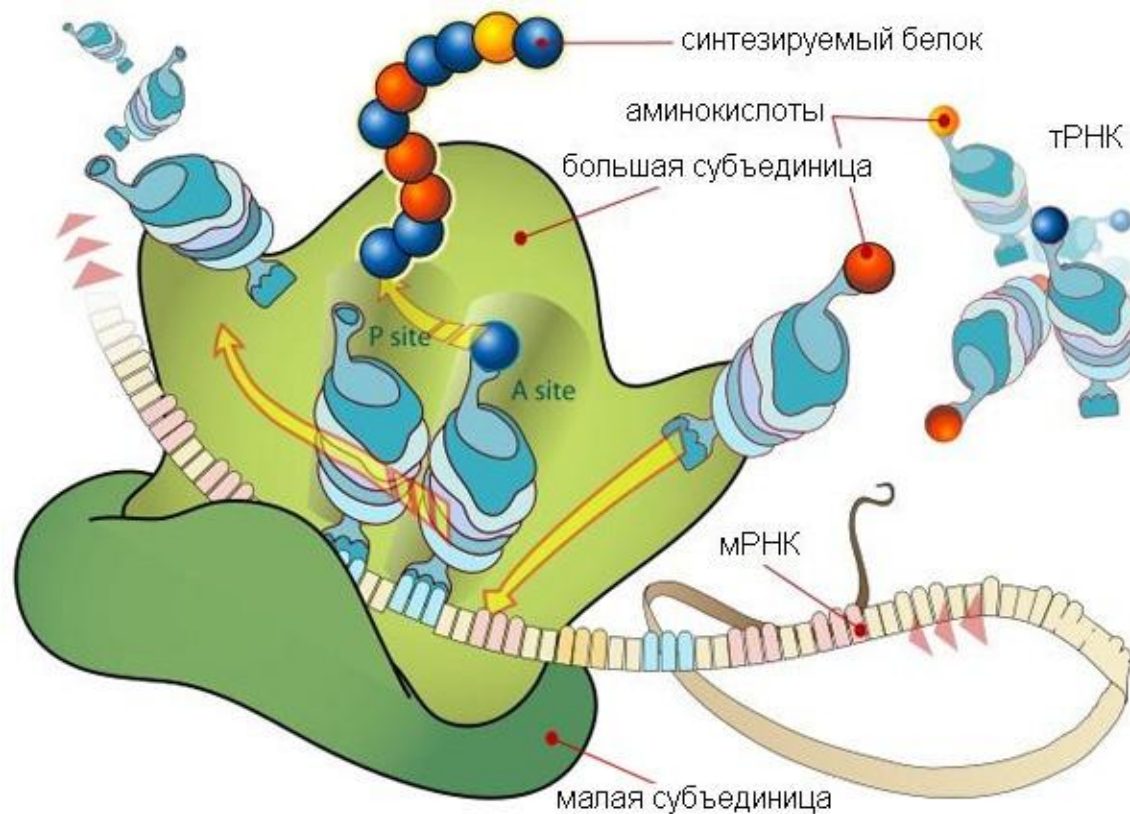


Лекция 2.

Реализация генетической информации у про- и эукариот.



План лекции.

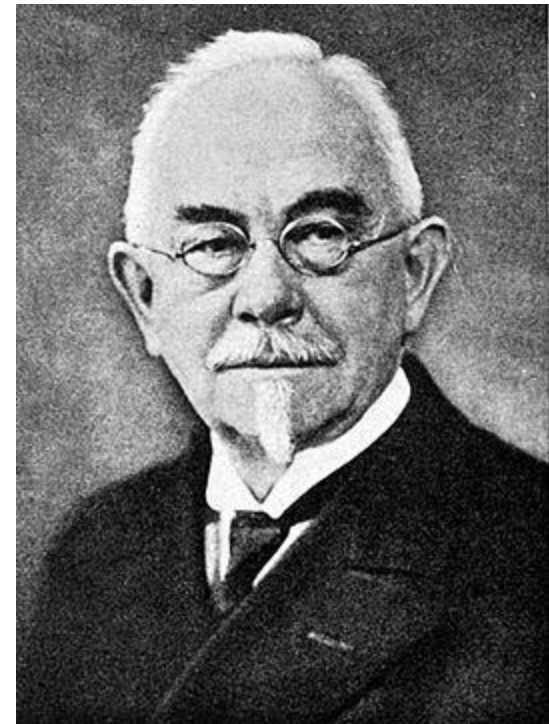
1. Ген, определение. Строение генов про- и эукариот.
2. Генетический код и его свойства.
3. Реализация генетической информации. Этапы синтеза белка.
4. Регуляция экспрессии генов у про- и эукариот.

Термин **ген** был предложен датчанином
Йогансеном в 1909 году.

Природа гена была не ясна, но
описывались свойства гена.

Вильгельм Людвиг Иогансен (дат.
Wilhelm Ludvig Johannsen; 1857—1927 —
датский биолог, профессор Института
физиологии растений Копенгагенского
университета, член шведской Академии
наук.

В 1903 году в работе «О наследовании в
популяциях и чистых линиях» ввел термин
«популяция». В 1909 году в работе
«Элементы точного учения
наследственности» ввёл термины: «ген»,
«генотип» и «фенотип».



Итак, свойства гена:

(не путаем со свойствами генетического кода!)

- **Дискретность** - имеет определенный размер и позицию на хромосоме – локус.
- **Лабильность** - может мутировать.
- **Стабильность** - мутирует редко.
- **Специфичность** - ген кодирует определенный признак (белок или нкРНК, как знаем мы теперь)
- **Аллельность** - в результате мутаций возникают варианты гена – аллели.
- **Плейотропность** - множественность действия гена (один ген отвечает за много признаков).
- **Дозированность действия** - чем больше копий (доз) гена в генотипе, тем сильнее эффект гена.
- **Способность** взаимодействовать с другими генами.

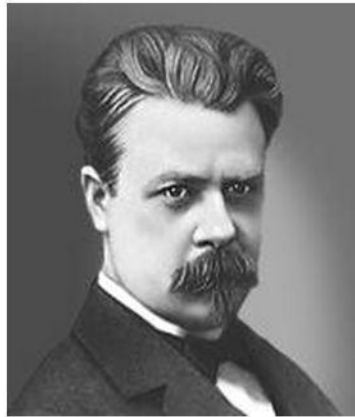


РНИМУ
имени Н.И. ПИРОГОВА

Н.К.Кольцов и идея матричного синтеза

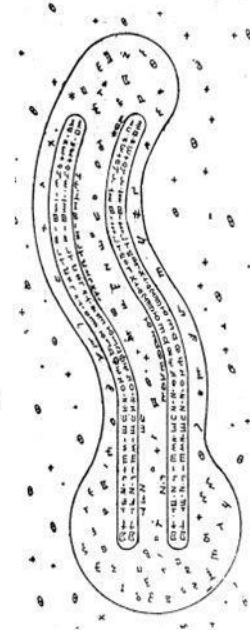
Кольцов полагал, что гены - белки

**Бывшее здание
Института
экспериментальной
биологии Н.К. Кольцова
в Москве на ул. Обуха**



Николай Константинович Кольцов
(1872-1940)

Впервые сформулировал идею
матричного синтеза



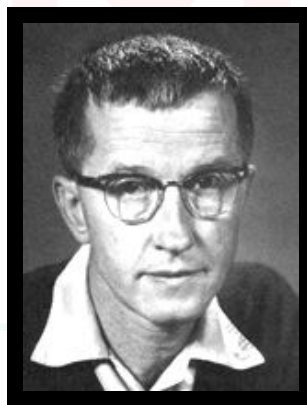
Белковая хромосома
в своей основе
представляет
молекулу или пучки
молекул с линейным
расположением в них
генов

Путь идеи: Кольцов → Тимофеев-Ресовский → Дельбрюк → Уотсон

Ученик Н.К.Кольцова Н.В.Тимофеев-Ресовский поехал работать в Германию, его семинары посещал молодой физик Макс Дельбрюк. После войны Дельбрюк переехал в США, где к нему в аспирантуру поступил юный орнитолог Дж. Уотсон. Об этом можно прочитать у **С.Э.Шноля**



Никола́й Влади́мирович Тимофе́ев-Ресо́вский (1900 – 1981) — биолог, генетик. Основные направления исследований: радиационная генетика, популяционная генетика, проблемы микроэволюции.



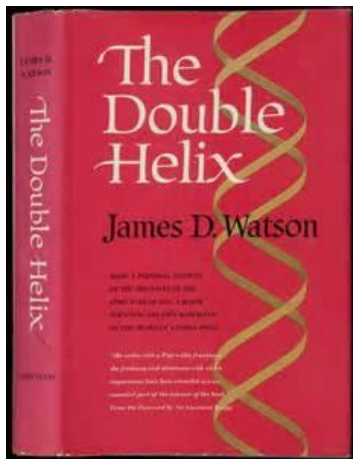
Макс Людвиг Хеннинг Дельбрюк (1906 – 1981) лауреат Нобелевской премии по физиологии и медицине в 1969 году (совместно с Алфредом Херши и Сальвадором Лурия) «за открытия, касающиеся механизма репликации и генетической структуры вирусов».



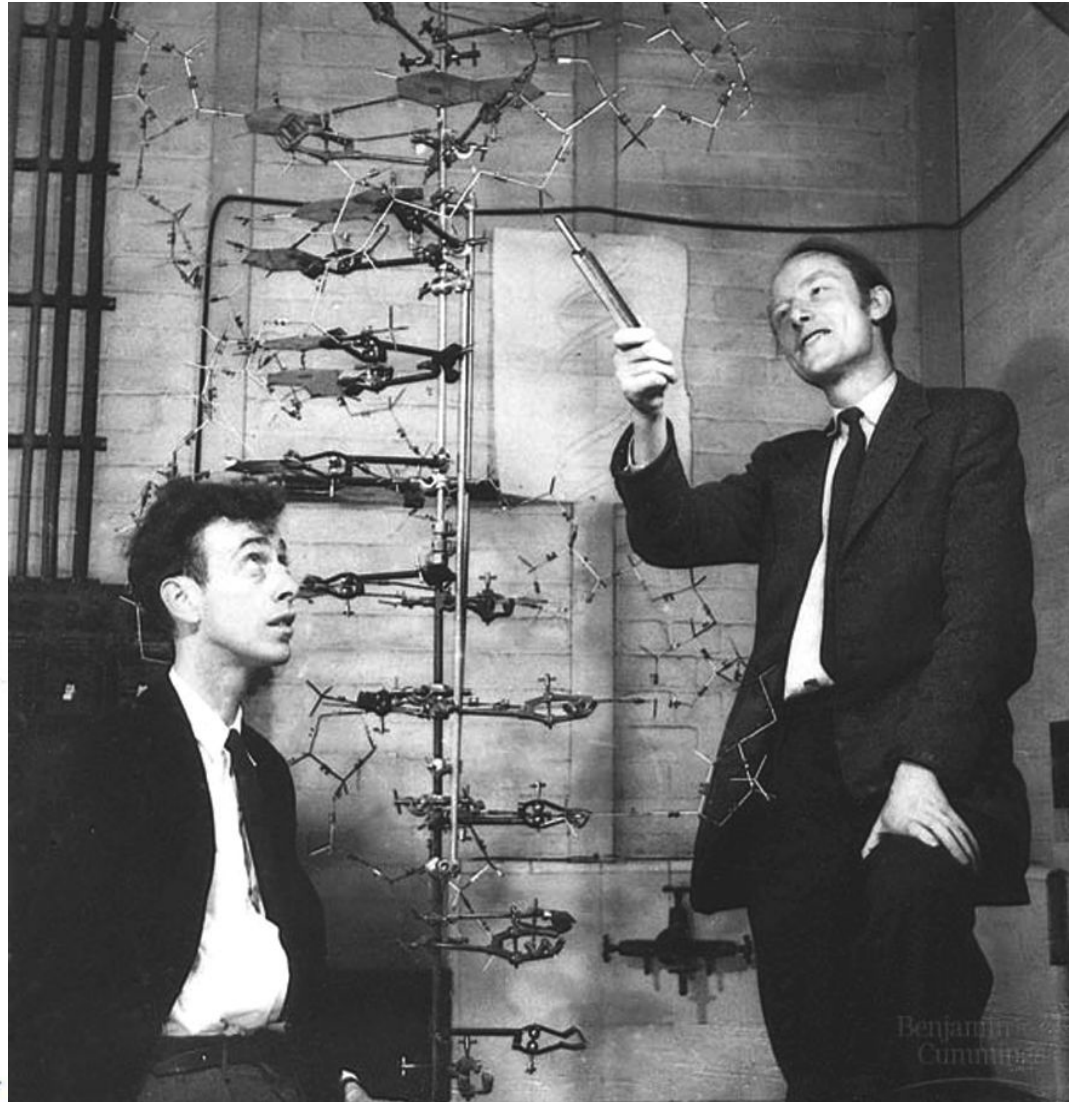
Джеймс Дью́и Уо́тсон род. 1928. Лауреат Нобелевской премии по физиологии и медицине 1962 года — совместно с Фрэнсисом Криком и Морисом Х. Ф. Уилкинсом за открытие структуры ДНК

Но к концу 40-х годов XX века стало ясно, что гены – это ДНК

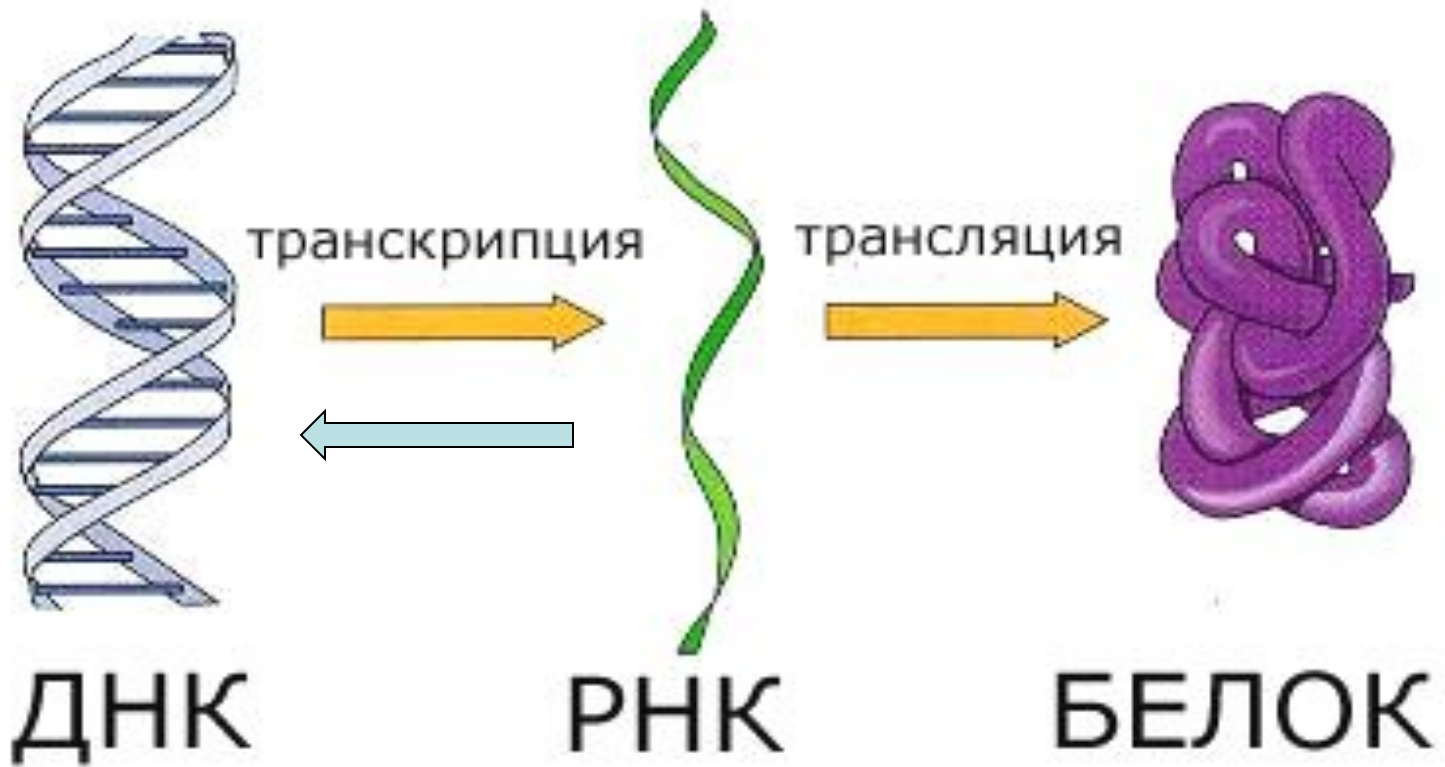
Дж. Уотсон и Ф. Крик
в 1953 году у модели
ДНК



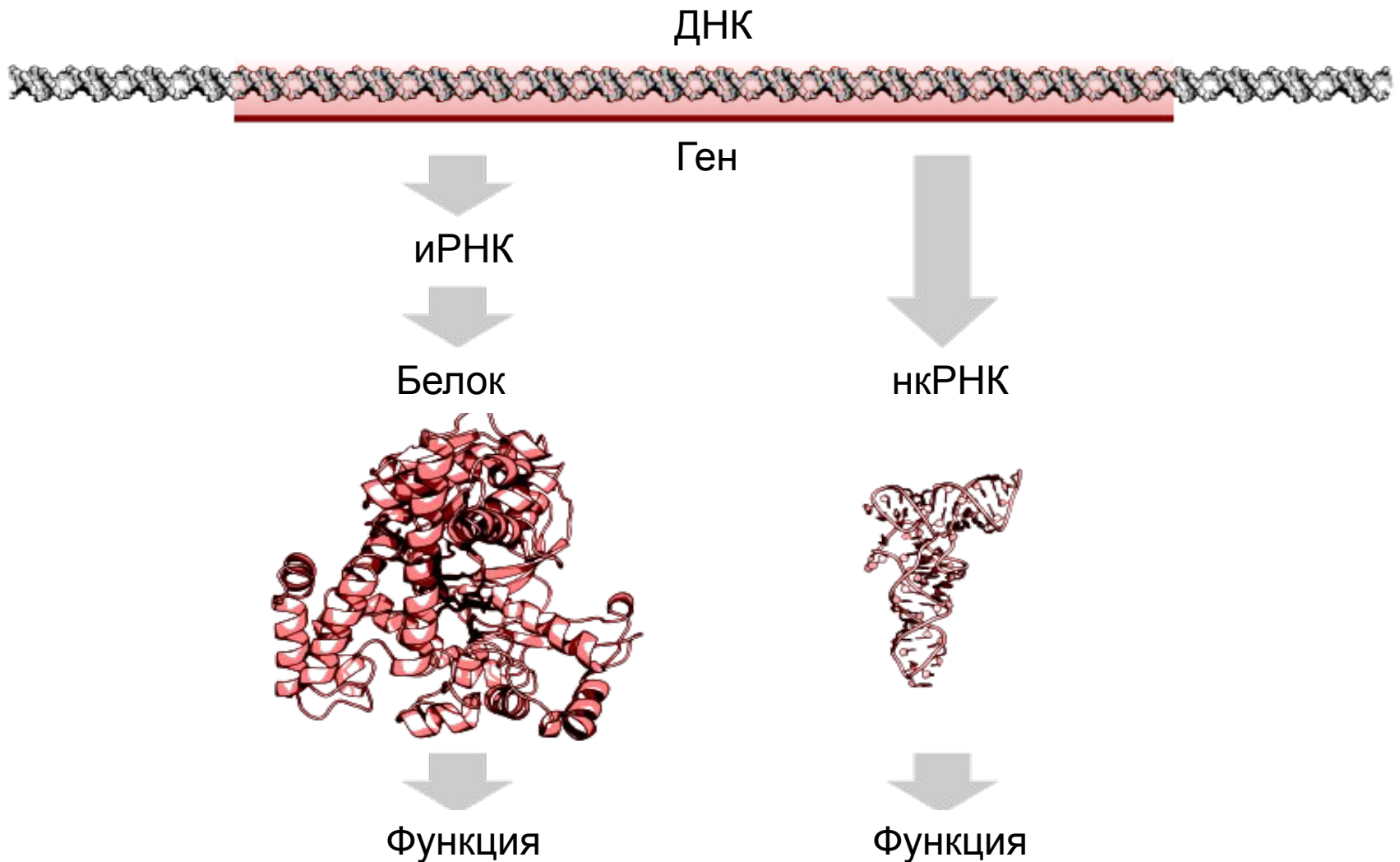
James D. Watson



Центральная догма молекулярной биологии:

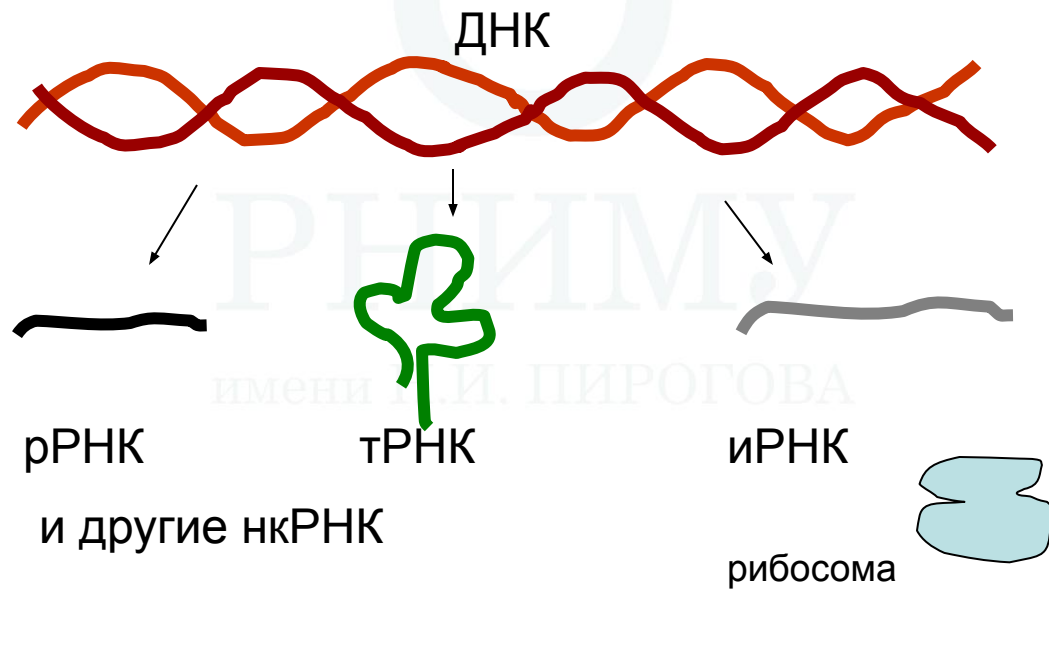


В генах закодированы не только белки



Что же такое ген сегодня? Определение.

Ген – участок молекулы ДНК, несущий информацию о первичной структуре одного белка, а также т- или р-РНК (и других нкРНК).
Гены вирусов могут быть представлены РНК.



У человека на долю белок-кодирующих генов приходится 1 – 2% всей ДНК хромосом

А сама генетика
за XX век
разрослась и
дала ветви

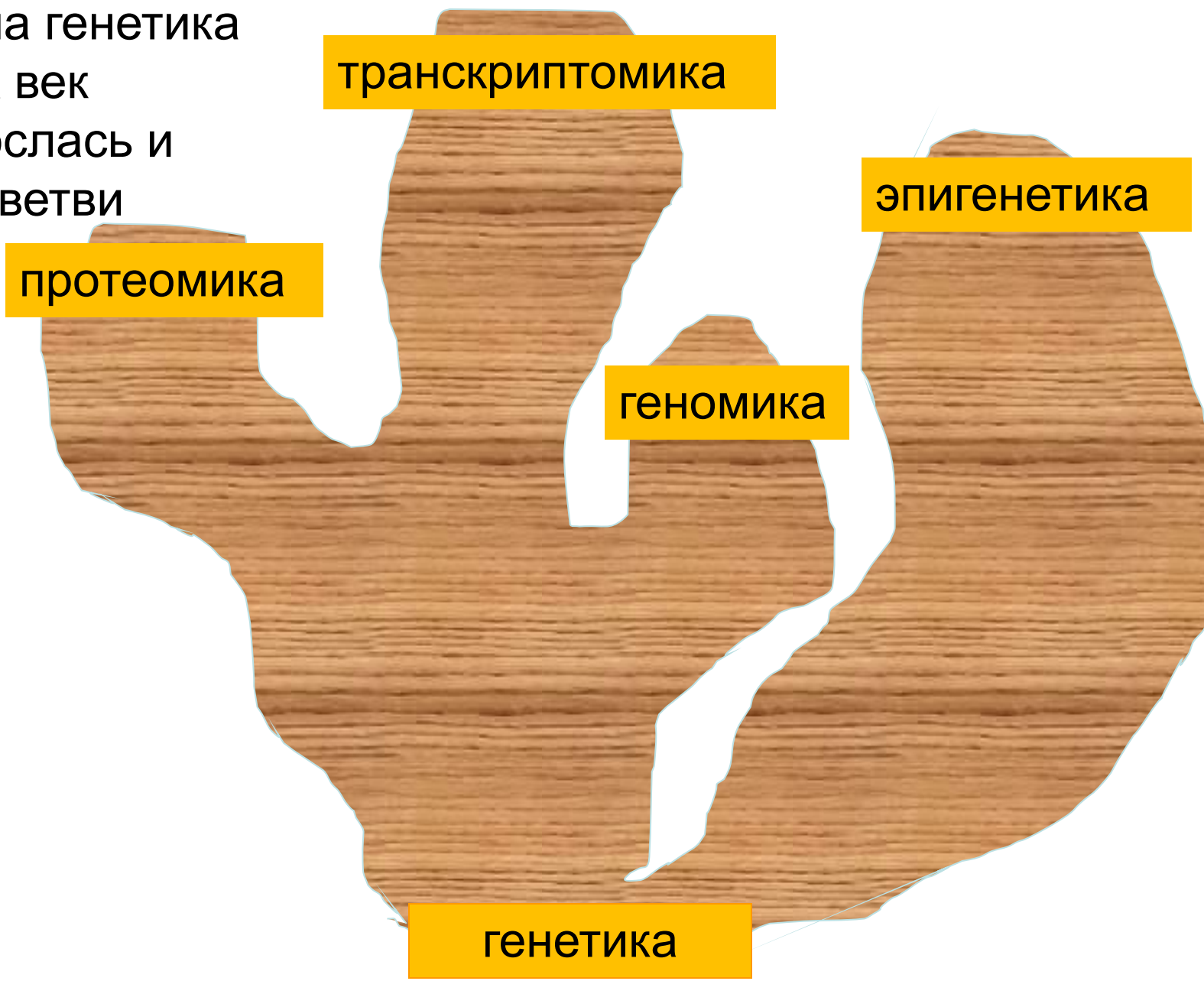
протеомика

транскриптомика

эпигенетика

геномика

генетика



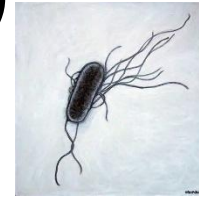
Рассмотрим этапы
реализации наследственной
информации на примере
синтеза белка.

