

Современные проблемы молекулярной биологии



**СТРУКТУРНО-
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА
НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И
БЕЛКОВ.**

**ОСНОВЫ РЕПЛИКАЦИИ,
ТРАНСКРИПЦИИ И
ТРАНСЛЯЦИИ.**

Молекулярная биология – это наука о механизмах хранения, воспроизведения, передачи и реализации генетической информации на молекулярном уровне, о структуре и функциях нерегулярных биополимеров

**Название «молекулярная биология» впервые предложил
Уоррен Уивер в 1938 г.**



**«... в тех пограничных
областях, где физика и
химия пересекаются с
биологией, возникает новый
раздел науки – молекулярная
биология...»**

Основные этапы развития молекулярной биологии:

1. Романтический период (1928 – 1953 г.г.)

Исследование химического состава нуклеиновых кислот

2. Догматический период (1953 – 1962 г.г.)

*Сформулирована центральная догма молекулярной
биологии:*

***Перенос генетической информации идет в
направлении ДНК ➡ РНК ➡ белок***

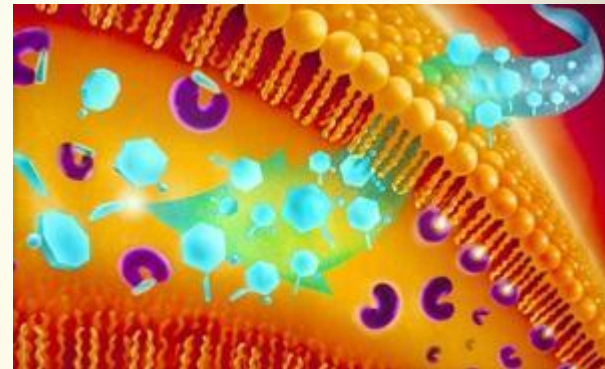
3. Академический период (с 1962 г. по настоящее время)

Области практического применения молекулярной биологии:

- **медицина;**
- **фармация;**
- **косметология;**
- **сельское хозяйство;**
- **химические технологии и новые материалы;**
- **пищевые технологии;**
- **создание биотоплива;**
- **защита окружающей среды**

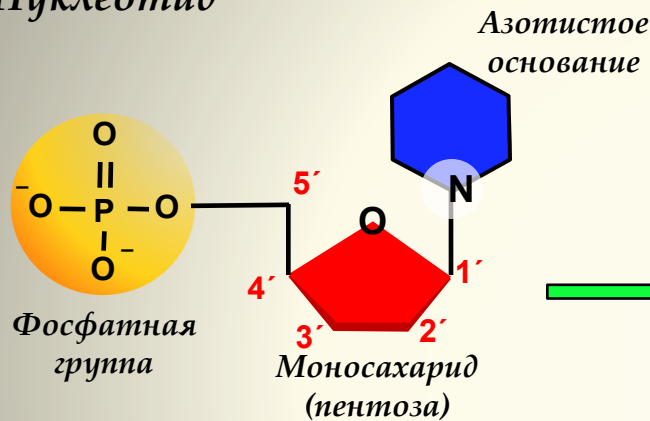


Молекулярная фармакология изучает поведение молекул лекарственных веществ в клетке и межклеточном пространстве, механизмы «молекулярного узнавания» лекарственных средств, транспорт этих веществ через мембраны и т.д.

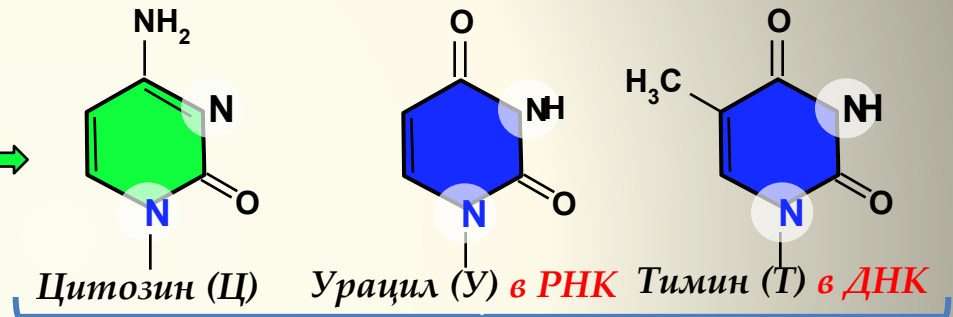


Азотистые основания и моносахариды, которые входят в состав нуклеиновых кислот

(а) Нуклеотид

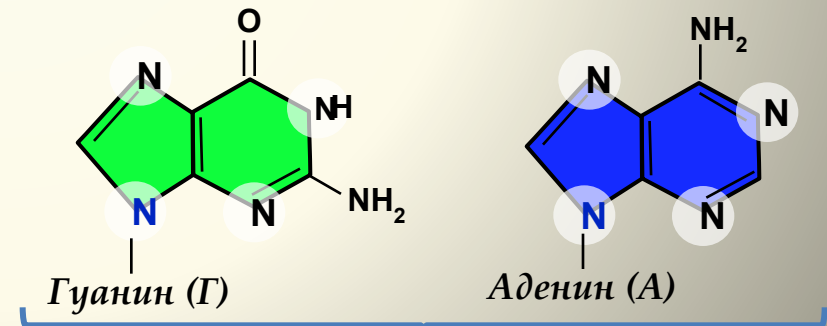
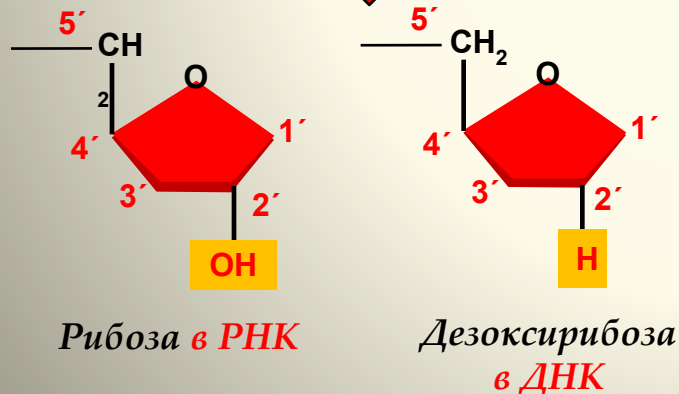


(в) Азотистые основания



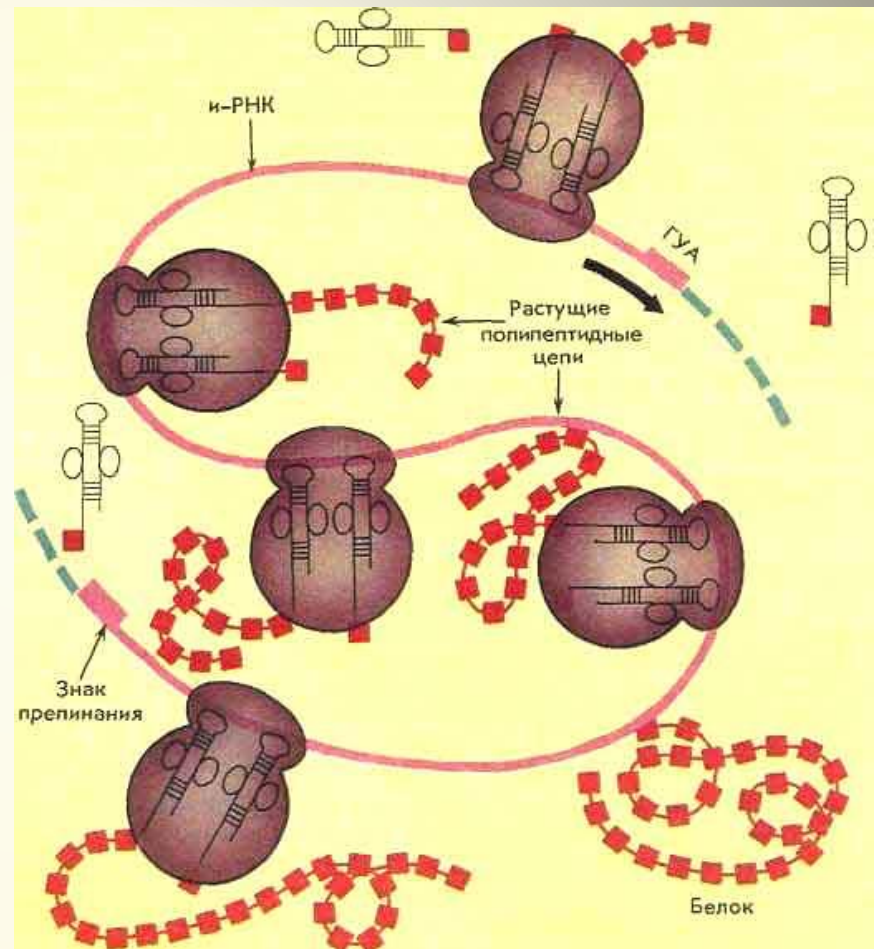
Пиримидины

(б) Моносахариды



Пурины

Для увеличения производства белков иРНК часто проходит не по одной, а по нескольким рибосомам. Такую структуру, объединенную одной молекулой иРНК, называют **полисомой**



Нуклеиновые кислоты.

Представляют собой высокомолекулярные биополимеры, состоящие из нуклеотидов, соединенных между собой фосфодиэфирными связями.

