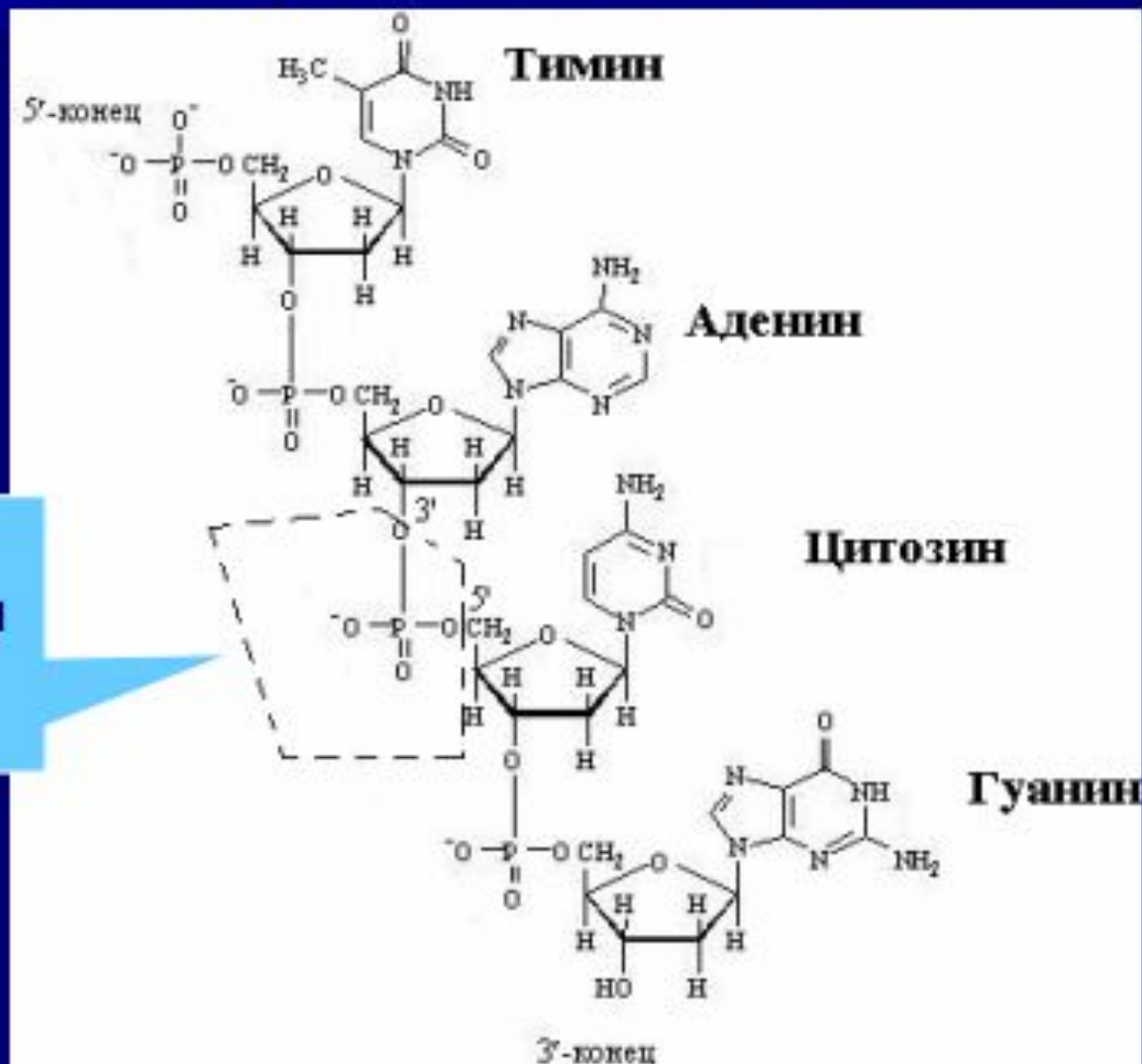


*Нуклеиновые кислоты и синтез  
белка*

# ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА ДНК

3' – 5' –  
фосфодиэфирная  
связь

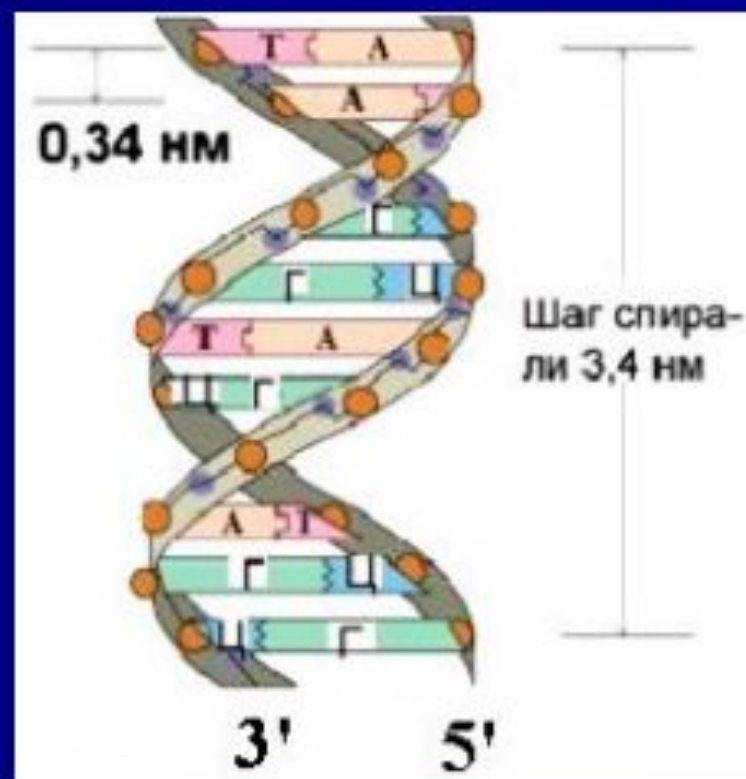


# Вторичная структура ДНК

## Двойная спираль

Принципы построения:

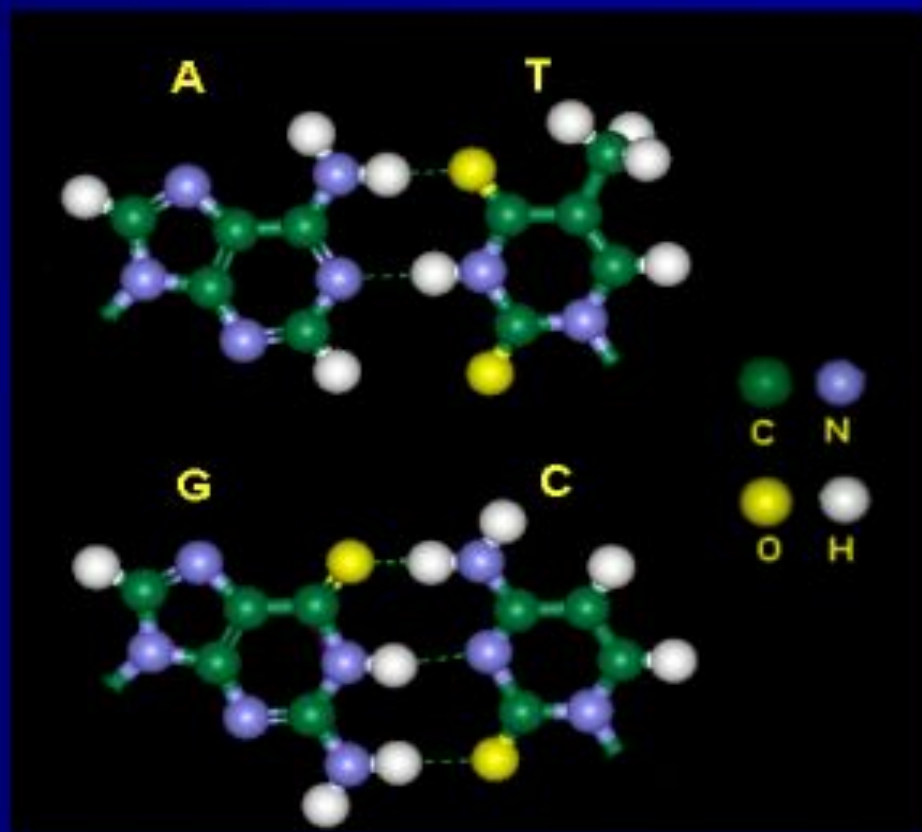
- Комплементарность
- Антипараллельность



# Вторичная структура ДНК

Силы, стабилизирующие двойную спираль:

- Водородные
- Гидрофобные





## Третьичная структура ДНК

- формируется только в связи с белками



Белки, входящие в состав нуклеопротеинов:

