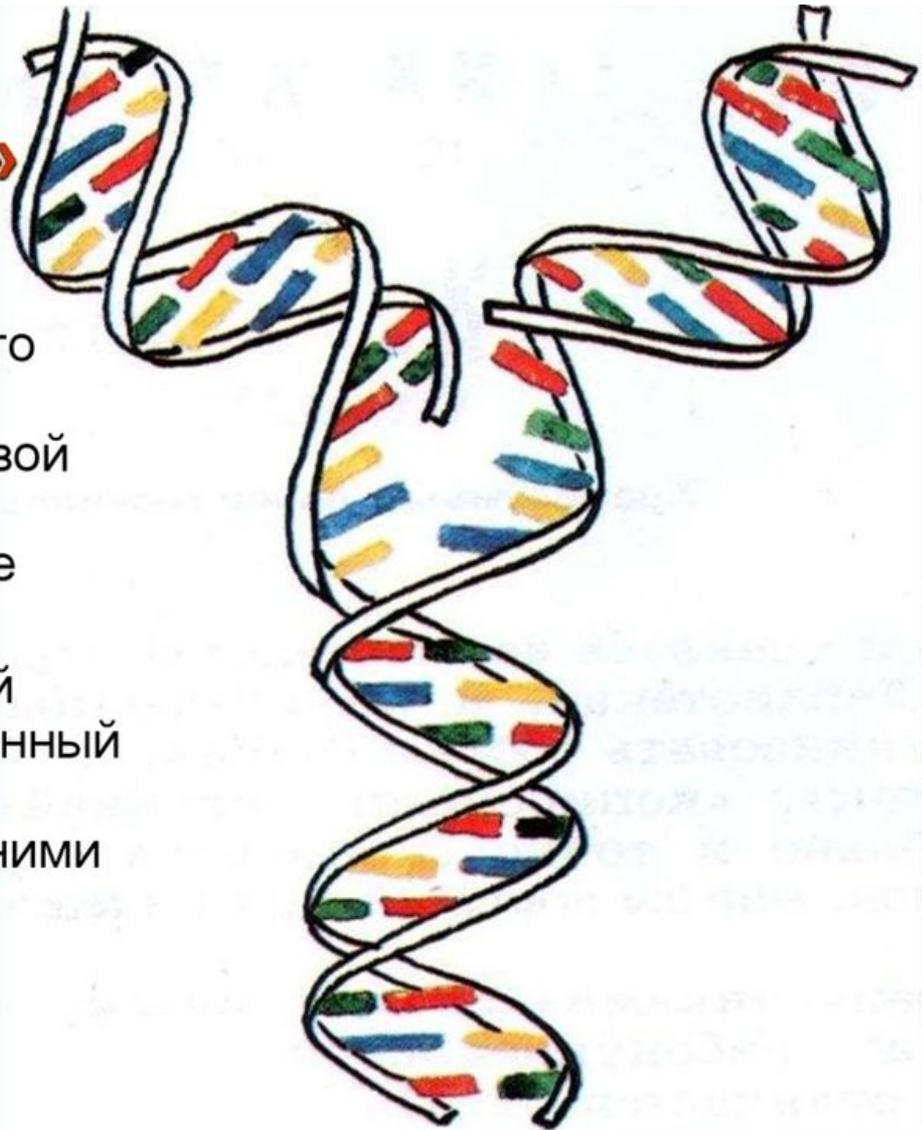
БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ



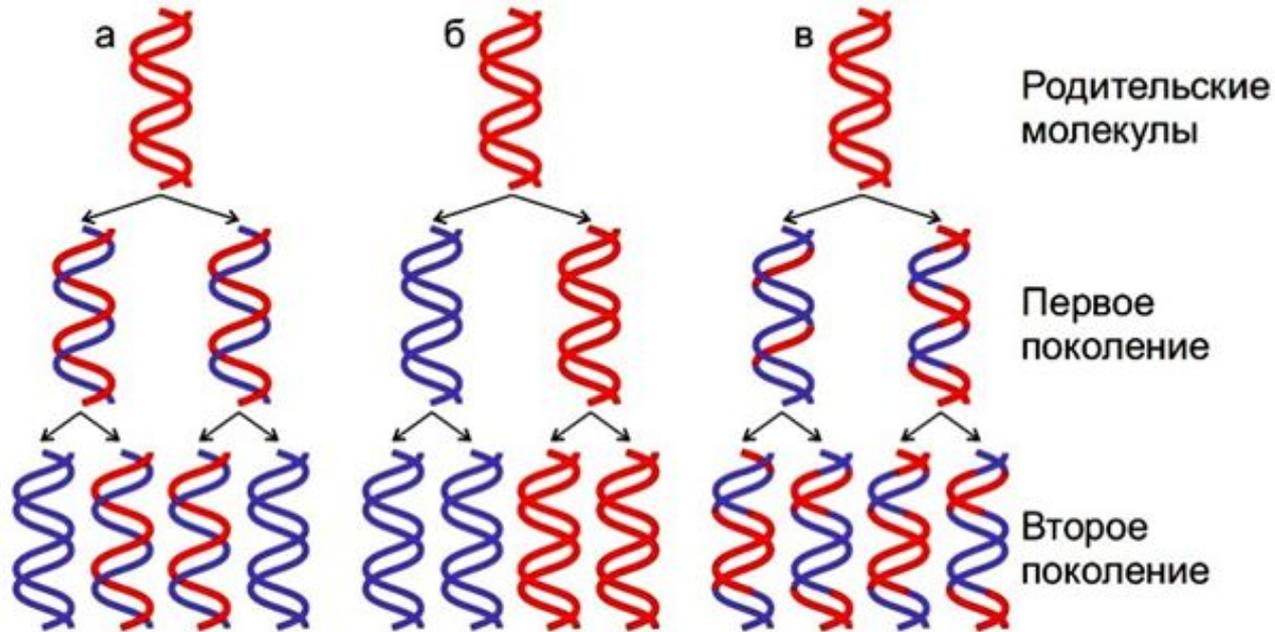
Свойство «репликации»

Репликация ДНК – это процесс копирования дезоксирибонуклеиновой кислоты, который происходит в процессе деления клетки.