Из истории открытия нуклеиновых кислот



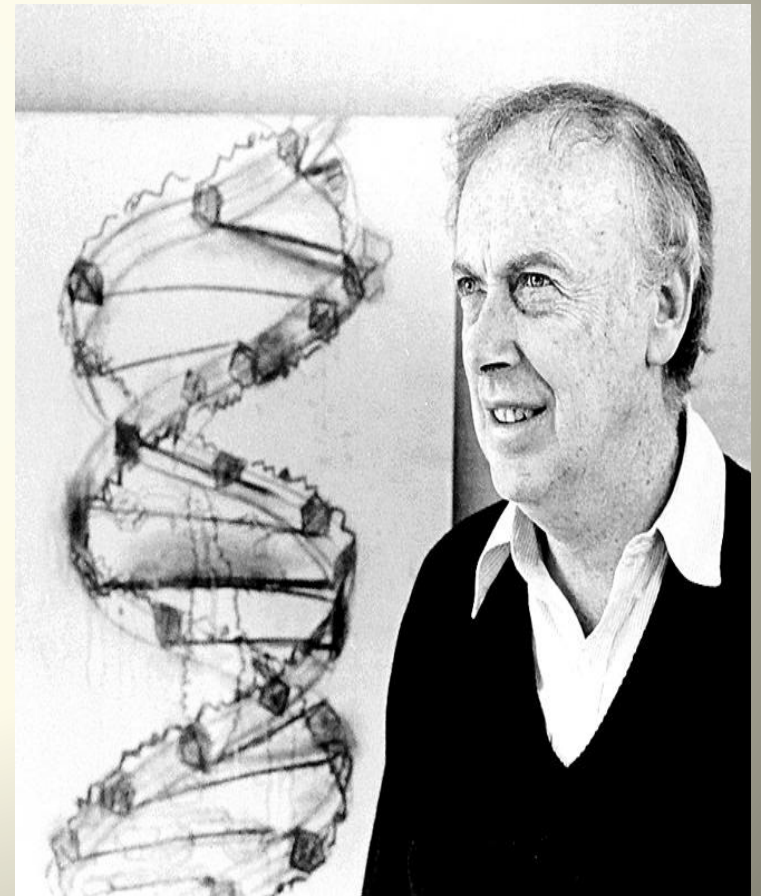
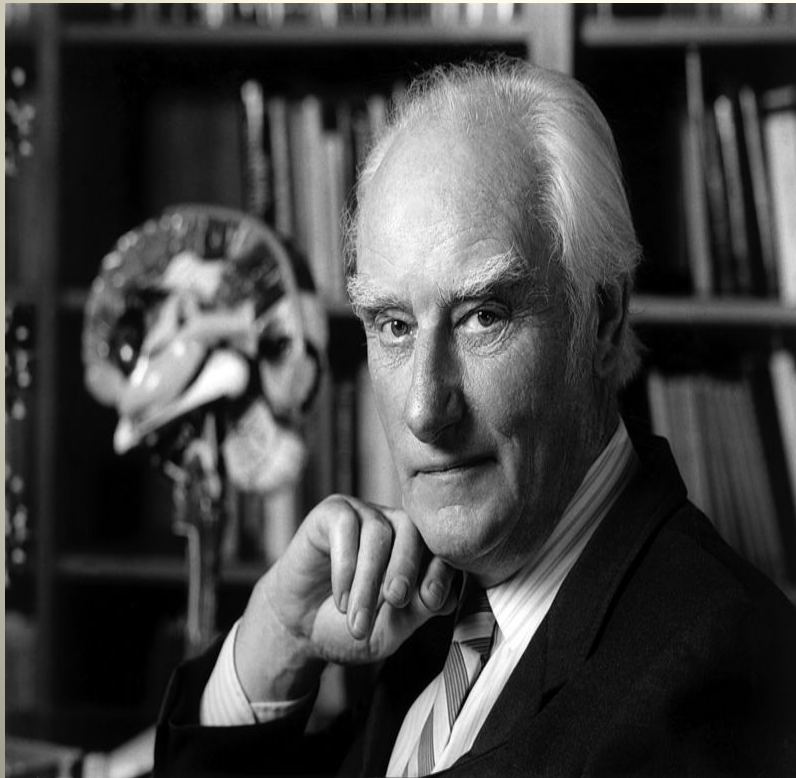
И.Ф.Мишер

В 1868г швейцарский врач **И.Ф. Мишер** в ядрах лейкоцитов обнаружил вещества, обладающие кислотными свойствами, которые он назвал **нуклеином** (nucleus-ядро)

В 1889г **Р.Альтман** эти вещества назвал **ядерными (нуклеиновыми) кислотами**

Термин нуклеиновые кислоты предложен **А. Косселем** в 1889 году

В 1953 году в США Дж. Уотсон и Ф. Крик смоделировали **структуру ДНК**, им присуждена Нобелевская премия





Модель молекулы ДНК (1953 г)

Модели ДНК

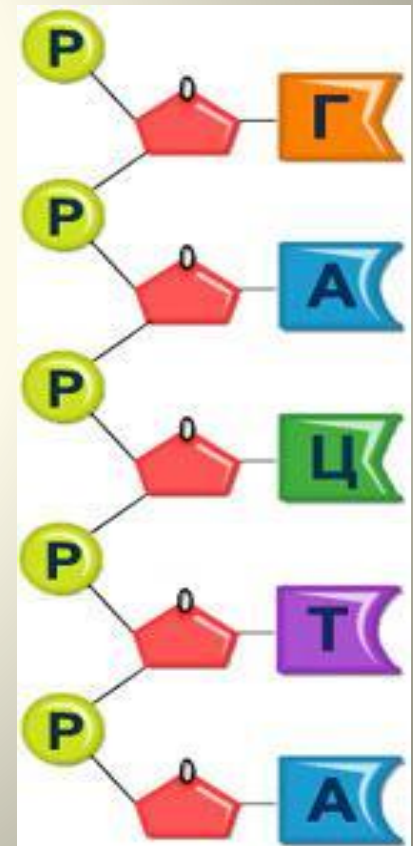
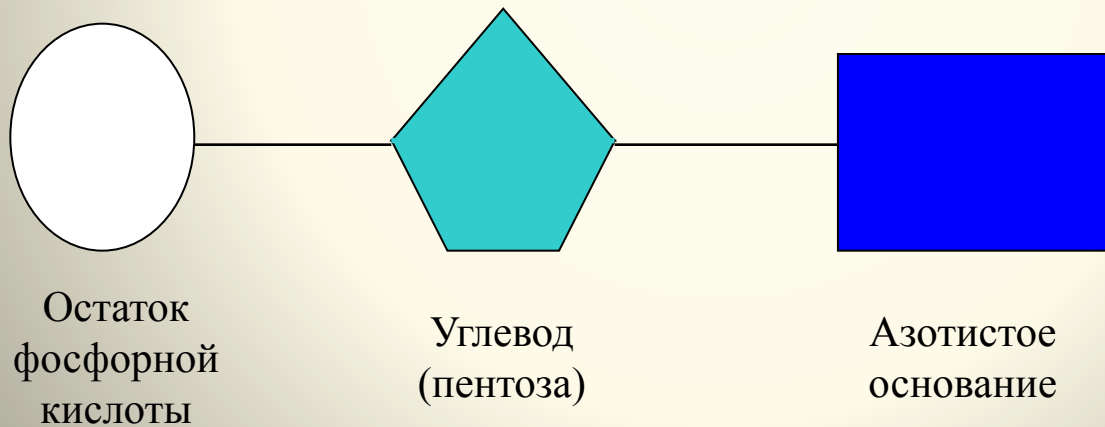


ДН, Ф.



