

Молекулярная биология



План лекции 2

- Матричные синтезы
- Репликация ДНК
- Полимеразная цепная реакция
- Принципы и этапы транскрипции. Оперон
- Транскрипция и созревание РНК у эукариот
- «Разорванные» гены и сплайсинг
- Регуляция транскрипции



Матричный синтез

Основные типы матричных синтезов в природе:

- Репликация - синтез ДНК по матрице ДНК
- Транскрипция - синтез РНК по матрице ДНК
- Трансляция - синтез белка по матрице мРНК

У некоторых вирусов происходит:

- Репликация РНК - синтез РНК по матрице РНК
- Обратная транскрипция - синтез ДНК по матрице РНК

На матричном принципе основана:

- Репарация — исправление ошибок в молекуле ДНК

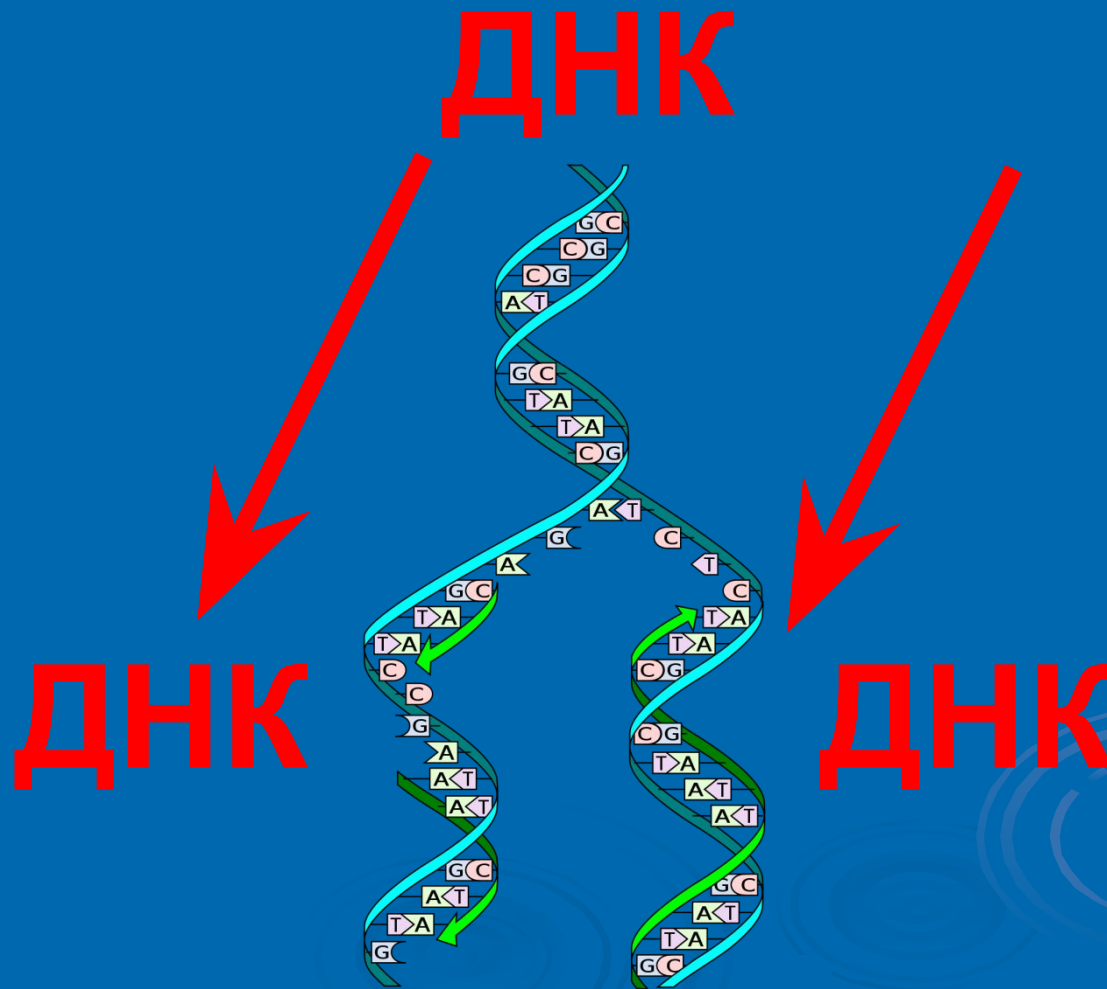
Матричный синтез

Основные принципы матричных синтезов:

- Комплементарность - однозначное соответствие последовательностей мономеров вновь синтезируемой и матричной молекул
- Антипараллельность - синтезируемая дочерняя цепь ориентирована антипараллельно матричной
- Униполярность - передвижение ферментов, синтезирующих новые молекулы, возможно лишь в одном направлении от 3'-концов к 5'-концам матричных цепей (**синтез ДНК и РНК**) или от 5'-концов к 3'-концам (**синтез белка**).