Живые организмы делятся на два больших надцарства:

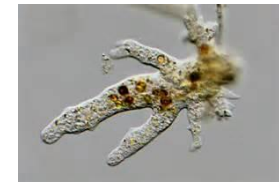


Размеры геномов разных видов (в гаплоидном наборе)

4.6 Mb – размер генома кишечной палочки (**бактерия**)



670 Gb – самый **большой** из известных геномов (амеба дубиа)



130 Gb- самый большой из известных геномов **ПОЗВОНОЧНЫХ** у африканской двоякодышащей леопардовой рыбы



3.2 Gb – размер генома человека



Mb – миллион пар оснований;

Gb - миллиард пар оснований

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

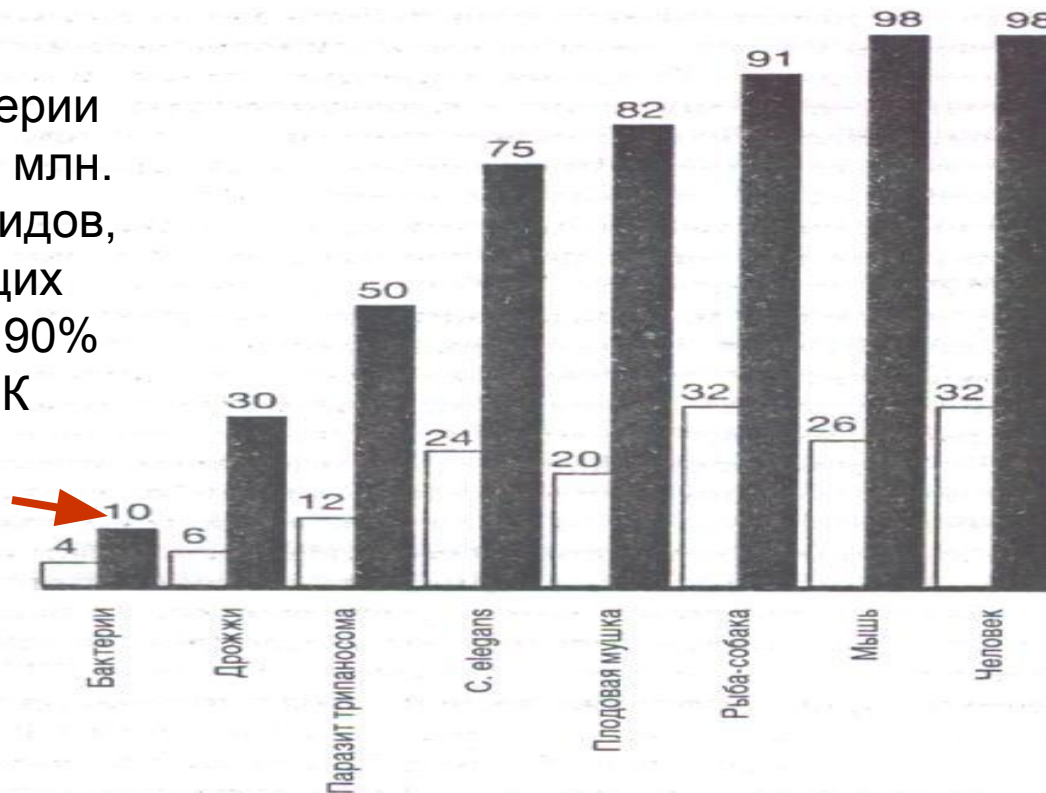
- Гены, кодирующие белки, составляют около 1 - 2% ДНК
- Каждый ген имеет свой промотор и несколько регуляторов
- Большинство генов состоят из интронов и экзонов
 - Транскрипция и трансляция разделены в пространстве и во времени
 - Рибосомы 80S

Чем сложнее организм, тем больше у него в геноме не кодирующей белки ДНК

□ Величина белок-кодирующей части генома в миллионах пар оснований

■ Процент генома, не участвующего в кодировании белков

Геном бактерии содержит 4 млн. пар нуклеотидов, кодирующих белки - это 90% всей ДНК



Геном человека содержит 32 млн. пар нуклеотидов кодирующей белок ДНК, что составляет лишь 2% от всей ДНК

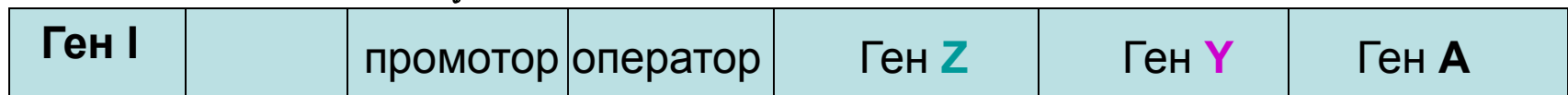
Раньше не кодирующая белок ДНК (98%!) называлась эгоистичной, «мусорной», сателлитной, сейчас ясно, что она играет важную роль в регуляции активности белок-кодирующих генов.

Строение лактозного оперона бактерии кишечной палочки (E.coli).

РНК-полимераза



3 гена, кодирующие белки, нужные для усвоения лактозы клеткой

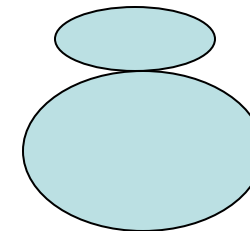


Регулирует работу оперона

Область присоединения РНК-полимеразы

Место прикрепления белка-репрессора

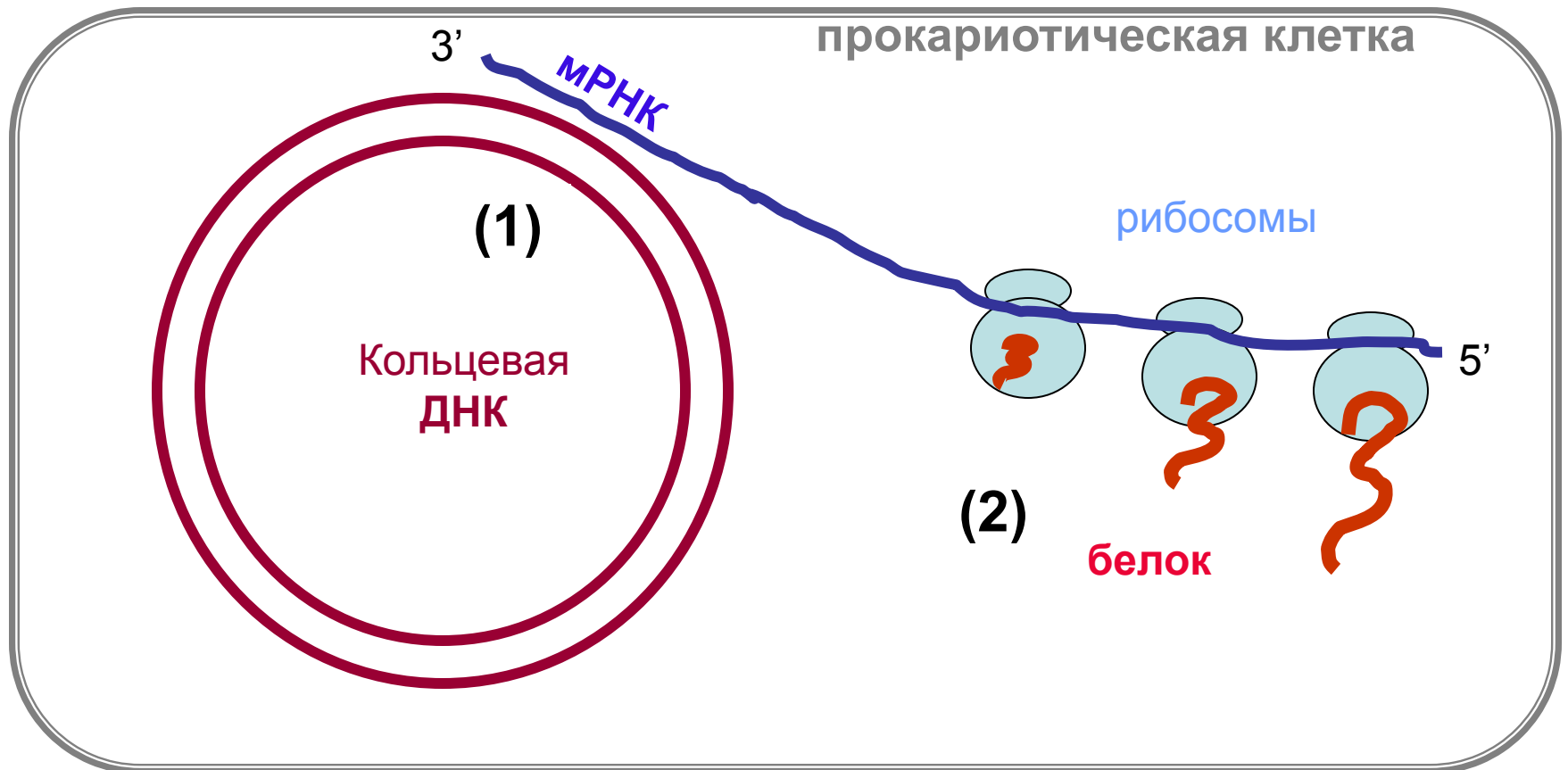
мРНК (полицистронная)



Белок-репрессор



У **прокариот** транскрипция (1) и трансляция(2) не разделены ни в пространстве, ни во времени



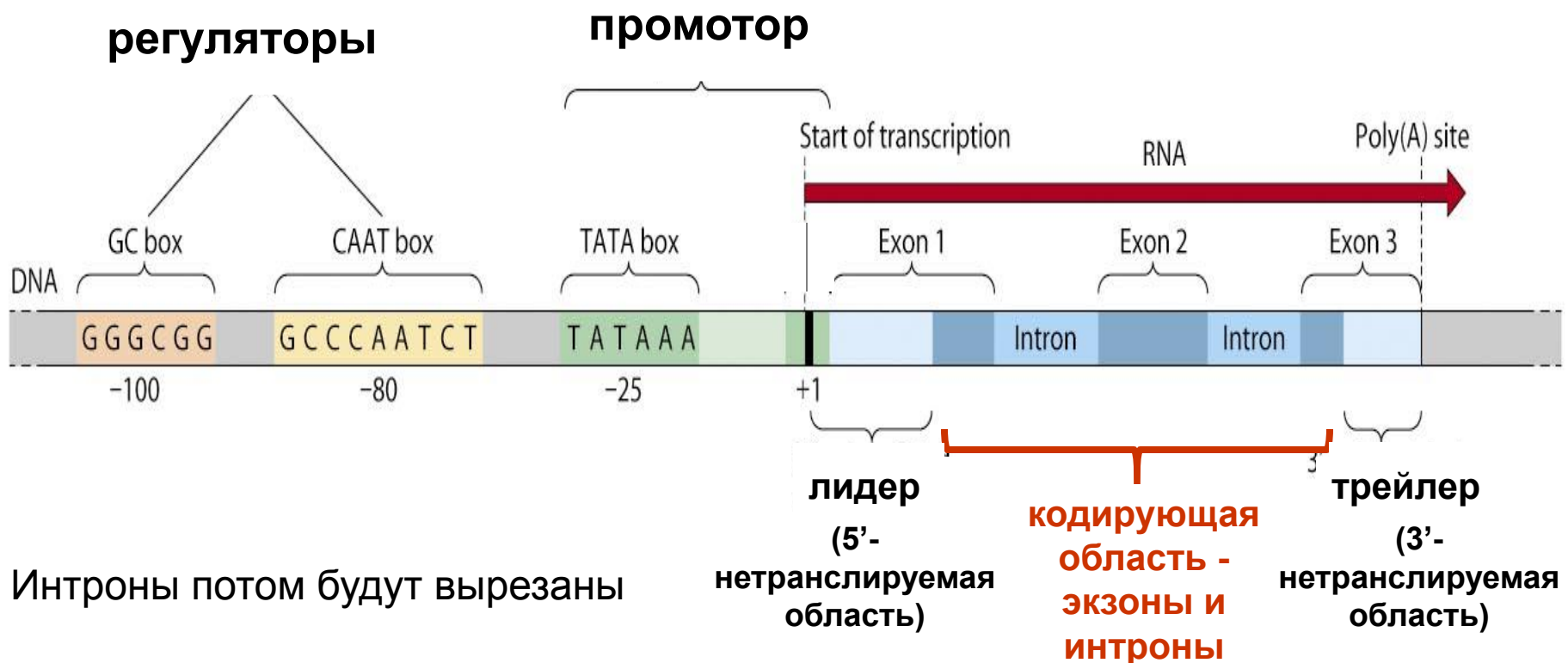
Особенности экспрессии генов у прокариот дают нам ряд преимуществ

Многие антибиотики (аминогликозиды, тетрациклины, хлорамфеникол) связываются с рибосомами бактерий и нарушают синтез их белков, при этом не вредят клеткам-хозяева

Рассмотрим этапы синтеза белка
у эукариот

Типичный ген эукариот имеет свой промотор и несколько регуляторов

Ген принято записывать по кодогенной цепи (т.е. от 5' → 3')



Этапы реализации наследственной информации (синтеза белка)

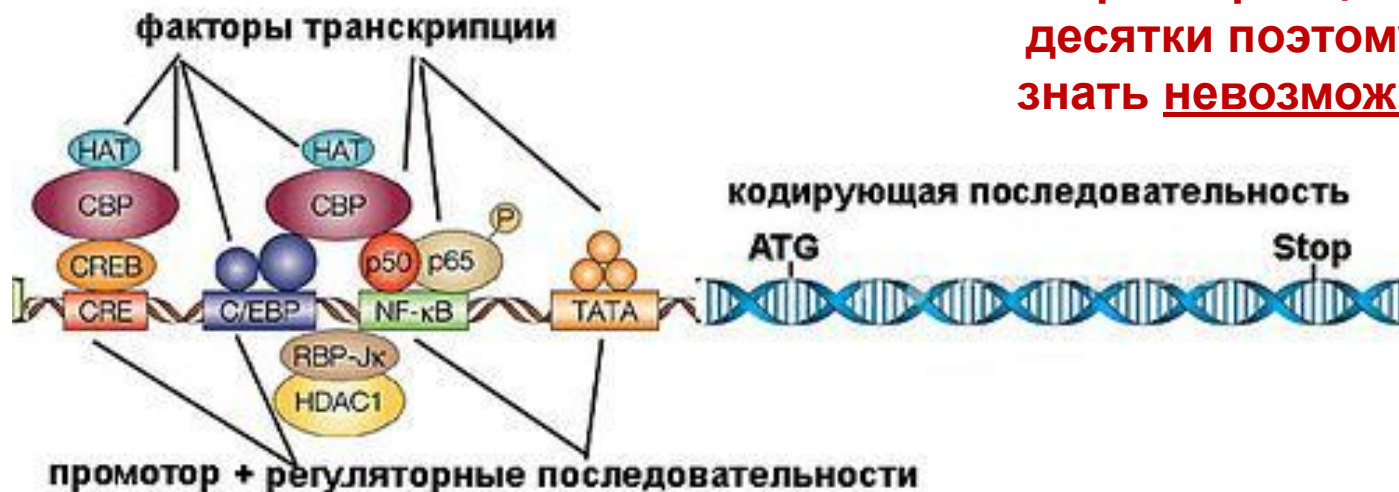
- 1. Транскрипция** - синтез РНК (всех видов) по матрице ДНК. (Происходит по принципам комплементарности и антипараллельности).
- 2. Посттранскрипционные процессы (процессинг РНК)**
Молекула РНК претерпевает изменения – участки РНК (интроны) могут вырезаться, нуклеотиды могут добавляться или химически модифицироваться.
- 3. Трансляция** – синтез полипептида по матрице иРНК на рибосоме.
- 4. Посттрансляционные процессы (процессинг белка)**
- полипептидная цепь может разрезаться, формируется вторичная, третичная, четвертичная структура, присоединяются небелковые компоненты.

1. Транскрипция – синтез РНК по матрице ДНК

Транскрипция включает:

1. Инициацию
2. Элонгацию
3. Терминацию

Факторов, участвующих в транскрипции – десятки поэтому их знать невозможно!!!



Факторы транскрипции



Общие факторы транскрипции - это белки, которые помогают правильно располагать РНК-полимеразу II на промоторе и начать транскрипцию **любых генов**. Они обозначаются TFII (от англ. — фактор транскрипции РНК полимеразы II).

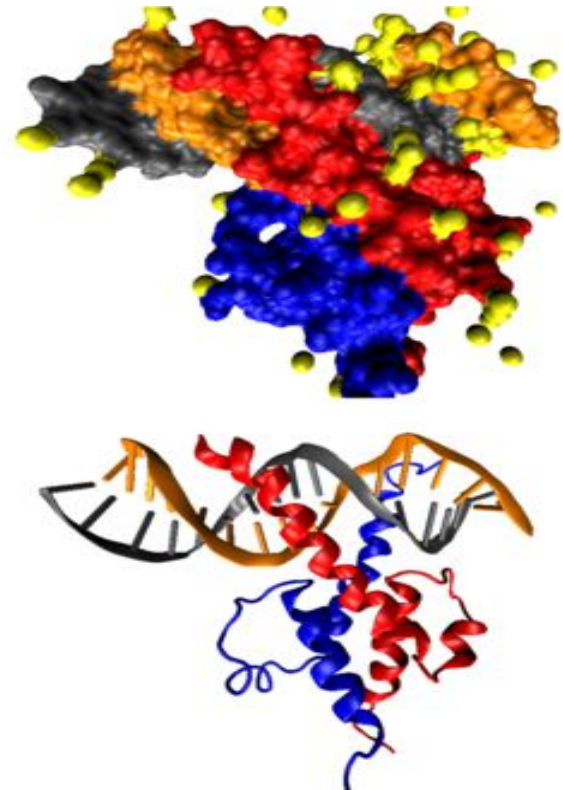
Специфические факторы транскрипции (например, гормоны) инициируют или подавляют транскрипцию **определенных генов**, связываясь с участками ДНК. Так, энхансеры – участки ДНК, усиливающие транскрипцию, а сайленсеры - подавляющие

Общие факторы транскрипции - белки

В геноме человека обнаружено более 2600 белков, имеющих ДНК-связывающий домен, и большинство из них являются транскрипционными факторами.

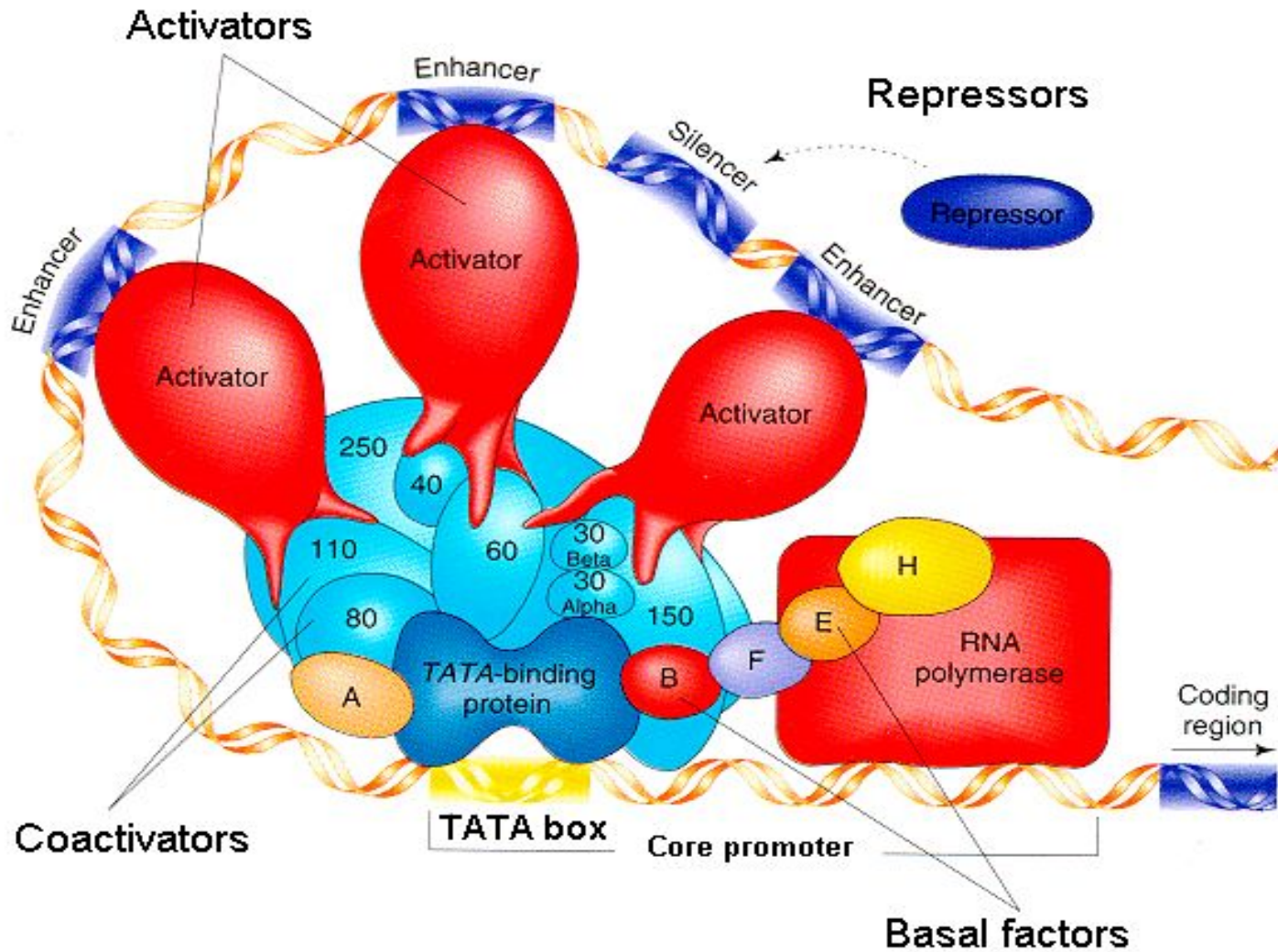


ДНК-связывающий домен
типа «лейциновая молния»
в комплексе с ДНК.

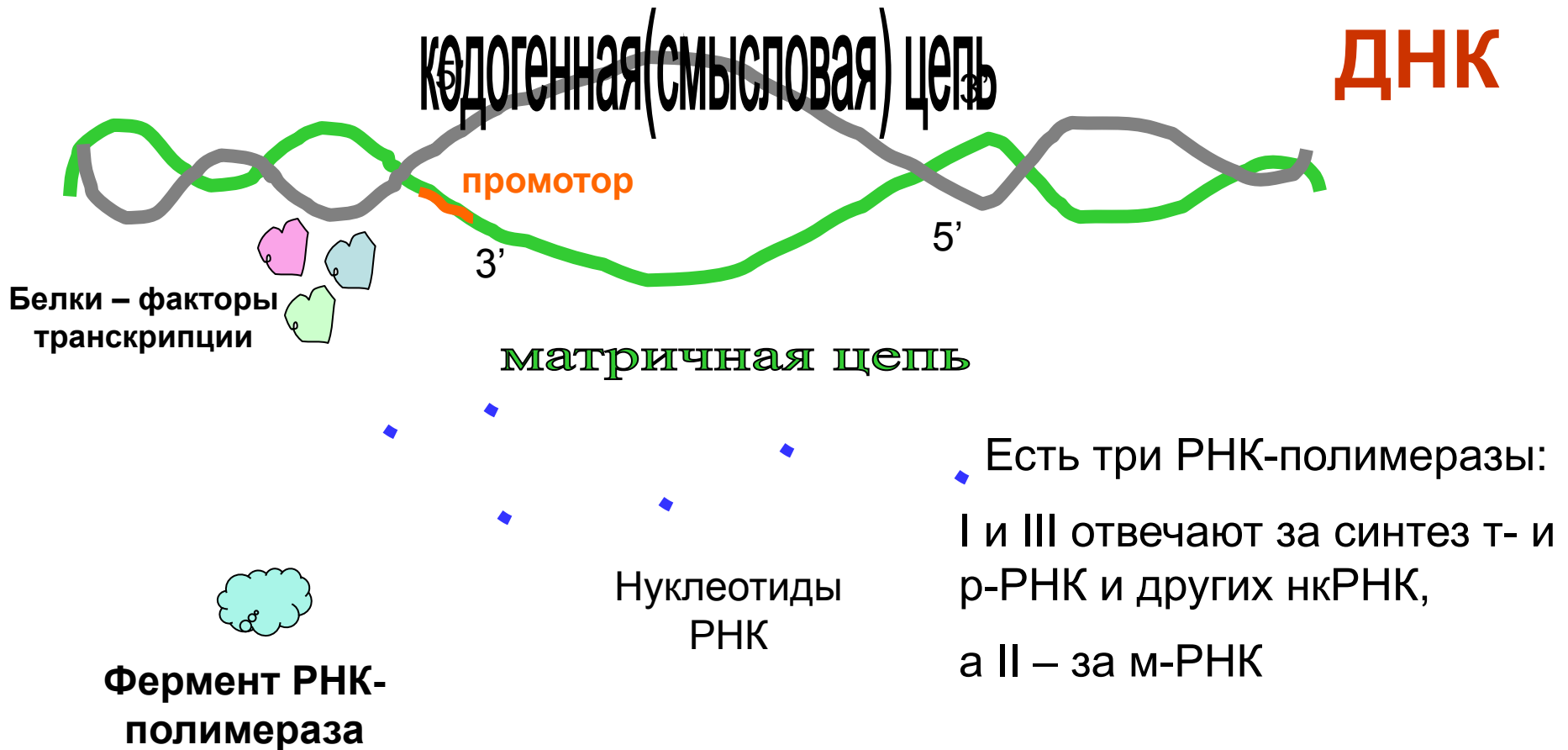


ДНК-связывающий домен типа
«спираль-петля-спираль» в
комплексе с ДНК.

Специфические факторы влияют на уровень транскрипции

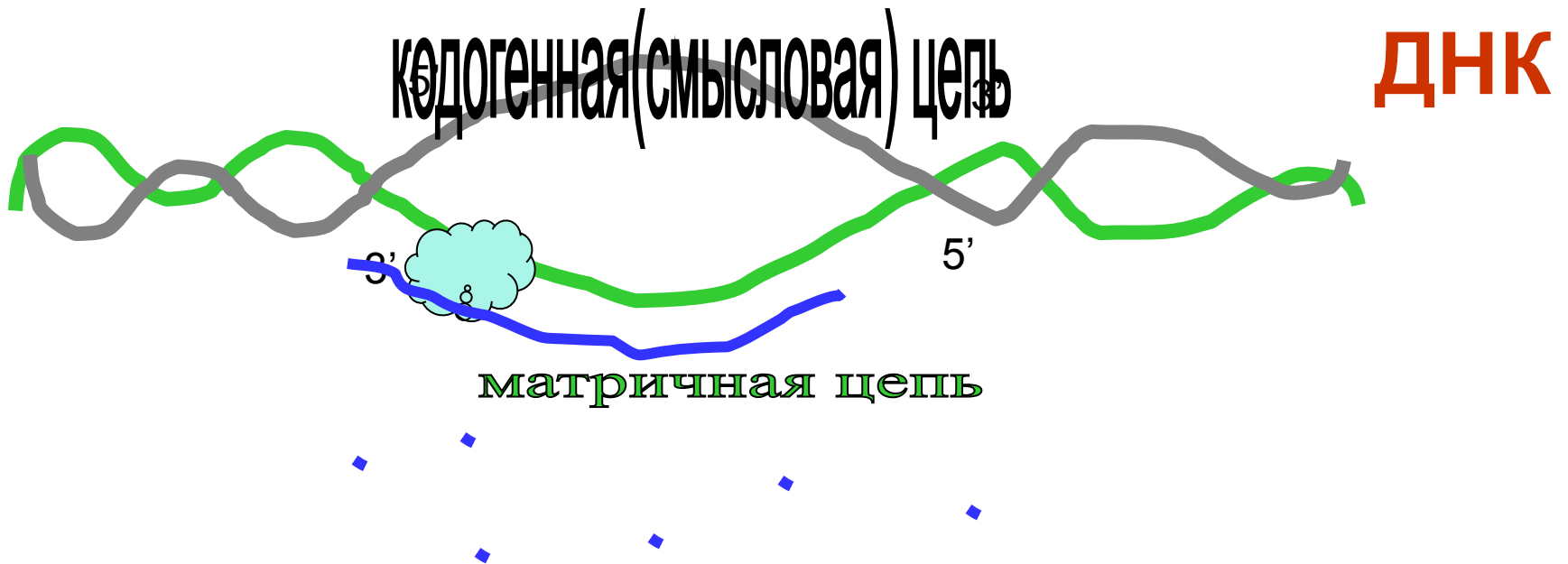


Транскрипция: инициация



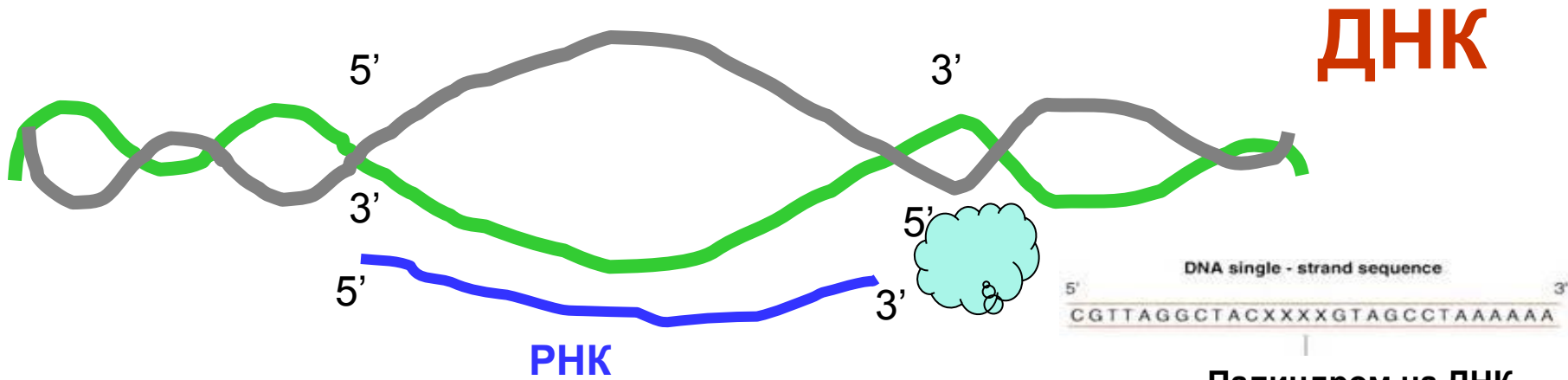
Транскрипция: элонгация

РНК-полимераза движется вдоль матричной цепи ДНК и строит РНК из рибонуклеозидтрифосфатов.