Строение нуклеотида

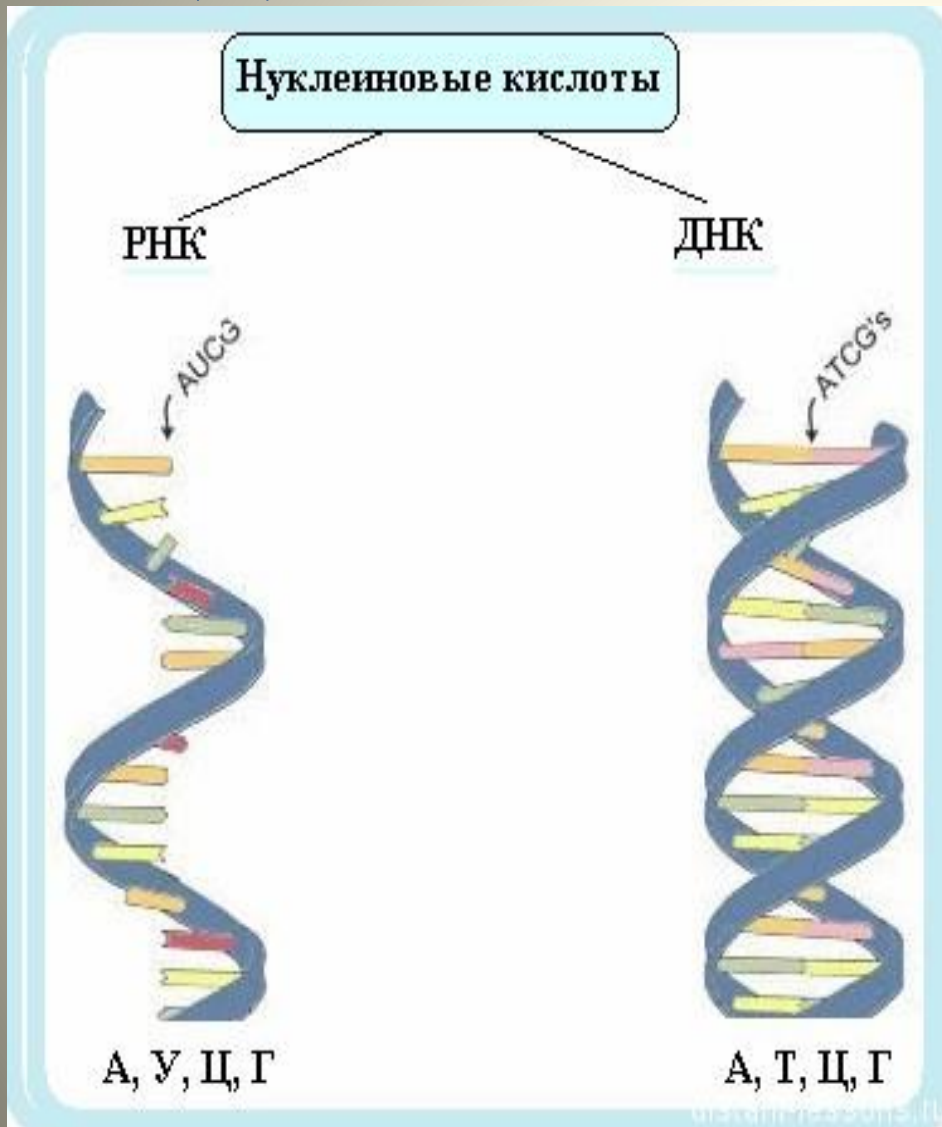
Нуклеотид – химическое соединение, состоящее из:



Структура ДНК и РНК – это своеобразный способ записи информации в организме.

- В подавляющем большинстве случаев передача наследственной информации от материнской клетки к дочерней осуществляется при помощи ДНК (процессу предшествует **репликация**).
- Для использования генетической информации самой клеткой необходимы РНК, образуемые на матрице ДНК (**транскрипция**).
- Далее РНК непосредственно участвуют на всех этапах синтеза белковых молекул (**трансляция**), обеспечивающих структуру и деятельность клетки.
- Некоторые вирусы (ретровирусы) обладают способностью заставлять клетку синтезировать ДНК на матрице вирусной РНК – это называется **обратной транскрипцией**.
- Исправление ошибок в структуре ДНК, возникших под воздействием факторов внешней и внутренней среды, осуществляется в ходе матричного синтеза, названного **репарацией**

ВИДЫ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ



В зависимости от строения углевода, входящего в состав нуклеотидов, выделяют **рибонуклеиновые кислоты (РНК)** – содержащие рибозу, и **дезоксирибонуклеиновые кислоты (ДНК)** – содержащие дезоксирибозу.

Сравнительная характеристика ДНК и РНК

ДНК

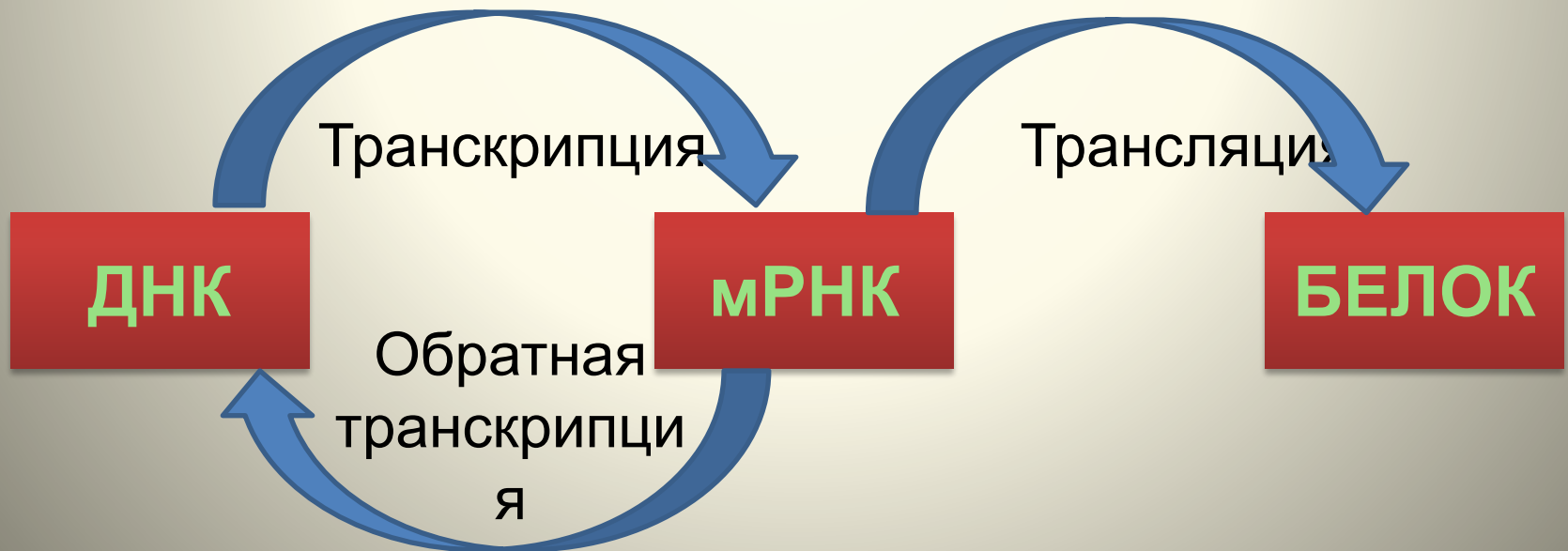
1. Биологический полимер
2. Мономер – нуклеотид
3. 4 типа азотистых оснований: аденин, тимин, гуанин, цитозин.
4. Комплементарные пары: аденин-тимин, гуанин-цитозин
5. Местонахождение - ядро
6. Функции – хранение наследственной информации
7. Сахар - дезоксирибоза

РНК

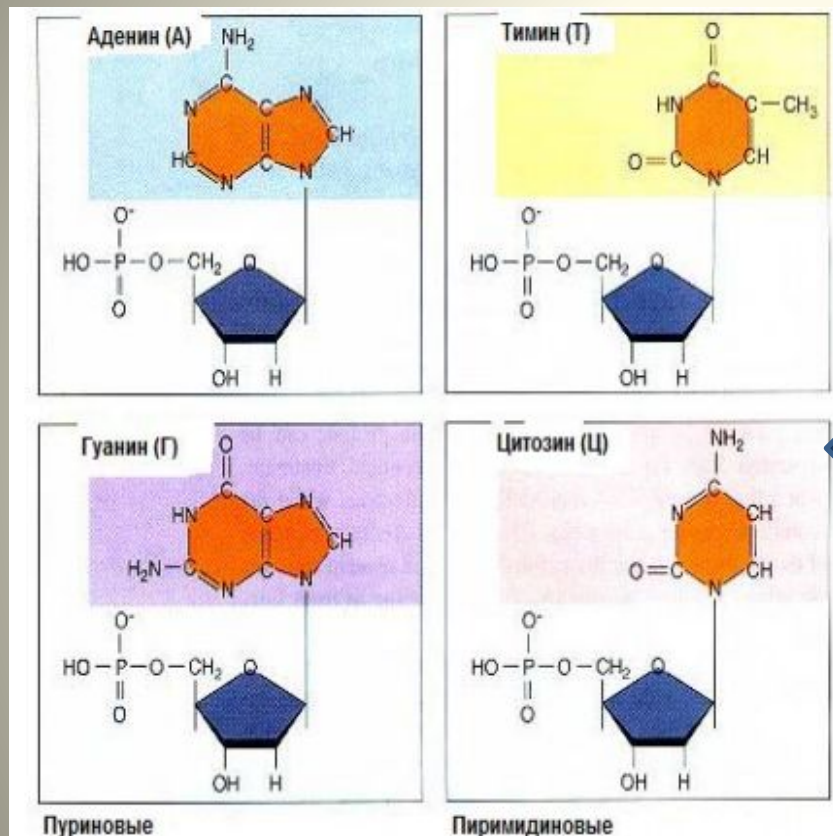
1. Биологический полимер
2. Мономер – нуклеотид
3. 4 типа азотистых оснований: аденин, гуанин, цитозин, урацил
4. Комплементарные пары: аденин-урацил, гуанин-цитозин
5. Местонахождение – ядро, цитоплазма
6. Функции – перенос, передача наследственной информации.
7. Сахар - рибоза

На вышесказанном основана центральная догма молекулярной биологии:

перенос генетической информации осуществляется только от нуклеиновой кислоты (ДНК и РНК). Получателем информации может быть другая нуклеиновая кислота (ДНК или РНК) и белок.



ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕИНОВАЯ КИСЛОТА (ДНК)



Азотистые основания

Остаток фосфорной
кислоты

ДНК

Дезоксирибоза

ДНК содержится в ядре и митохондриях клеток и имеет три структурных уровня организации.

ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА ДНК

Представляет собой последовательность дезоксирибонуклеотидов, соединенных между собой 3',5'-фосфодиэфирными связями.

Свободный 3'-конец содержит свободную гидроксильную группу и называется ОН-концом, а 5'-конец содержит фосфатную группу и называется Р-концом.