**А. Гистоновые:** богаты АРГ и ЛИЗ, имеют «+» заряд (основные). Связь с ДНК – ионная.

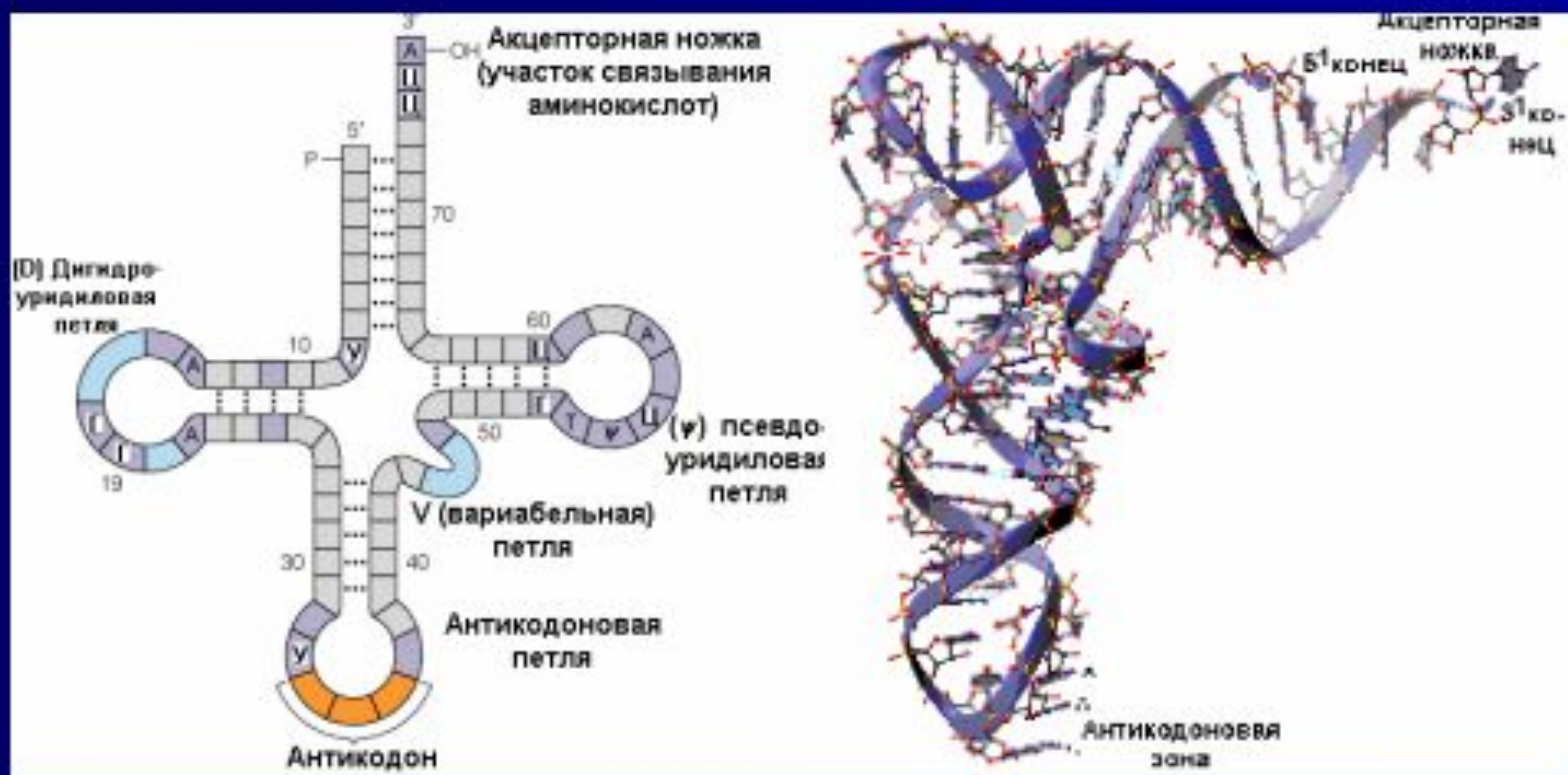
5 классов гистонов – H1, H2A, H2B, H3, H4

# Структура и функции РНК (отличия от ДНК)

- Азотистые основания                    А У Г Ц
- Сахар    рибоза
- Присутствуют **МИНОРНЫЕ** азотистые основания и нуклеозиды (псевдоуридин, дигидроуридин, риботимидин)
- Размер молекулы
- Разновидности                            рРНК, тРНК, иРНК, гяРНК, мяРНК
- одноцепочечная
- Локализация
- Функции

# тРНК

## вторичная и третичная структура





# Центральная догма молекулярной биологии



- Хромосомы представляют собой большие молекулы ДНК, содержащие сотни и тысячи различных генов, т.е. участков, в которых записана информация о структуре белков, тРНК, рРНК (транскрипционные единицы), а также регуляторные участки.
- Информация о структуре белков записана в виде последовательности нуклеотидов с использованием триплетного принципа кодирования.
- Генетическая информация передается в направлении:  
ДНК→РНК→БЕЛОК



# Этапы синтеза белка

- **Ядерный этап**

- Репликация ДНК,
- Транскрипция,
- Посттранскрипционный процессинг

- **Цитозольный этап (трансляция)**

- Рекогниция,
- Рибосомальный цикл,
- Посттрансляционный процессинг

# Что нужно для репликации ДНК?

- Сигнал
- Субстраты
- Матрица
- Праймер
- Ферменты
- SSB-белки

# Субстраты

Дезоксирибонуклеозидтрифосфаты:

- dATФ
- dГТФ
- dЦТФ
- dTТФ

# Матрица

В процессе репликации молекула ДНК расплетается, и каждая из ее цепей служит матрицей для синтеза новой полинуклеотидной цепи (полуконсервативный тип репликации)



# Праймер

Это короткий РНК/ДНК-фрагмент (~ 10-60 нуклеотидов), синтезируемый особым ферментом (праймазой).

Праймер служит местом узнавания и стартовой точкой для ДНК-полимеразы

# Ферменты репликации

- топоизомераза,
- хеликаза,
- праймаза,
- ДНК-полимераза,
- ДНК-лигаза.