Транскрипция: терминация

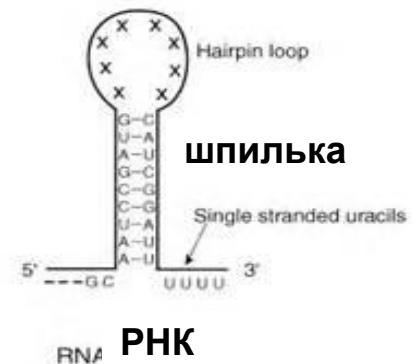
РНК отделяется от ДНК



Сигналом терминации транскрипции служит определенная последовательность нуклеотидов, например «палиндром» у прокариот

DNA single - strand sequence
5' CGTTAGGCTACXXXXGTAGCCTAAAAA 3'

Палиндром на ДНК







Сейчас сезон грибов... (Медицинские аспекты регуляции транскрипции)



Гриб бледная поганка (*Amanita*), содержит яд α -аманитин. LD50 (доза per os, при которой погибает 50% лиц, получивших токсин) составляет 0,1 мг/кг массы тела. Этот яд обладает необычно сильным сродством к ферменту РНК-полимеразе II и блокирует его работу. Синтез белков прекращается и клетки гибнут. В человеческом организме при отравлении больше всего страдают клетки печени и почек.

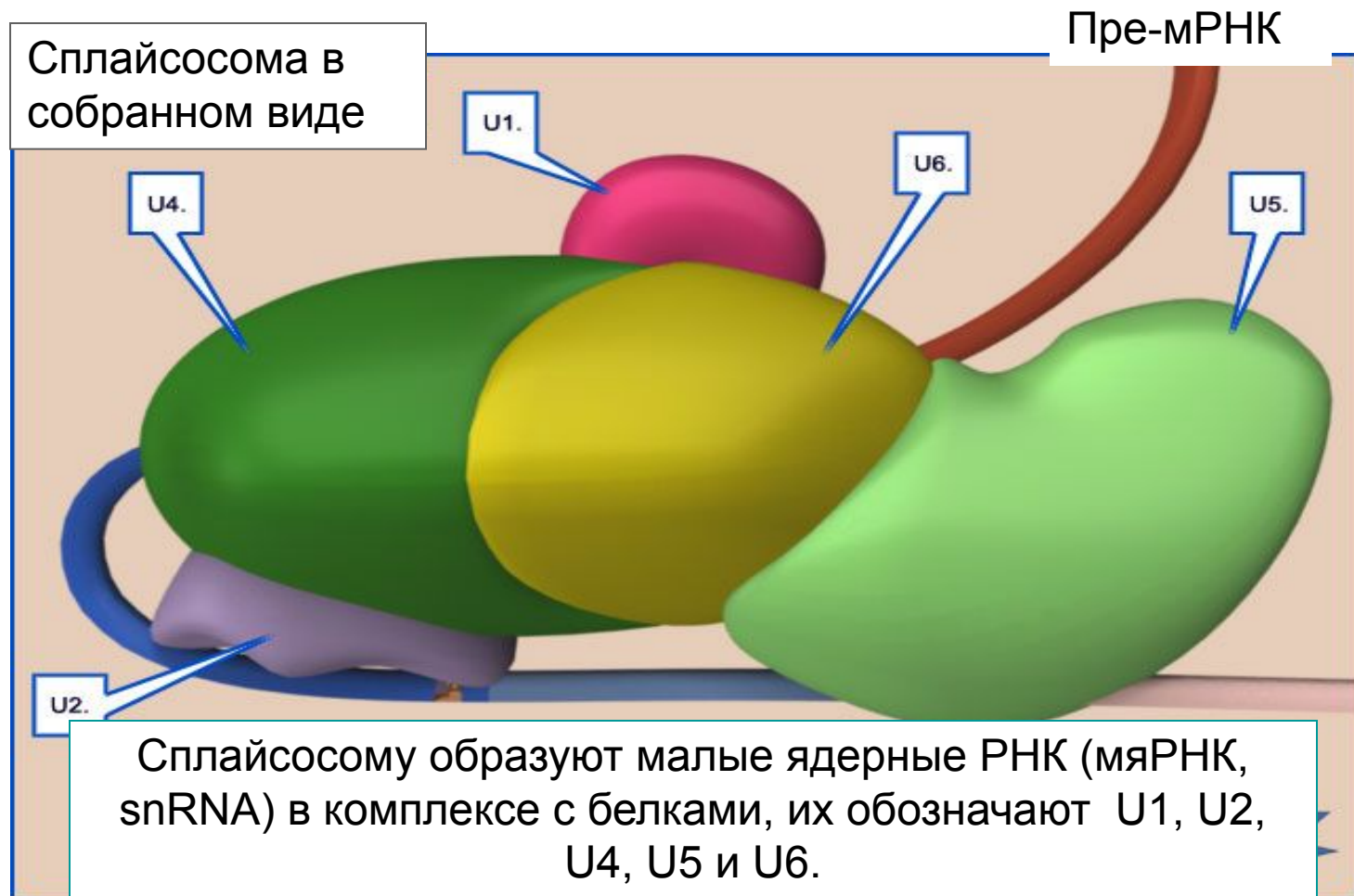
2. Процессинг мРНК

1. Кэпирование 
2. Присоединение полиаденилового «хвоста» 
3. Вырезание интронов 
4. Сплайсинг экзонов 
5. Модификация нуклеотидов



Зрелая мРНК ВЫХОДИТ В ЦИТОПЛАЗМУ

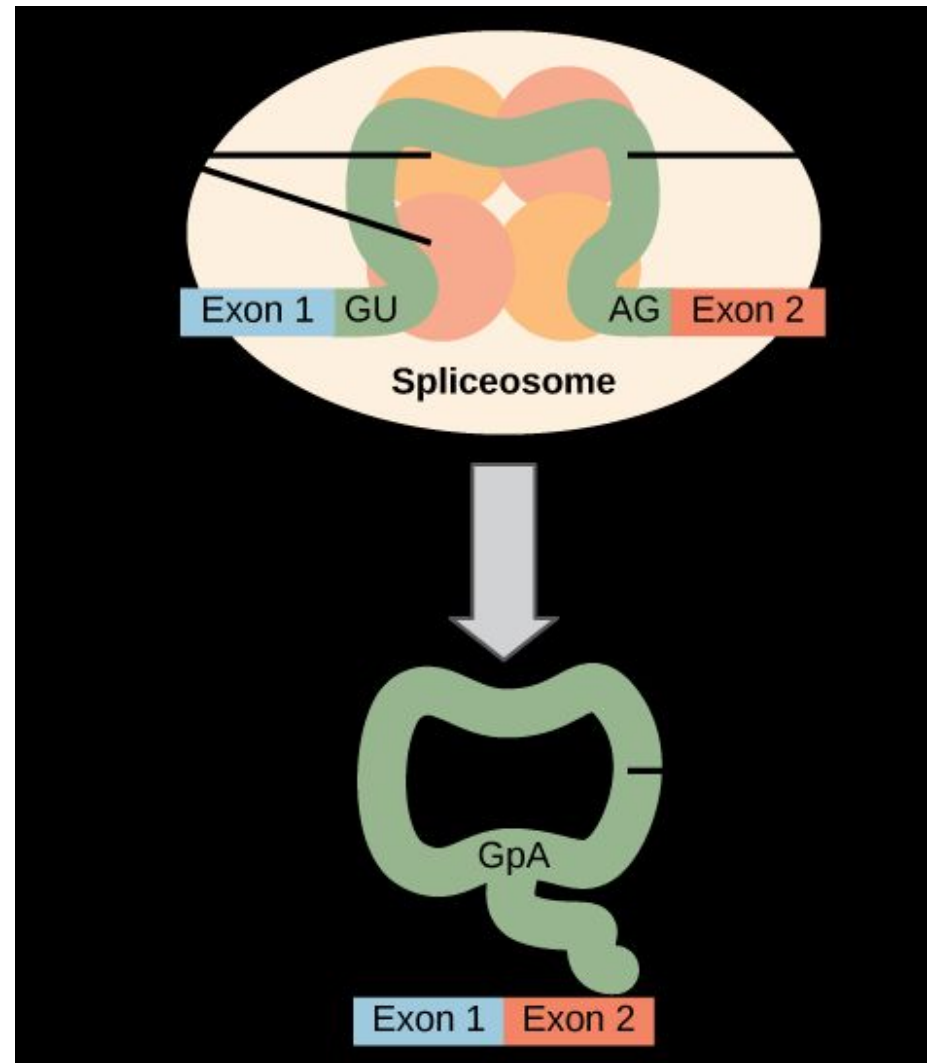
Сплайсинг – вырезание интронов и сшивание экзонов – осуществляет **сплайсосома**



Сплайсосома распознает интроны по определенным последовательностям

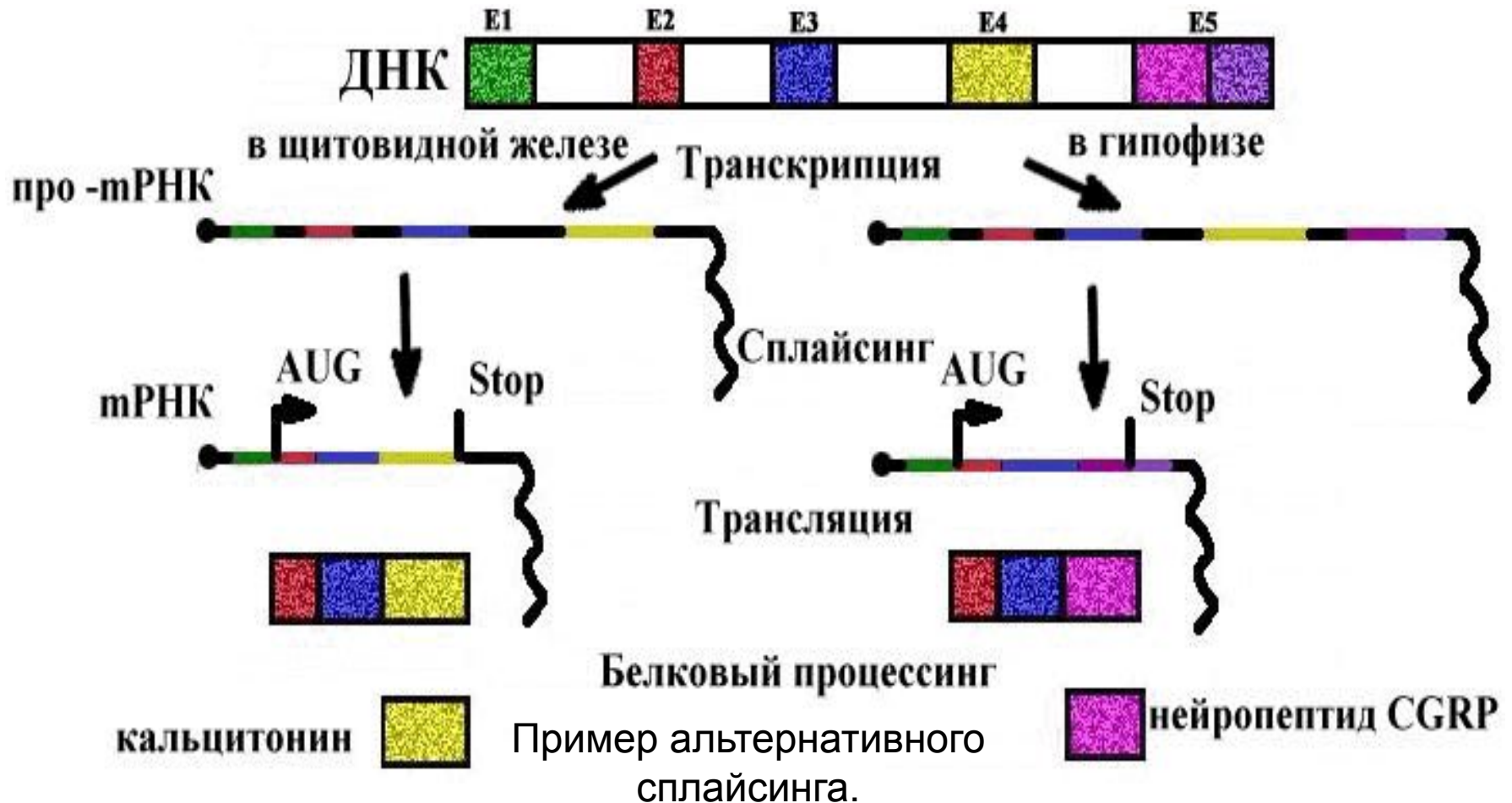
Молекула пре-мРНК обязательно содержит специфические последовательности, распознаваемые во время сборки сплайсосомы. Это 5'-конец, последовательность точки ветвления, полипиримидиновый участок и 3'-конец.

Интроны обычно определяются по наличию последовательности GU на 5'-конце и последовательности AG на 3'-конце.



Сплайсинг может регулироваться.

94% генов у человека подвержены альтернативному сплайсингу, а у остальных 6% просто нет интронов.

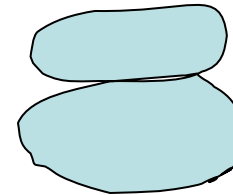


3. Трансляция

Трансляция – синтез полипептида из аминокислот в рибосоме по матрице иРНК.



иРНК



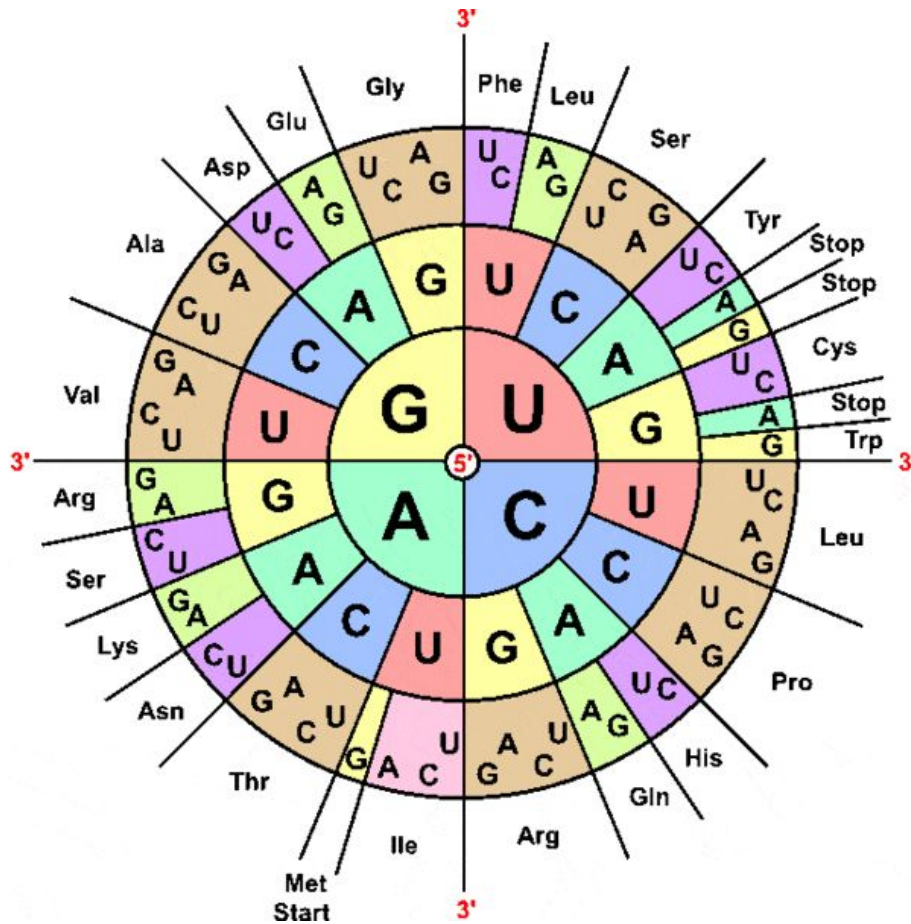
Трансляция происходит в соответствии с **генетическим кодом**.

Генетический код – способ записи информации об аминокислотной последовательности белка с помощью последовательности нуклеотидов ДНК и РНК.

Свойства генетического кода (**не путать со свойствами гена!**):

1. **Триплетность** – одна аминокислота шифруется тремя нуклеотидами.
2. **Специфичность** (однозначность) – каждый триплет кодирует определенную аминокислоту.
3. **Вырожденность** (избыточность) – одну аминокислоту может кодировать несколько триплетов (кодона-синонимы).
4. **Неперекрываемость** – кодоны считываются подряд; один нуклеотид входит в состав только одного триплета.
5. **Универсальность** – код един у всех организмов на Земле.
6. **Коллинеарность** – направление синтеза полипептида соответствует направлению считывания информации ДНК.
7. **Есть сигналы старта** (АУГ) и **сигналы окончания** трансляции (УАА, УАГ и УГА) – стоп- или нонсенс-кодона. Они же кодона-терминаторы.

Есть разные представления таблицы генетического кода



Аланин	Аргинин	Аспарагин	Аспарагиновая кислота	Валин
ГЦУ, ГЦА, ГЦЦ, ГЦГ	ЦГУ, ЦГА, ЦГЦ, ЦГГ, АГА, АГГ	ГАУ, ГАЦ	ААУ, ААЦ	ГУУ, ГУЦ, ГУА, ГУГ
Гистидин	Глицин	Глутамин	Глутаминовая кислота	Изолейцин
ЦАУ, ЦАЦ	ГГУ, ГГА, ГГЦ, ГГГ	ГАА, ГАГ	ЦАА, ЦАГ	АУУ, АУА, АУЦ
Лейцин	Лизин	Метионин	Пролин	Серин
УУА, УУГ, ЦУЦ, ЦУГ, ЦУА, ЦУЦ	ААА, ААГ	АУГ	ЦЦГ, ЦЦЦ, ЦЦА, ЦЦУ	АГУ, АГЦ, УЦА, УЦГ, УЦУ, УЦЦ
Тирозин	Треонин	Фенилаланин	Триптофан	Цистеин
УАУ, УАЦ	АЦУ, АЦА, АЦГ, АЦЦ	УУУ, УУЦ	УГГ	УГУ, УГЦ
Нет аминокислоты				
УАА, УАГ, УГА				

Аминокислоты записывают по трем первым буквам названия или одной буквой

Таблица названий и обозначений аминокислот

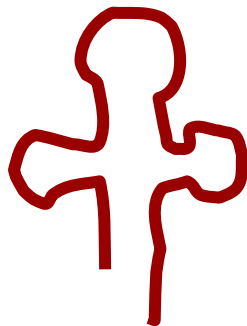
A	Ala	Alanine	Аланин
R	Arg	Arginine	Аргинин
N	Asn	Asparagine	Аспарагин
D	Asp	Aspartic Acid	Аспарагиновая кислота
C	Cys	Cysteine	Цистеин
Q	Gln	Glutamine	Глутамин
E	Glu	Glutamic Acid	Глутаминовая кислота
G	Gly	Glycine	Глицин
H	His	Histidine	Гистидин
I	Ile	Isoleucine	Изолейцин
L	Leu	Leucine	Лейцин
K	Lys	Lysine	Лизин
M	Met	Methionine	Метионин
F	Phe	Phenylalanine	Фенилаланин
P	Pro	Proline	Пролин
S	Ser	Serine	Серин
T	Thr	Threonine	Треонин
W	Trp	Tryptophan	Триптофан
Y	Tyr	Tyrosine	Тирозин
V	Val	Valine	Валин

В трансляции участвуют:

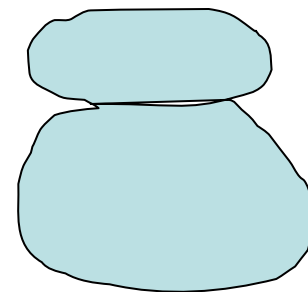
- иРНК



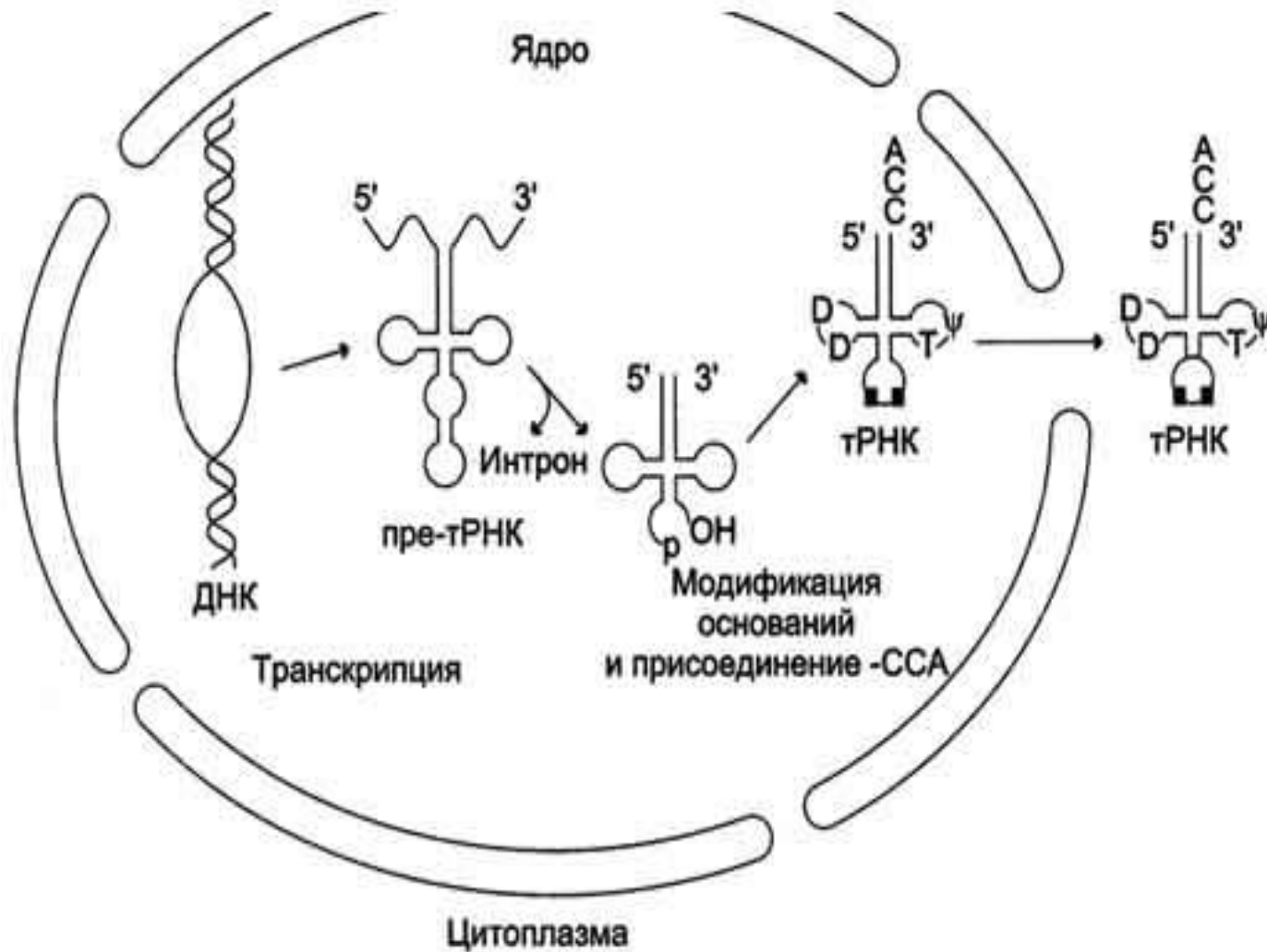
- тРНК



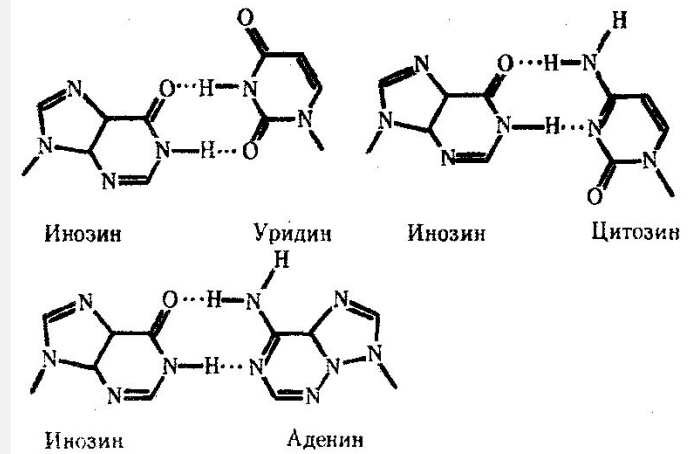
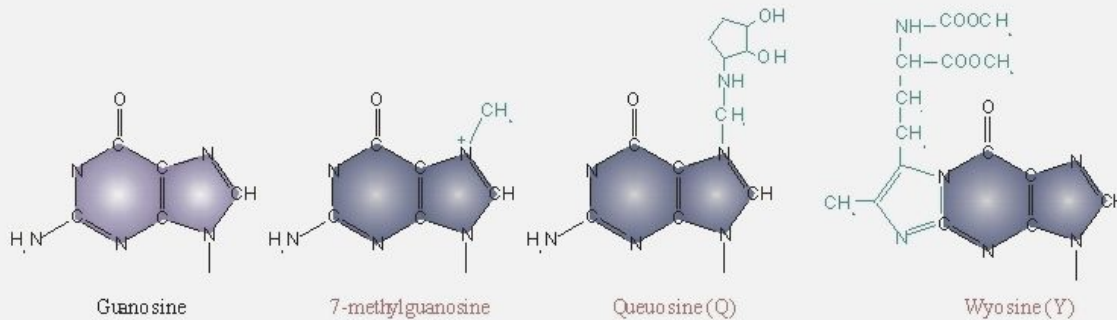
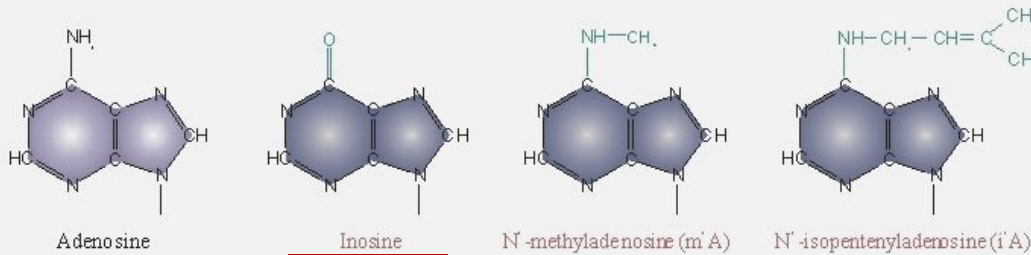
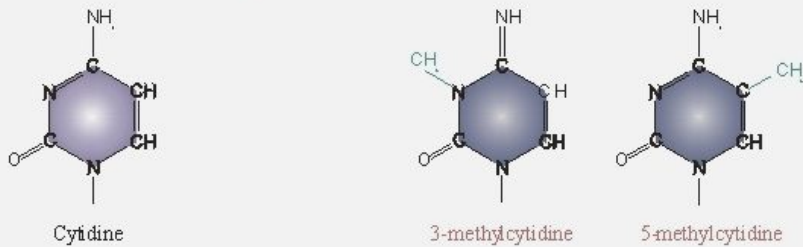
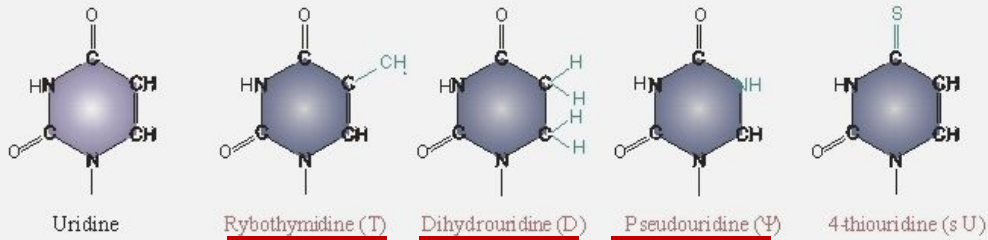
- Рибосомы (в состав рибосомы входит рРНК и белки)
- Факторы трансляции – различные белки