Направление цепи в первичной структуре $5' \rightarrow 3'$.

Первичная структура определяет уникальность структуры и функциональную индивидуальность ДНК.

При этом остов цепи ДНК всегда постоянен на протяжении и представляет собой чередование групп:

пентоза-фосфат-пентоза. Вариабельными группами служат **азотистые основания**.

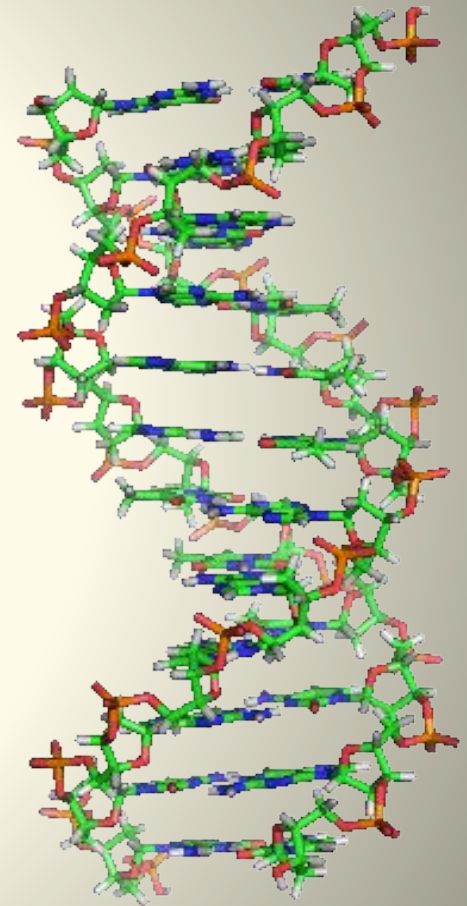
ВТОРИЧНАЯ СТРУКТУРА ДНК

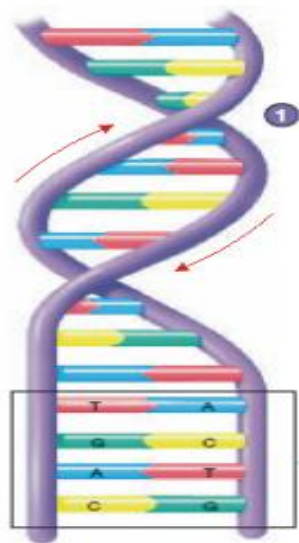
Пространственная структура ДНК, представляющая собой двухцепочечную правозакрученную спираль. В каждой цепи мономерами выступают дезоксирибонуклеотиды – дАМФ, дГМФ, дЦМФ, дТМФ.

Дезоксирибонуклеотиды связаны между собой через фосфатные мостики между 3' и 5' атомами углерода соседних дезоксирибоз.

Цепи ДНК антипараллельны, т.е. одна из них имеет направление $5' \rightarrow 3'$, а $3' \rightarrow 5'$.

Та цепь ДНК, которая содержит в себе информацию о структуре какого-либо определенного гена называется кодирующей или матричной, другая – некодирующей. цепи антипараллельны, т.е. направлены в разные стороны.



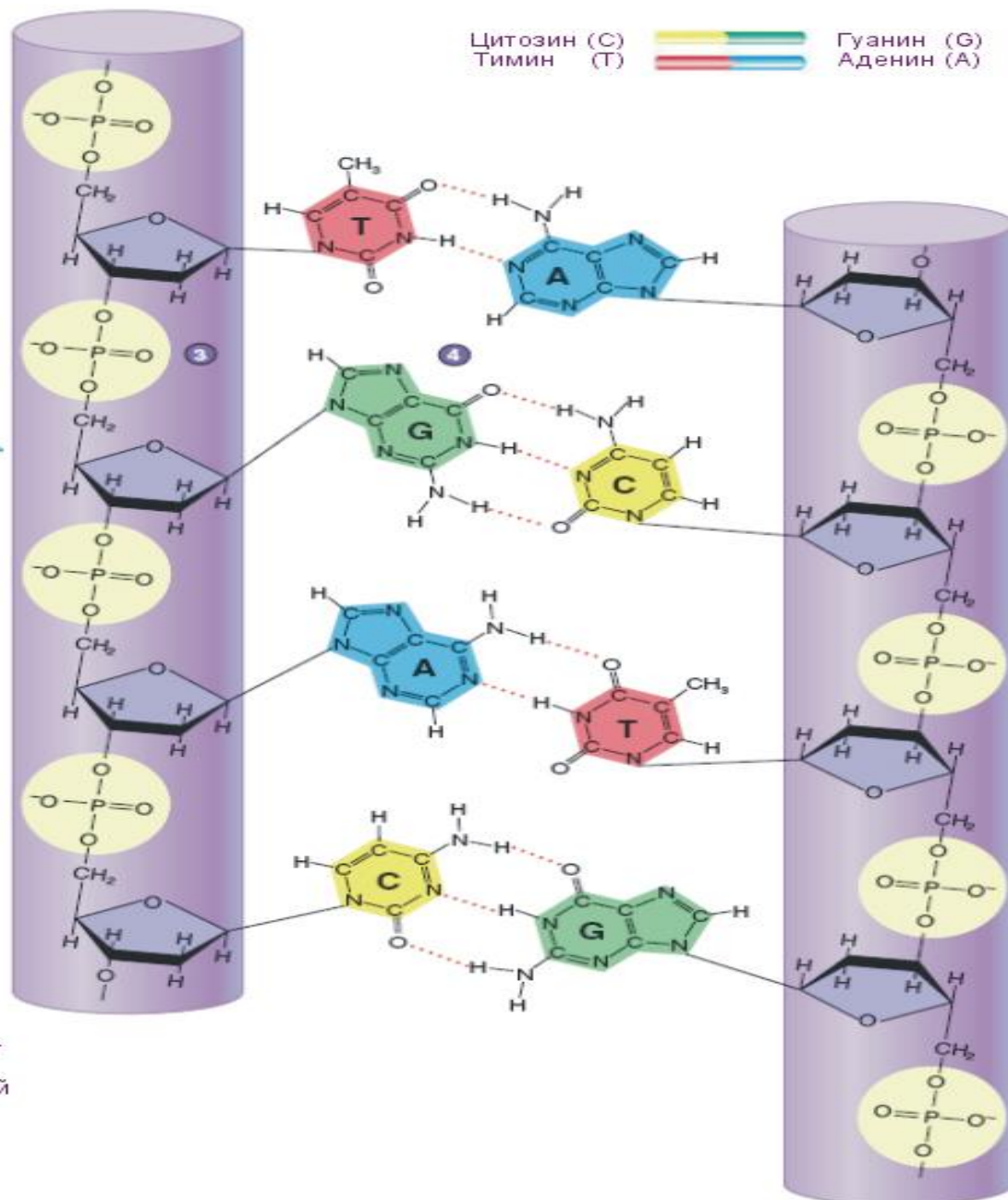


1 Молекула ДНК (DNA) состоит из нуклеотидов, соединенных последовательно в две цепи. Каждая из этих цепей имеет форму спирали. Спирали антипараллельны, то есть направлены в противоположные стороны (красные стрелки).

2 Цепи выпрямлены и увеличены.

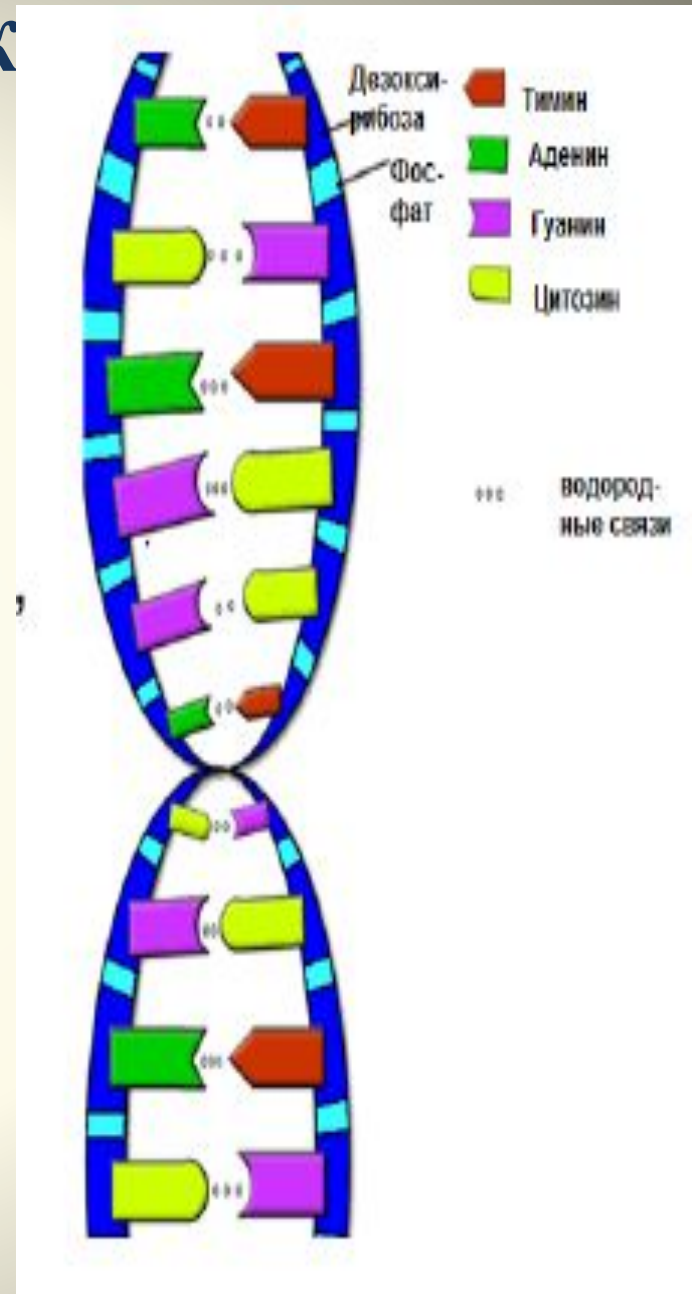
3 Между молекулами дезоксирибозы каждой цепи расположены фосфатные группы. Они взаимодействуют с молекулами дезоксирибозы посредством ковалентных связей.