СОХРАНЕНИЕ И ПЕРЕДАЧА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

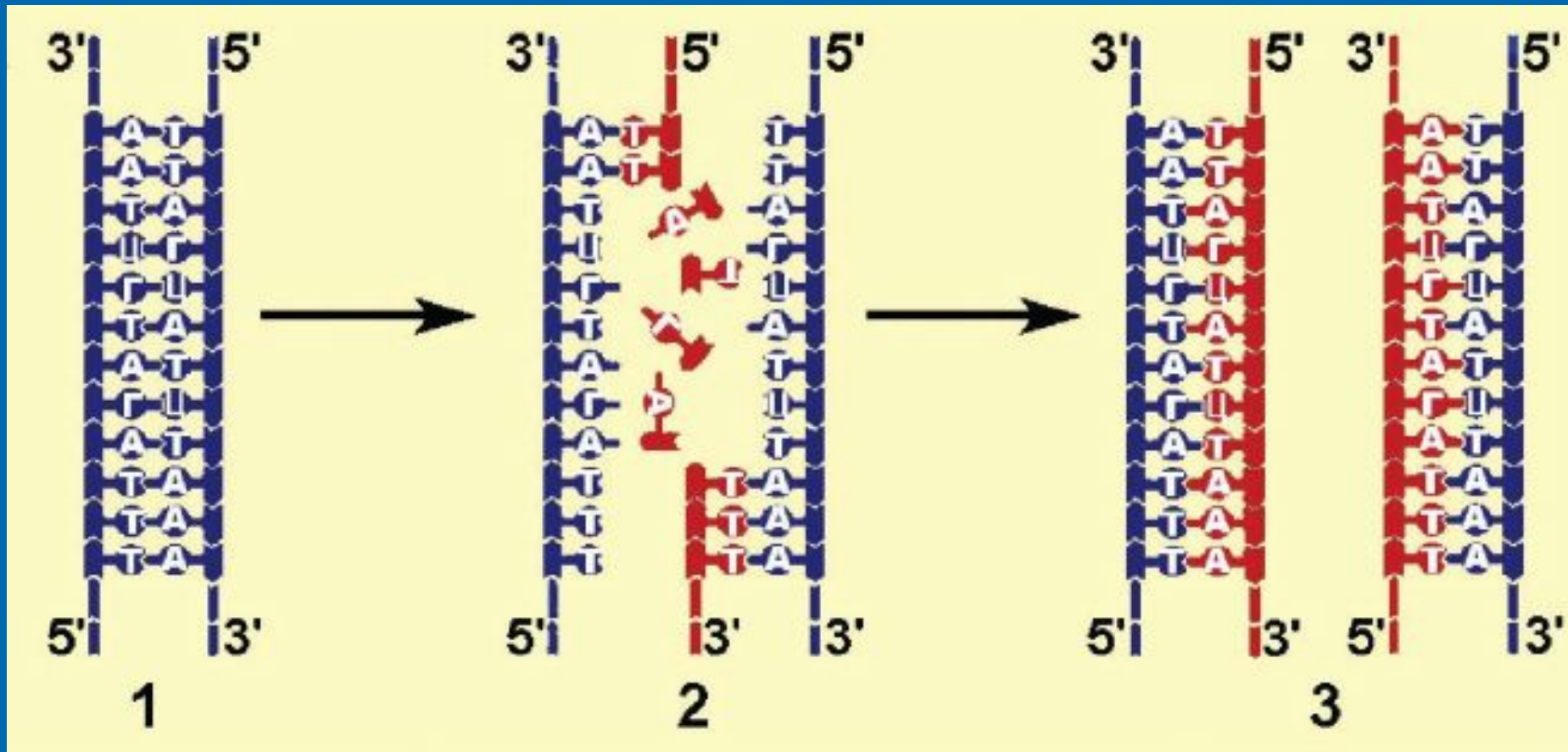
1. РЕПЛИКАЦИЯ



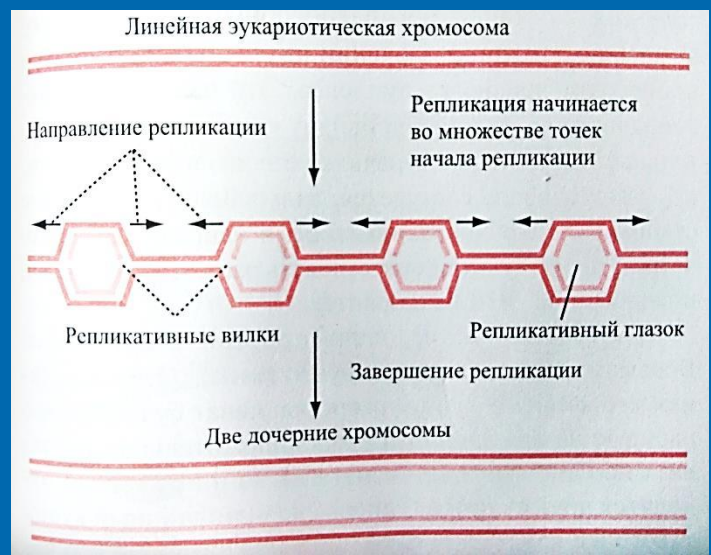
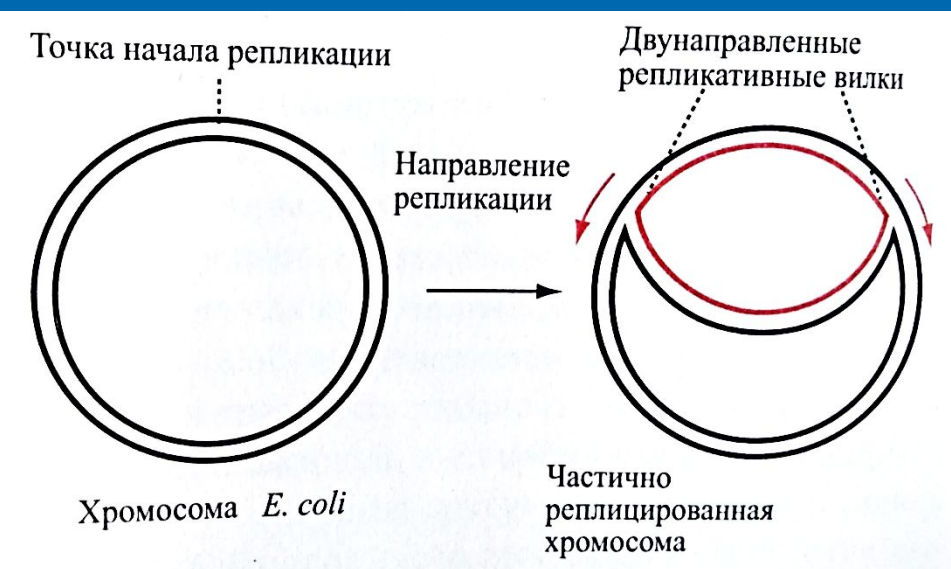
СОХРАНЕНИЕ И ПЕРЕДАЧА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