При этом генетический материал, зашифрованный в ДНК, удваивается и делится между дочерними клетками.



МОДЕЛИ РЕПЛИКАЦИИ ДНК



Модели репликации ДНК:

а - полуконсервативная,

б - консервативная,

в - дисперсионная.

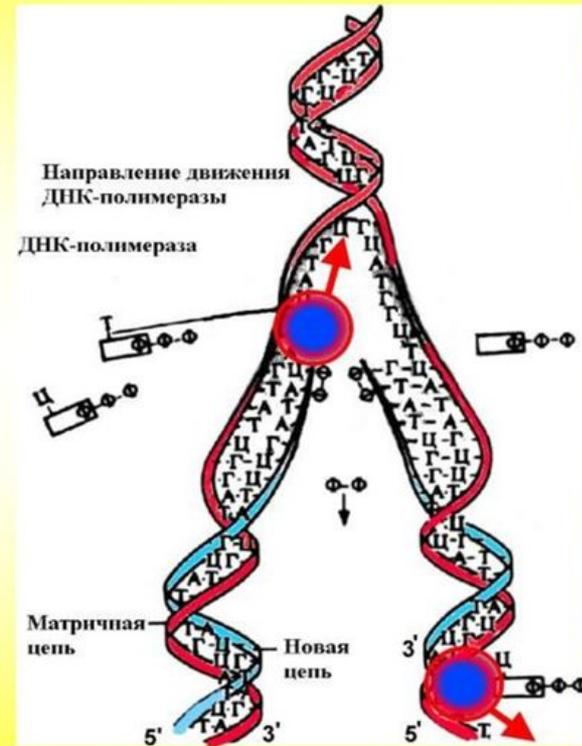
Родительские цепи изображены в виде красных лент, вновь синтезированные показаны синим цветом. (Из: Russell, 1998, p.345).

Основные принципы

Репликация ДНК имеет ряд принципиальных особенностей.

а). Во-первых, субстратами, из которых синтезируются новые цепи ДНК, являются **дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (дНТФ)**, а не дезоксирибонуклеозидмонофосфаты (дНМФ), входящие в состав ДНК.

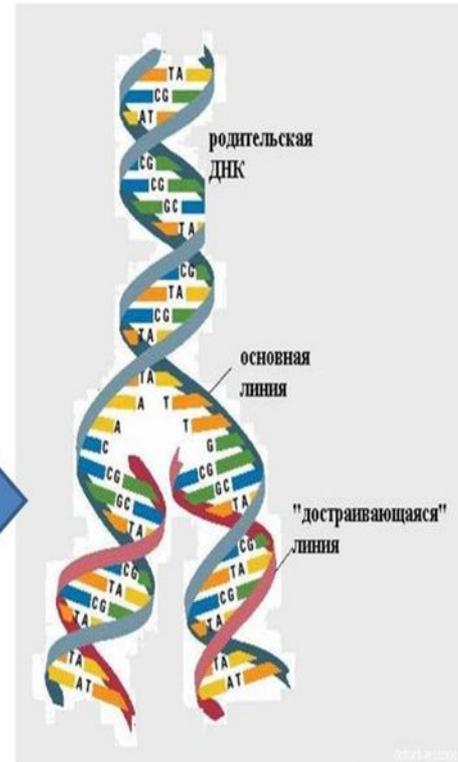
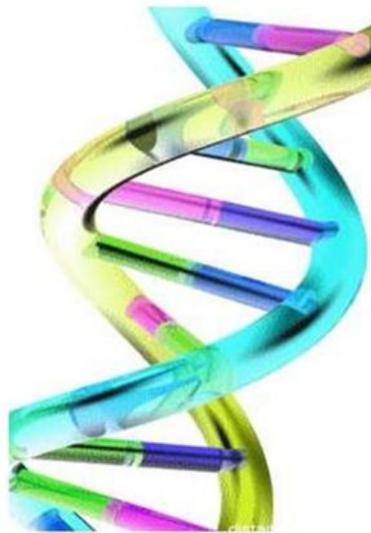
Поэтому в ходе включения в цепь ДНК от каждого нуклеотида отщепляются 2 фосфатных остатка. Использование именно дНТФ, а не дНМФ, объясняется энергетическими причинами: образование межнуклеотидной связи требует энергии; источником ее и служит разрыв межфосфатной связи.