4 Перпендикулярно длинным осям сахарофосфатных остовов каждой спирали расположены основания, пурины и пиримидины. Это цитозин (C), и гуанин (G), тимин (T) и аденин (A). Пурины одной спирали взаимодействуют с пиримидинами противоположной спирали посредством водородных связей (красные точки). Таким образом по последовательности нуклеотидов цепи комплементарны друг другу.



Взаимодействие нуклеотидов ДНК

- Цепочки ДНК соединены между собой непрочными **водородными связями**, которые, удерживают их вместе благодаря своей многочисленности (по типу застёжки-«молнии»)
- Эти водородные связи образуются между пуриновыми и пиримидиновыми азотистыми основаниями по принципу **комплементарности**: аденину соответствует тимин (две водородные связи), а гуанину – цитозин (три водородные связи)
- Две цепи соединяются между собой таким образом, что все азотистые основания обращены вовнутрь двойной спирали, а пентозофосфатный остов расположен кнаружи.
- Комплементарные основания уложены в стопку в середине спирали и между ними возникает **гидрофобное взаимодействие**, стабилизирующее двойную спираль
- Последовательность нуклеотидов одной цепи полностью комплементарна последовательности второй цепи

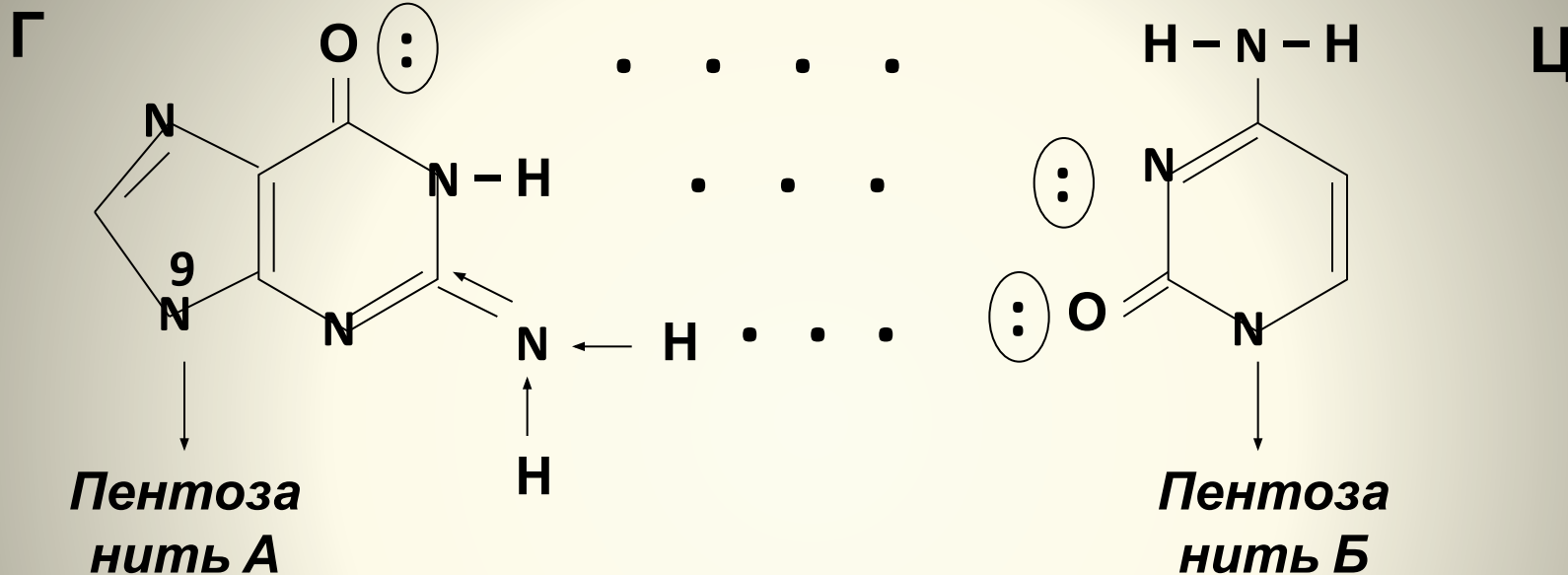


КОМПЛЕМЕНТАРНЫЕ

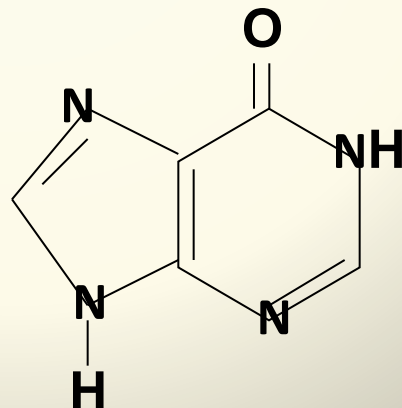
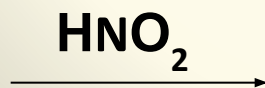
A === T

Г ≡ ≡ ≡ Ц

ПАРЫ



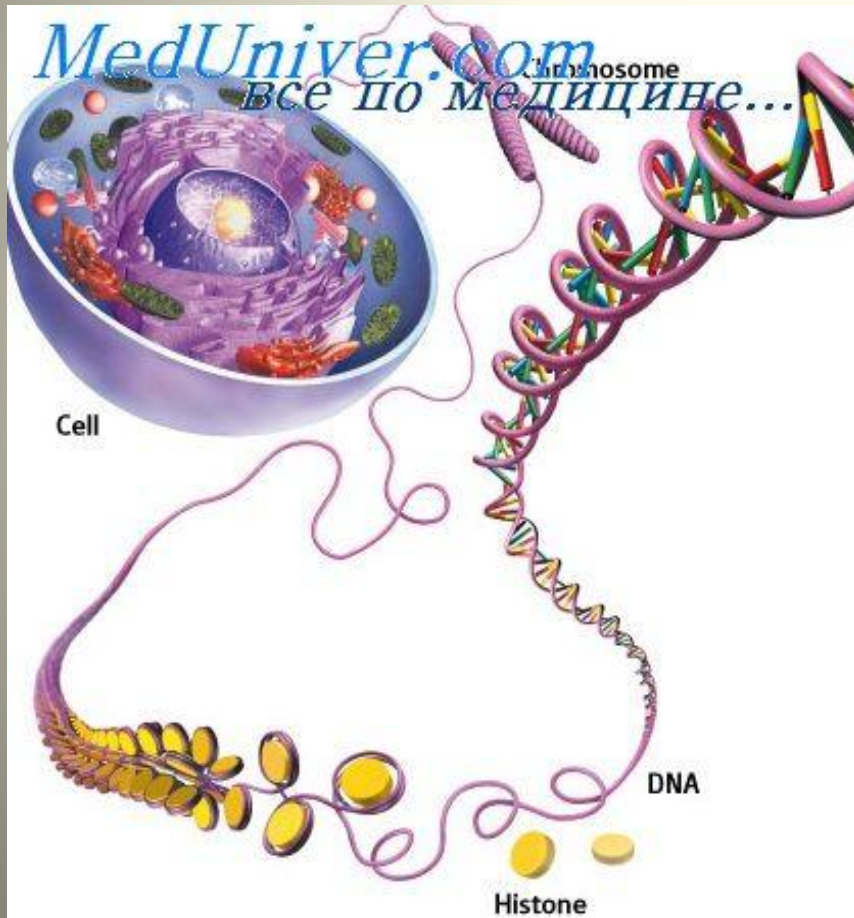
А
аденозин



(гипоксантин)

тогда пара А = = = Т заменяется на пару инозин – Ц

ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА ДНК



Представляет собой **суперспираль**.

Суперспирализация ДНК необходима для ее компактной упаковки в ядре клетки и формирования хромосом.

ДНК – наиболее важная часть хромосом: две двухцепочечные молекулы ДНК образуют одну хромосому.

Наиболее хорошо хромосомы видны перед митозом и во время его. В покое в клетках хромосомный материал выглядит нечетко и распределен по всему ядру. В таком состоянии он получил название "хроматин".

В составе хроматина выделяют 60% белка (гистоны и кислые белки), 35% ДНК и около 5% РНК.

Хроматин уложен в виде сферических частиц – **нуклеосом**, соединенных друг с другом нитью ДНК.

ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА ДНК

Нуклеосома представляет собой комплекс участка молекулы ДНК и восьми молекул гистонов.