Процессинг тРНК



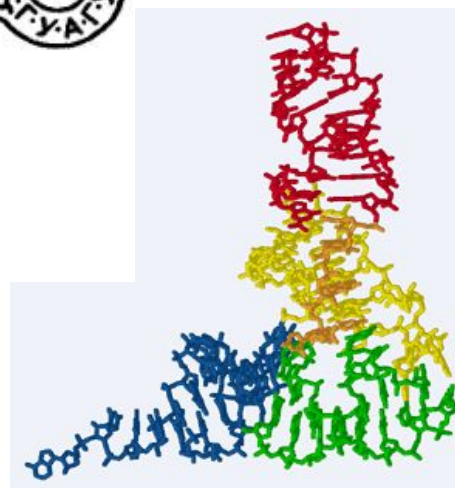
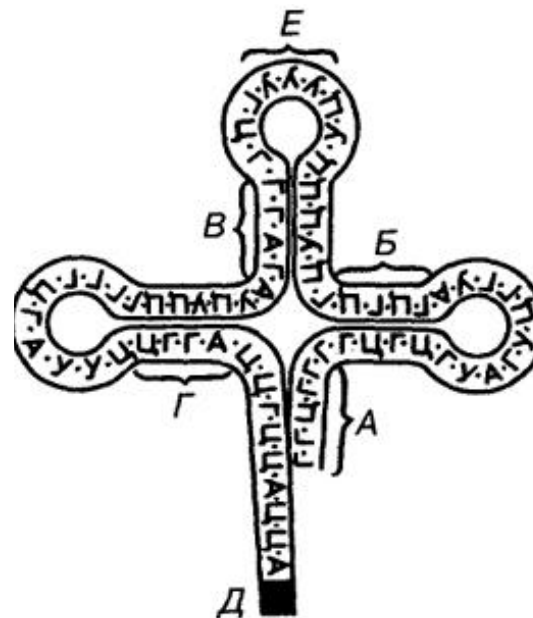
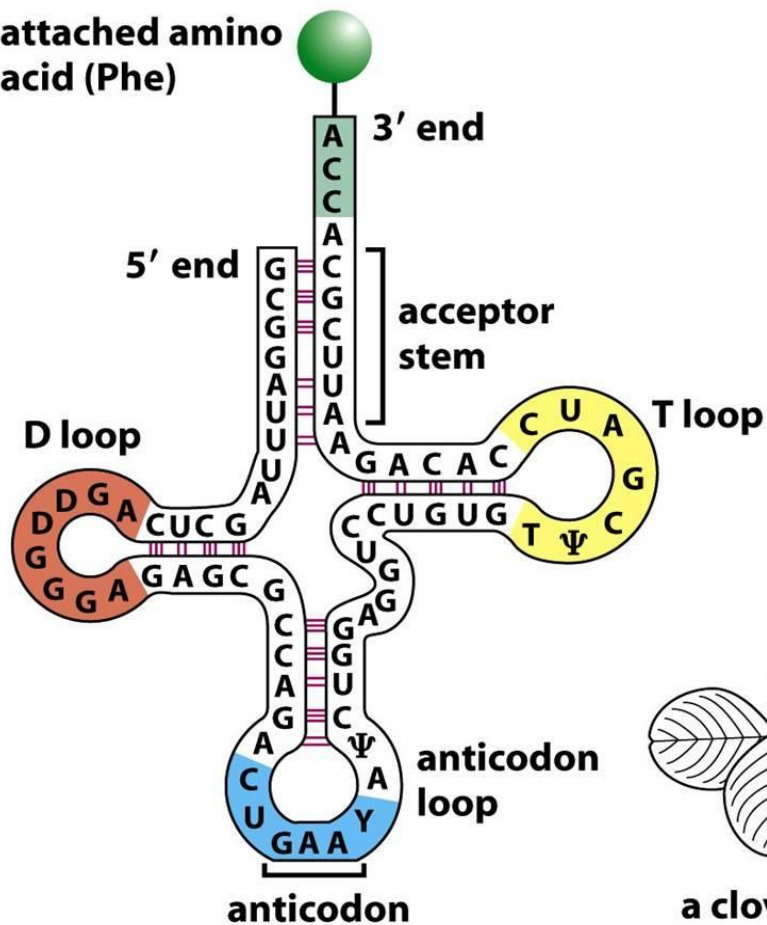
Нетипичные азотистые основания в тРНК



Инозин способен образовывать водородные связи с разными азотистыми основаниями

тРНК (транспортная РНК) переносит аминокислоты к рибосоме

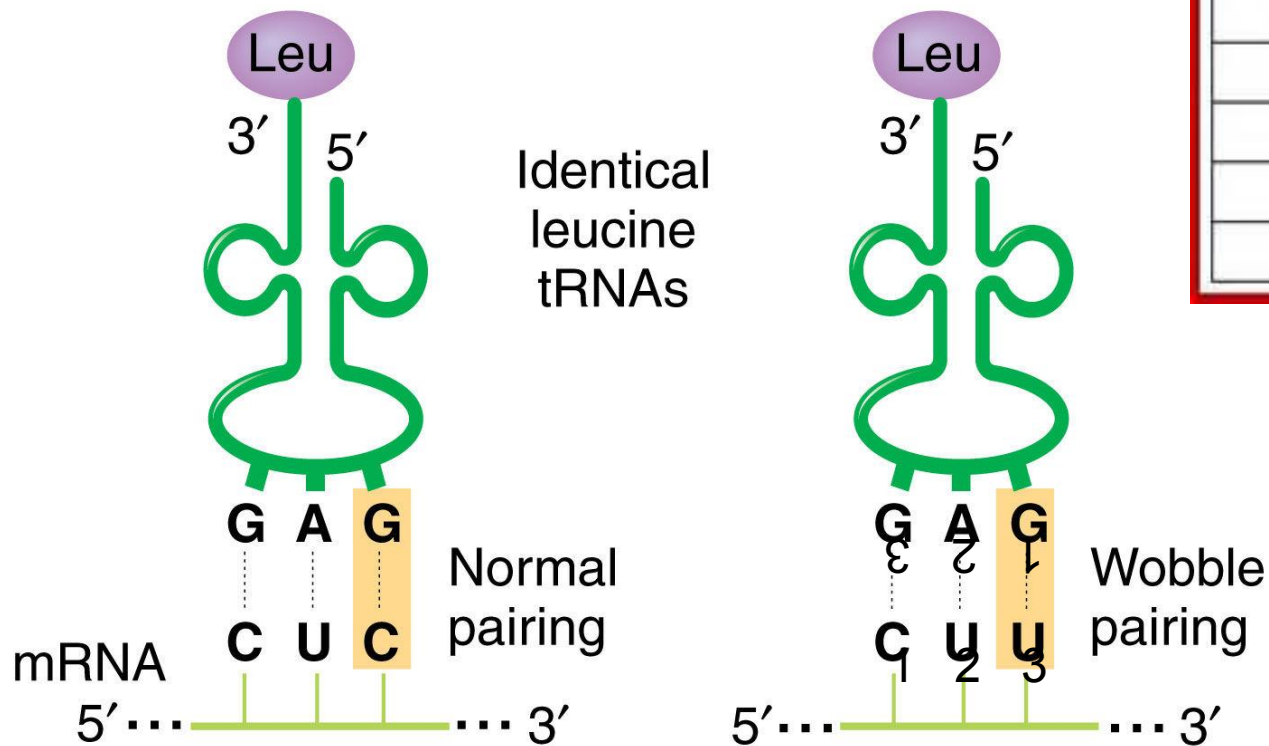
attached amino acid (Phe)



Содержит от 76 до 90 нуклеотидов. Число видов тРНК чуть больше числа аминокислот – около 30. В состав тРНК могут входить необычные основания: тимин (Т), дигидроурацил (D) и псевдоурацил. (Ψ).

Wobble hypothesis – теория неоднозначного соответствия, гипотеза качания, предложена Ф.Криком.

Нестрогое соответствие оснований в 3-ей позиции кодонов иРНК и 1-ой позиции антикодонов тРНК



Codon	Anti-Codon
A	U or I
G	C or U or I
C	G or I
U	A or G or I

I – ИНОЗИН

Почему третье основание не столь важно?

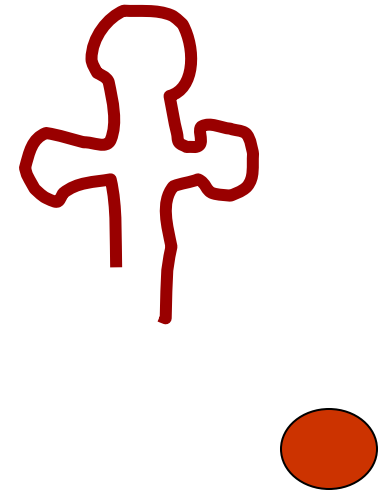
Специфичность кодон-антикодонного взаимодействия обеспечивается главным образом **двумя первыми основаниями** кодонов; «качающееся», т. е. третье, основание также вносит вклад в специфичность, однако благодаря тому, что образуемая им с соответствующим ему основанием пара непрочна, **тРНК легче освобождается из комплекса с мРНК в процессе синтеза белка.**

Если бы в сильное уотсон-криковское взаимодействие с соответствующими основаниями антикодонов были вовлечены все три основания кодонов, то кодон-антикодонные связи были бы настолько прочны, что высвобождение тРНК из комплекса с мРНК происходило бы медленно, лимитируя скорость белкового синтеза.

Следовательно, в ходе биохимической эволюции большинство кодон-антикодонных взаимодействий оптимизировалось с учетом как точности, так и скорости синтеза белка.

Аминокислота присоединяется к 3' концу «своей» тРНК

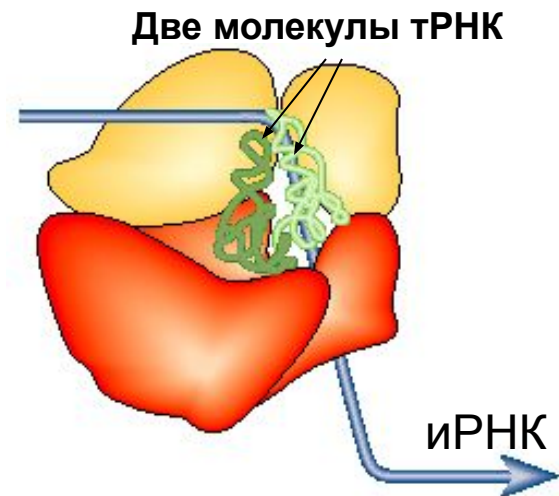
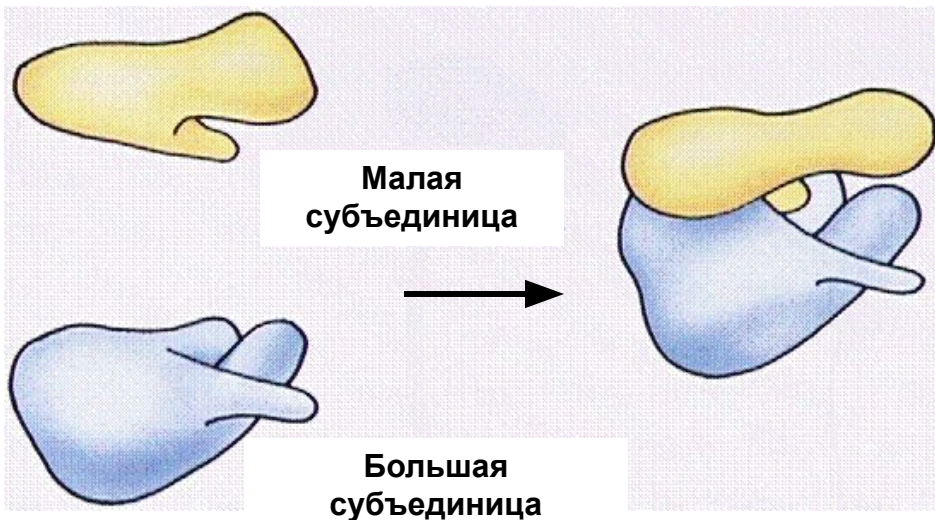
аминокислота + тРНК + АТФ →
аминоацил-тРНК + АМФ + 2Ф



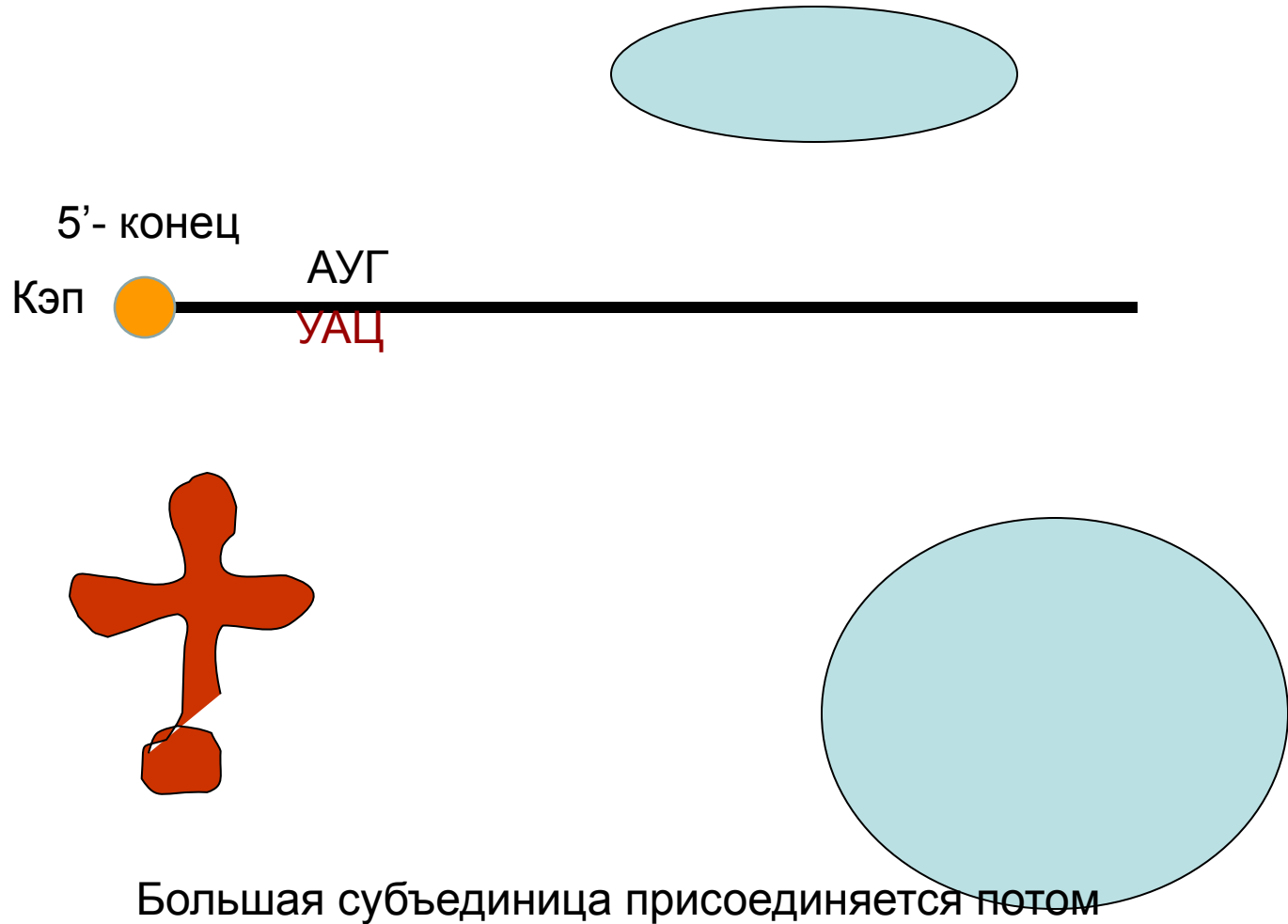
Фермент аминоацил-тРНК-синтетаза
(кодаза) за счет энергии АТФ присоединяет
соответствующую аминокислоту к тРНК

Рибосома - немембранный органоид клетки, состоящий из белков и рРНК.

Рибосомная РНК составляет около 70 % всей РНК клетки. Рибосомы эукариот включают четыре молекулы рРНК, из них 16S, 5.8S и 28S рРНК синтезируются **в ядрышке** РНК полимеразой I в виде единого предшественника (45S), который затем подвергается модификациям и нарезанию. 5S рРНК синтезируется РНК полимеразой III в другой части генома и не нуждаются в дополнительных модификациях. Рибосомы эукариот (80S) также содержат 75-85 рибосомных белков, рибосоме есть две субъединицы – большая и малая.



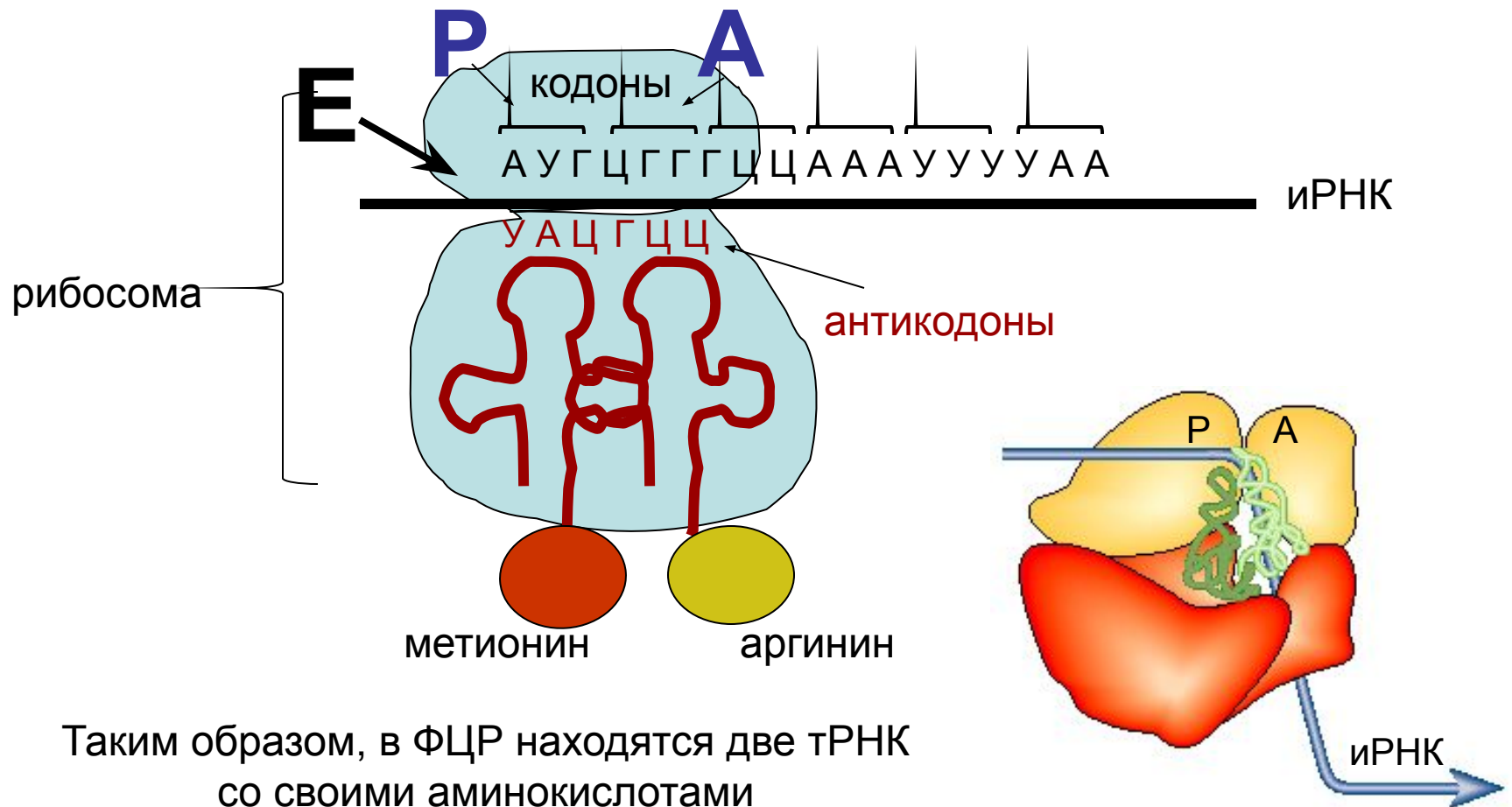
1.Инициация. Трансляция начинается с того, что иРНК соединяется с малой субъединицей рибосомы



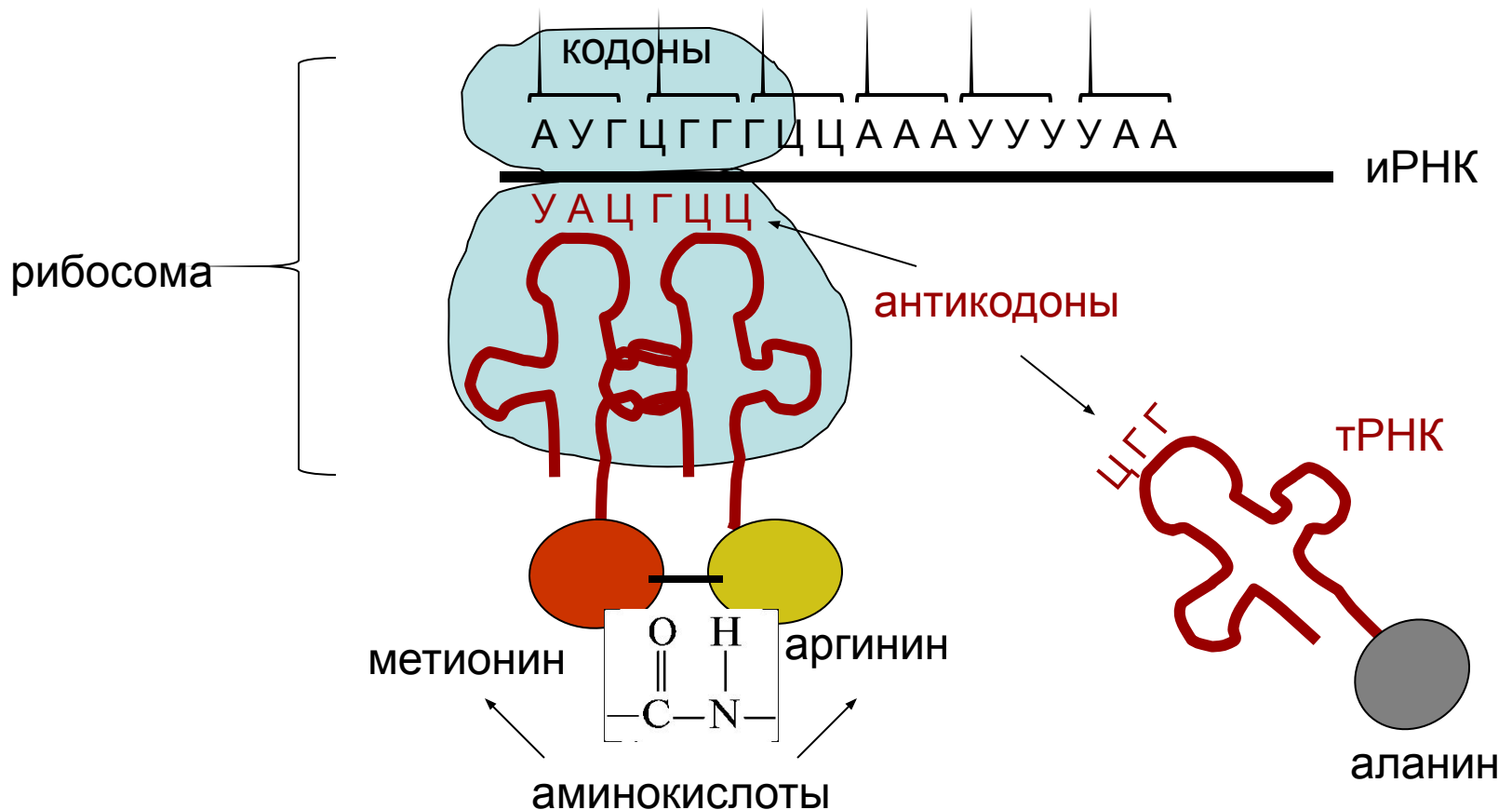
2. Элонгация. У рибосомы формируется функциональный центр

В нем различают **Р** и **А** сайты. Первый (стартовый) кодон для метионина находится в Р-сайте (пептидильном), а второй (он может быть любым) – в А-сайте (аминоацильном).