# Репликационная вилка

Лидирующая цепь

Белки, удерживающие ДНК в расплетенном состоянии

ДНК-полимераза

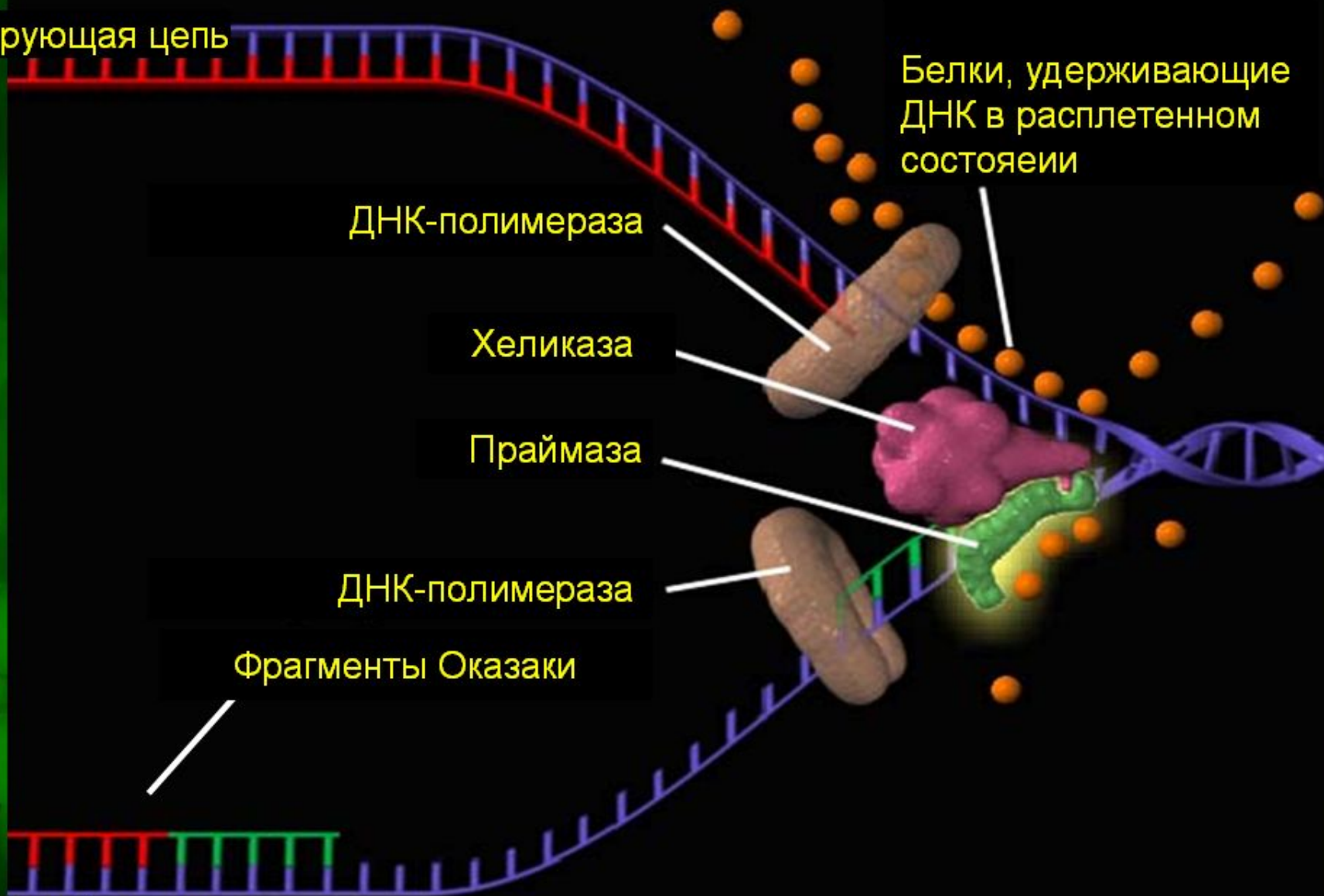
Хеликаза

Праймаза

ДНК-полимераза

Фрагменты Оказаки

Отстающая цепь



## Антибиотики - ингибиторы репликации

<b>Антибиотики, ингибиторы репликации</b>	<b>Механизм действия</b>
<b>Дауномицин Доксорубицин</b>	Внедряются между парами оснований ДНК и нарушают репликацию и транскрипцию
<b>Мелфалан</b>	Алкилирует ДНК и нарушает репликацию
<b>Номермицин Новобиоцин</b>	Ингибируют ДНК-топоизомеразу, ответственную за суперспирализацию ДНК



# Транскрипция



Это процесс синтеза РНК на матрице ДНК, происходящий в 3 стадии:  
инициация,  
элонгация,  
терминация.

# Инициация транскрипции



Сигналом для начала транскрипции в эукариотической клетке служит действие гормонов, цитокинов или других регуляторных молекул, активирующих экспрессию определенных генов ДНК.

Транскрипция начинается с присоединения фермента ДНК-зависимой РНК-полимеразы к промотору, т.е. участку ДНК, узнаваемому одним из центров этого фермента

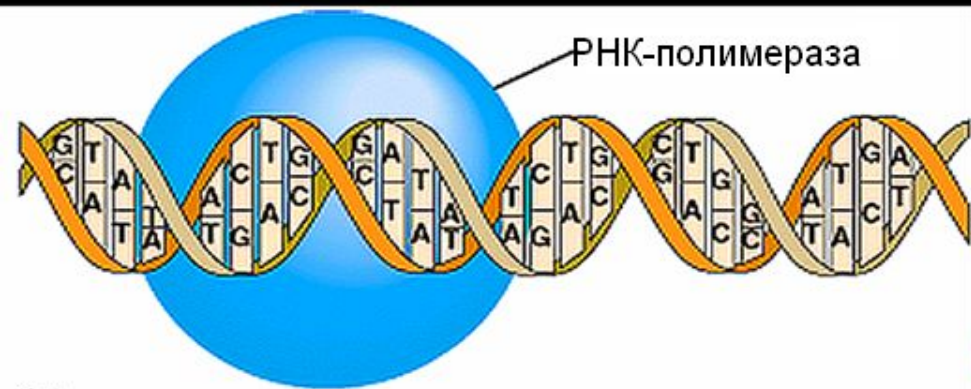
# Элонгация транскрипции



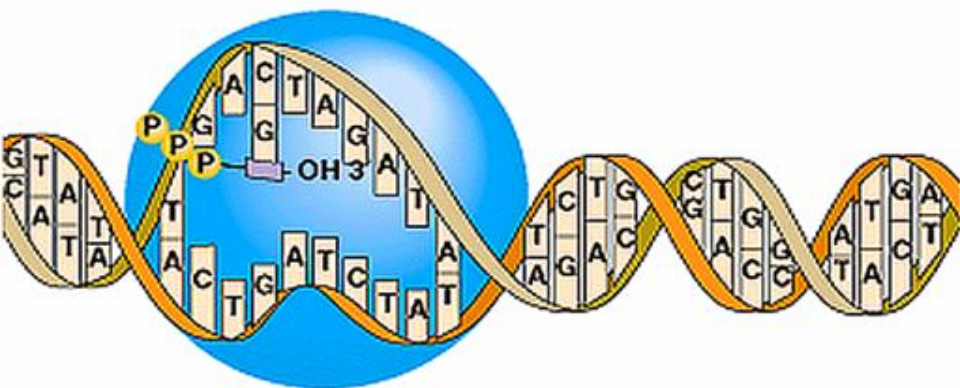
Для элонгации транскрипции необходимы:

- матрица (ген ДНК),
- субстраты (АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ),
- фермент (ДНК-зависимая РНК-полимераза)

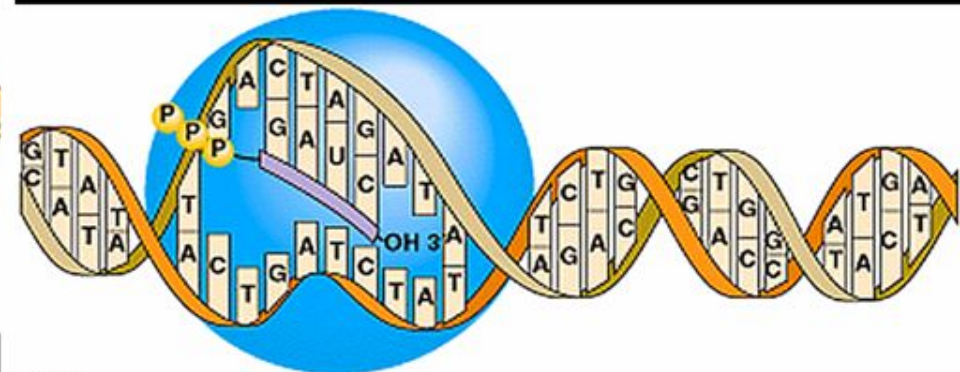
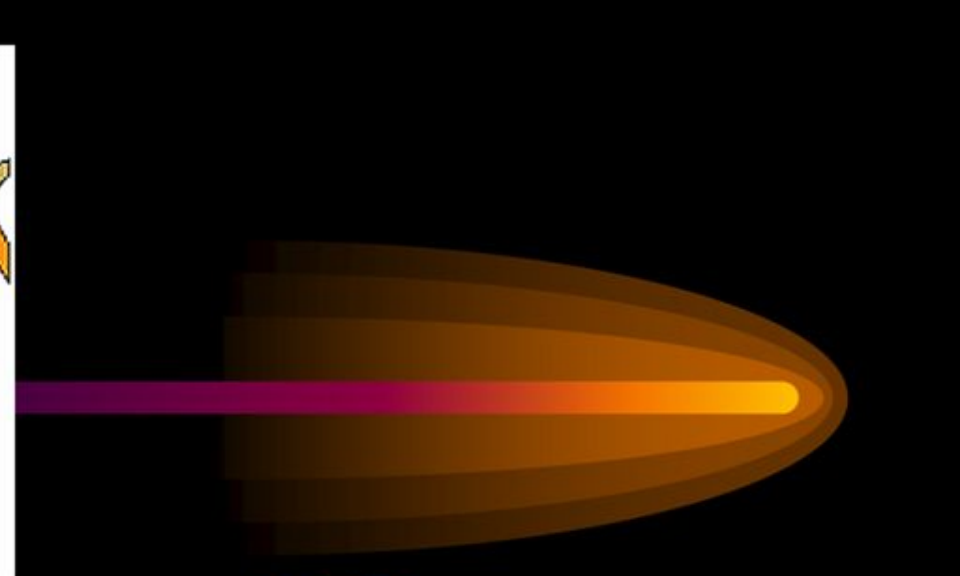
РНК-полимераза



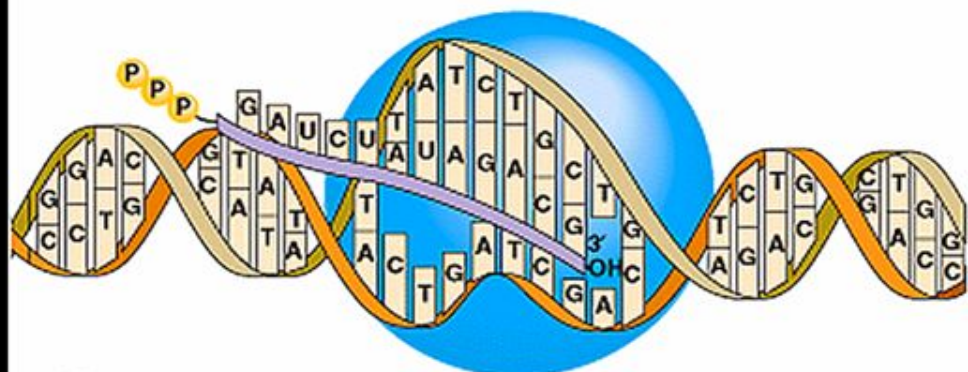
(a)