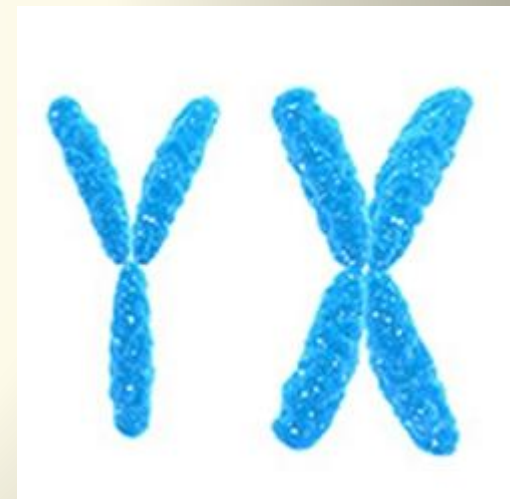
В составе нуклеосомы находятся по 2 молекулы каждого типа **гистонов H2α, H2β, H3, H4**.

Нить ДНК, последовательно контактируя с гистонами H2α, H2β, H4, H3, H3, H4, H2β, H2α, наматывается в 1,75 оборота на гистоновое ядро, которое "маскирует" 146 пар оснований ДНК.

Гистон H1 связывается с нуклеосомой на участке входа и выхода ДНК так называемый **линкерном участке**), "склеивая" и "маскируя" еще 20 пар оснований. Гистон H1 защищает ДНК в этом месте от действия нуклеаз. Таким образом, с помощью одной нуклеосомы замаскировано 166 пар оснований, формируя структуру по типу «нити бус».

Кроме нуклеосом, в ядре присутствуют еще 2 уровня укладки ДНК: фибриллы диаметром 10 нм, состоящие из цепочки нуклеосом, и волокна, диаметром 30 нм, образующиеся при закручивании фибрилл в суперспираль. На виток такой спирали приходится 6-7 нуклеосом.

Участок ДНК между нуклеосомами называется спейсерным (англ: space – пространство), его длина варьирует в зависимости от вида организма и типа клеток. У человека она составляет около 50-60 пар нуклеотидов.



МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК



Митохондрии имеют собственный уникальный геном, представленный одной кольцевой молекулой ДНК, которая кодирует синтез 13 белков.

Митохондриальная ДНК наследуется по материнской линии, так как он происходит из цитоплазмы яйцеклетки

Имеет некоторые особенности:

- Отсутствие свободных концов
- Отсутствие участков- интронов (процесс сплайсинга отсутствует)
- Отсутствие процесса кэпирования
- Отсутствие в митохондриях ферментов репарации (и как следствие большое число их ошибок в их ДНК)
- ДНК митохондрий не метилируется
- Наличие отклонений от универсального генетического кода

ЗНАЧЕНИЕ ДНК



- Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) представляет собой молекулу, кодирующую генетическую информацию, используемую в развитии и функционировании всех известных живых организмов и многих вирусов.
- Передает информацию в ряду клеточных поколений
- Наряду с РНК и белками, ДНК является одним из основных макромолекулярных веществ, необходимых для всех известных форм жизни.

РИБОНУКЛЕИНОВАЯ КИСЛОТА (РНК)

Рибонуклеиновая кислота (РНК) представляет собой последовательность рибонуклеозидмонофосфатов – АМФ, ГМФ, ЦМФ, УМФ, связанных друг с другом 5'-3'-фосфодиэфирными связями.

Основной функцией РНК является «переписывание» генетической информации с ДНК и реализация ее в биосинтезе белка (трансляция), путем участия ее в непосредственном формировании белок-синтезирующей системы.

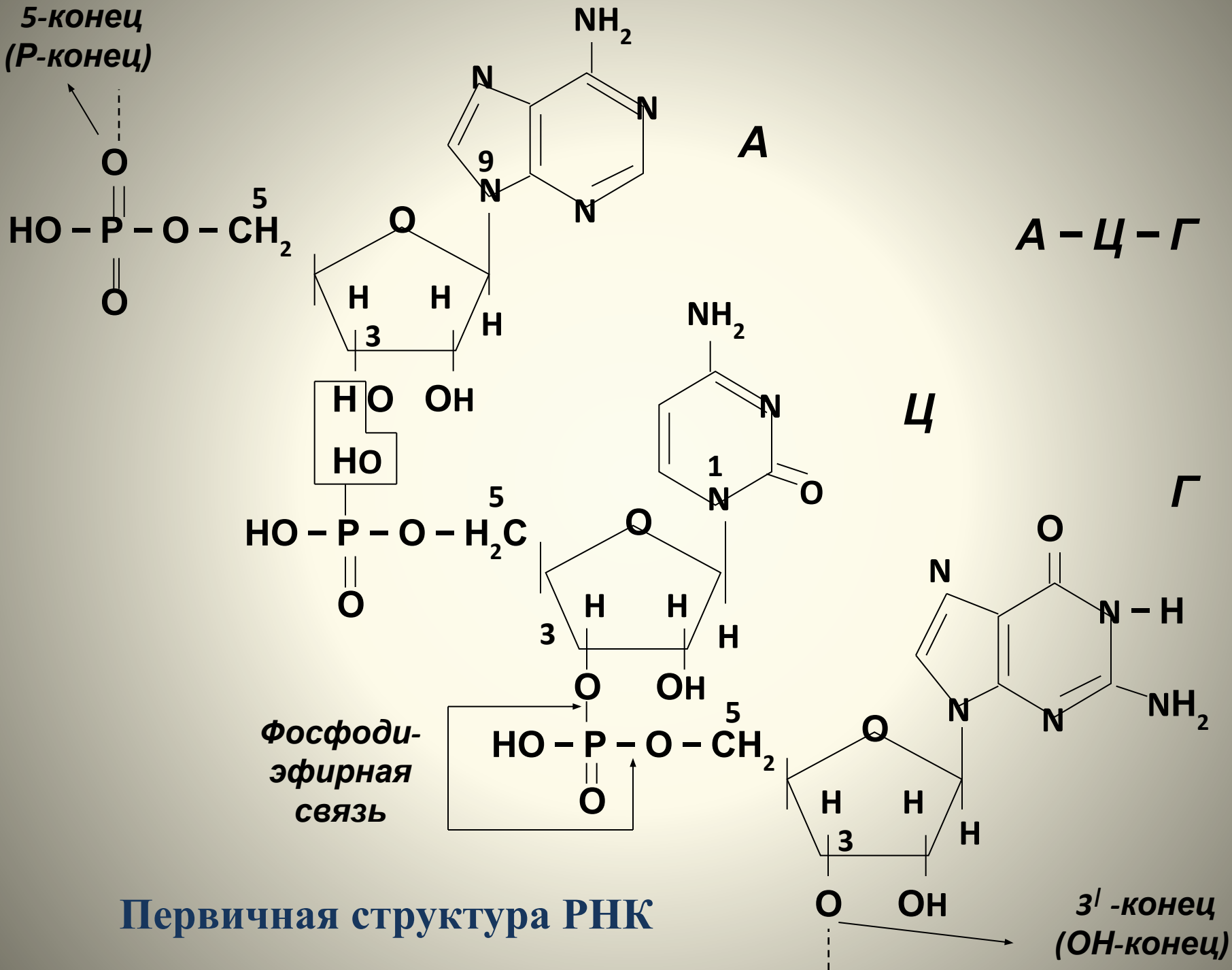
УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ РНК

Первичный уровень организации РНК, также как и ДНК, представляет собой одноцепочечную молекулу биополимера, состоящего из мономеров-нуклеотидов, содержащих в себе **рибозу** (вместо дезоксирибозы) и пиримидиновое основание **урацил** одним (вместо тимина)

Вторичная структура представлена одноцепочечной последовательностью нуклеотидов, формирующей отдельные участки спирализации за счет возникновения водородных связей между комплементарными азотистыми основаниями. Это так называемые **«шпильки» РНК**. При этом участки цепи в этих спирализованных структурах антипараллельны, но не всегда полностью комплементарны. Правила Чаргаффа к ним не применимо. Спирализованные участки характерны для всех типов РНК.

Третичный уровень организации РНК представляет собой компактную структуру, возникающую за счет взаимодействия спирализованных элементов вторичной структуры. В стабилизации принимают участие ионы магния

5-конец
(Р-конец)