Репликация ДНК

В процессе репликации ДНК выделяют фазы:

- – инициации (начало),
- – элонгации (удлинение),
- – терминации (завершение)



РЕПЛИКАЦИЯ

Фазы репликации:

- Инициация
- Элонгация
- Терминация

Репликация требует наличия нескольких компонентов:

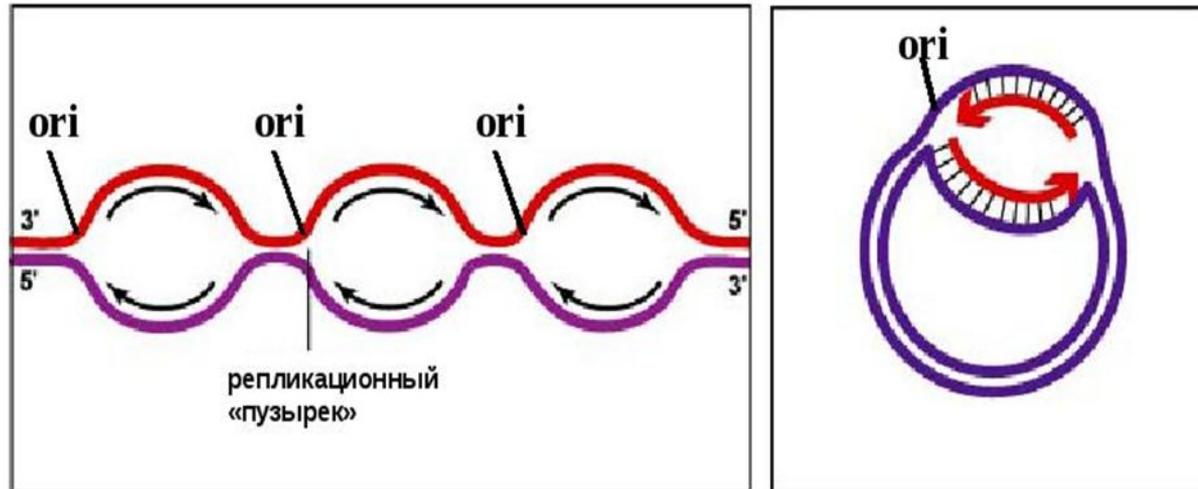
- Матрица – в ее роли выступает материнская нить ДНК
- Субстраты для синтеза – дАТФ, дГТФ, дЦТФ, ТТФ,
- Источник энергии – дАТФ, дГТФ, дЦТФ, ТТФ
- Ферменты
- Факторы роста
- SSB-белки

Условия инициации:

Для начала цикла репликации ДНК должны произойти некоторые события:

- Две цепи ДНК должны претерпеть некоторое расхождение. Это обеспечивается плавлением дуплекса на относительно коротком участке.
- Плавление дуплекса ДНК должно распространиться на достаточно протяженный участок цепи, что совершенно необходимо для формирования репликативной вилки.
- Первые нуклеотиды цепи должны быть синтезированы от праймера. Образование праймера необходимо лишь единожды в случае лидирующей цепи, в случае отстающей цепи синтез праймера необходим для каждого фрагмента Оказаки.

ТОЧКИ НАЧАЛА РЕПЛИКАЦИИ (ORIGIN)



Репликация ДНК начинается не в любой случайной точке молекулы, а в специфических местах, называемых точками начала репликации.

РЕПЛИКАЦИЯ ДНК ПРОКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК: ОСОБЕННОСТИ -

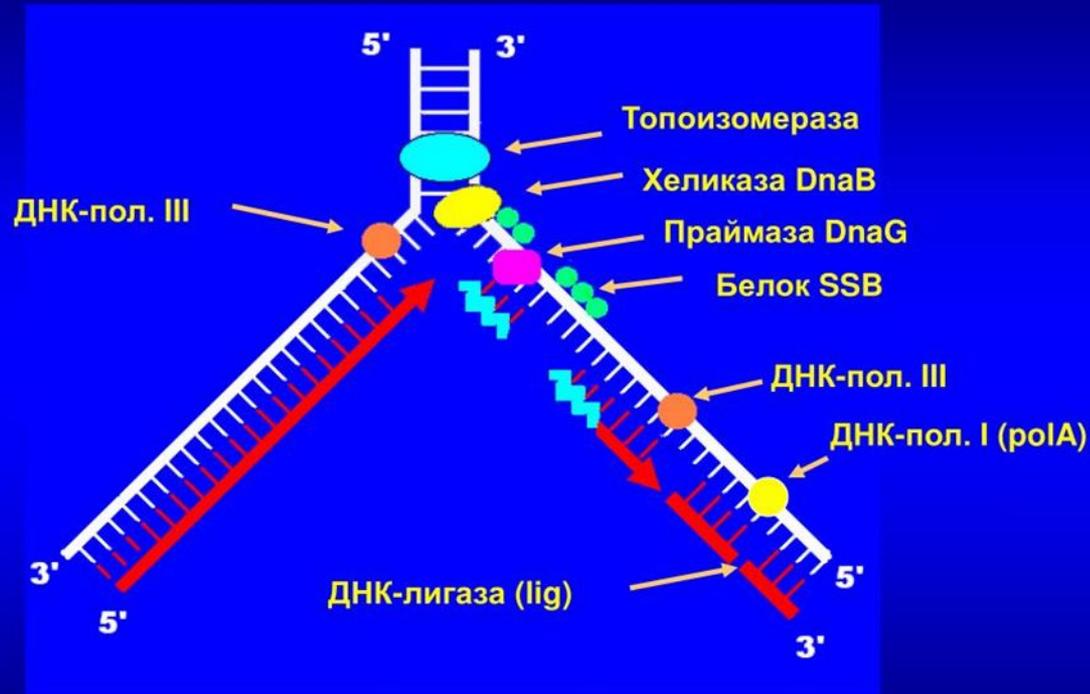
1. РЕПЛИКАЦИЯ ПРОИСХОДИТ с одной точки инициации одним блоком или репликоном, не прерываясь, с образованием двух “репликационных вилок”;
2. Ключевой фермент репликации ДНК у прокариот – ДНК-полимераза III, функционирующая в комплексе с примерно 20 белками;
3. ДНК-полимераза III катализирует синтез как лидирующей, так и отстающей полинуклеотидных цепей ДНК;
4. На завершающей стадии заполнение брешей на месте разрушенных праймеров (запаздывающая цепь) происходит с участием фермента ДНК-полимеразы I;
5. Терминация репликации у прокариот происходит, когда “репликационная вилка” достигает участка ДНК с особыми сайтами *ter* и, если с ДНК этих сайтов соединится продукт гена *tus*.
6. ДНК-полимераза II участвует в процессах молекулярной репарации повреждений прокариотической ДНК.