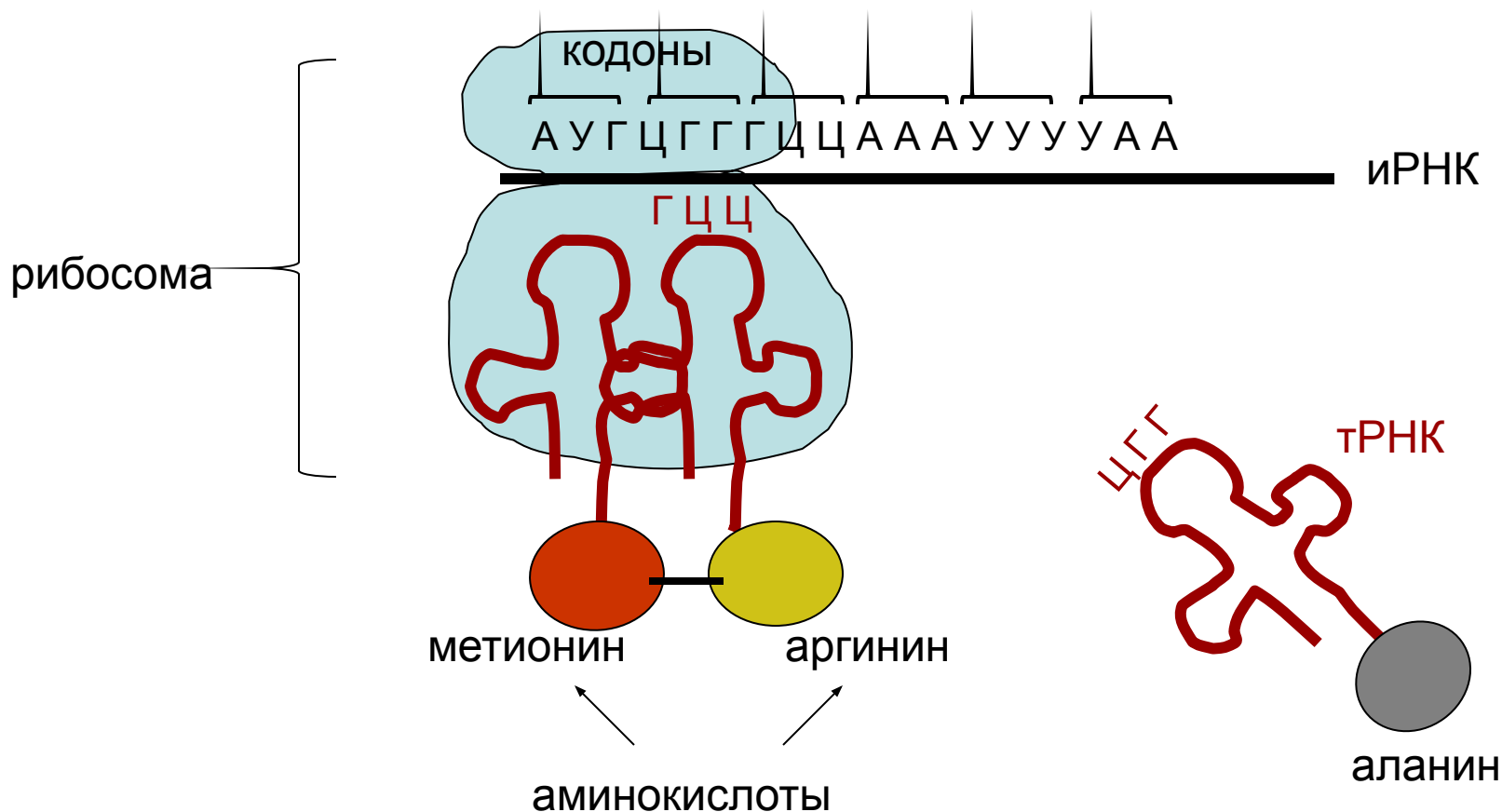
Иногда еще выделяют **Е-сайт** (от Exit – выход) – место выхода тРНК из рибосомы



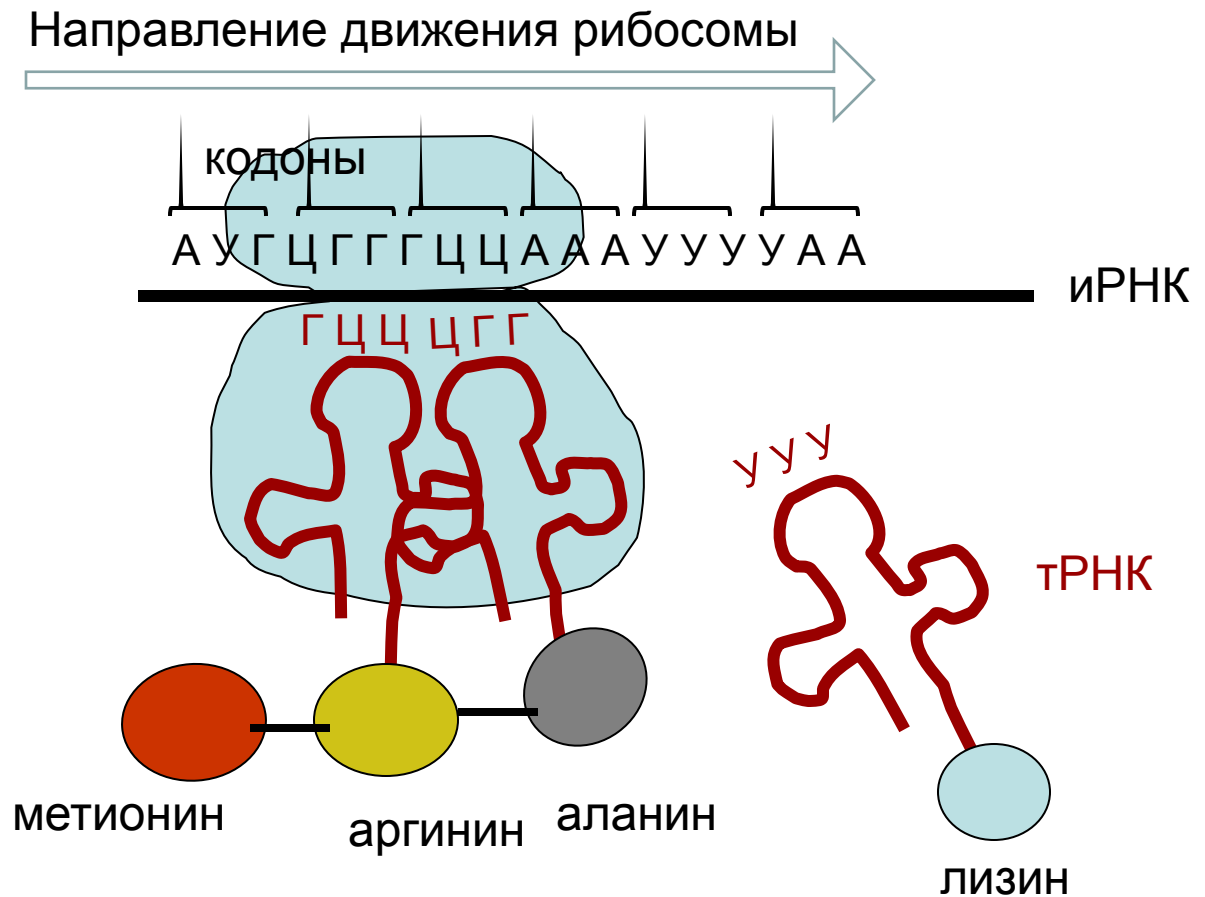
2. Элонгация. Между аминокислотами возникает пептидная связь — CO-NH



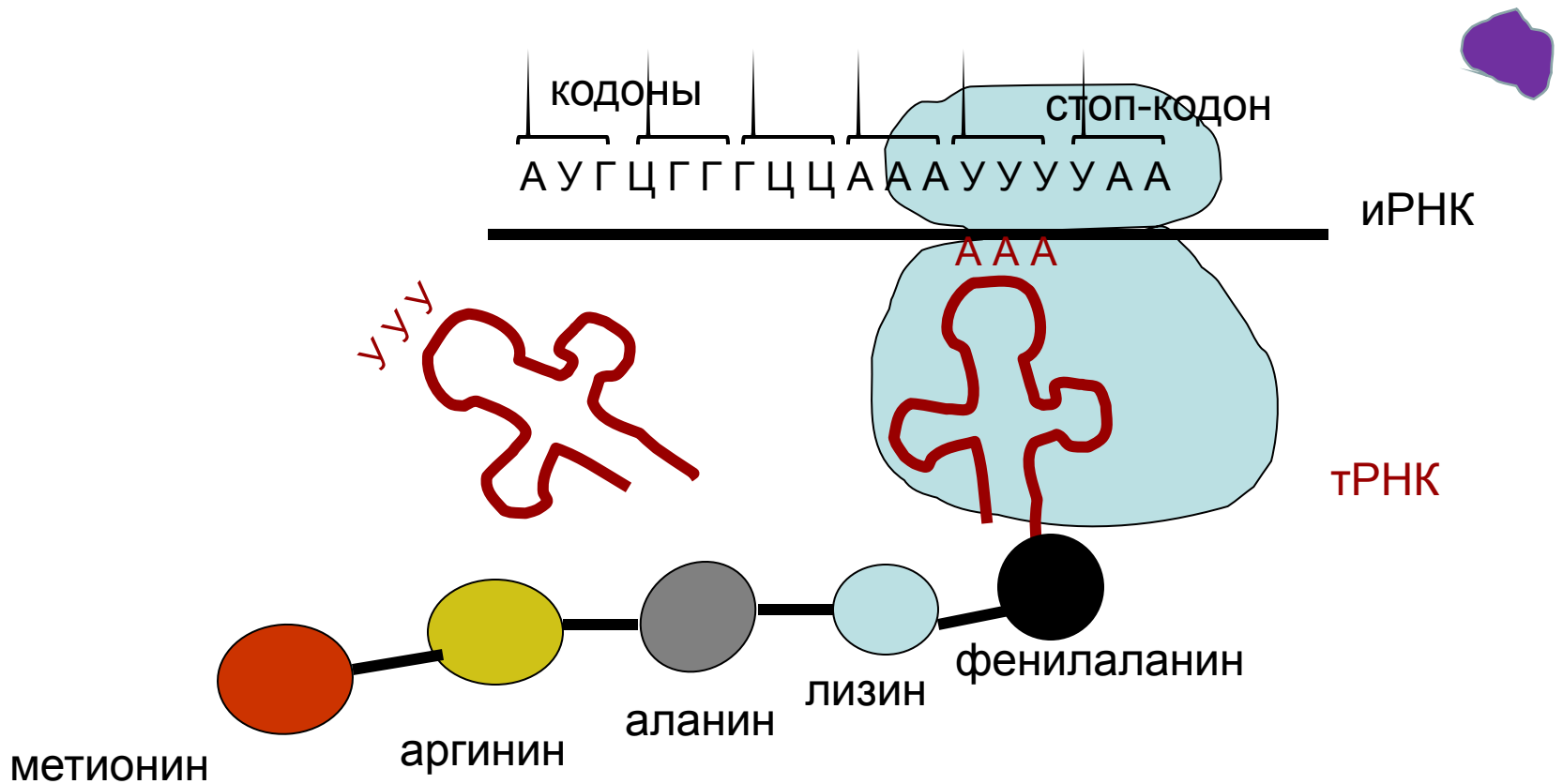
2. Элонгация. После образования пептидной связи тРНК уходит, а рибосома сдвигается на 1 триплет, что называется **транслокацией** рибосомы.



2. Элонгация. Подходят новые тРНК, образуются пептидные связи, рибосома движется вдоль иРНК...

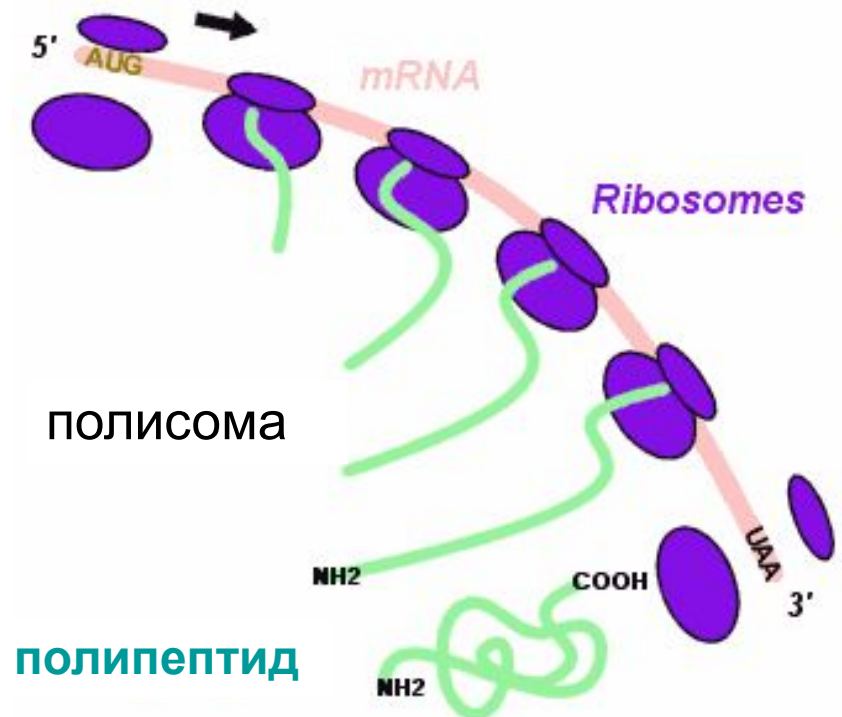
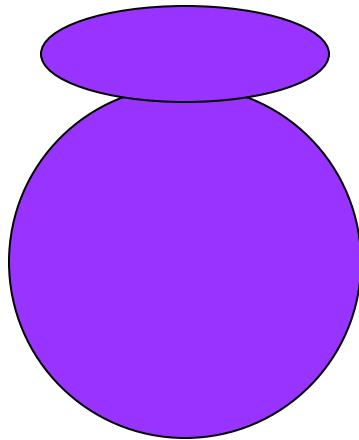


3. Терминация. Когда в А-участке оказывается один из трех возможных **стоп-триплетов** трансляция заканчивается



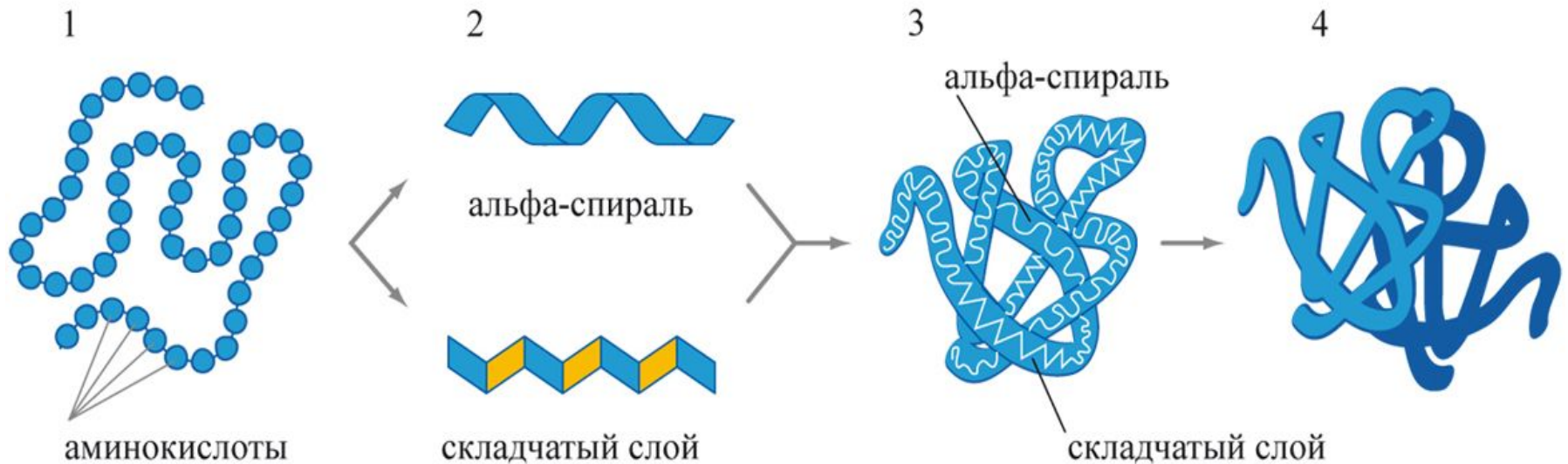
Рибосома вновь распадается на субъединицы

В синтезе длинного полипептида может участвовать несколько рибосом. Они образуют **полисому**



4. Процессинг белка.

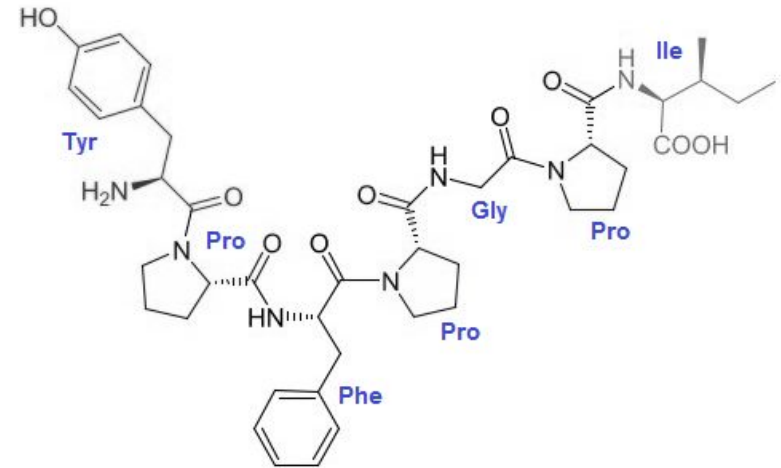
В ходе трансляции образуется полипептид (цепь аминокислотных остатков) - это первичная структура белка. Затем белок обретает вторичную, третичную и четвертичную структуру.



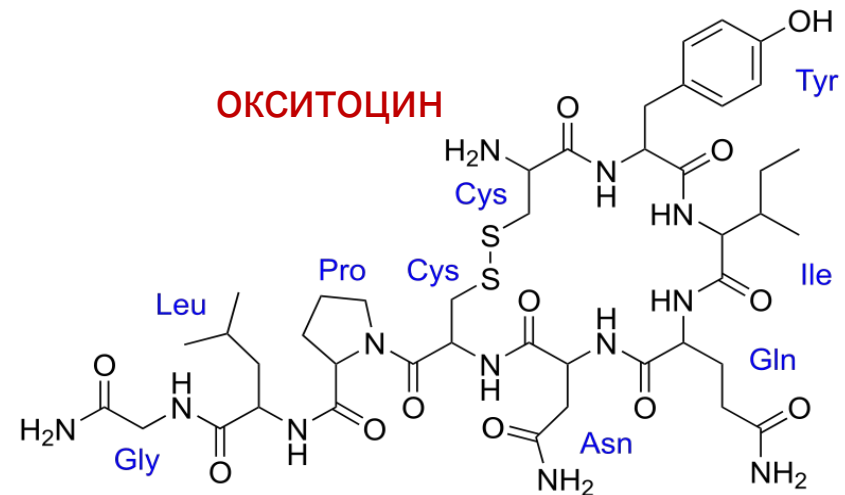
Пептиды короче 10-20 аминокислотных остатков могут также называться **олигопептидами**, при большей длине они называются **полипептидами**. **Белками** обычно называют полипептиды, содержащие более 50 аминокислотных остатков.

Примеры малых пептидов:

- соединения, обладающие гормональной активностью (глюкагон, окситоцин, вазопрессин и др.);
- вещества, регулирующие пищеварительные процессы (гастрин, желудочный ингибирующий пептид и др.);
- пептиды, регулирующие аппетит (эндорфины, нейропептид-Υ, лептин и др.);
- соединения, обладающие обезболивающим эффектом (опиоидные пептиды);
- пептиды, которые регулируют артериальное давление и тонус сосудов (ангиотензин II, брадикинин и др.).
- пептиды, которые обладают противоопухолевым и противовоспалительным свойствами (луназин)

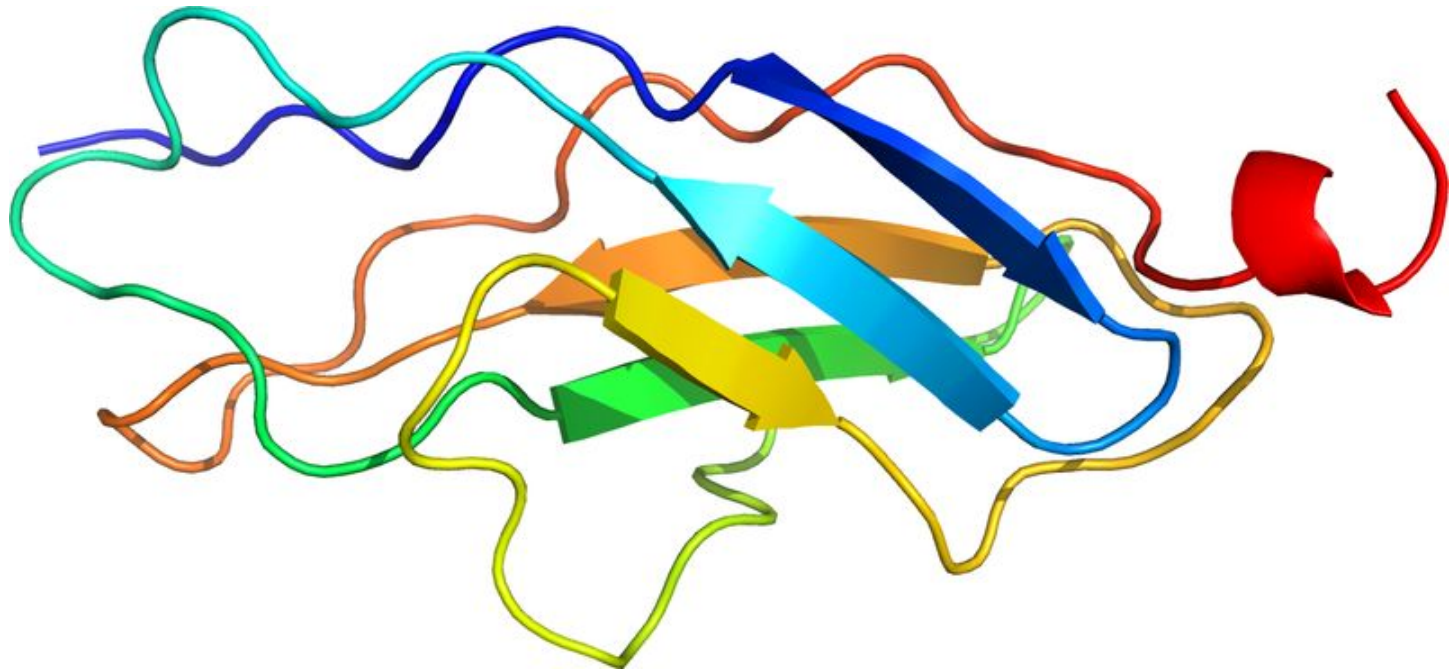


казиморфин молока



ОКСИТОЦИН

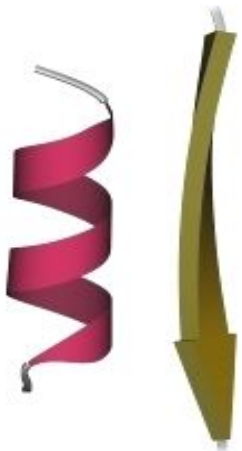
Примеры белков:самый большой известный белок – ТИТИН,



также известный как тайтин или коннектин — самый большой из одиночных полипептидов. Он играет важную роль в процессе сокращения поперечно-полосатых мышц. Ген **титина** содержит самое большое количество экзонов - **364**. Молекулярная масса белка равна приблизительно **2 993 442 763** а.е.м. Эмпирическая химическая формула этого белка — $C_{132983}H_{211861}N_{36149}O_{40883}S_{693}$. Нужно почти 3,5 часа для полного произнесения химического названия титина.

Процессинг индивидуален у каждого белка

Первичная ... – *Gly – Val – Tyr – Gln – Ser – Ala – Ile – Asn – Lys – Ala* – ...



α

β

Вторичная



Третичная



Четвертичная

Фолдинг – приобретение белком его трехмерной структуры.

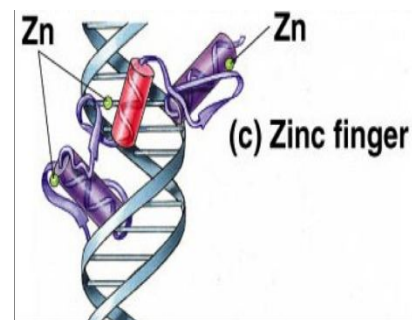
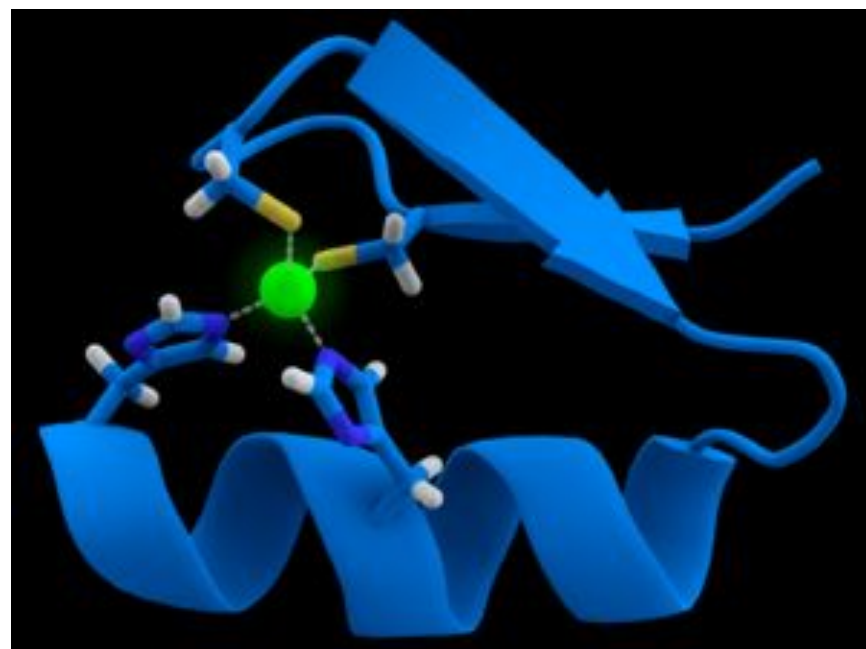
К основным реакциям процессинга белков относятся:

1. **Удаление** с N-конца метионина или даже нескольких аминокислот.
2. Образование **дисульфидных мостиков** между остатками цистеина.
3. **Частичный протеолиз** – удаление части пептидной цепи, как в случае с инсулином или протеолитическими ферментами ЖКТ.
4. Присоединение **химической группы** к аминокислотным остаткам :
 - **фосфорной** кислоты – например, фосфорилирование по аминокислотам Серину, Треонину, Тирозину используется при регуляции активности белков или для связывания ионов кальция,
 - **метильной** группы – например, метилирование аргинина и лизина в составе гистонов используется для регуляции активности генов,
 - **гидроксильной** группы – например, присоединение OH-группы к лизину и пролину необходимо для созревания молекул коллагена.
5. Включение **простетической группы**: **гема** – например, при синтезе гемоглобина, миоглобина,
6. **Объединение пептидных цепей** в единый белок (четвертичная структура), например, гемоглобин, коллаген.

Примеры белков: цинковые пальцы

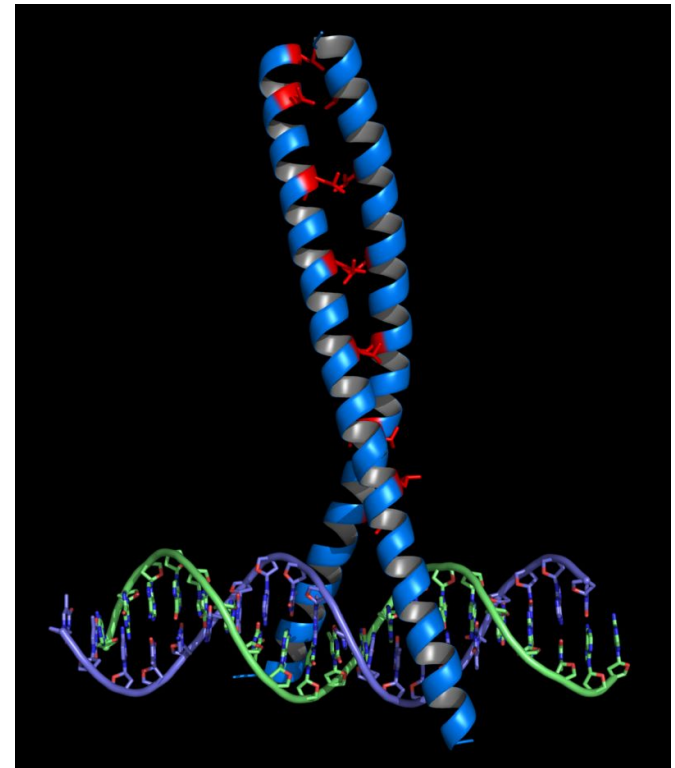
Цинковый палец (англ. *zinc finger*) — тип белковой структуры, небольшой белковый мотив, стабилизированный одним или двумя ионами цинка, связанными координационными связями с аминокислотными остатками белка. Как правило, цинковый палец включает около 20 аминокислот, ион цинка связывает 2 гистидина и 2 цистеина. Цинковые пальцы являются белковыми модулями, взаимодействующими с ДНК, РНК и другими белками или небольшими молекулами.