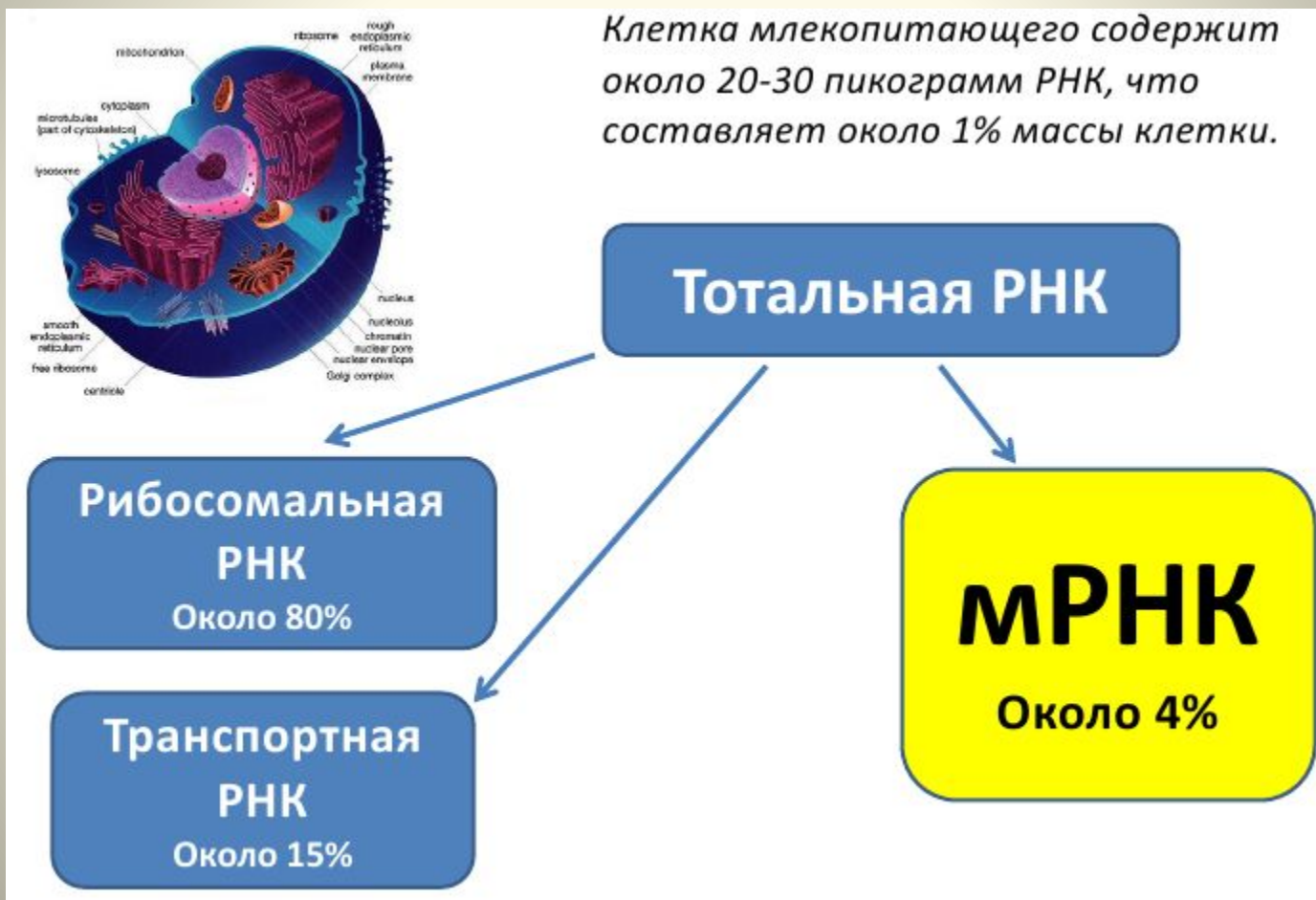
Первичная структура РНК

ВТОРИЧНАЯ СТРУКТУРА РНК

Элементы вторичной структуры



ВИДЫ РНК



ВИДЫ РНК

Матричные РНК (мРНК)

Представляют собой линейную последовательность нуклеотидов. К 5'-концу молекулы присоединен метилгуанозиндифосфат, на 3'-конце имеется полиадениловая последовательность. Образуются в процессе транскрипции (переписывания) с кодирующей цепи ДНК.

Их функция – информационная, т.е. перенос информации о структуре белков от ДНК к месту их синтеза.

Малые РНК используются для созревания мРНК и некоторых других клеточных процессов.

Рибосомальные РНК (рРНК)

У прокариот и эукариот различны и отличаются величиной седиментации (скорости оседания молекулы при центрифугировании). Они участвуют в построении рибосом.

У прокариот три разновидности рРНК: 5S, 16S и 23S. Малую (30S) субчастицу рибосом образуют белки и 16S-рРНК; большую (50S) субъединицу – белки, 23S-рРНК и 5S-рРНК.

У эукариот в составе рибосом четыре разновидности рРНК: 5S, 5,8S, 18S и 28S.

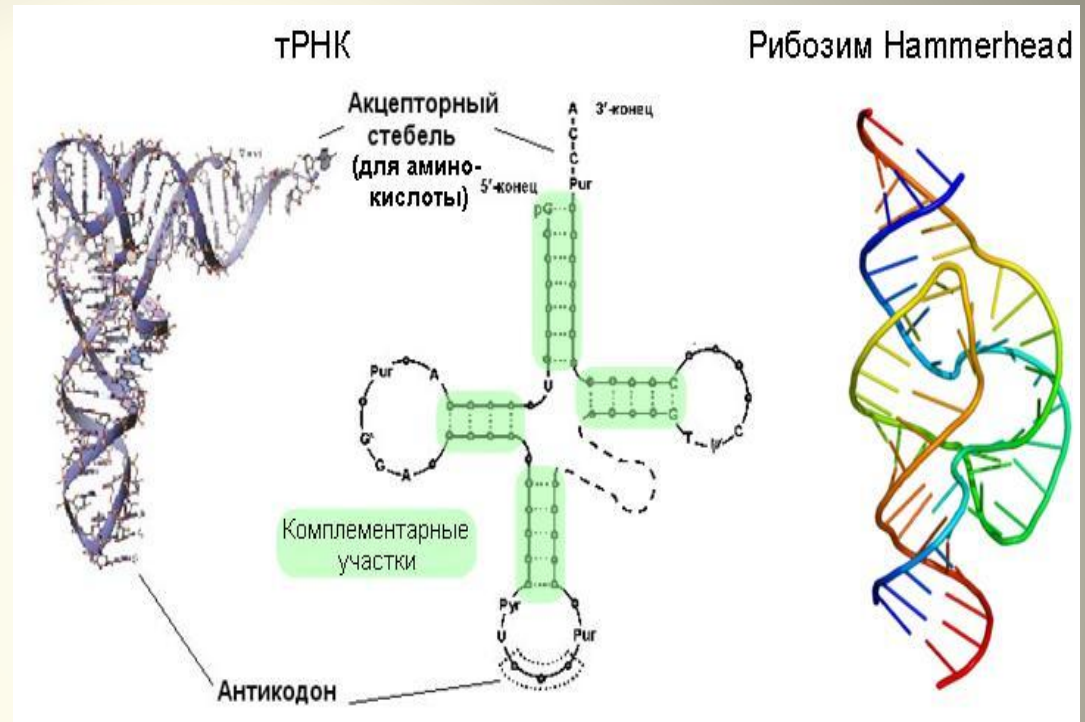
Малую (40S) субъединицу образуют белки и 18S-рРНК, большую (60S) – белки и 5S-, 5,8S-, 28S-рРНК.

ТРАНСПОРТНЫЕ РНК (тРНК)

Транспортные РНК (тРНК) бактерий и эукариот включают 73-93 нуклеотида. Они переносят аминокислоты из цитозоля к рибосомам.

На 5'-конце тРНК находится гуаниловый нуклеотид, на 3'-конце – триплет Ц-Ц-А.

Вторичная структура тРНК напоминает клеверный лист, а третичная – латинскую букву L.



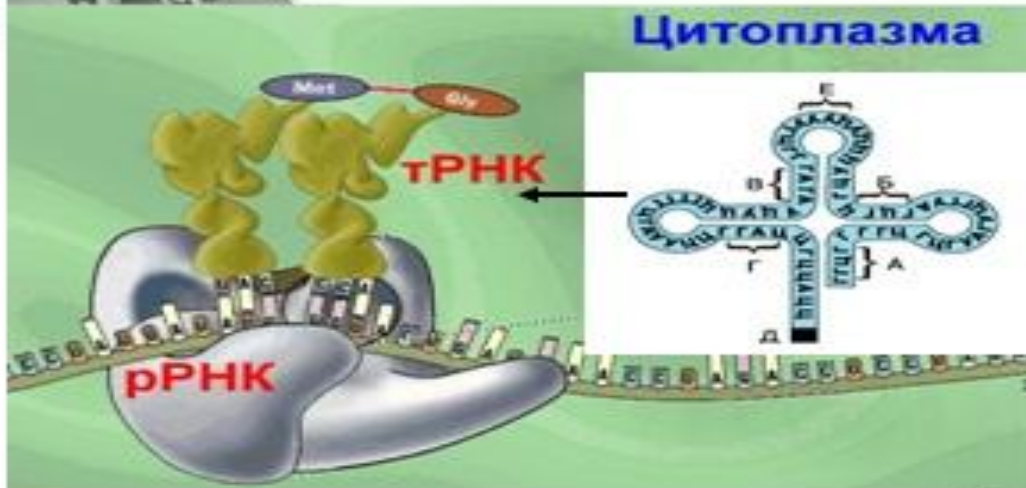
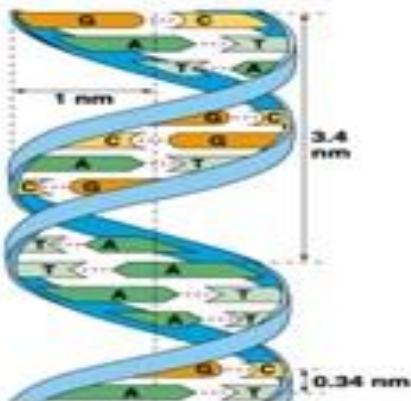
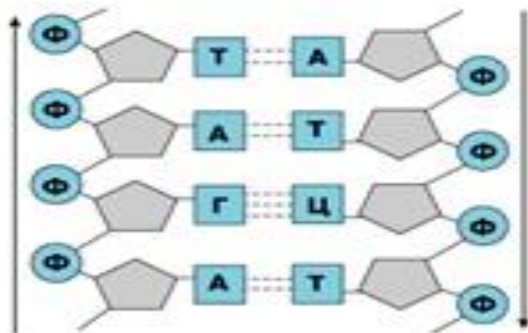
В "клеверном листе" выделяют четыре участка (или ветви, петли), каждый из которых имеет собственную функцию:

- антикодонавый – соединяется с кодоном матричной РНК в рибосоме,
- псевдоуридиловый – отвечает за связывание с рибосомой,
- дигидроуридиловый – отвечает за связывание с аминоацил-тРНК-синтазой,
- акцепторный – связывает переносимую аминокислоту.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДНК И РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ РНК

ДНК

СТРУКТУРЫ ДНК И РНК



РЕПЛИКАЦИЯ

В организме постоянно происходит деление клеток.