(b)



(c)



(d)



# Терминация

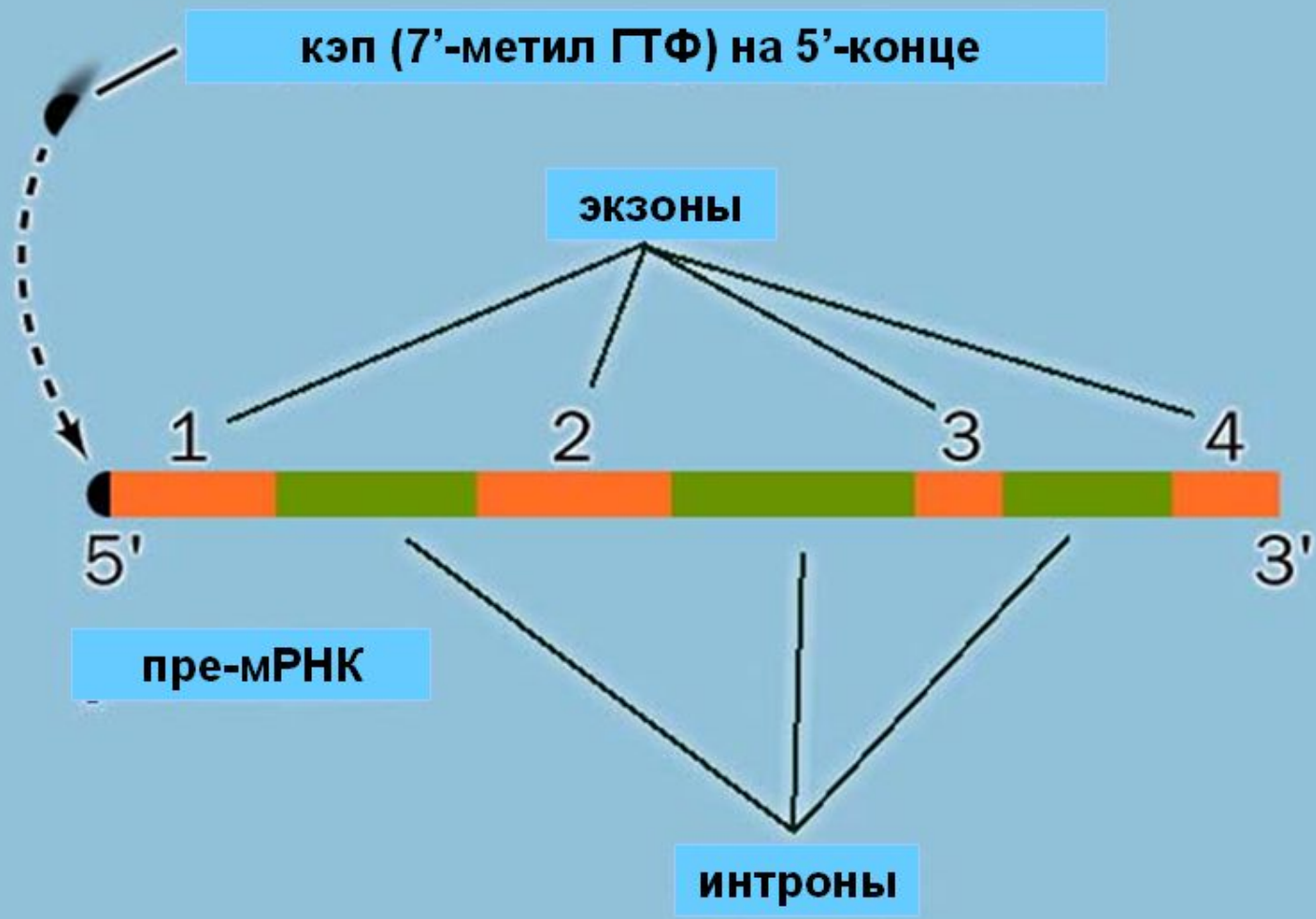


Процесс элонгации продолжается до тех пор, пока РНК-полимераза не дойдет до определенной нуклеотидной последовательности матрицы, называемой **терминатором**. Дальнейшая транскрипция прекращается, и при участии особого **фактора терминации** продукт транскрипции (гетерогенная ядерная РНК, первичный транскрипт) отделяется от матрицы.

# *Посттранскрипционный процессинг пре-мРНК*

Эта стадия включает в себя следующие события:

- кэпирование 5'-конца,
- полиаденилирование 3'-конца
- удаление интронов,
- соединение экзонов (сплайсинг),
- образование комплекса с транспортными белками (информосомы)



# Антибиотики - ингибиторы транскрипции

<b>Антибиотики</b>	<b>Механизм действия</b>
<b>Ингибиторы транскрипции</b>	
<b>Рифамицины</b>	<b>Связываются с бактериальной РНК-полимеразой и препятствуют началу транскрипции</b>



## Цитозольный этап (трансляция)

На этом этапе генетическая информация переводится с нуклеотидного языка на аминокислотный, т.е. осуществляется непосредственный синтез белка на рибосомах с использованием генетического кода.

# Свойства генетического кода:

- триплетность,
- специфичность,
- вырожденность,
- однонаправленность,
- неперекрываемость,
- непрерывность,
- универсальность

# Компоненты белоксинтезирующей системы

Необходимые компоненты	Функции
1. Аминокислоты	Субстраты для синтеза белков
2. тРНК	тРНК выполняют функцию адаптеров. Они акцепторным концом взаимодействуют с аминокислотами, а антикодоном - с кодоном мРНК.
3. Аминоацил-тРНК синтетазы	Каждая aa-тРНК-синтетаза катализирует реакцию специфического связывания одной из 20 аминокислот с соответствующей тРНК
4. мРНК	Матрица содержит линейную последовательность кодонов, определяющих первичную структуру белков
5. Рибосомы	Рибонуклеопротеиновые субклеточные структуры, являющиеся местом синтеза белков
6. АТФ, ГТФ	Источники энергии
7. Белковые факторы инициации, элонгации, терминации	Специфические вне ribосомные белки, необходимые для процесса трансляции (12 факторов инициации: eIF; 2 фактора элонгации: eEF1, eEF2, и факторы терминации: eRF)
8. Ионы магния	Кофактор, стабилизирующий структуру рибосом

*Стадия рекогнициии  
(«узнавание» аминокислот,  
их активация и образование  
комплексов аминокцил-тРНК)*