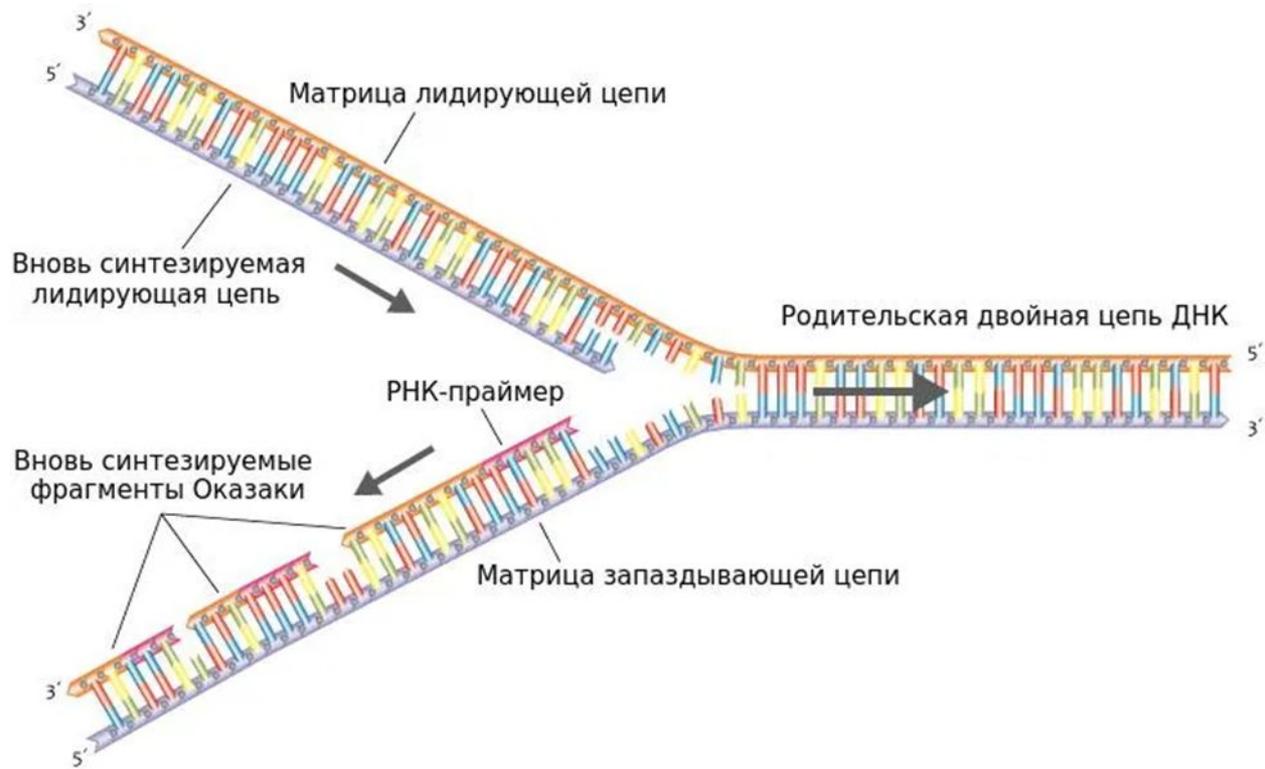
Условия необходимые для репликации (репликативный комплекс):

1. **Хеликаза** – фермент для образования РНК-праймера
2. **Праймаза** – фермент для синтеза РНК-праймера
3. **РНК-праймер** – затравка для репликации (8-10 нуклеотидов, з'конец содержит ОН-группу)
4. **ДНК-полимераза ($\alpha, \beta, \gamma, \delta, \lambda$)** – фермент для синтеза ДНК; **ДНК-полимераза β** (рибонуклеаза Н) – удаляет затравки из вновь синтезированной нити
5. **ДНК-топоизомераза (гираза)** – фермент блокирует одну из нитей ДНК и разрывает фосфатидную перемычку в одной из ее цепей
6. **Геликаза** – разрывает водородные связи в двухцепочечной молекуле ДНК и раскручивает нить ДНК
7. **ДНК-лигаза** – сшивает новые нити

Схема вилки репликации ДНК



ДНК-полимераза III (dnaE,N,Q,X, holA-E)