1. РЕПЛИКАЦИЯ

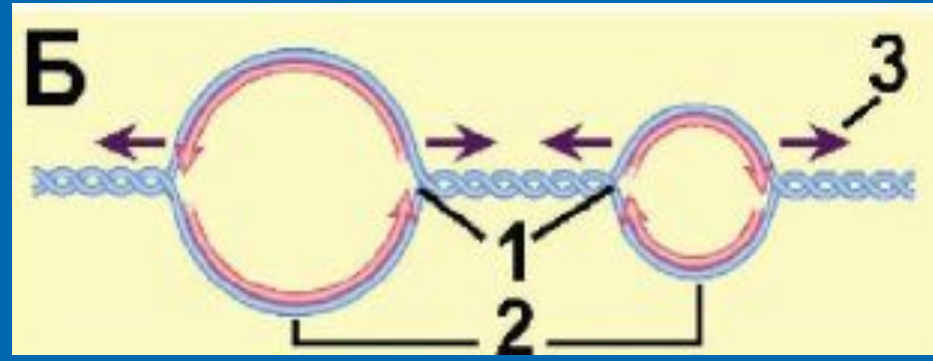
(от лат. replicatio — возобновление) — процесс создания двух дочерних молекул ДНК на основе родительской молекулы ДНК. Репликацию ДНК осуществляет сложный комплекс, состоящий из 15-20 различных белков-ферментов, называемый реплисомой