# *Рибосомальный цикл:*

*-инициация,*

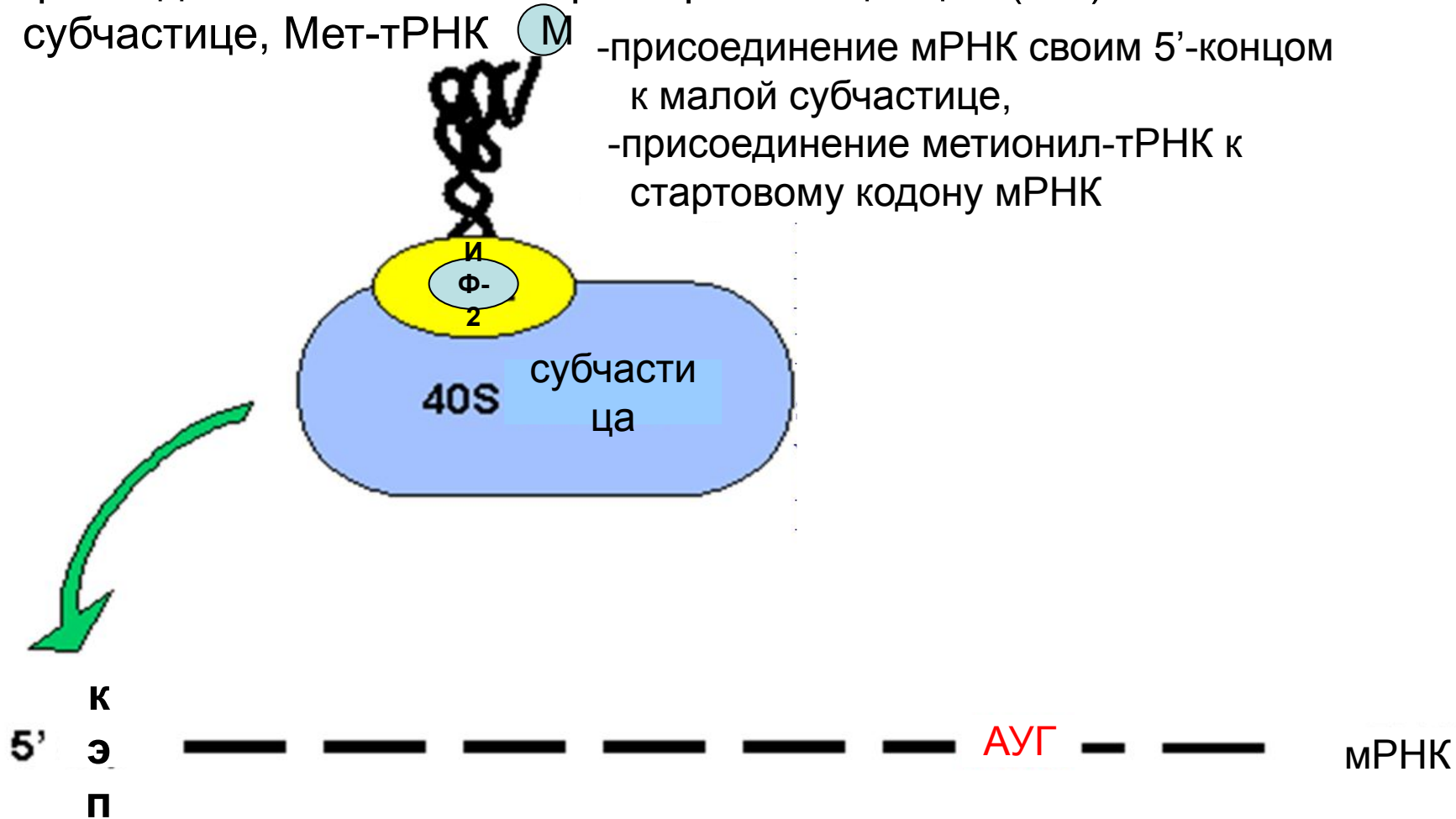
*-элонгация,*

*-терминация*

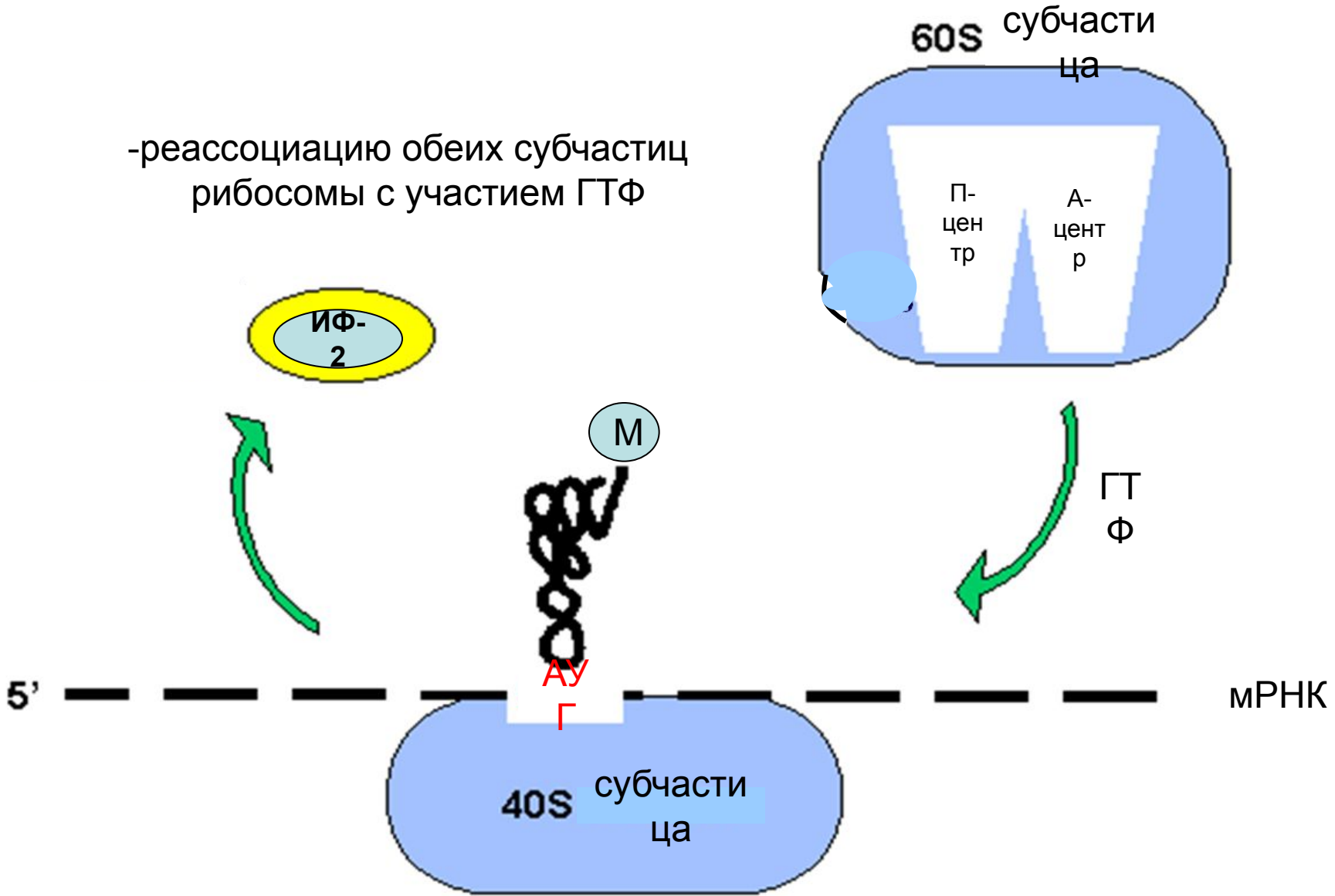


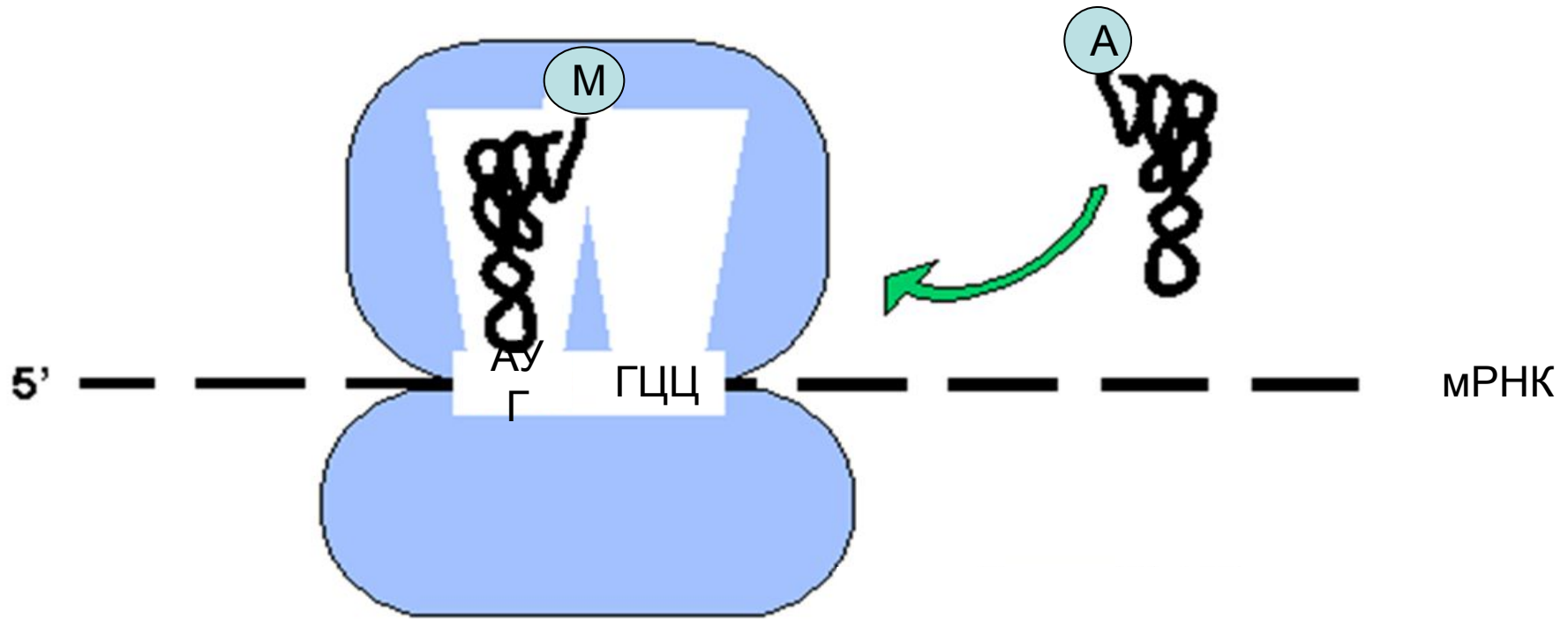
# Инициация рибосомального цикла включает:

- диссоциацию рибосом на малую и большую субчастицы,
- присоединение белковых факторов инициации (ИФ) к малой субчастице, Мет-тРНК **М** -присоединение мРНК своим 5'-концом к малой субчастице,
- присоединение метионил-тРНК к стартовому кодону мРНК



-реассоциацию обеих субчастиц рибосомы с участием ГТФ

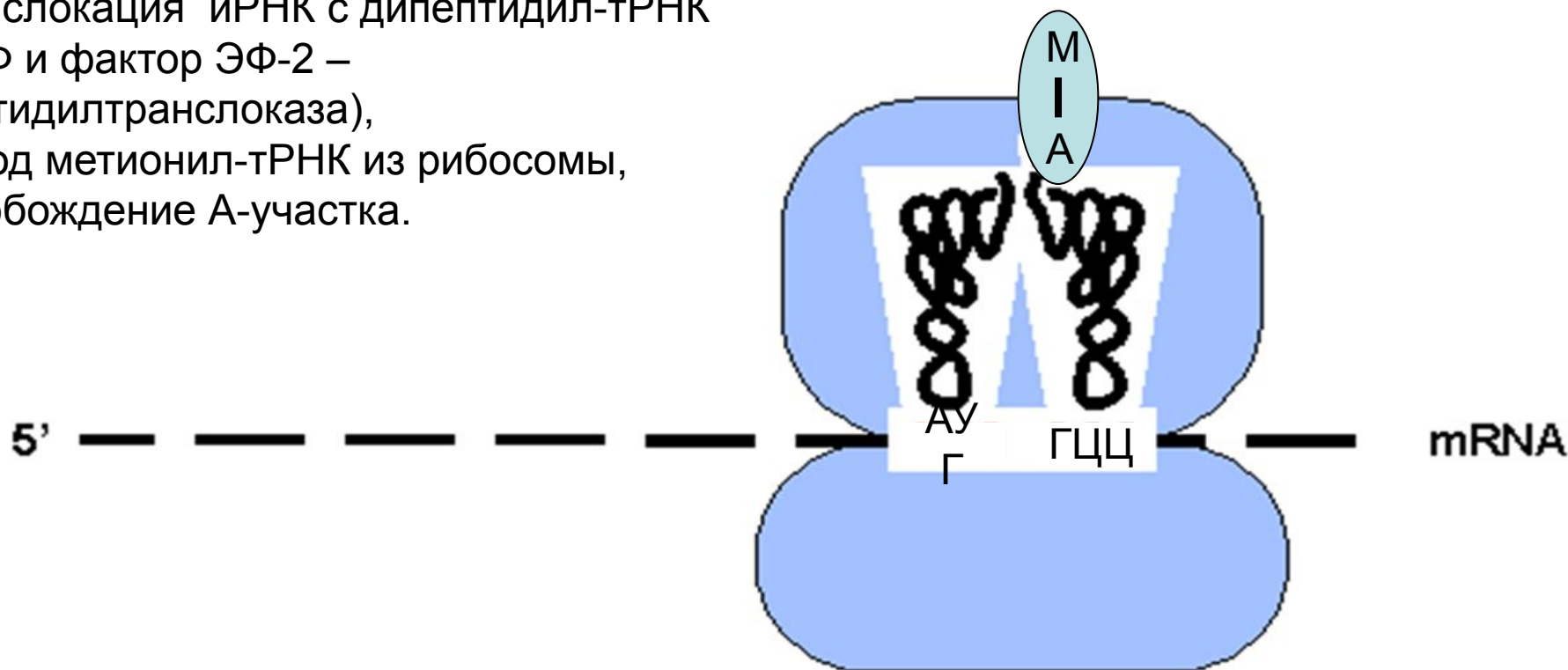




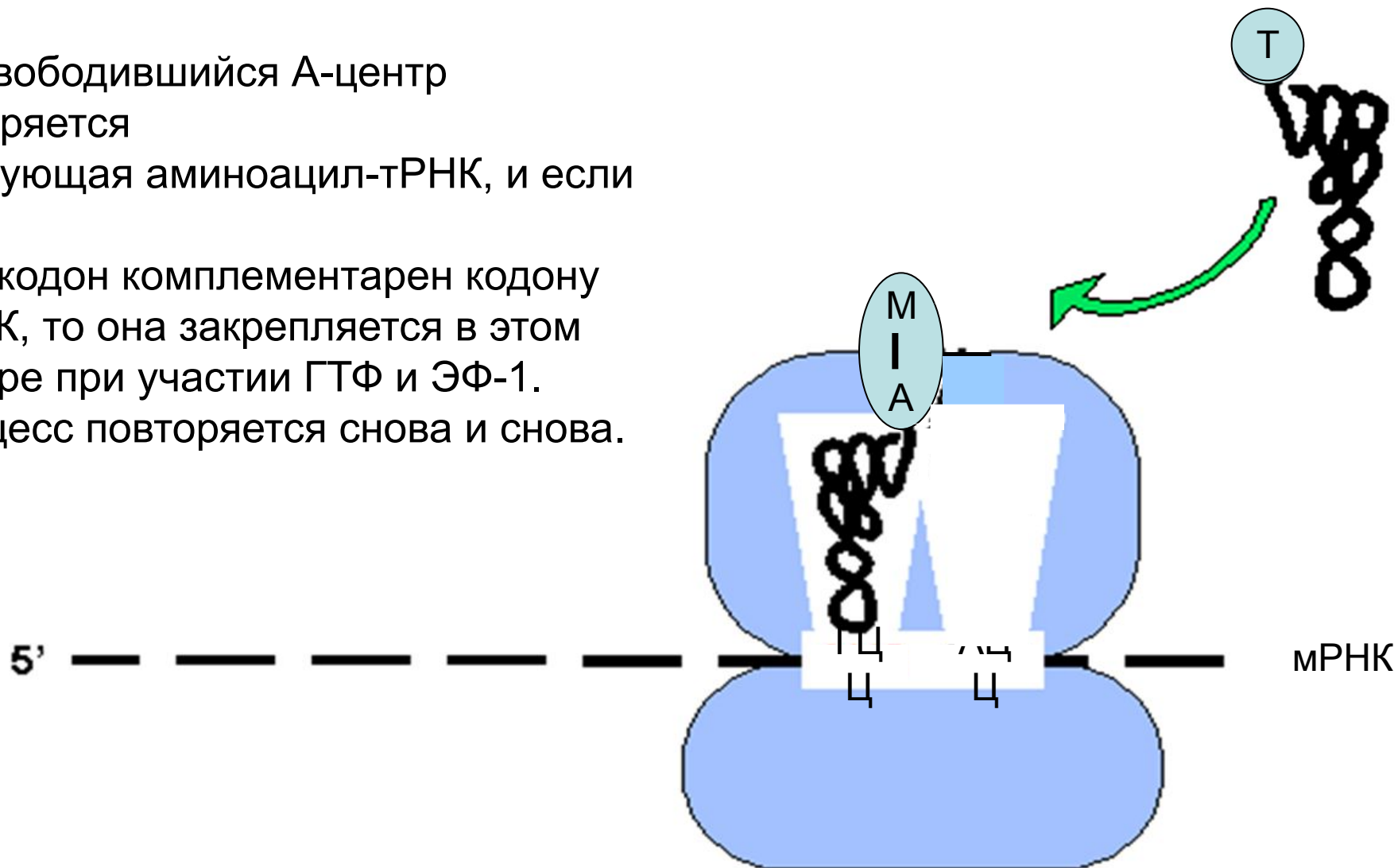
Инициация завершена. Аминоацильный центр готов принять следующую аминоксил-тРНК

# Элонгация:

- \* комплекс ак-тРНК поступает в А-участок рибосомы,
- \* Ак-тРНК соединяется с ЭФ-1 и ГТФ,
- \* происходит гидролиз ГТФ и ЭФ-1 покидает рибосому,
- \* пространственное сближение СОО- и NH<sub>3</sub><sup>+</sup>-групп,
- \* образование пептидной связи  
(фермент пептидилтрансфераза - рибозим),
- \* транслокация иРНК с дипептидил-тРНК  
(ГТФ и фактор ЭФ-2 – пептидилтрансфераза),
- \* выход метионил-тРНК из рибосомы,
- \* освобождение А-участка.