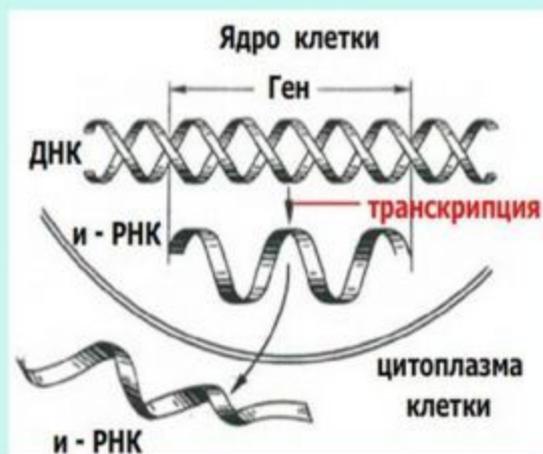
РЕПЛИКАЦИЯ ДНК: ФАЗА ЭЛОНГАЦИИ -

1. С 3'-ОН КОНЦА НАЧАВШЕЙ РОСТ ПОЛИНУКЛЕОТИДНОЙ ЦЕПИ ВЫТЭСНЯЕТСЯ ФЕРМЕНТНЫЙ КОМПЛЕКС α (альфа)ДНК-ПОЛИМЕРАЗА – ПРАЙМАЗА;
2. МЕСТО УКАЗАННОГО КОМПЛЕКСА (см. п.1) ЗАНИМАЕТ КОМПЛЕКС БЕЛКОВ, ВКЛЮЧАЮЩИЙ ГЛАВНЫЙ ФЕРМЕНТ ЭЛОНГАЦИИ δ (дельта)ДНК-ПОЛИМЕРАЗУ, а также БЕЛОК, БЛОКИРУЮЩИЙ РОСТ РНК-ПРАЙМЕРА НА 3' КОНЦЕ СВЕРХ ОПРЕДЕЛЕННОЙ ДЛИНЫ, И БЕЛОК - "ПРИЩЕПКУ" ИЛИ "ЗАЖИМ", КРЕПЯЩИЙ δ (дельта)ДНК-ПОЛИМЕРАЗУ К РЕПЛИЦИРУЕМОЙ ПОЛИНУКЛЕОТИДНОЙ ЦЕПИ;
3. δ (дельта)ДНК-ПОЛИМЕРАЗА КАТАЛИЗИРУЕТ РЕПЛИКАЦИЮ ДНК КАК В БОЛЕЕ ПРОТЯЖЕННЫХ РЕПЛИКОНАХ (ЛИДИРУЮЩАЯ ЦЕПЬ), ТАК И В КОРОТКИХ ФАГМЕНТАХ ОКАЗАКИ (ОТСТАЮЩАЯ ИЛИ ЗАПАЗДЫВАЮЩАЯ ЦЕПЬ).

РЕПЛИКАЦИЯ ДНК: ФАЗА ТЕРМИНАЦИИ -

1. В ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ ПРОЦЕСС РЕПЛИКАЦИИ ОСТАНОВЛИВАЕТСЯ, КОГДА ВСТРЕЧАЮТСЯ "РЕПЛИКАТИВНЫЕ ВИЛКИ" ДВУХ СОСЕДНИХ РЕПЛИКОНОВ;
2. Т.к. РЕПЛИКАЦИЯ ИДЕТ ПОРЕПЛИКОННО (ЛИДИРУЮЩАЯ ЦЕПЬ) или ФРАГМЕНТАМИ ОКАЗАКИ (ОТСТАЮЩАЯ ЦЕПЬ), то РЕПЛИЦИРУЕМЫЙ ПОЛИНУКЛЕОТИД ПОНАЧАЛУ ПРЕДСТАВЛЕН РАЗОБЩЕННЫМИ ФРАГМЕНТАМИ, соотвeтственно, БОЛЕЕ ДЛИННЫМИ и КОРОТКИМИ, которые "сшиваются" КОНЕЦ в КОНЕЦ в ЦЕЛОСТНУЮ МАКРОМОЛЕКУЛУ ФЕРМЕНТОМ **ДНК-ЛИГАЗОЙ**; этот ФЕРМЕНТ КАТАЛИЗИРУЕТ ОБРАЗОВАНИЕ МЕЖНУКЛЕОТИДНОЙ ФОСФОДИЭФИРНОЙ СВЯЗИ, но только если ОДНОЦЕПОЧЕЧНЫЕ ФРАГМЕНТЫ ДНК НАХОДЯТСЯ в СОСТАВЕ ДВУХЦЕПОЧЕЧНОЙ ДНК;
3. В ФАЗЕ ТЕРМИНАЦИИ УДАЛЯЮТСЯ ПРАЙМЕРЫ (ФЕРМЕНТ **РНКаза Н** или **НУКЛЕАЗА Н**, РАЗРУШАЮЩИЙ ФРАГМЕНТЫ РНК в ГИБРИДНЫХ КОМПЛЕКСАХ РНК/ДНК); ВОЗНИКАЮЩИЕ БРЕШИ ЗАПОЛНЯЮТСЯ соотвeтствующими ФРАГМЕНТАМИ ДНК - ФЕРМЕНТОМ **β(бета)ДНК-ПОЛИМЕРАЗОЙ**; ФРАГМЕНТЫ ДНК, ЗАМЕНИВШИЕ ПРАЙМЕРЫ, "ПРИШИВАЮТСЯ" ФЕРМЕНТОМ **ДНК-ЛИГАЗОЙ** к РЕПЛИЦИРУЕМОЙ ЦЕПИ ДНК.