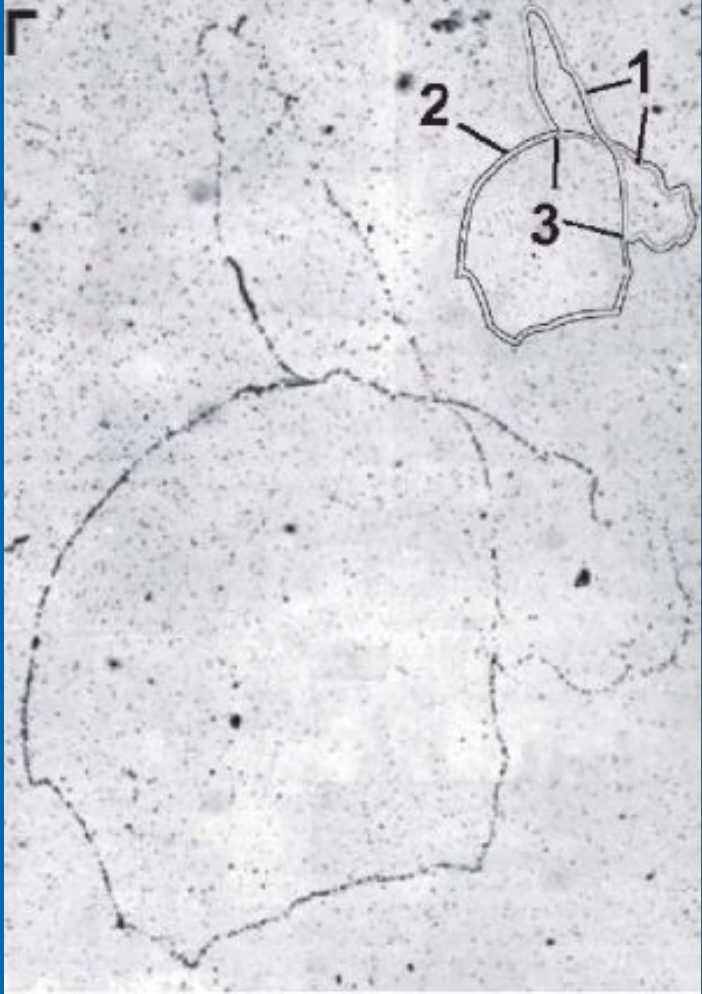
Комплементарность, полуконсервативность и антипараллельность репликации: 1 - «материнская» ДНК ; 2 - синтез комплементарных цепей; 3 - «дочерние» ДНК