Основными группами белков с цинковыми пальцами являются ДНК-связывающие факторы транскрипции.



Примеры белков: лейциновая молния

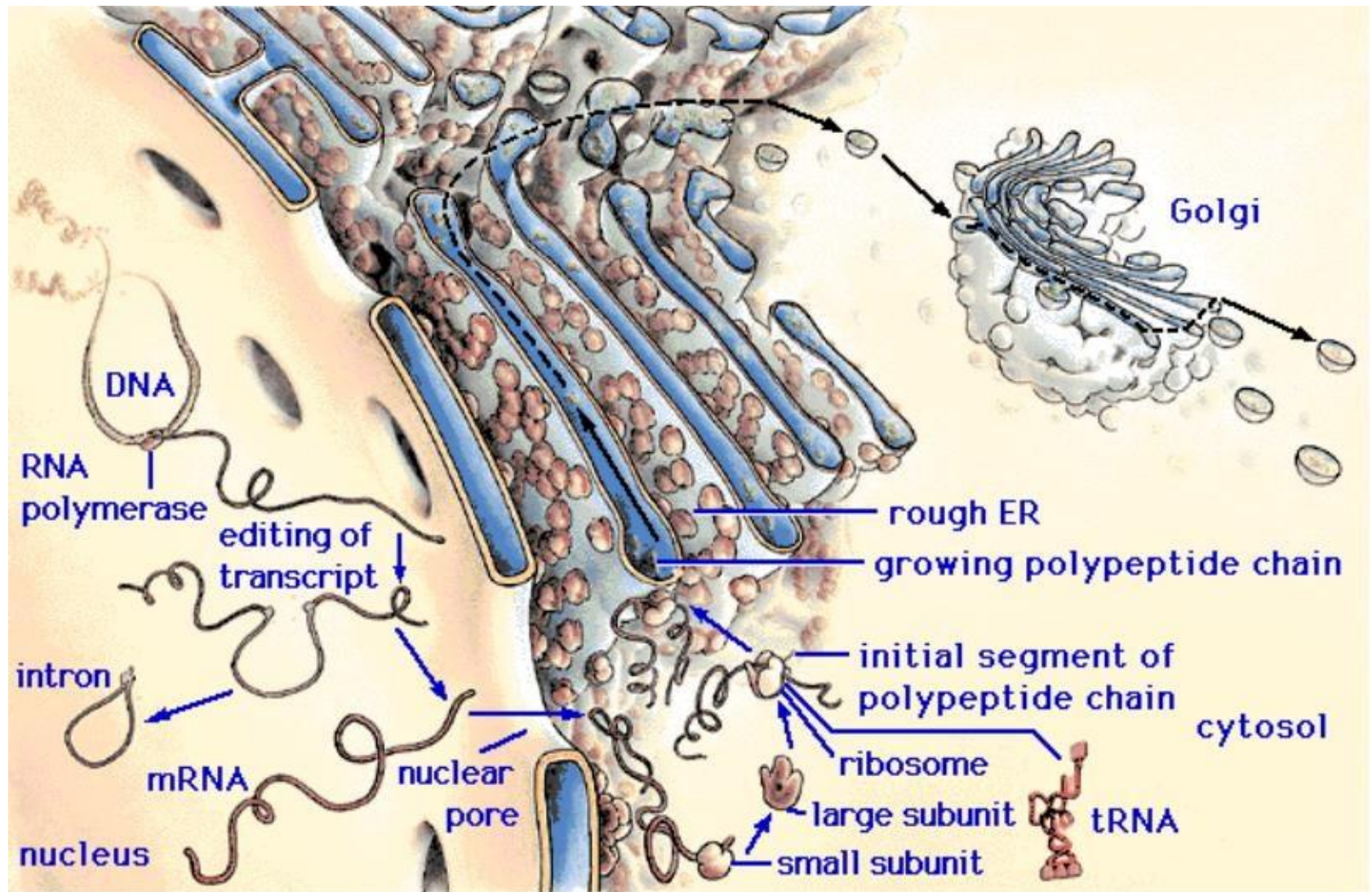
Лейциновая застёжка-молния (также *лейциновая застёжка*, *лейциновая молния*, англ. *leucine zipper*) — тип белковой структуры, белковый мотив. В лейциновой застёжке аминокислота лейцин находится приблизительно в каждом 8-м положении альфа-спирали, в результате чего лейциновые остатки оказываются на одной её стороне, образуя спираль, в которой одна сторона обладает гидрофобными свойствами. Лейциновая застёжка образует димерный белок благодаря связыванию двух параллельных альфа-спиралей подобно застёжке-молнии (отчего так названа). **Часто встречается в ДНК-связывающих факторах транскрипции.**



Фолдинг белков

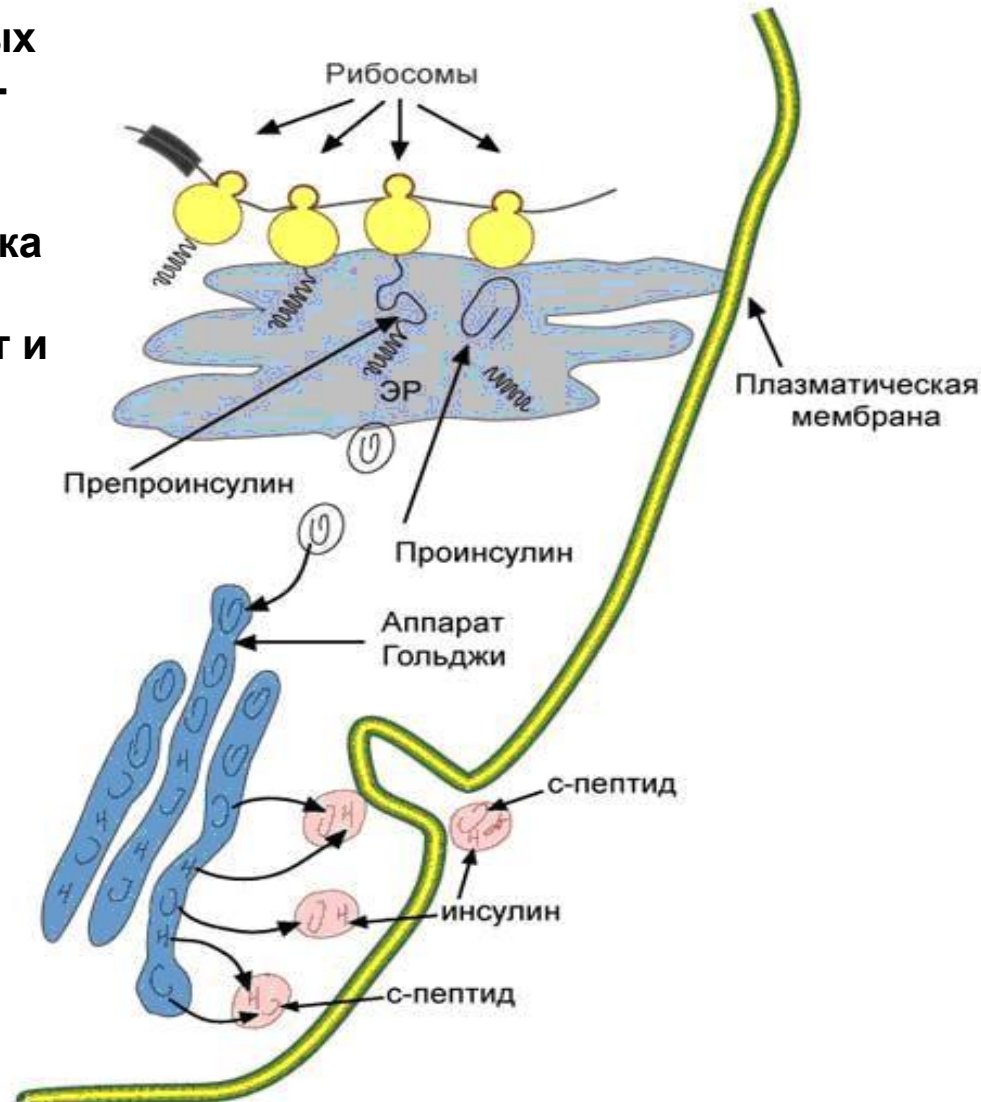
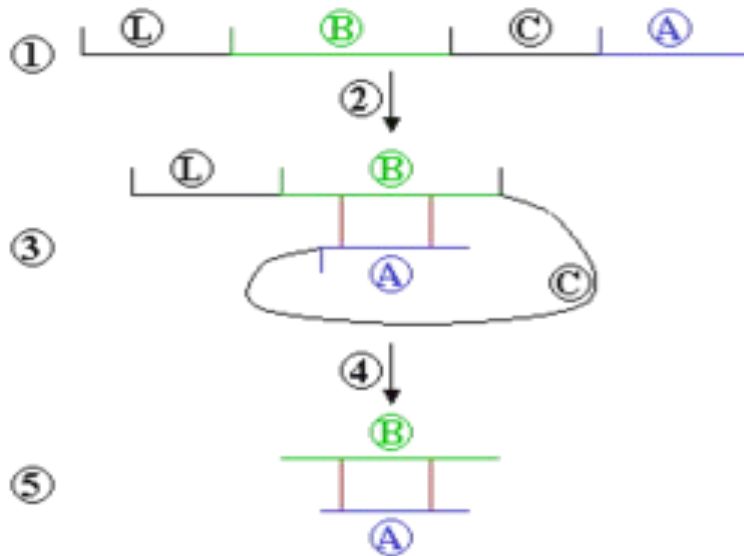
Фолдинг – это процесс укладки вытянутой полипептидной цепи в правильную трехмерную структуру. Для обеспечения фолдинга используется группа белков под названием **шапероны** (*chaperon*, франц. – спутник, нянька). **Шаперон — одно из названий наставника и помощника молодого человека или девушки, когда последним требуется поддержка со стороны.** Шапероны способствуют переходу структуры белков от первичного уровня до третичного и четвертичного. При нарушении функции шаперонов и в отсутствии фолдинга в клетке формируются **белковые отложения** – развивается **амилоидоз**.

Путь секретирuемого белка лежит через каналы ЭПС к аппарату Гольджи

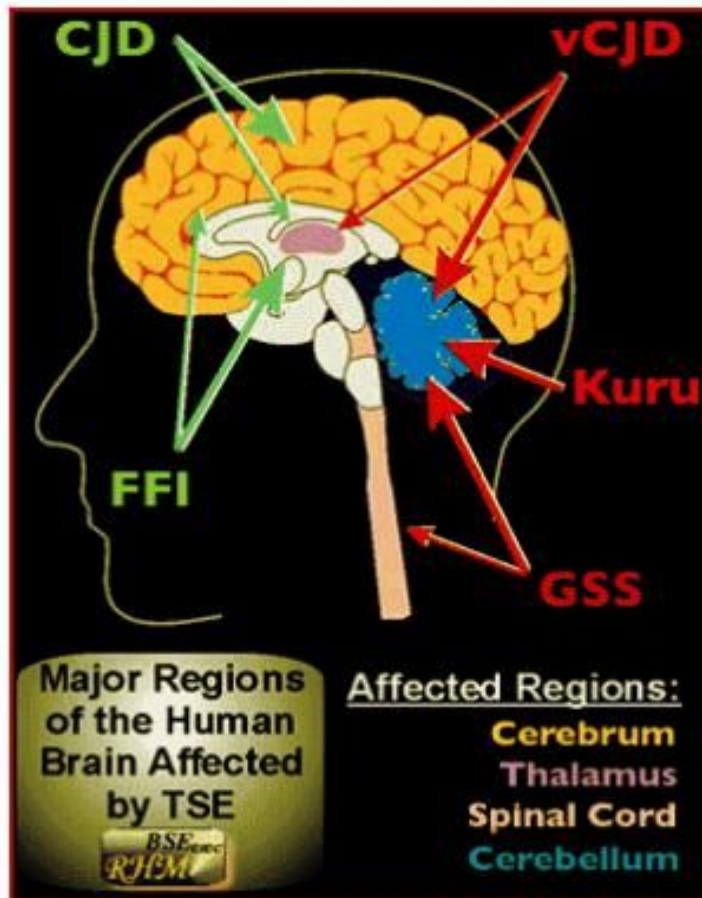


Пример: процессинг инсулина

- 1) Препроинсулин, 110 аминокислотных остатков (L — лидерный пептид, В — участок, С — участок, А — участок).
- 2) Фолдинг
- 3) Образование дисульфидного мостика между А и В
- 4) Лидерный пептид из 24 аминокислот и С-пептид из 31 аминокислоты отрезаются
- 5) Конечная молекула

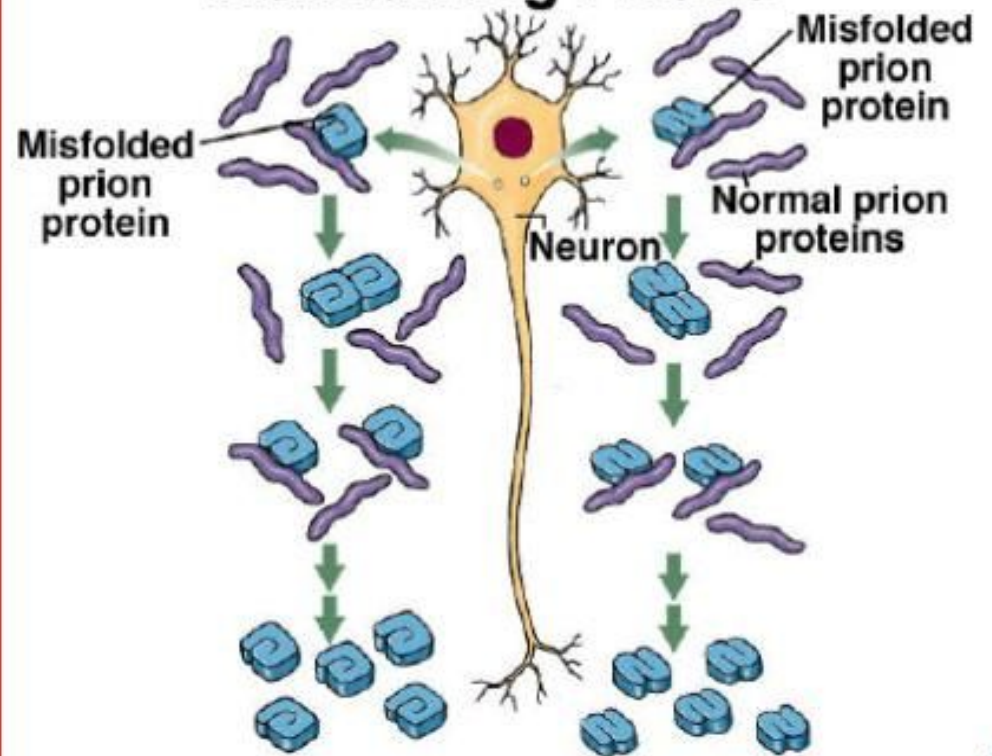


Прионы — антишапероны



Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

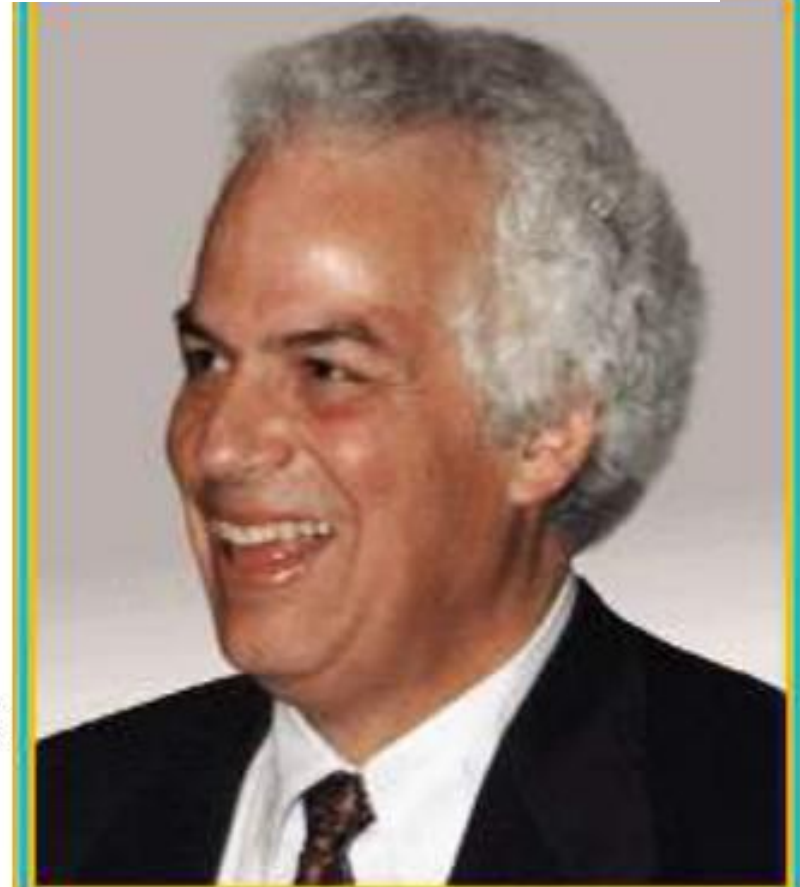
Maintaining Prions



Неправильный фолдинг и прионные болезни

Причина куру, скрепи, болезни Крейцфельда-Якоба заключается в присутствии **ненормальной формы нормального белка**, называемой **прионом**. Таким образом мы можем рассматривать **прионы как антишапероны**.

Идея рассмотрения белков в качестве инфекционных агентов принадлежит **Stan Prusiner**.

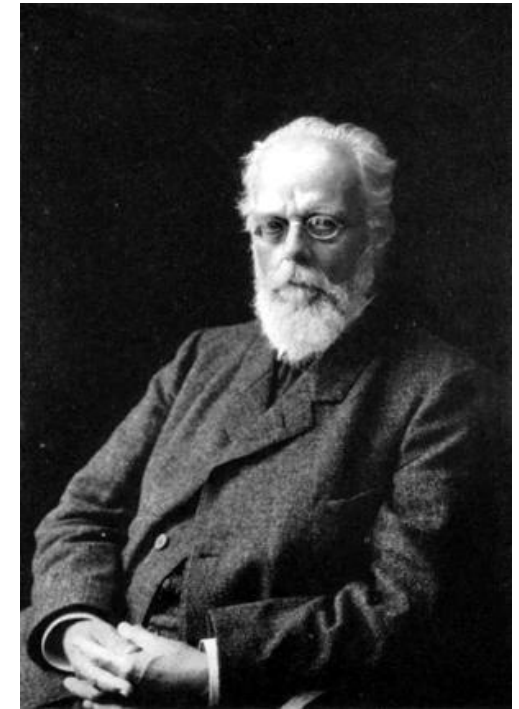


Регуляция экспрессии генов у эукариот

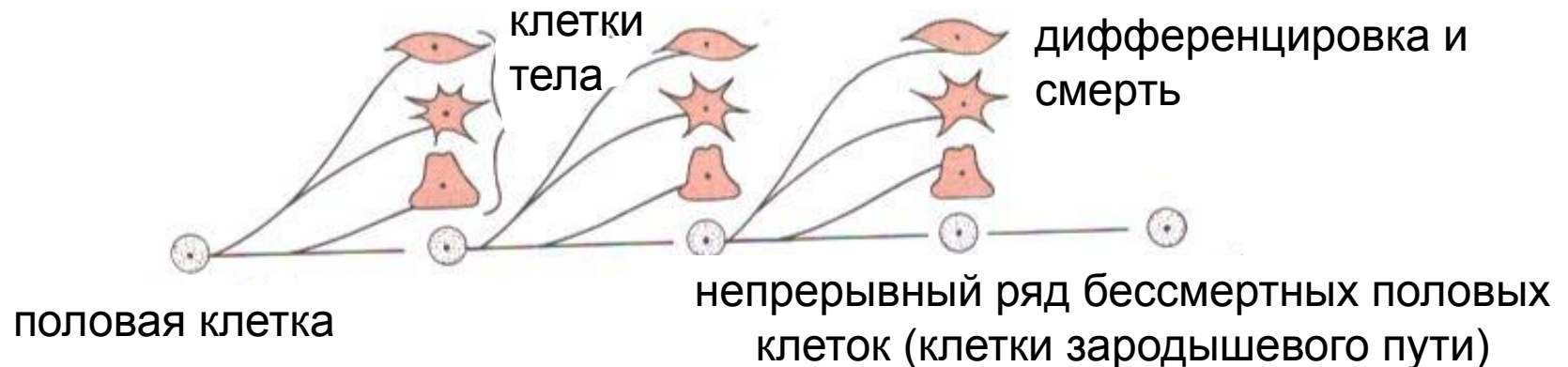
История вопроса

XIX век. Август Вейсман и теория детерминант

Вейсман думал, что весь набор дискретных факторов – «детерминантов» - имеют лишь клетки т.н. «зародышевого пути». В одни из клеток «сомы» (тела) попадают одни детерминанты, в другие – иные. Различия в наборах детерминант объясняют специализацию клеток сомы.



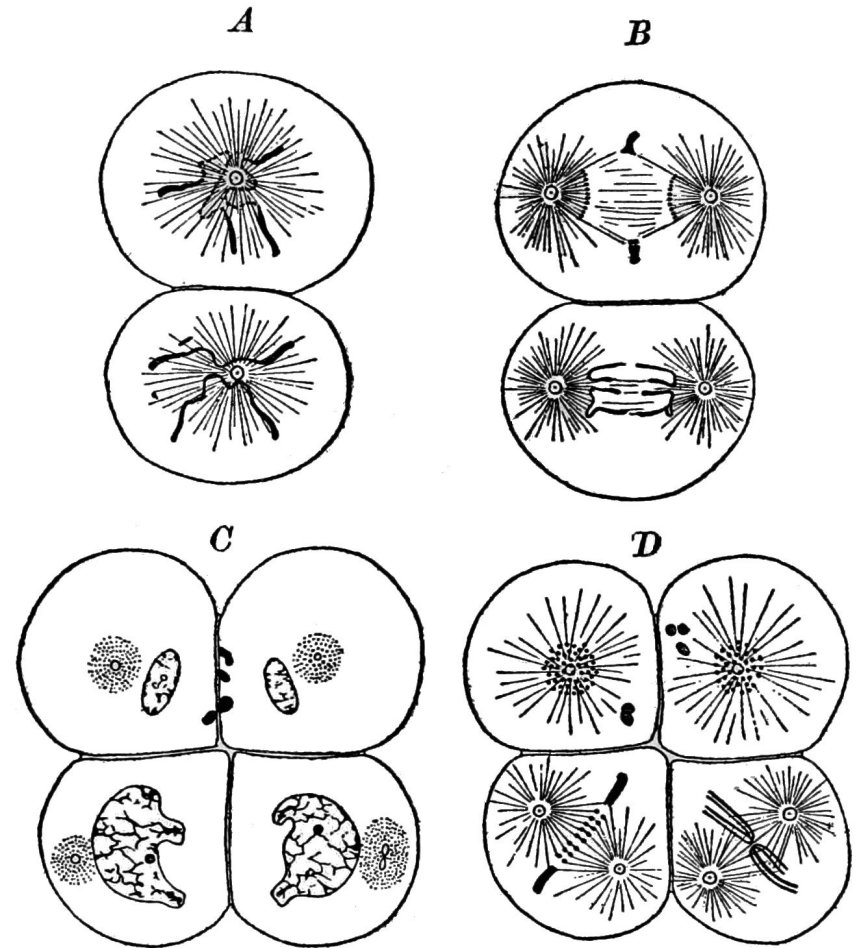
1834 - 1914



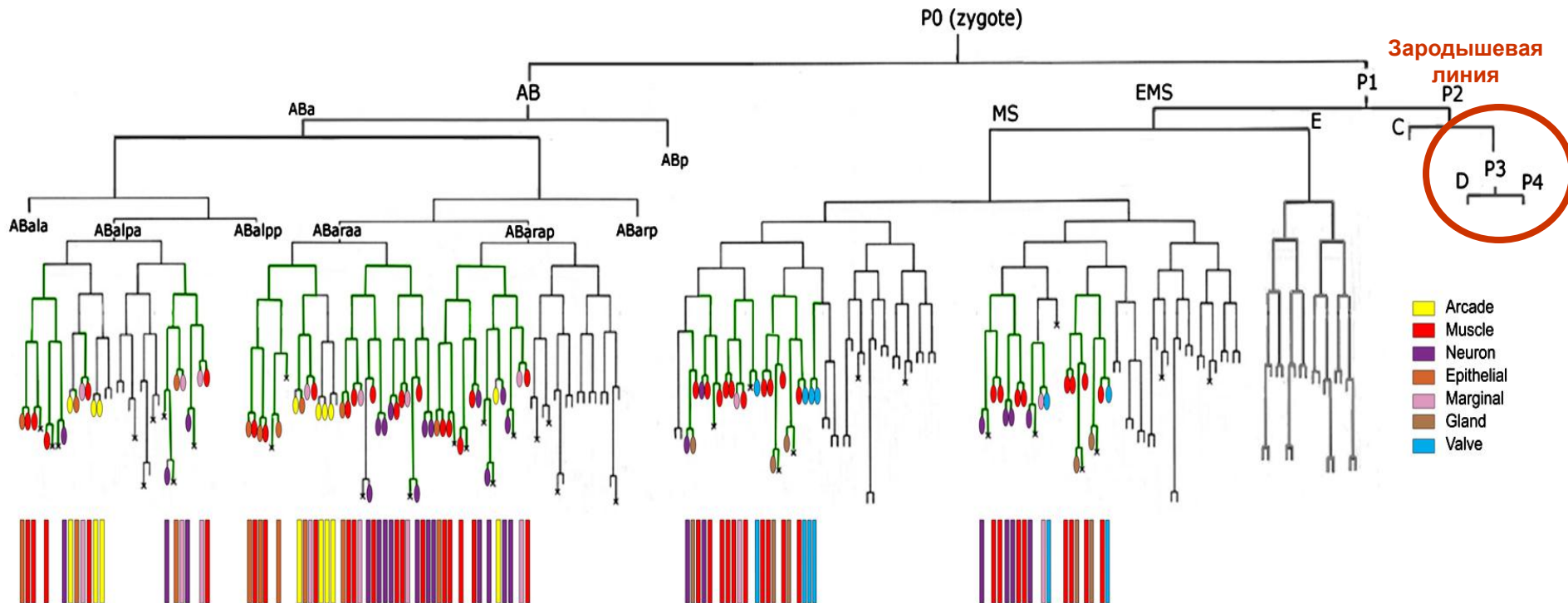
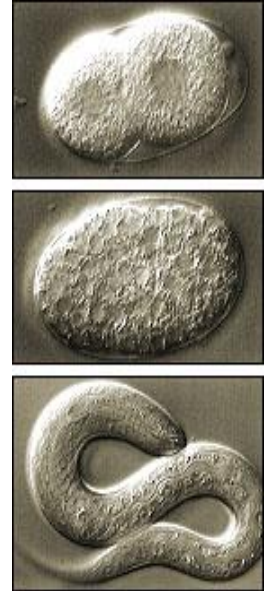
Это справедливо в части случаев: у некоторых червей и членистоногих

Вейсман опирался на данные о том, что в ходе первых делений дробления яиц лошадиной аскариды около 85% ДНК уничтожается в тех бластомерах, которые дадут начало соматическим клеткам. В них хромосомы распадаются на фрагменты. Остающихся 15% ДНК достаточно для функционирования соматических клеток.