Транскрипция



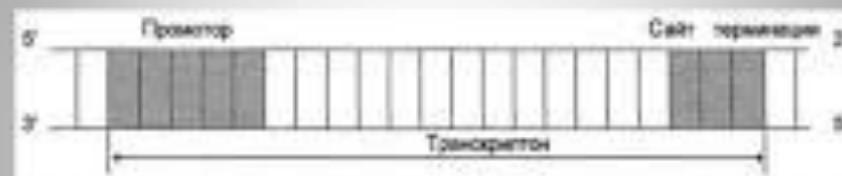
- **Транскрипция** (от лат. «транскрипцио» - переписывание) – перенос генетической информации с ДНК на молекулу и-РНК.
- ❖ Реакция матричного синтеза.
- ❖ Осуществляется согласно принципу комплементарности.
- ❖ Происходит в ядре клетки.
- ❖ Участники процесса: ферменты, нуклеотиды, АТФ.

Транскрипция РНК

- ТРАНСКРИПЦИЯ – первый этап реализации наследственной информации. Синтез и - РНК(всех видов РНК).
- Единица транскрипции – у прокариот **транскриптон**, у эукариот **оперон**.
- Матрица для транскрипции – одна из цепочек ДНК – **кодогенная**
- Принцип транскрипции – **комплиментарность**
- Продукт транскрипции – все виды РНК

Транскрипция

Транскрипция – процесс синтеза РНК с использованием ДНК в качестве матрицы.



Транскриптон

Промотор

Экзоны, интроны

Кодирующая цепь ДНК, матричная цепь ДНК



Строение оперона

Единицей транскрипции является транскрипцион/оперон – это участок ДНК ограниченный со стороны конца 5 промотором и 3 терминатором.

R – ген регулятор

P – промотор – это участок ДНК, который прочно связывается с ферментом РНК полимеразой.

O – оператор – это участок молекулы ДНК выполняющий регуляторные функции, он связывается с белками, которые контролируют синтез матричной РНК в соответствии с потребностями клетки.

A, B, C – это структурные гены (цистроны)

AUG – это сигнальный триплет

t – терминатор – это участок ДНК подающий сигнал об окончании синтеза м-РНК

ATT, UAG – это сигнальный триплет



Условия, необходимые для транскрипции

- Кодирующая цепь ДНК, матрица.
- Ферменты, один из которых – РНК-полимераза.
- Рибонуклеозидтрифосфаты – **АТФ, УТФ, ГТФ, ЦТФ** вещества, обеспечивающие процесс нуклеотидами и энергией.

Отличие процесса транскрипции у про- и эукариот

- **Прокариоты:**

Процессы транскрипции и трансляции сопряжены. Синтез всех типов РНК осуществляет один фермент – РНК-полимераза.

- **Эукариоты:**

Процессы транскрипции и трансляции разобщены – синтез РНК происходит в ядре, а белка – в цитоплазме.

Синтез РНК осуществляют три типа ядерных РНК-полимераз:

РНК-полимераза I – рРНК (28S, 18S, 5,8S);

РНК-полимераза II – мРНК;

РНК-полимераза III – тРНК и 5S РНК.

Кроме того имеются митохондриальные и хлоропластные РНК-полимеразы.

Этапы транскрипции

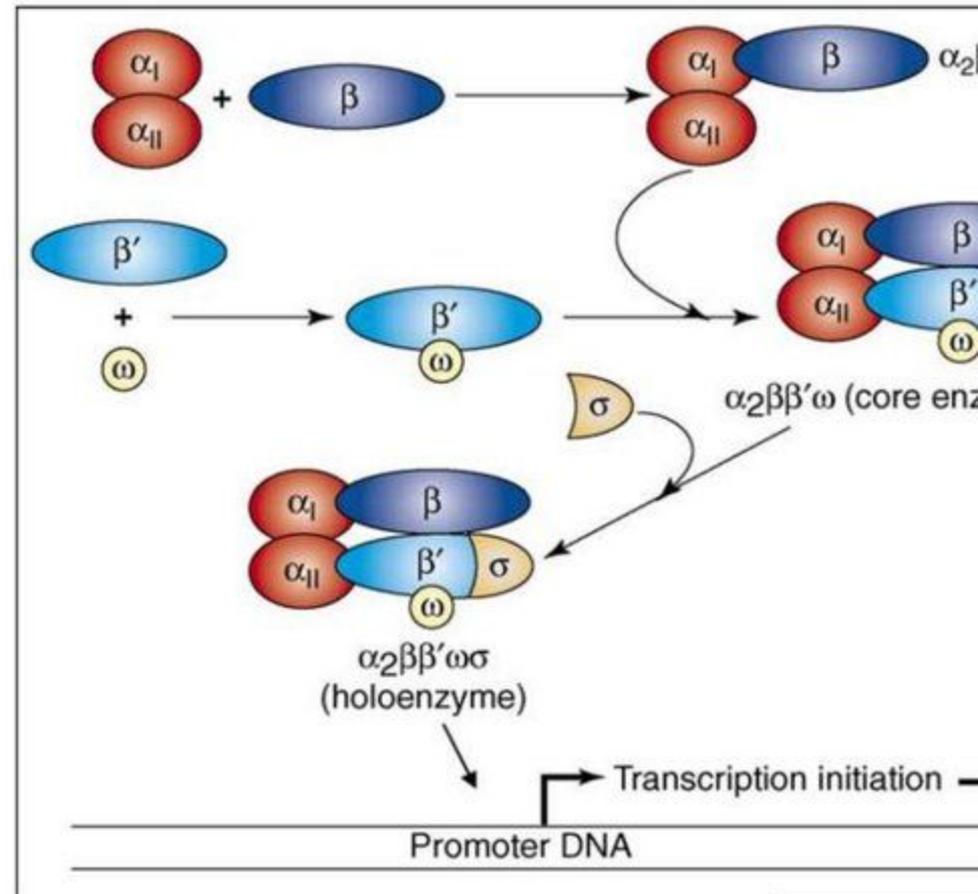
- Связывание ДНК-матрицы – узнавание промотора, образование открытого двойного комплекса
- (Промотор — последовательность ДНК, обеспечивающая посадку РНК-полимеразы.)
- Инициация – соединение 2-х первых нуклеотидов, образование открытого тройного комплекса, начало синтеза РНК
- Элонгация – продолжение синтеза РНК

ДНК-зависимая РНК-полимераза прокариот

У бактерий один и тот же фермент катализирует синтез трех типов РНК: мРНК, рРНК и тРНК.