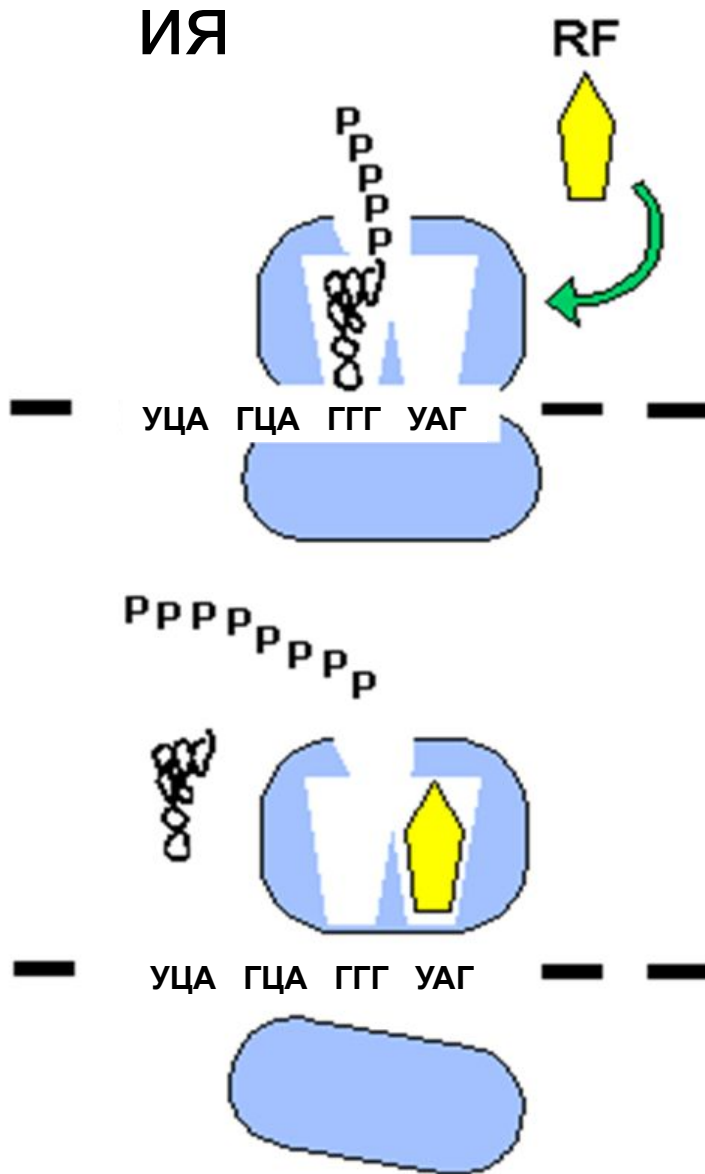


В освободившийся А-центр внедряется следующая аминоацил-тРНК, и если ее антикодон комплементарен кодону мРНК, то она закрепляется в этом центре при участии ГТФ и ЭФ-1. Процесс повторяется снова и снова.





# Терминац

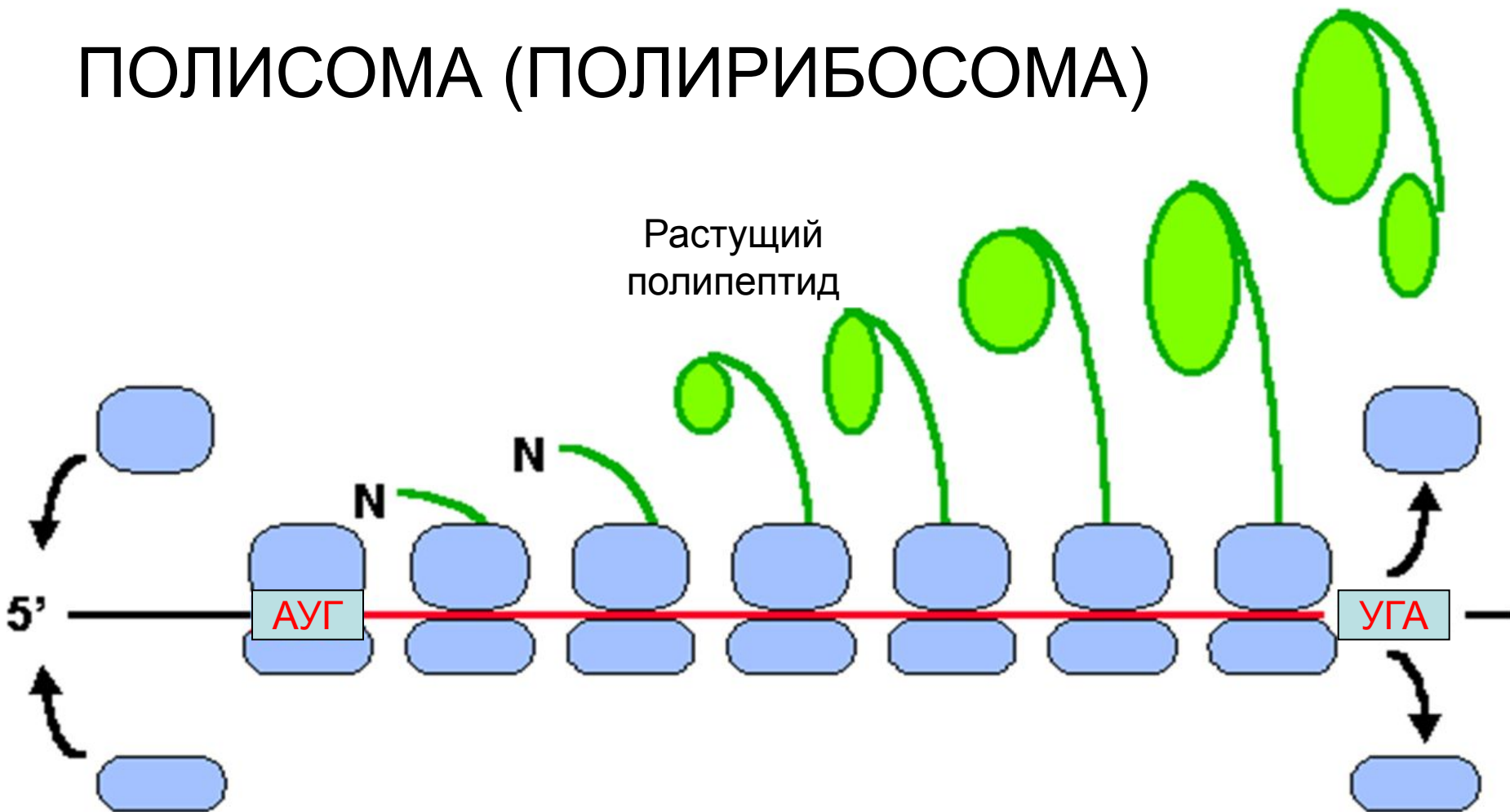


Элонгация продолжается до тех пор, пока в А-центре не появится один из нонсенс-кодонов (УАГ, УАА, УГА). Далее белковый фактор освобождения (RF) блокирует А-центр и гидролизует связь между тРНК и пептидной цепью. Рибосома вновь диссоциирует.

## Особенности рибосомального цикла

- В стадии инициации рибосомального цикла мРНК присоединяется к малой субчастице своим 5'-концом
- Для реассоциации рибосомы и начала сборки полипептидной цепи требуется энергия в форме ГТФ, а также несколько белковых факторов инициации
- В стадии элонгации также требуется энергия 2 молекул ГТФ на каждую вновь создаваемую пептидную связь, а также ряд элонгационных факторов, часть из которых является белковыми ферментами, а часть – рибозимами
- Одна и та же молекула мРНК может быть использована для трансляции одновременно несколькими рибосомами. Такая молекулярная конструкция называется полирибосомой (полисомой)

# ПОЛИСОМА (ПОЛИРИБОСОМА)



# Антибиотики - ингибиторы трансляции

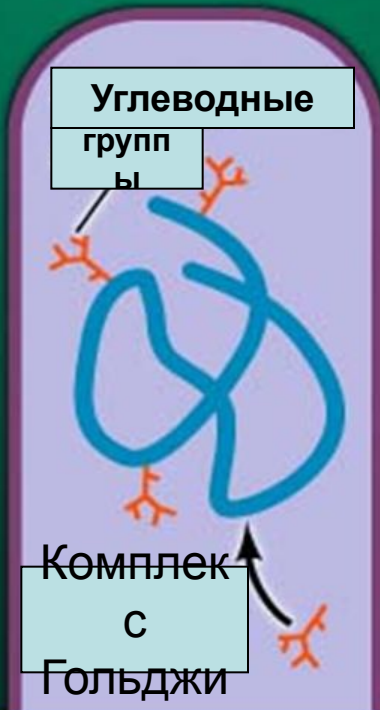
<b>Антибиотики</b>	<b>Механизм действия</b>
<b>Ингибиторы трансляции</b>	
<b>Тетрациклины</b>	<b>Ингибируют элонгацию: связываются с 30S субъединицей рибосомы и блокируют присоединение aa-тРНК в А-центр</b>
<b>Левомецетин</b>	<b>Присоединяется к 50S субъединице рибосомы и ингибирует пептидилтрансферазную активность</b>
<b>Эритромицин</b>	<b>Присоединяется к 50S субъединице рибосомы и ингибирует транслокацию</b>
<b>Стрептомицин</b>	<b>Ингибирует инициацию трансляции. Связывается с 30S субъединицей рибосомы, вызывает ошибки в прочтении информации, закодированной в мРНК</b>