В тех же клетках, которые дадут начало гаметам (germ line, зародышевая линия), сохраняется весь генетический материал в виде двух крупных хромосом.



Например, у небольшого круглого червя *Caenorhabditis elegans* точно известно общее число клеток тела (959) и что из чего разовьется.



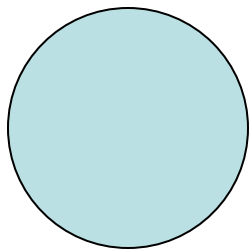
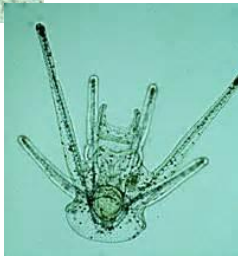
Иначе обстоят дела у большинства других животных, в том числе человека.

Опыты Дриша, доказывающие регуляционное развитие (1892-93гг.)

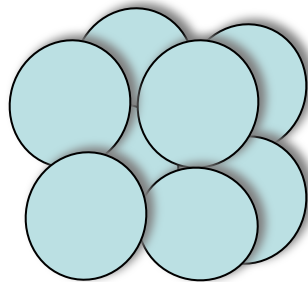
Ганс Дриш энергичным встряхиванием разделял бластомеры морского ежа и получал личинки из каждого бластомера (тотипотентность клеток)



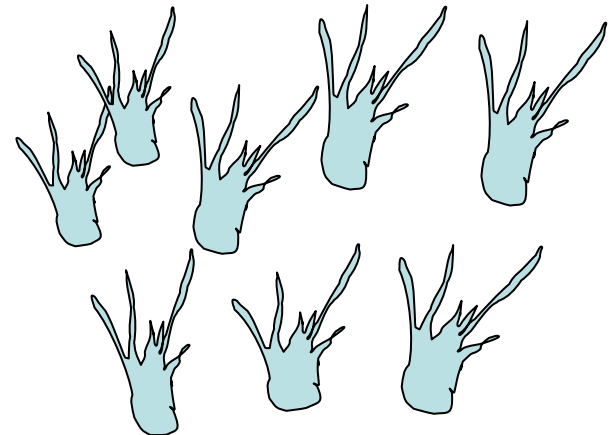
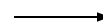
Морской еж и его личинка



Зигота



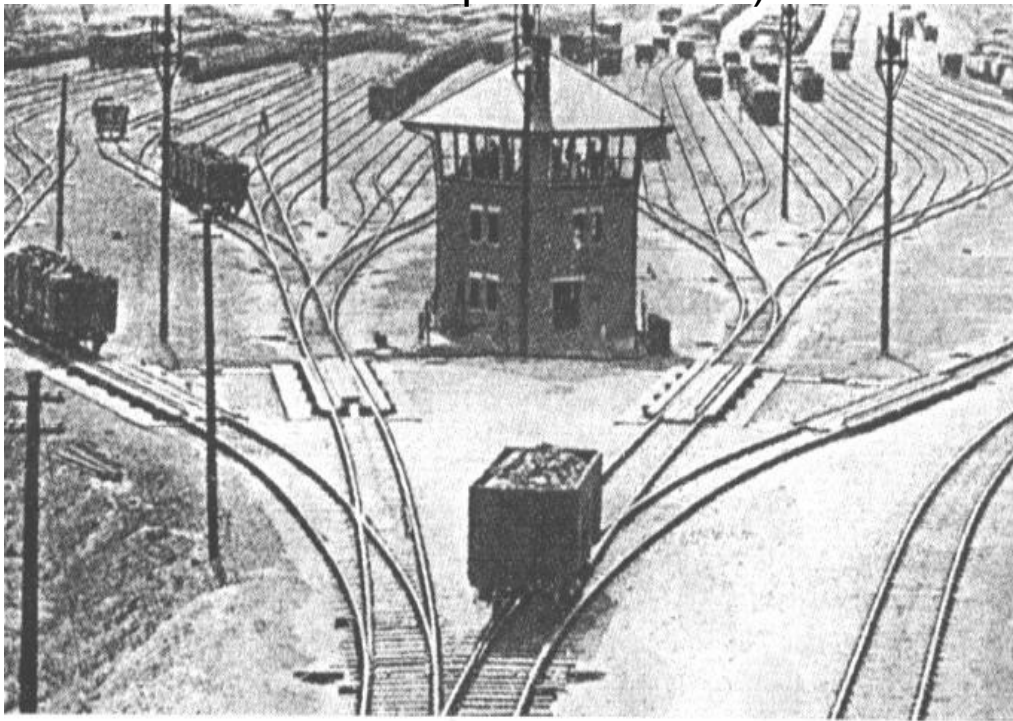
бластомеры



личинки

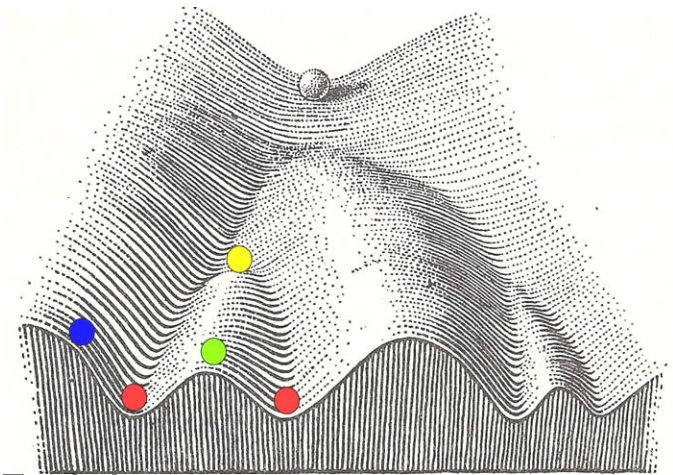
Развитие стали представлять как процесс включения и выключения генов (а не их разрушения, как полагал Вейсман)

Существуют определенные гены, которые «переводят стрелки» (селекторные гены, гены-переключатели)



Фотография сортировочной станции из учебника С. Гилберта «Биология развития»

Судьбу клеток в процессе развития описывает так называемый «эпигенетический ландшафт Уоддингтона»

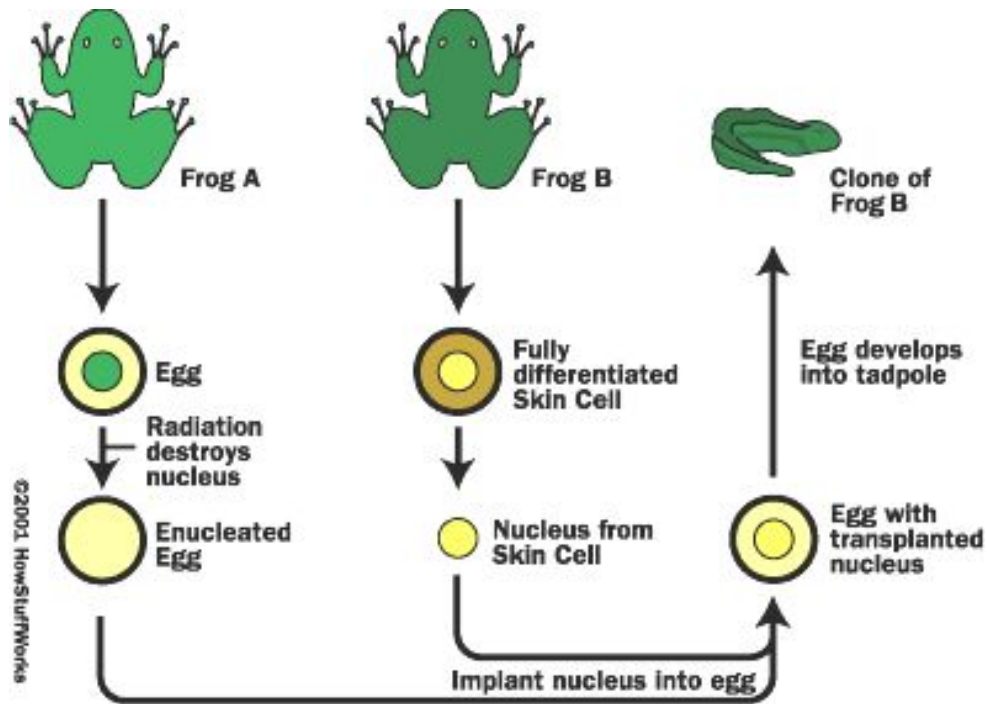


Дифференцировка клеток – попадание в одну из ложбинок на склоне.

В XX века была сформулирована гипотеза дифференциальной активности генов

- Ядро каждой клетки содержит полный набор генов
- В каждой клетке экспрессируются лишь гены, специфичные для данного типа клеток
- Не используемые гены не разрушаются, а лишь выключаются.
- Доказательства этого: опыты по клонированию, исследования политенных хромосом и множество более поздних данных

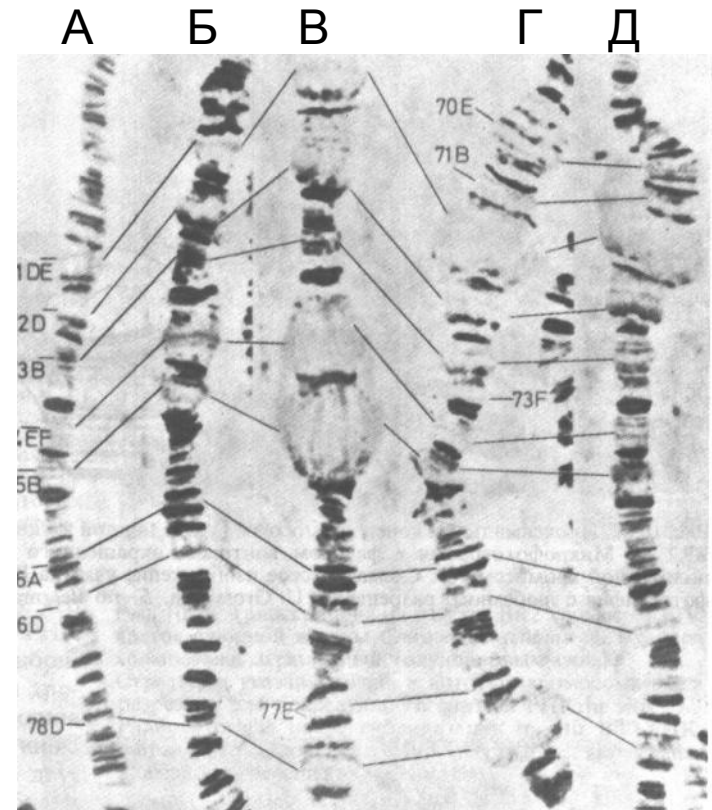
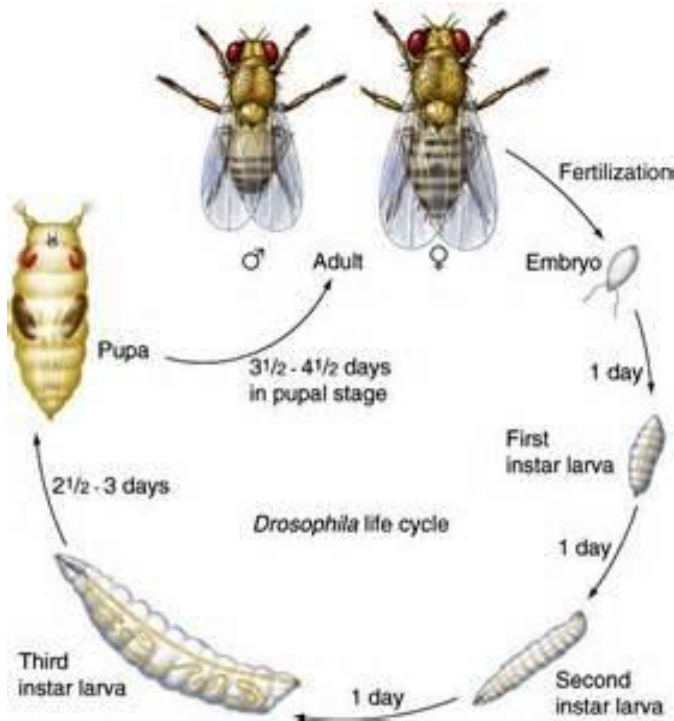
Опыт Джона Гёрдона по клонирование африканской шпорцевой лягушки.



- Гердон проводил опыты в 1960-х годах
- В 1990-х было разработано и клонирование млекопитающих.

Долли (1996 – 2003) с суррогатной мамой

Политенные хромосомы личинок двукрылых



А, Б – личинка в возрасте 110 час. В – 115 час.
Г, Д - две стадии предкуколки с интервалом в
4 часа. Видно, как пuffs (активные гены)
появляются в разных местах

Гены можно разделить на

```
graph TD; A[Гены можно разделить на] --> B[конститутивные, т.е. всегда активные. Их иногда называют «генами домашнего хозяйства»]; A --> C[регулируемые, т.е. включающиеся по сигналу. Их можно назвать «гены роскоши»];
```

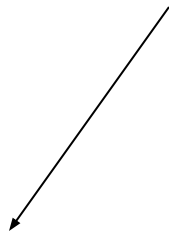
конститутивные, т.е.
всегда активные.

Их иногда называют
«генами домашнего
хозяйства»

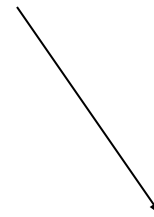
регулируемые, т.
е. включающиеся
по сигналу.

Их можно назвать
«гены роскоши»

Регуляция активности гена



- **Позитивная**
(индукция),
включение



- **Негативная**
(репрессия),
выключение

Регуляция экспрессии генов у прокариот

См. Предыдущую лекцию



РНИМУ
имени Н.И. ПИРОГОВА



Регуляция экспрессии генов у эукариот

РНИМУ
имени Н.И. ПИРОГОВА

Регуляция экспрессии генов у эукариот происходит на всех этапах синтеза белка.

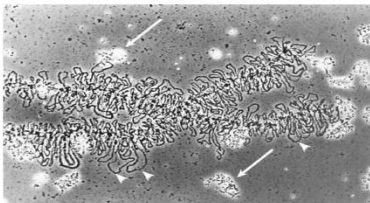
Можно выделить 5 уровней регуляции экспрессии генов у эукариот:

- Изменение число копий генов
- Регуляция транскрипции
- Регуляция процессинга РНК
- Регуляция трансляции на рибосомах
- Регуляция процессинга (пост-трансляционных модификаций) белка

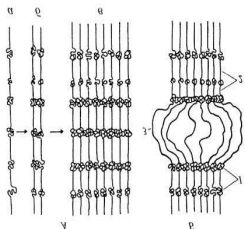
1. Число копий гена

1. Изменение числа копий гена

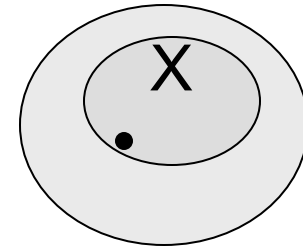
- Увеличение – амплификация. Например, у амфибий синтезируются дополнительные копии генов рРНК в овоцитах



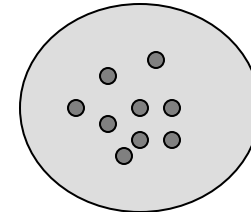
- Политенные хромосомы насекомых – в каждой тысячи молекул ДНК.



- Уменьшение – инактивация гена или всей хромосомы, например, тельце Барра



- Разрушение хромосом или хромосомных наборов (у насекомых, круглых червей)



В выключении X-хромосомы у самок млекопитающих участвует нкРНК

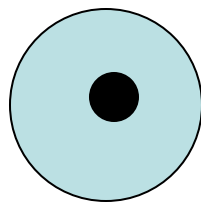
Канадский ученый Барр (1908 – 1995) (и его студент Бертрам) в 1948 году обнаружили в ядрах нервных клеток кошки X-половой хроматин, позже названный **тельцем Барра**.



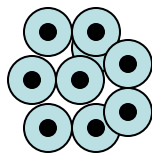
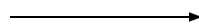
В начале 1960-х годов генетик из Великобритании **Мэри Лайон** выдвинула гипотезу о случайной инактивации X-хромосомы в соматических клетках млекопитающих

Инактивация X-хромосомы у самок млекопитающих

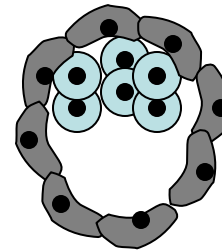
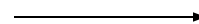
- Это эпигенетический феномен (не определяется генами, происходит в одной из X-хромосом **случайным образом**)
- Начинается на стадии бластулы в клетках внутренней клеточной массы бластоцисты
- За него отвечает ген **Xist** (X-inactive specific transcript), с которого транскрибируется **длинная нкРНК** (17 000 нуклеотидов).



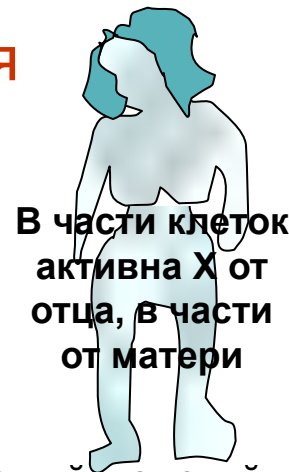
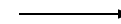
зигота



морула



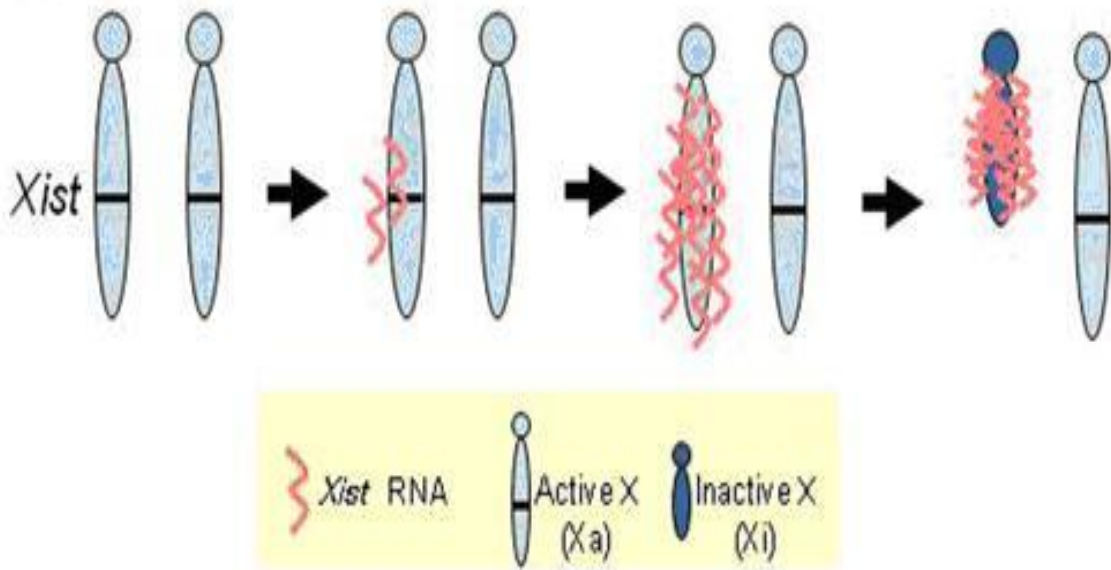
бластоциста



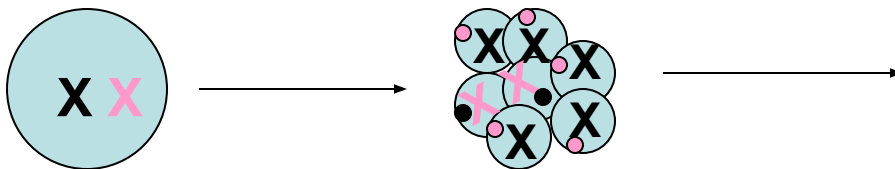
В части клеток активна X от отца, в части от матери

взрослый женский организм - мозаик

Xist РНК окружает ту X хромосому, с которой экспрессируется, и превращает ее в гетерохроматин – тельце Барра



Инактивация X – случайный процесс, но раз возникнув, она передается при делении дочерним клеткам (геномный импринтинг).



2. Транскрипция

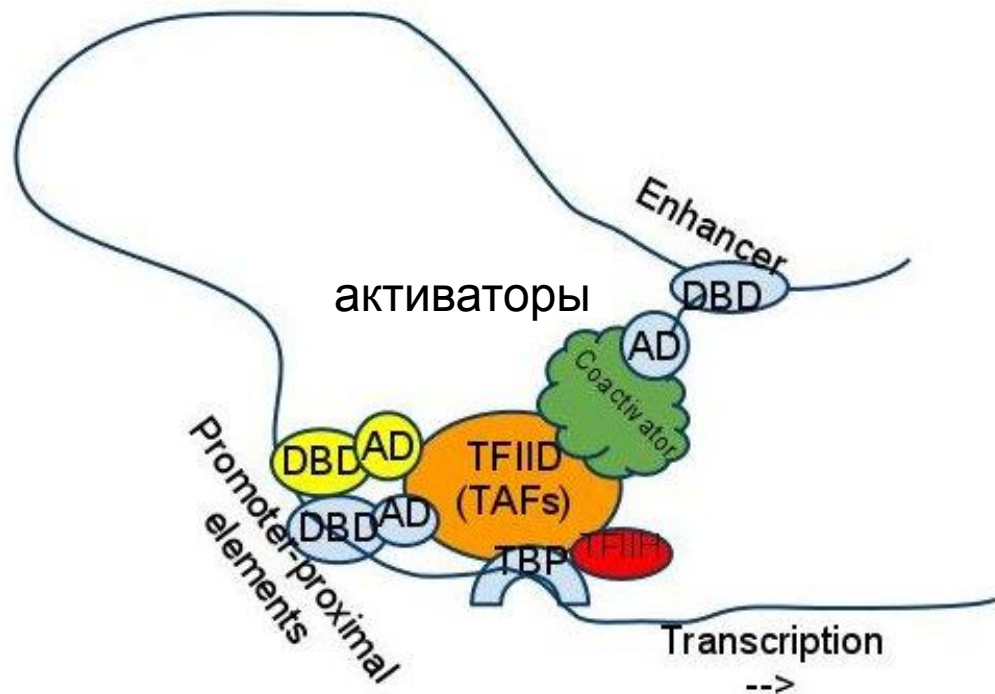
Самый частый уровень регуляции экспрессии гена

2. Регуляция транскрипции

Энхансеры –
усилители –
включают и
усиливают
транскрипцию

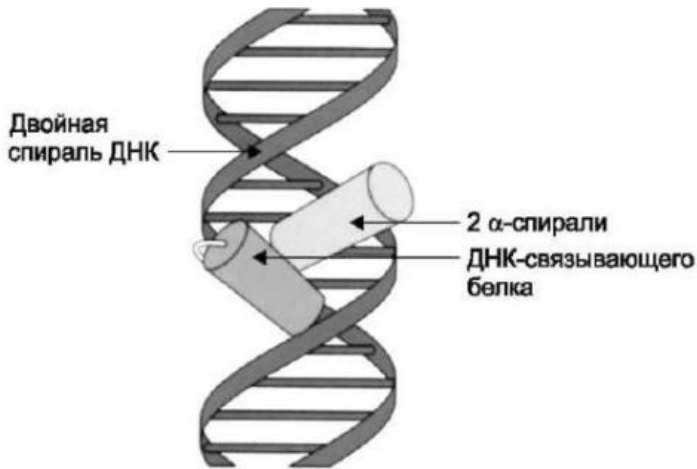
Сайленсеры –
глушители –
подавляют ее

Много белков
принимают в этом
участие



Многие белки благодаря своей конфигурации могут связываться с ДНК (являются регуляторами транскрипции)

- Спираль-петля-спираль (helix-loop-helix)
- Лейциновая молния
- Спираль-поворот-спираль (helix-turn-helix)
- Цинковые пальцы (Zn fingers) и другие

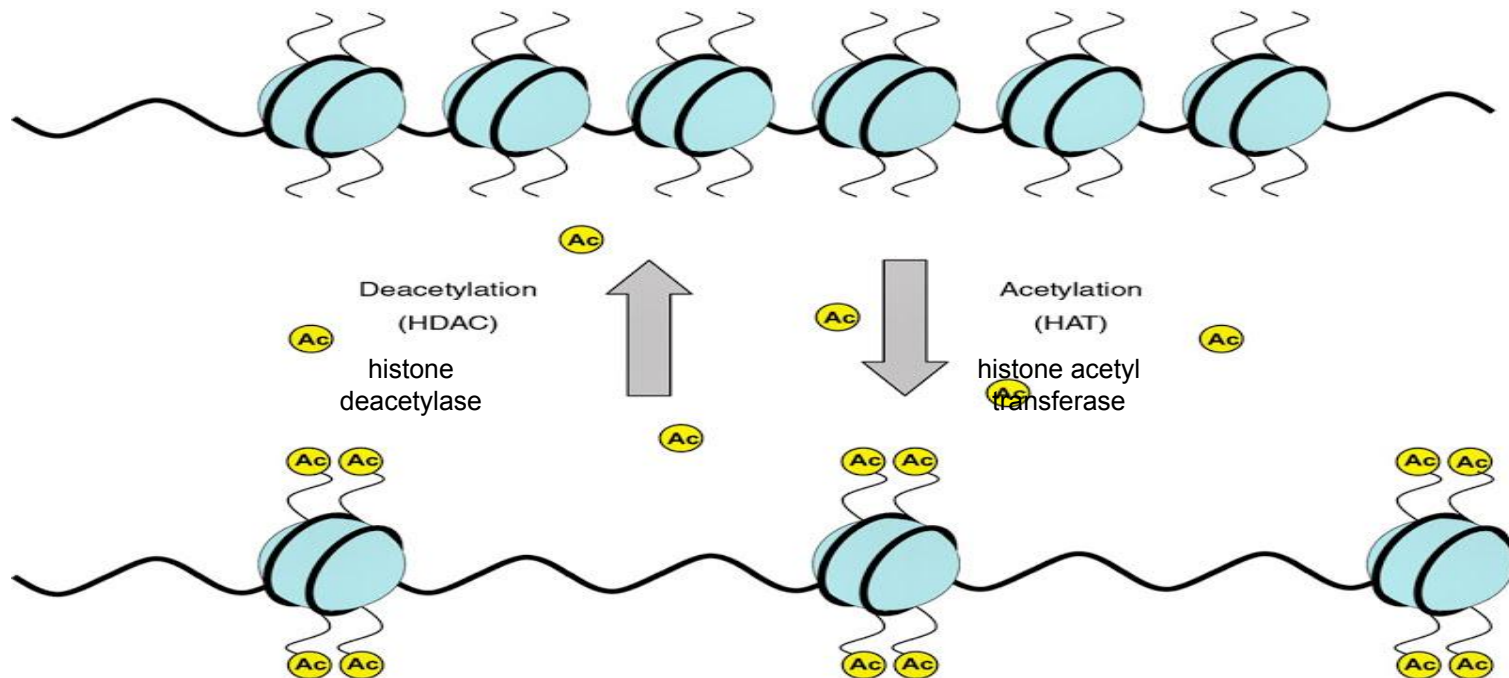


Спираль-поворот-спираль в большой бороздке ДНК

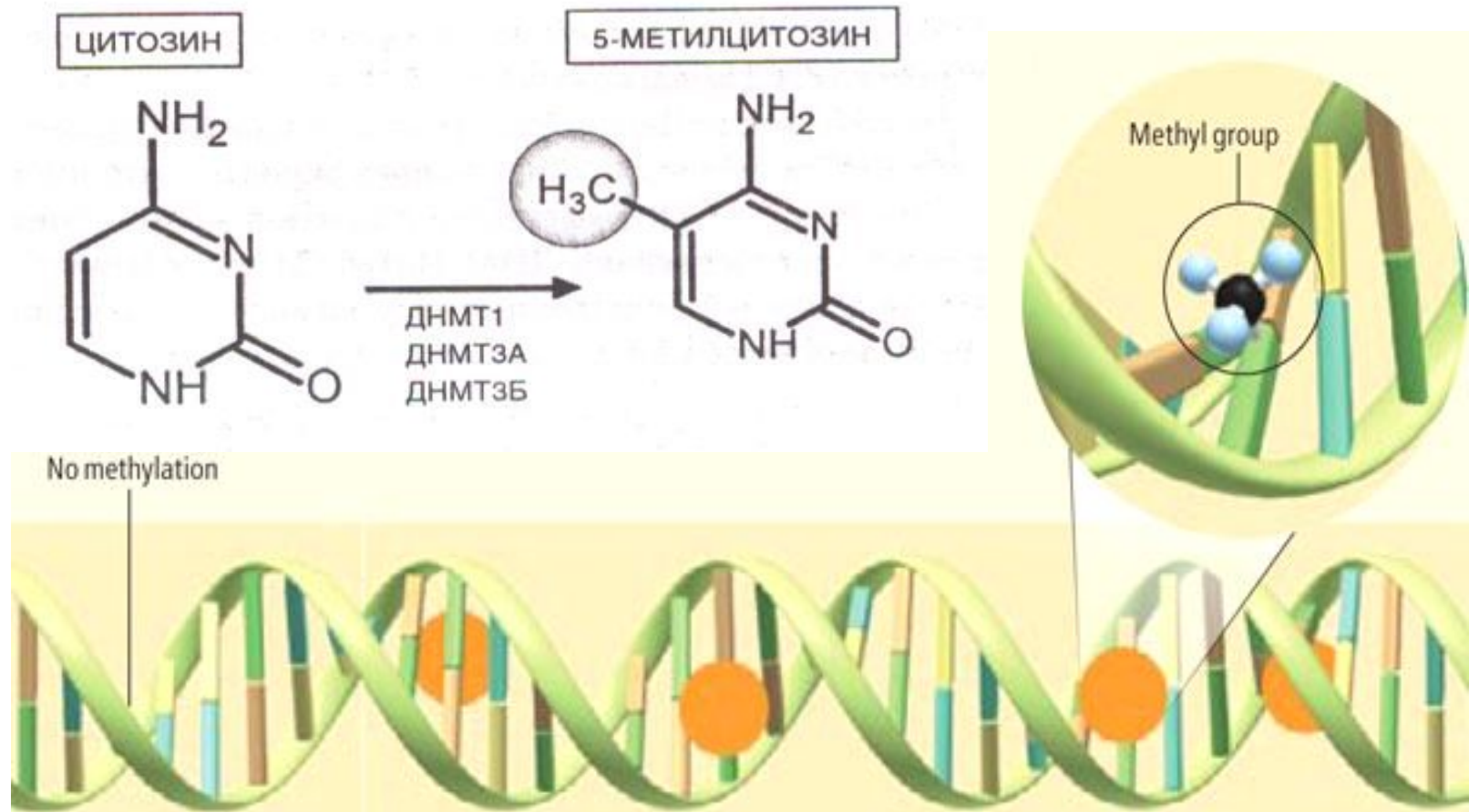


На активность транскрипции влияют
гистоны – белки хромосом

Ацетилирование гистонов ослабляет связь
ДНК с ними и нарушает структуру нуклеосом
– **облегчает транскрипцию.**