РНК-полимераза — крупная молекула. Состоит из пяти субъединиц (~400 кДа): $\alpha_2\beta\beta'\omega$ (корфермент)

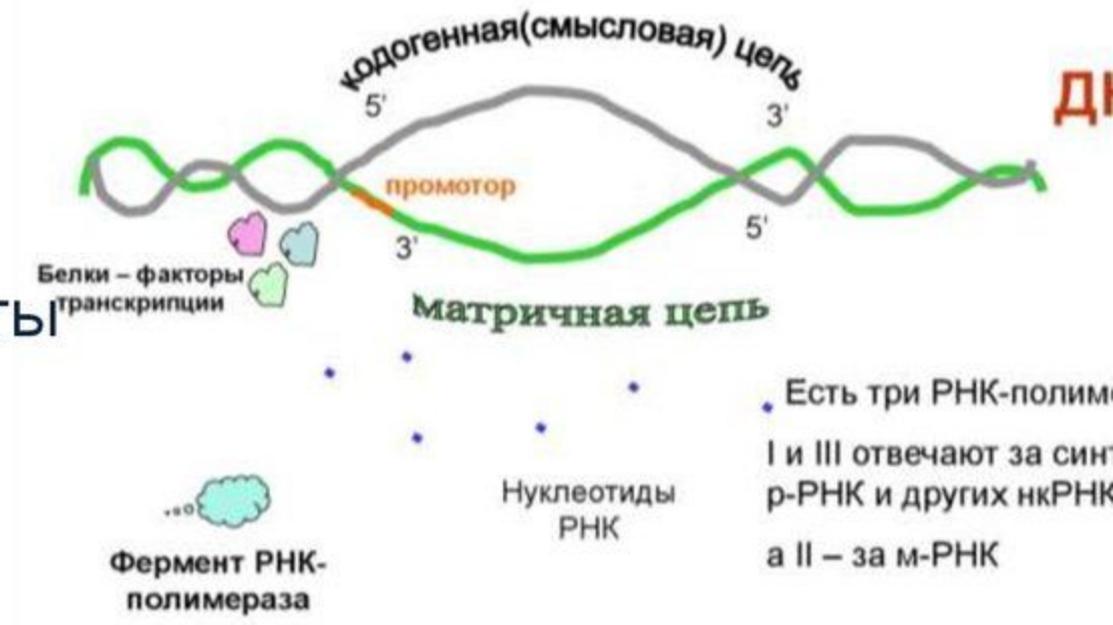
Для связывания с промоторными областями ДНК необходима еще одна субъединица — сигма (σ). Сигма-фактор значительно снижает сродство РНК-полимеразы к неспецифичным областям ДНК, и повышает ее чувствительность к определенным промоторам. С его помощью транскрипция начинается с нужного участка ДНК



Инициация – первый этап транскрипции, в ходе которого происходит связывание РНК-полимеразы с промотором и образование первой межнуклеотидной связи.

Необходимо:

- холофермент,
- промотор
- нуклеозидтрифосфаты



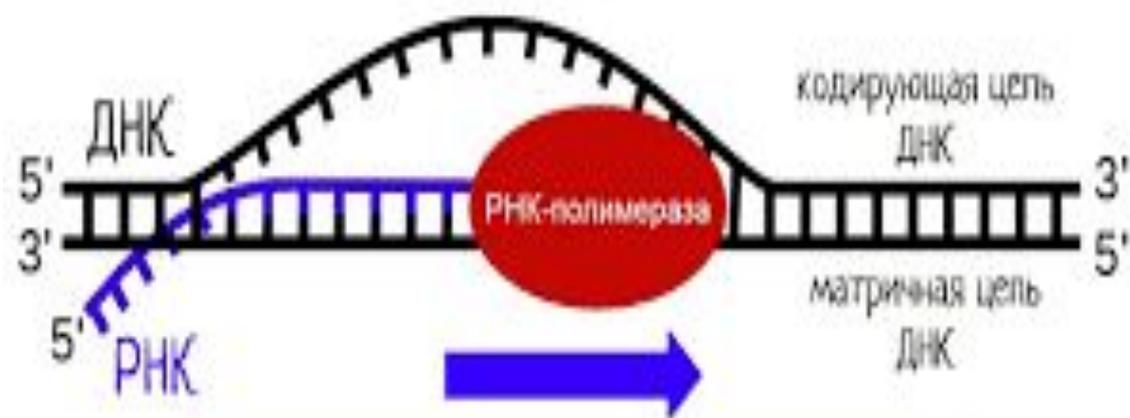
Промотор – это участок молекулы ДНК, состоящий примерно из 40 пар нуклеотидов и расположенный непосредственно перед участком инициации транскрипции.