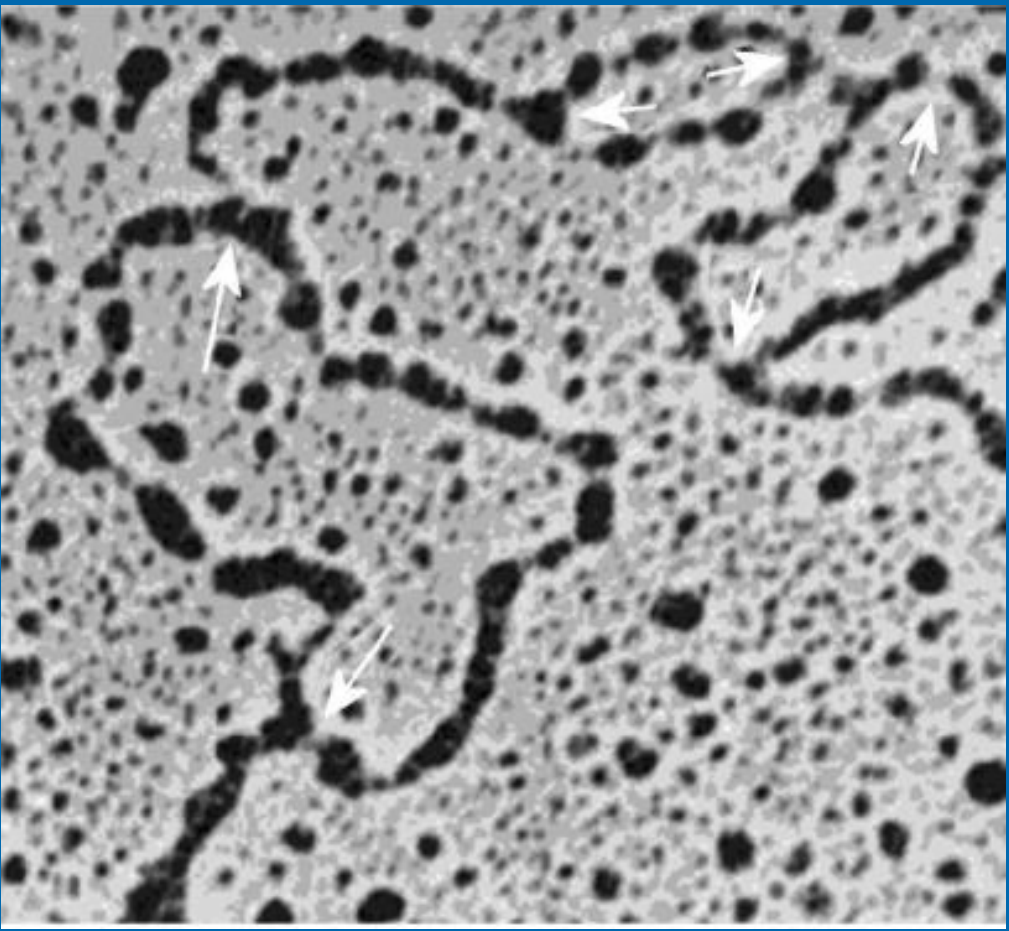
Двунаправленная репликация хромосомы *E. coli*. Вновь синтезированные нити выделены цветом



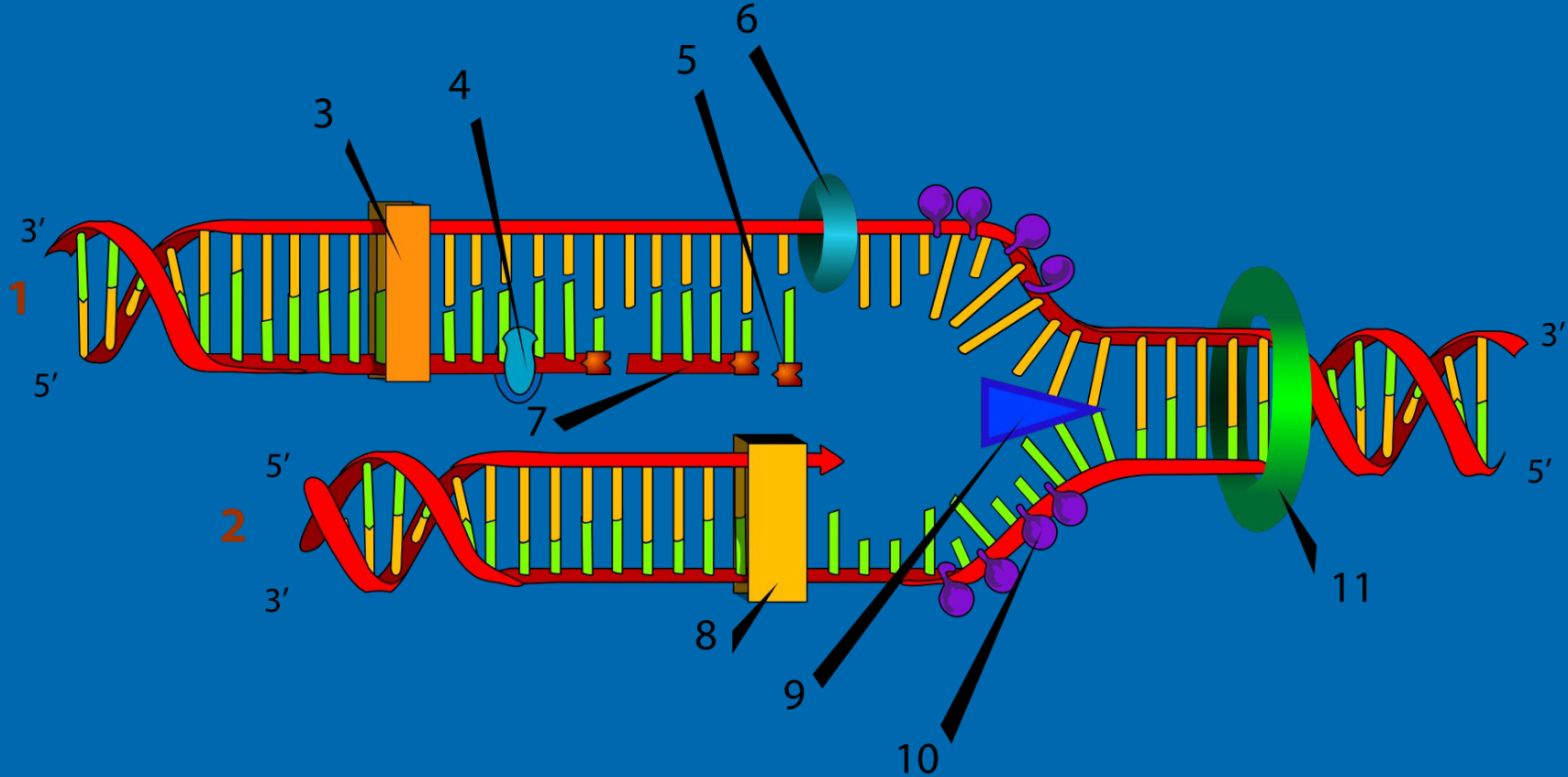
Репликоны у прокариот:
 1 - репликативные вилки;
 2 - один репликон;
 3 - направление движения вилок