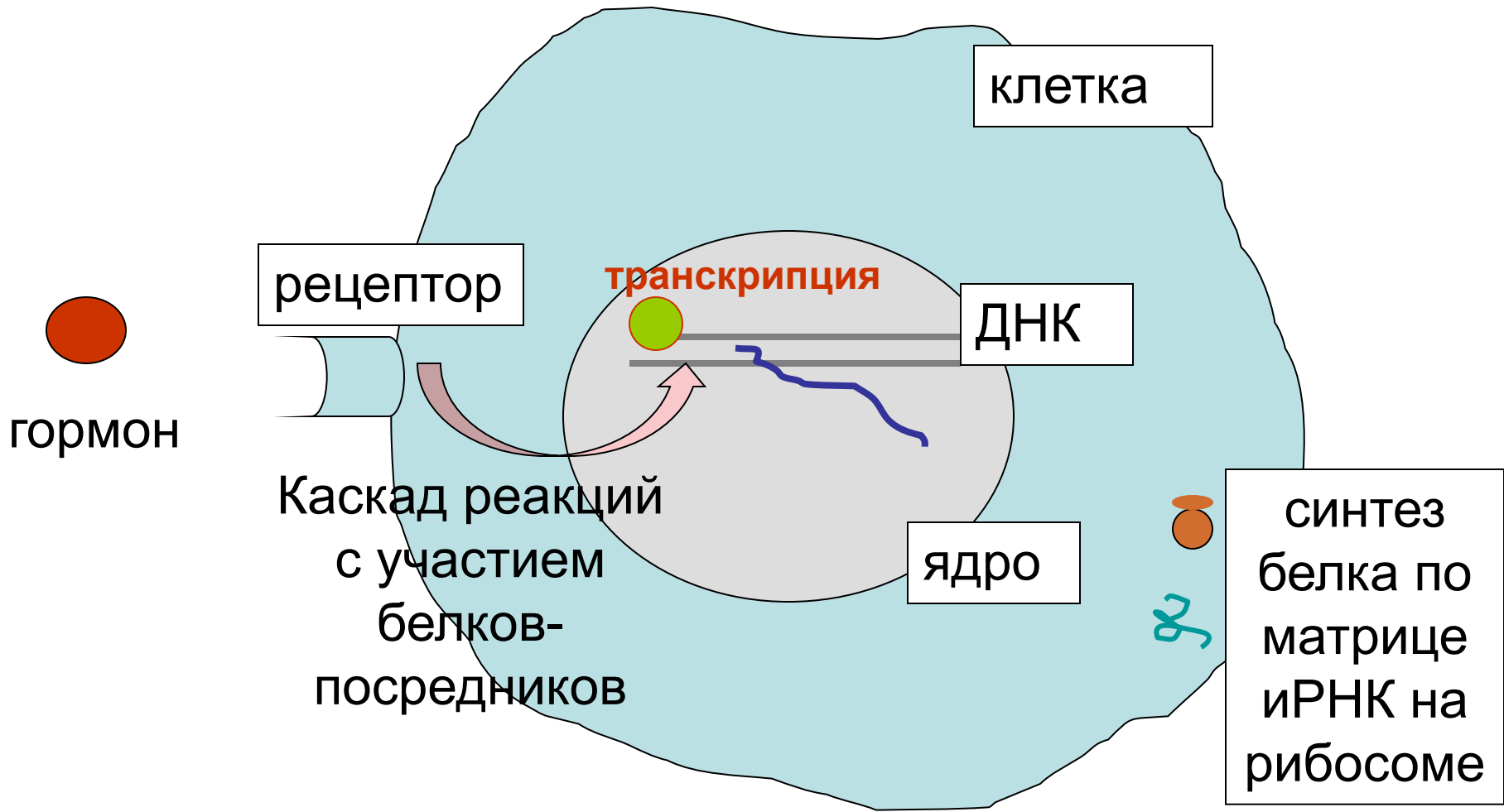


Метилирование цитозина в ДНК, наоборот, подавляет транскрипцию

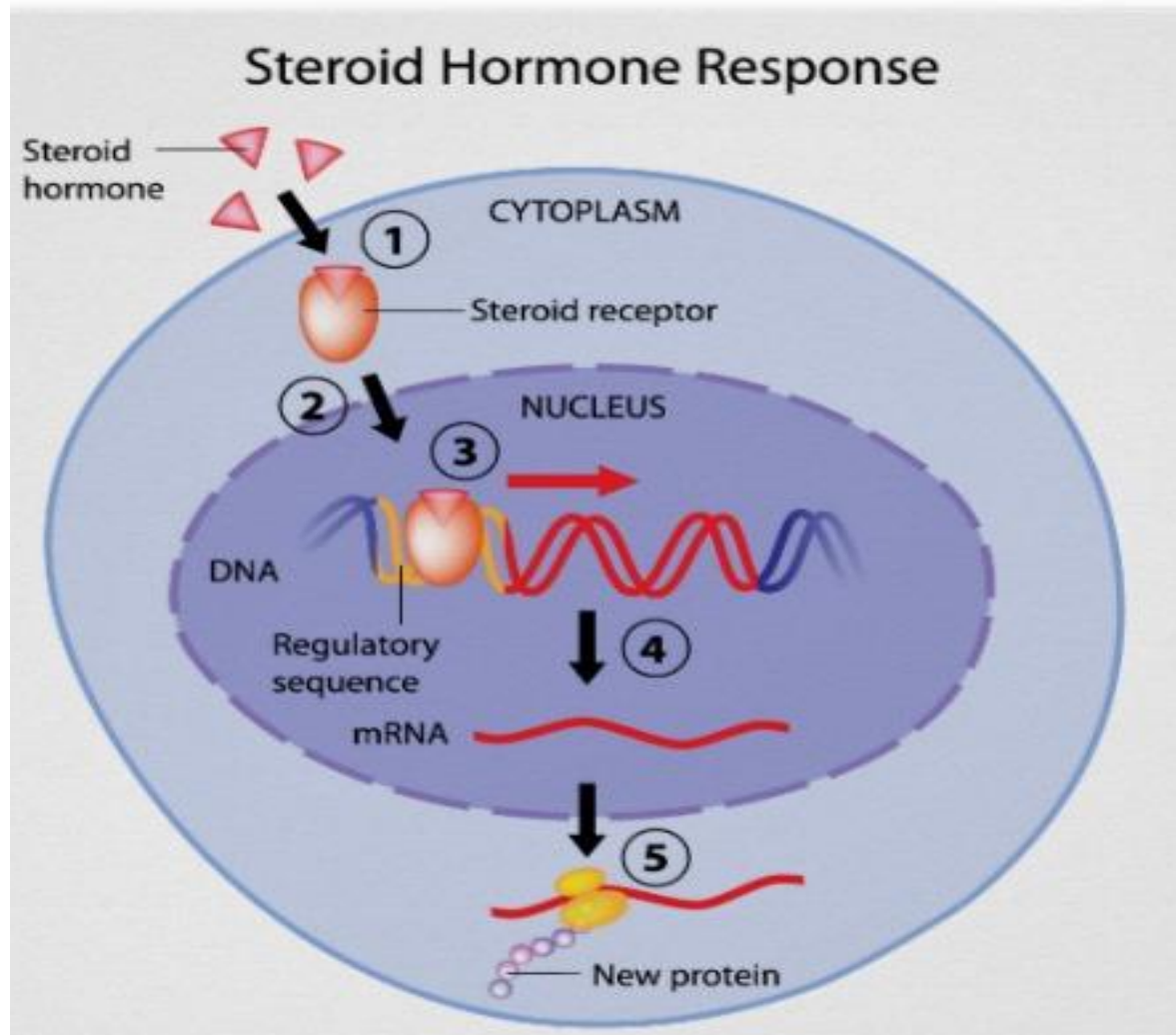


Нет метилирования – активный ген Есть метилирование – ген подавлен

У многоклеточных эукариот в роли регуляторов транскрипции выступают гормоны



Стероидные гормоны в комплексе с рецептором связываются прямо с ДНК



3. Процессинг РНК

Регуляция процессинга РНК

- Альтернативный сплайсинг

Пре-иРНК



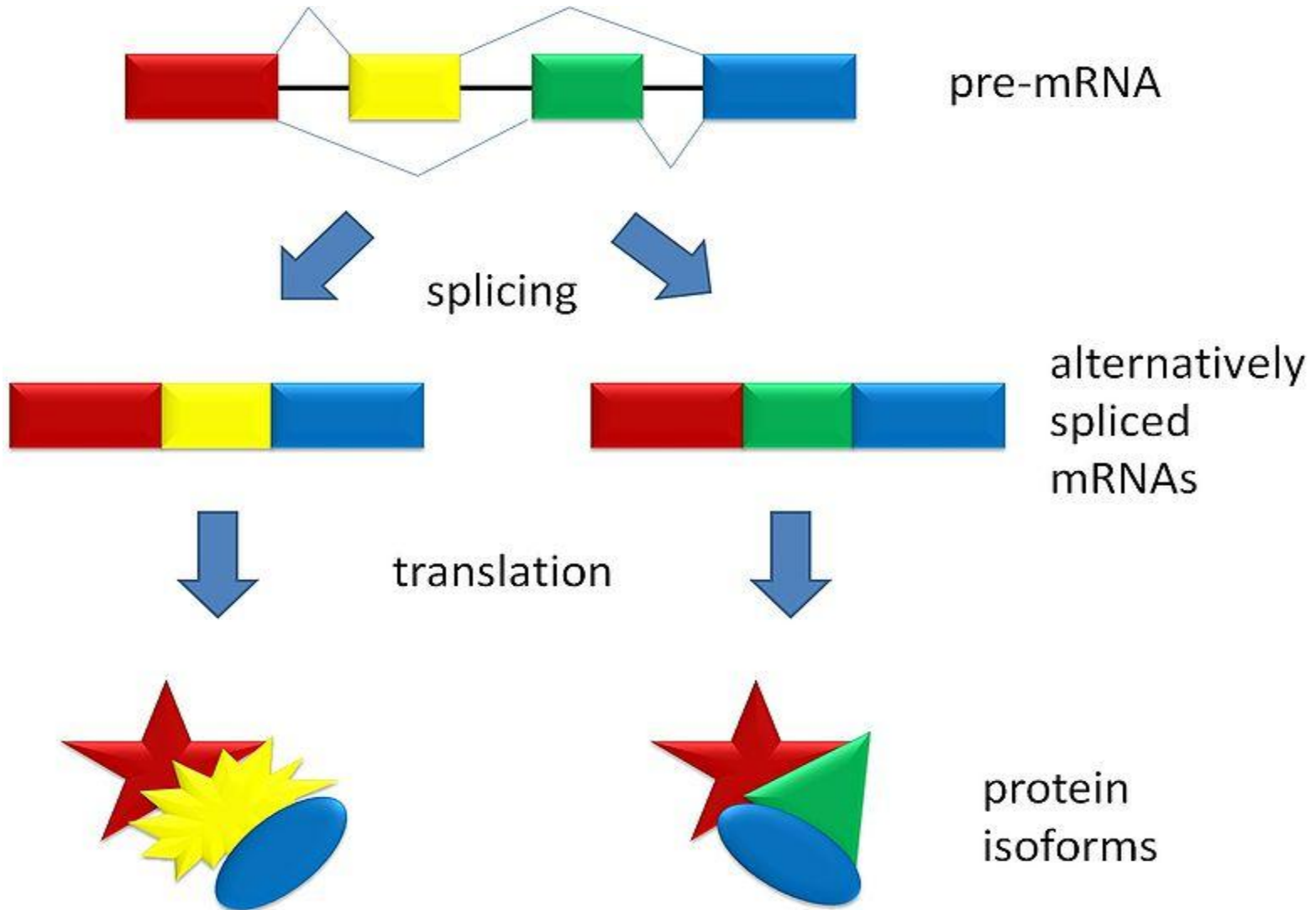
- Редактирование РНК

Изменение РНК путем вставок, делеций или изменения азотистых оснований. В результате будут синтезированы другие белки

Разные иРНК за счет комбинаций экзонов

За счет разного сочетания экзонов можно получить разные иРНК и, следовательно, белки

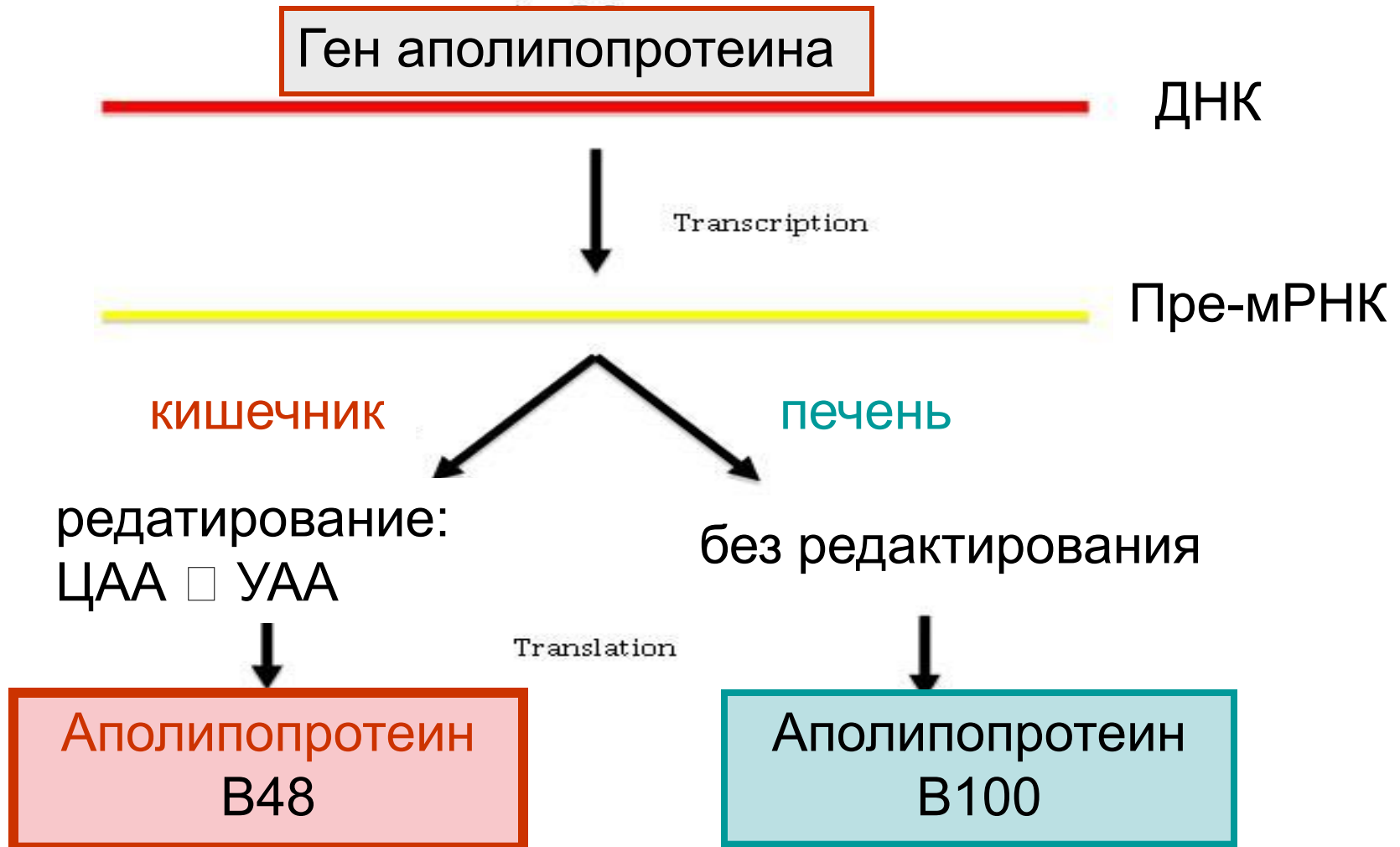
Альтернативный сплайсинг приводит к появлению изоформ белков



Показано, что у человека 94 % генов подвержено альтернативному сплайсингу (у остальных 6 % генов нет интронов). Таким образом, альтернативный сплайсинг позволяет увеличить разнообразие белковых продуктов генов, не увеличивая пропорционально этому размер генома, в том числе не создавая дополнительных копий генов.

Биологический смысл альтернативного сплайсинга для многоклеточных эукариот состоит в том, что он, по-видимому, является ключевым механизмом увеличения разнообразия белков, а также позволяет осуществлять сложную систему регуляции экспрессии генов, в том числе тканеспецифической. Геном круглого червя *Caenorhabditis elegans* по количеству генов практически не отличается от генома человека, однако альтернативному сплайсингу подвергаются пре-мРНК только 15 % генов.

Пример редактирования РНК (эдитинг)





РНИМУ
имени Н.И. ПИРОГОВА



РНИМУ



РНИМУ



РНИМУ



РНИМУ



РНИМУ



РНИМУ



РНИМУ



РНИМУ



РНИМУ

4. Трансляция

РНИМУ

имени Н.И. ПИРОГОВА

Регуляция трансляции

Удлинение или укорочение времени жизни иРНК:

- **Пример:** гормон **пролактин** удлиняет время жизни иРНК для **казеина**, основного белка молока, в 77 раз. А, значит, каждая иРНК может дать в 77 раз больше белка в ходе трансляции.
- **Короткие нкРНК** (20 – 24 нуклеотида) – микроРНК, связываясь с 3'-нетранслируемой областью иРНК, нарушают ее трансляцию и ускоряют разрушение иРНК, следовательно, синтез белка тормозится.

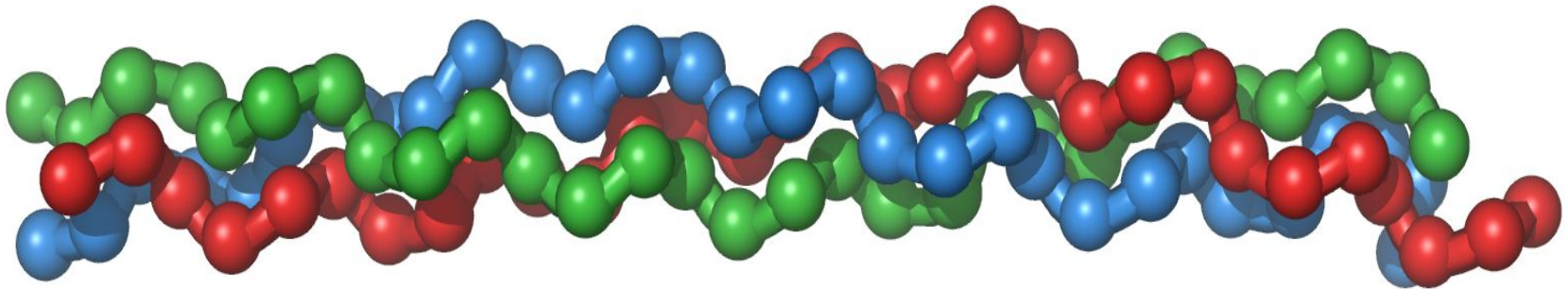
5. Процессинг белка

5. Регуляция процессинга белка

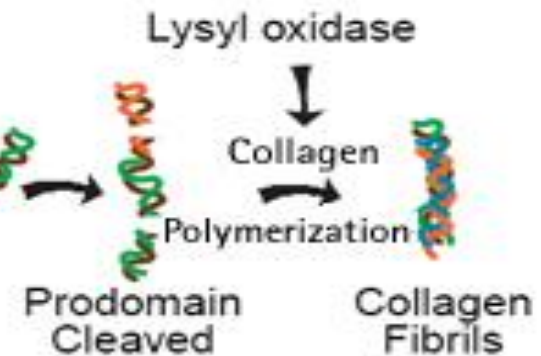
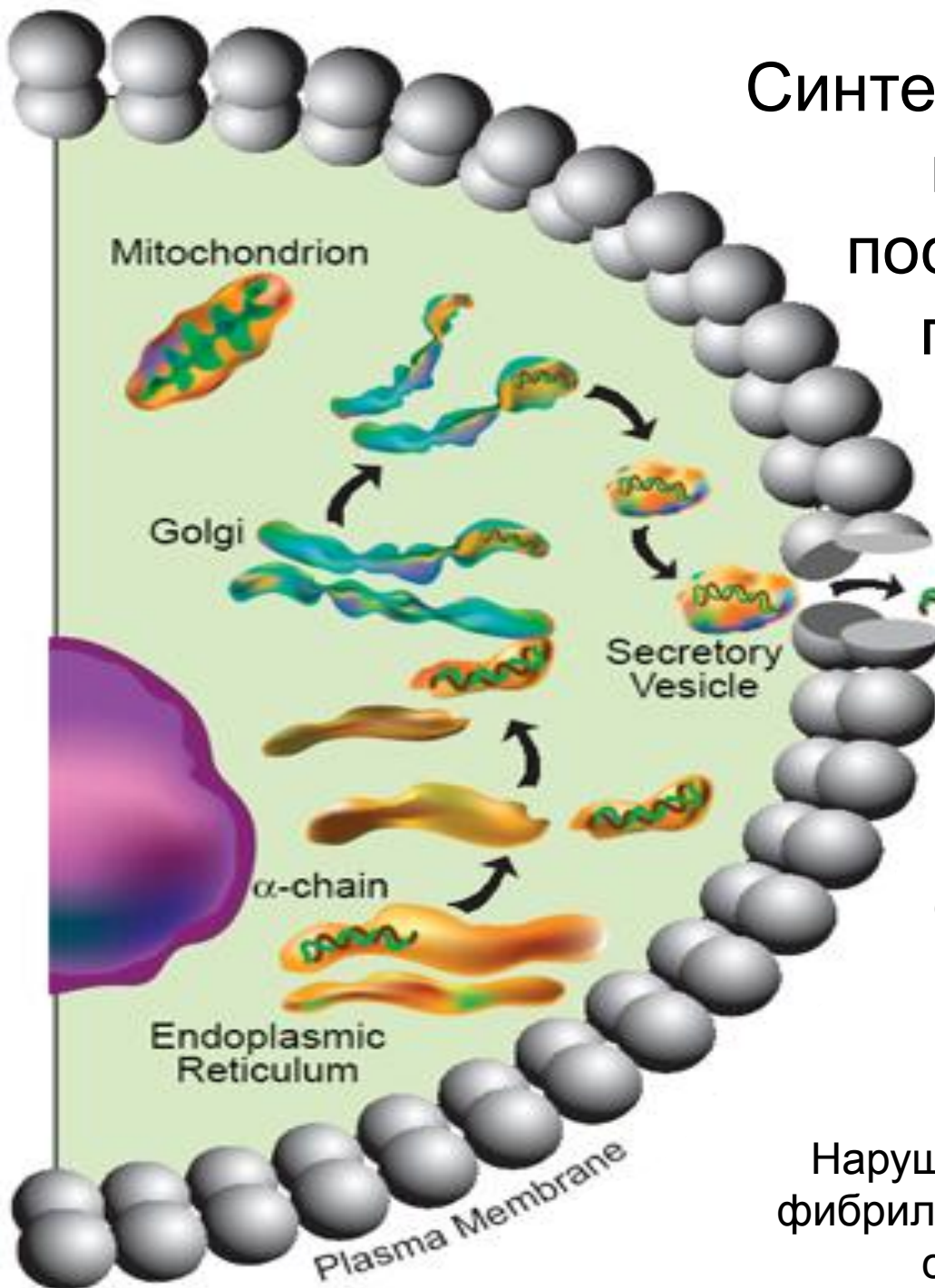
Коллаген – основной белок соединительной ткани, около 30% всего белка тела. Есть несколько десятков разновидностей коллагена.

Молекула состоит из 3 цепей.

Нарушение биосинтеза и структуры коллагеновых волокон характерно для многих врожденных и приобретенных болезней. Из последних наиболее распространенными являются дисфузные заболевания соединительной ткани, или коллагенозы.



Синтез коллагена сложен и включает много посттрансляционных преобразований



Одна из форм синдрома Эллерса-Данлоса

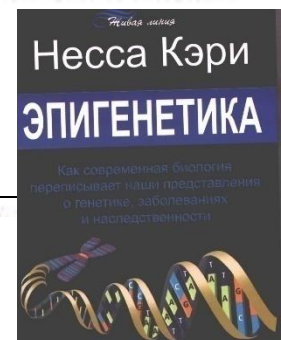


Нарушение сборки коллагеновых фибрилл наблюдается при болезнях соединительной ткани



Несса Кери пишет:

Мы представляем себе наш генетический материал неким обычным сценарием, однако на самом деле он больше похож на сложенные гармошкой страницы журнала «Мэд», когда, складывая их определенным образом под разными углами, мы каждый раз получаем новую картинку. Понимание этого процесса может стать принципиально важным условием реального проникновения в тайны того, как взаимодействуют эпигенетические модификации и сочетания генов, создавая в результате этого процесса такое чудо как червь, или дуб, или крокодил.
Или человек.



спасибо за внимание!