# Посттрансляционный процессинг

Удаление сигнального пептида с N-конца



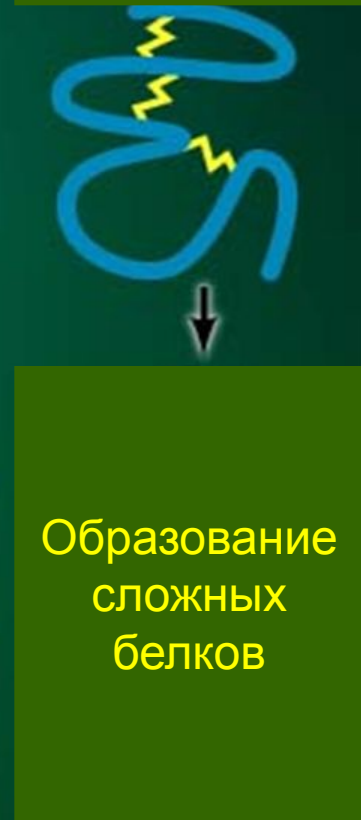
Химическая модификация (фосфорилирование, гликозилирование, гидроксилирование, АДФ-рибозилирование и т. д.)



Ограниченный протеолиз



Фолдинг (шапероны)





**Нативная структура**- функционально активная конформация белка, определяющая его специфическую функцию.

**ФОЛДИНГ**- процесс сворачивания полипептидной цепи в правильную пространственную структуру, т.е. формирования нативной структуры белка.

## ОСУЩЕСТВЛЕНИЕ ФОЛДИНГА



**ФОЛДАЗЫ**- ферменты, катализирующие сборку полипептидной цепи путем образования ковалентных промежуточных комплексов  
(протеиндисульфидизомеразы, пептидилпролил-цис-транс-изомеразы)



**ШАПЕРОНЫ**- вспомогательные специализированные белки, обеспечивающие фолдинг, рефолдинг и предотвращение реагрегации неправильно свернутых или частично развернутых белков, разрушение белковых агрегатов

**Hsp 100**- М от **100** до **110** кДа

**Hsp 90**- М от **83** до **90** кДа

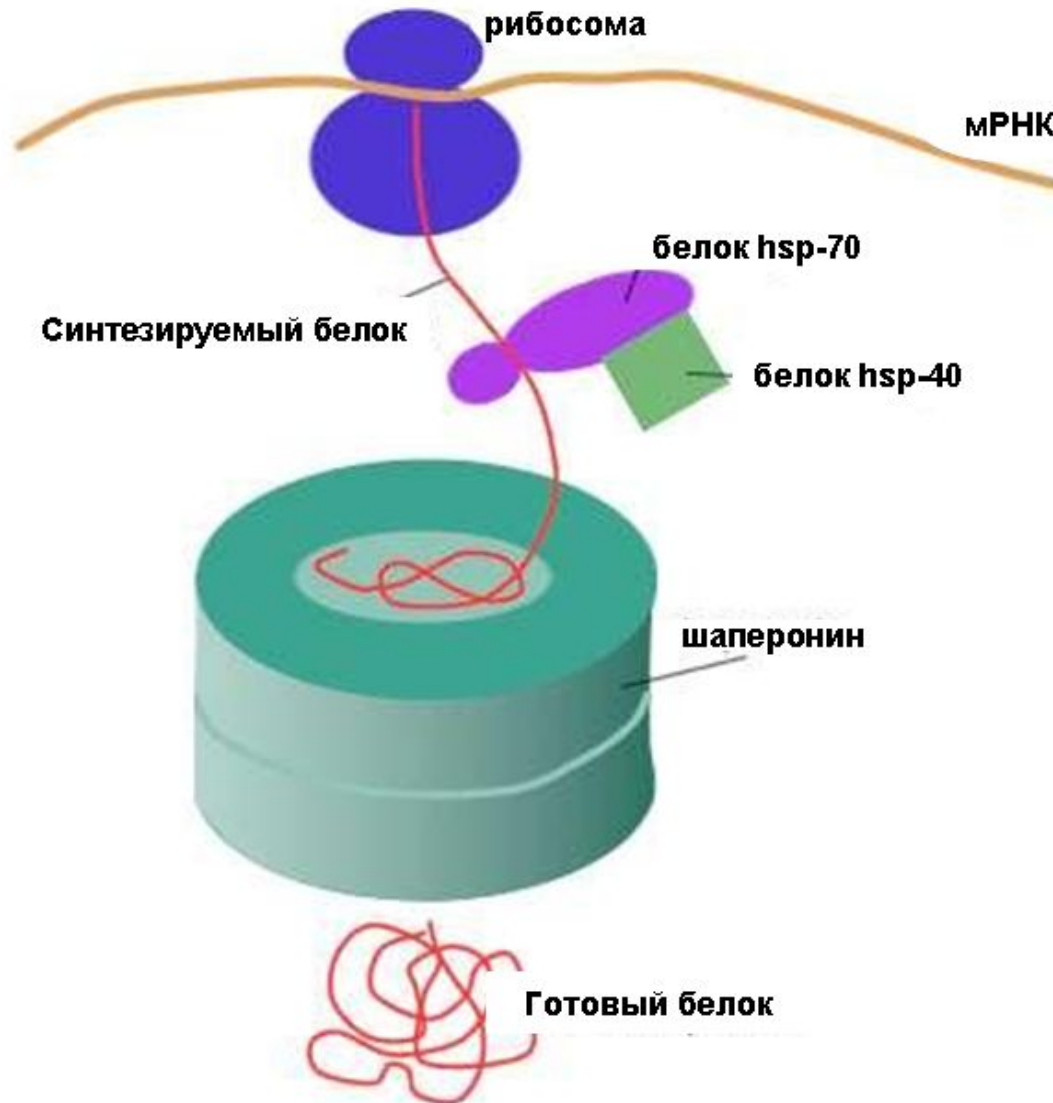
**Hsp 70**- М от **66** до **78** кДа

**Hsp 60**

**Hsp 40**

низкомолекулярные шапероны- М от **15** до **30** кДа

# Фолдинг белка



Carel and Lomas (1997) ввели термин **«конформационные болезни»** (“conformational diseases”), чтобы объединить те болезни, при которых нарушается **Нормальная** (нативная) конформация определенных белков, в результате чего они становятся неспособными осуществлять свои функции и откладываются в тканях в виде амилоидных телец.

**В конечном итоге наступает гибель клеток.**



# Причины нарушений нормальной конформации белков:

- Изменения первичной структуры белков (мутации)
- Аномальные посттрансляционные химические изменения белков с нормальной исходной конформацией
- Нарушение функций шаперонов
- Действие белков с нарушенной конформацией в качестве патологических шаперонов



<b>Болезнь</b>	<b>Белок</b>	<b>Сайт фолдинга</b>
<u>Гиперхолестеролемиия</u>	Рецептор ЛПНП	ЭПР
<u>Муковисцидоз</u>	Трансмембранный регулятор	ЭПР
<u>Фенилкетонурия</u>	<u>Фенилаланингидроксилаза</u>	<u>Цитозоль</u>
<u>Болезнь Хантингтона</u>	<u>Хантингтин</u>	<u>Цитозоль</u>
<u>Синдром Марфана</u>	<u>Фибриллин</u>	ЭПР
<u>Несовершенный остеогенез</u>	<u>Проколлаген</u>	ЭПР
<u>Серповидноклет. анемия</u>	<u>Гемоглобин</u>	<u>Цитозоль</u>
<u>Дефицит <math>\alpha</math>1-антитрипсина</u>	<u><math>\alpha</math>1-антитрипсин</u>	ЭПР
<u>Болезнь Тея-Сакса</u>	<u><math>\beta</math>-гексозаминидаза</u>	ЭПР
<u>Болезнь Альцгеймера</u>	<u><math>\beta</math>-амилоид, пресенилин, тау-белок</u>	ЭПР
<u>Прионовые болезни</u>	<u>Белок PrP<sup>c</sup></u>	ЭПР
<u>Семейные амилоидозы</u>	<u>транстиретин/лизоцим</u>	ЭПР
<u>Пигментный ретинит</u>	<u>родопсин</u>	ЭПР
<u>Катаракта</u>	<u>Кристаллины</u>	<u>Цитозоль</u>
<u>Рак</u>	<u>Белок P53</u>	<u>Цитозоль</u>





### Формы муковисцидоза:

преимущественно лёгочная форма;

преимущественно кишечная форма;

смешанная форма с одновременным поражением желудочно-кишечного тракта и органов дыхания;

мекониевая непроходимость кишечника;

атипичные и стертые формы