Репликация ДНК *E. coli*:
1 - «дочерняя» ДНК ;
2 - «материнская» ДНК ;
3 - репликативные
вилки



Репликация ДНК хомячка.
Стрелками указаны
репликативные вилки
в трех репликаонах



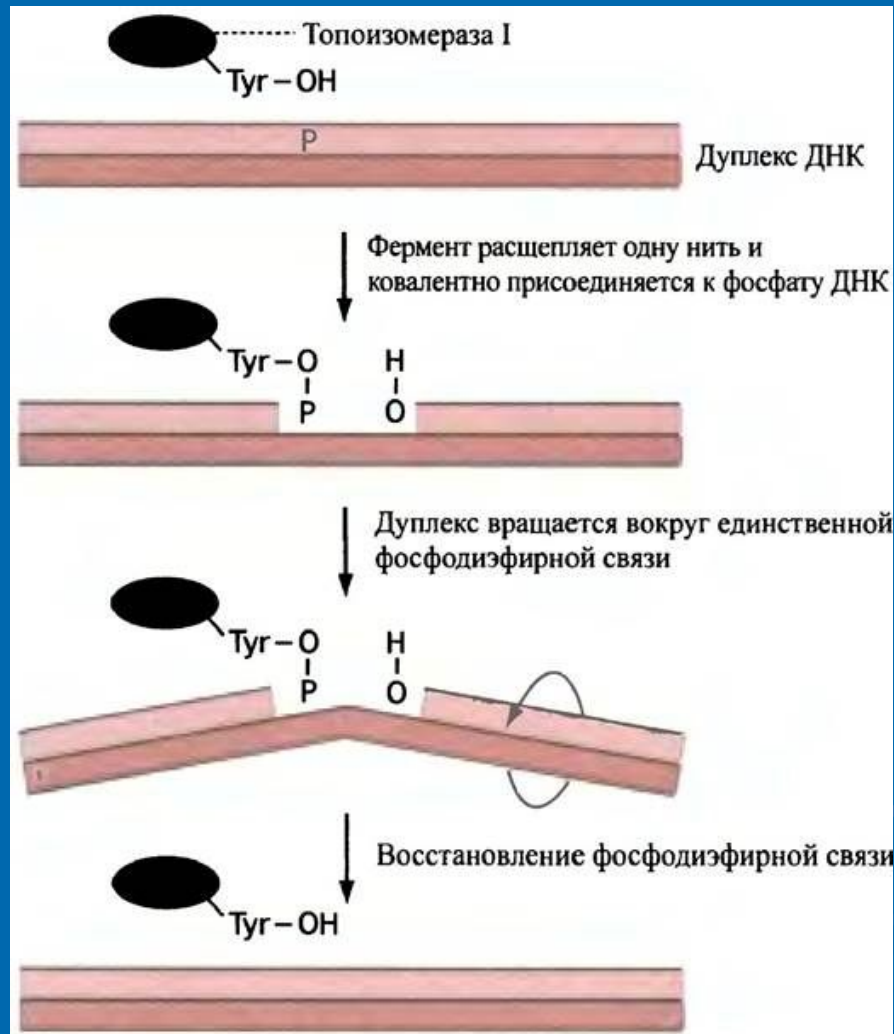
Схематическое изображение процесса репликации, цифрами отмечены: (1) запаздывающая нить, (2) лидирующая нить, (3) ДНК-полимераза, (4) ДНК-лигаза, (5) РНК-праймер, (6) праймаза, (7) фрагмент Оказаки, (8) ДНК-полимераза, (9) геликаза, (10) белки, связывающие одноцепочечную ДНК, (11) топоизомераза