Инициация

Образование первой фосфодиэфирной связи между двумя рибонуклеотидами

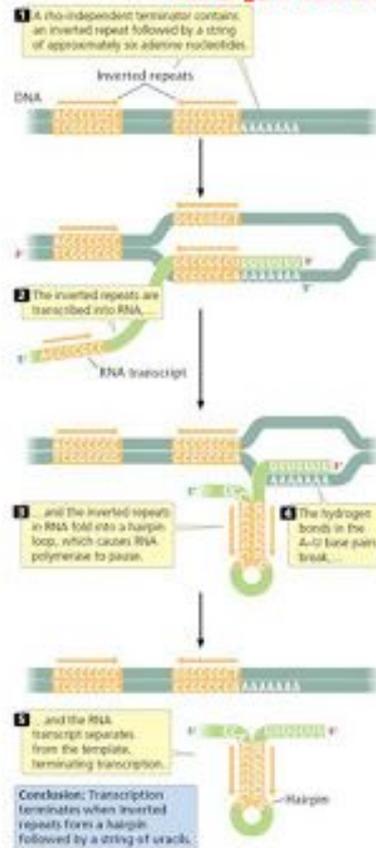
Стадии инициации транскрипции:

- образование «закрытого» комплекса
- образования «открытого двойного» комплекса (с расплетением участка ДНК)
- образования «открытого тройного» комплекса (синтез коротких РНК без диссоциации σ -фактора)
- После синтеза фрагмента РНК (9-12 нуклеотидов) σ -фактор покидает промотор и начинается стадия элонгации



Транскрипция

Терминация транскрипции



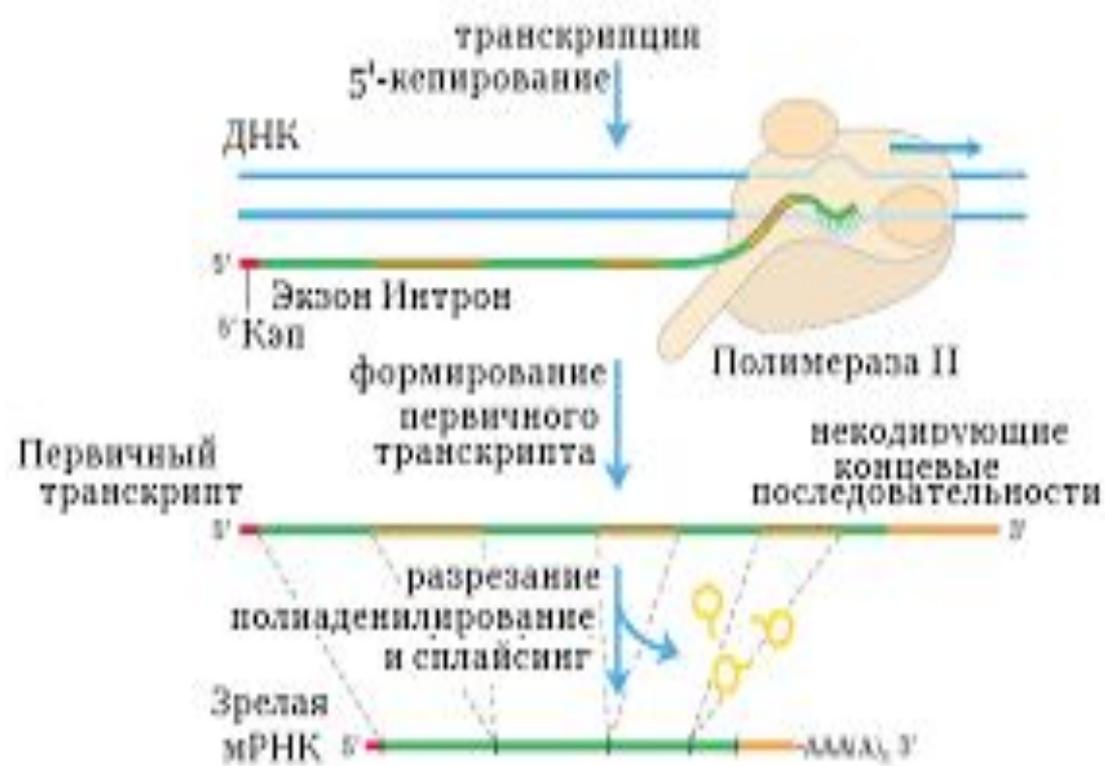
-Инвертированный повтор в области терминатора приводит к образованию петли на РНК;

-РНК-полимераза приостанавливается;

-Водородные связи АУ-тракта разрушаются;

- РНК транскрипт отделяется от матрицы.

Clancy, S. (2008) DNAtranscription. Nature Education 1(1)



Виды РНК

1. **и-РНК** = м-РНК информационная, матричная
до 10 тысяч нуклеотидов
линейная

2. **т-РНК** транспортная
около 100 нуклеотидов

3. **р-РНК** рибосомальная
2-3 тысячи нуклеотидов

как и белки
имеют
3-мерную
конформацию

Роль РНК в клетке

Посмотрев видеофрагмент, скажите, какую функцию выполняет каждая из РНК

и - РНК



и - РНК считывает информацию с участка ДНК о первичной структуре белка и несет эту информацию к рибосомам

т - РНК



т - РНК переносит аминокислоты к рибосомам

р - РНК



р - РНК входит в состав рибосом.

The image features a dark blue background with a bokeh effect of out-of-focus light circles and numerous bright, multi-pointed starburst sparkles scattered throughout. The text is centered in the upper half of the image.

**Спасибо за
внимание!**