Каждая соматическая клетка получает диплоидный набор хромосом.

Делению клетки предшествует удвоение ДНК.

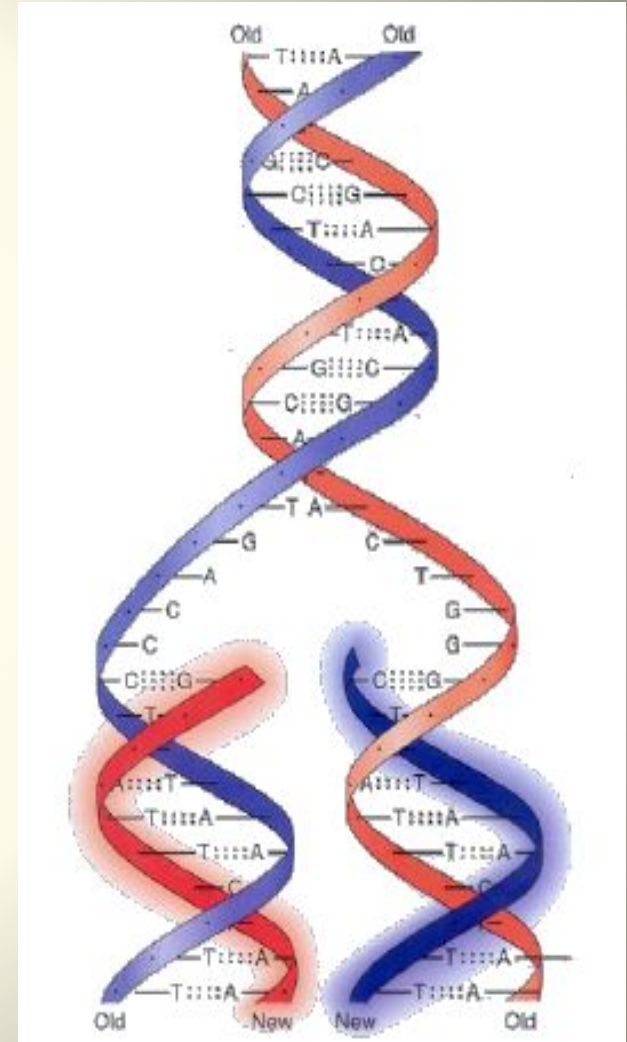
Синтез ДНК происходит не беспорядочно, а в строго определенный период жизни клетки. Всего выделяют 4 фазы клеточного цикла: митоз (М), синтетическую (S), пресинтетическую (G1, от англ. gap – интервал), постсинтетическую (G2).

Важное участие в регуляции смены фаз клеточного цикла занимают белки циклины. По функции циклины – это активаторные субъединицы ферментов циклин-зависимых киназ.

Синтез (репликация, удвоение) ДНК происходит в S-фазу клеточного цикла, когда клетка готовится к делению. Мэтью Мезельсон и Франклин Сталь в 1957г установили, что репликация осуществляется

полуконсервативным способом, т.е. на каждой нити материнской ДНК синтезируется дочерняя копия.

Образовавшиеся молекулы ДНК будут иметь в своем составе одну дочернюю и одну материнскую цепь.



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

ЭЛОНГАЦИЯ

Включает в себя процесс образования новых цепей. Синтез идет в направлении 5'-3'. Осуществляется под действием ДНК-полимераз.

1) **ДНК-полимераза α** присоединяется к участку на раскрученной цепи ДНК в репликативной вилке и синтезирует небольшой фрагмент РНК (**праймер**) из 8 – 10 нуклеотидов и участок ДНК из 50 нуклеотидов

2) Затем **ДНК-полимераза δ** продолжает наращивать цепь ДНК

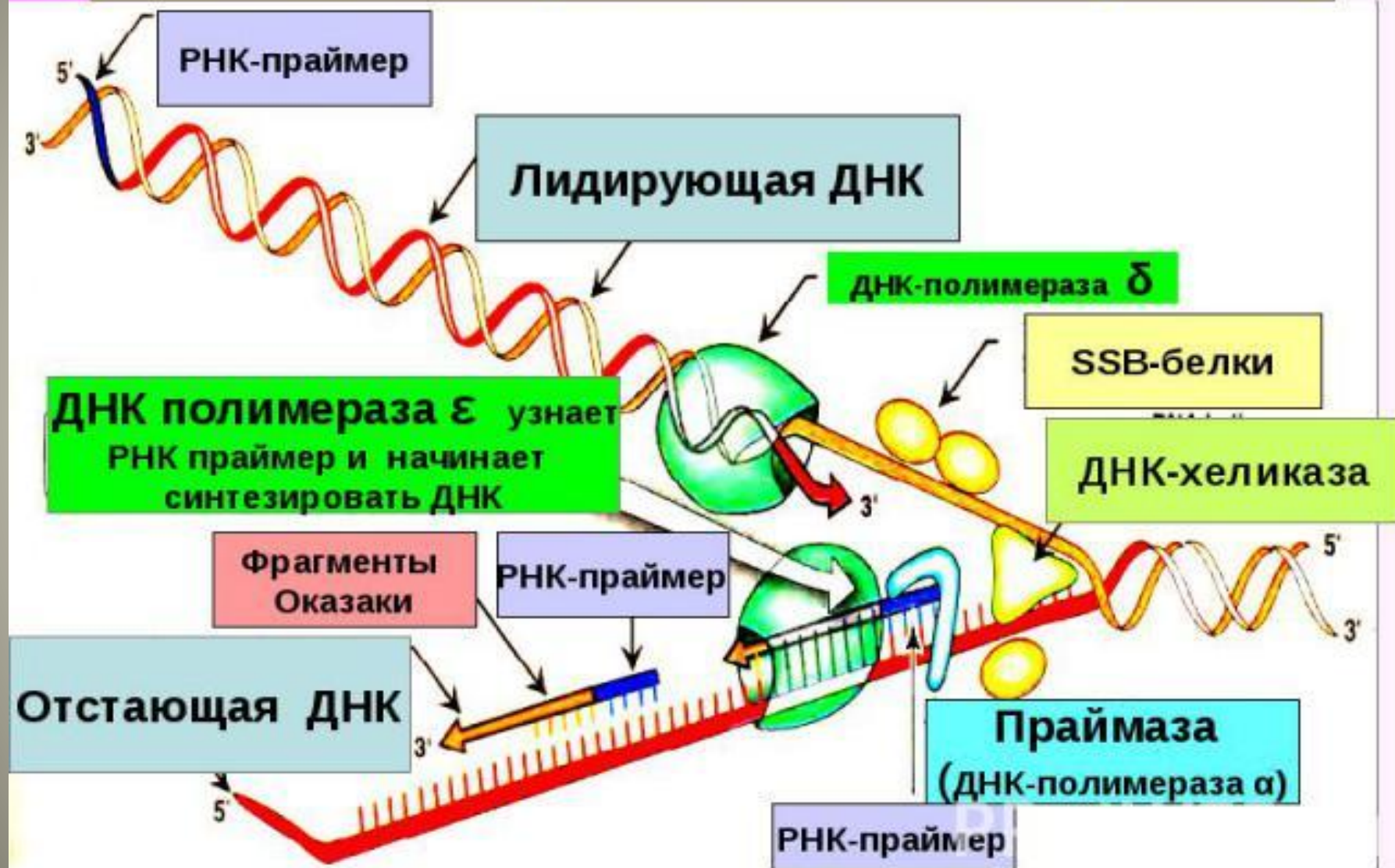
3) **ДНК-полимераза ϵ** достраивает праймеры РНК до их встречи друг с другом (работает только на отстающей цепи)

4) **ДНК-полимераза β** удаляет постепенно РНК праймеры и заполняет образовавшуюся брешь комплементарными дезоксирибонуклеотидами

5) **ДНК-лигаза** «сшивает» фрагменты цепи с формированием фосфодиэфирных связей

Все репликация ДНК занимает примерно 9 часов

ЭЛОНГАЦИЯ РЕПЛИКАЦИИ.



В каждой репликативной вилке одновременно синтезируется 2 дочерние цепи. В одной направление синтеза совпадает с направлением движения вилки (это лидирующая цепь), на другой – нет (отстающая цепь). Синтез на лидирующей цепи идет непрерывно, на отстающей – отдельными короткими фрагментами (**фрагменты Оказаки**). Каждый фрагмент Оказаки содержит праймер (удаляется и заполняется ДНК-полимеразой β).

Т.к. ДНК – очень крупная структура, инициация репликации происходит одновременно в нескольких участках (**ориджины репликации**). Участок ДНК между двумя ориджинами называется **репликоном**.



Благодарю за внимание!