Белки, участвующие в репликации:

- Геликазы - это ферменты, денатурирующие ДНК
- SSB (от англ. Single Strand Binding Proteins) - это белки, связывающиеся с одноцепочечной ДНК, не позволяют расплетенным нитям снова соединяться.
- ДНК-праймаза - синтезирует праймер (РНК-затравку), необходимую для начала синтеза новой цепи ДНК
- ДНК-полимеразы - это ферменты, катализирующие синтез новой цепи ДНК
- Топоизомеразы (релаксазы, гиразы) - это ферменты, изменяющие топологию ДНК

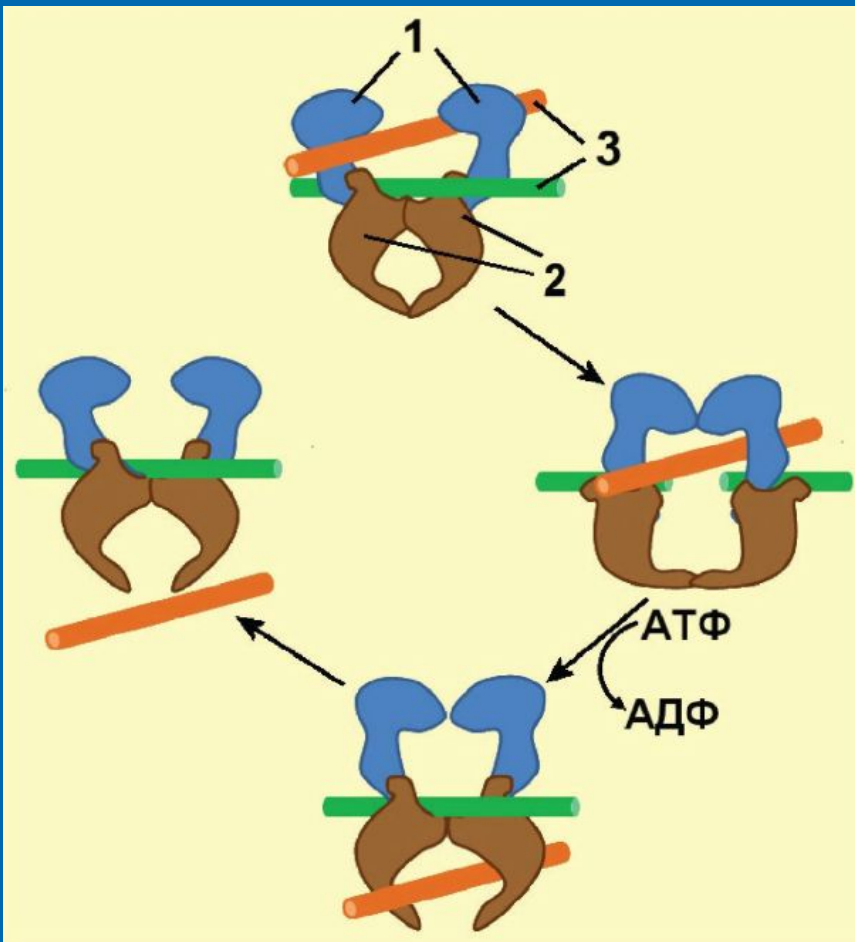
Белки, участвующие в репликации:

- Релаксаза (топоизомераза типа I) расщепляет одну из двух цепей сверхспирализованной двойной спирали



Белки, участвующие в репликации:

- Ги́раза (топоизомераза II) разрывает обе нити ДНК в двойном дуплексе. Вторую нить ДНК фермент переносит между концами разрыва без вращения цепей.



Механизм работы гиразы
1 — GyrA; 2 — GyrB;
3 — участки двойной
спирали ДНК

1. РЕПЛИКАЦИЯ

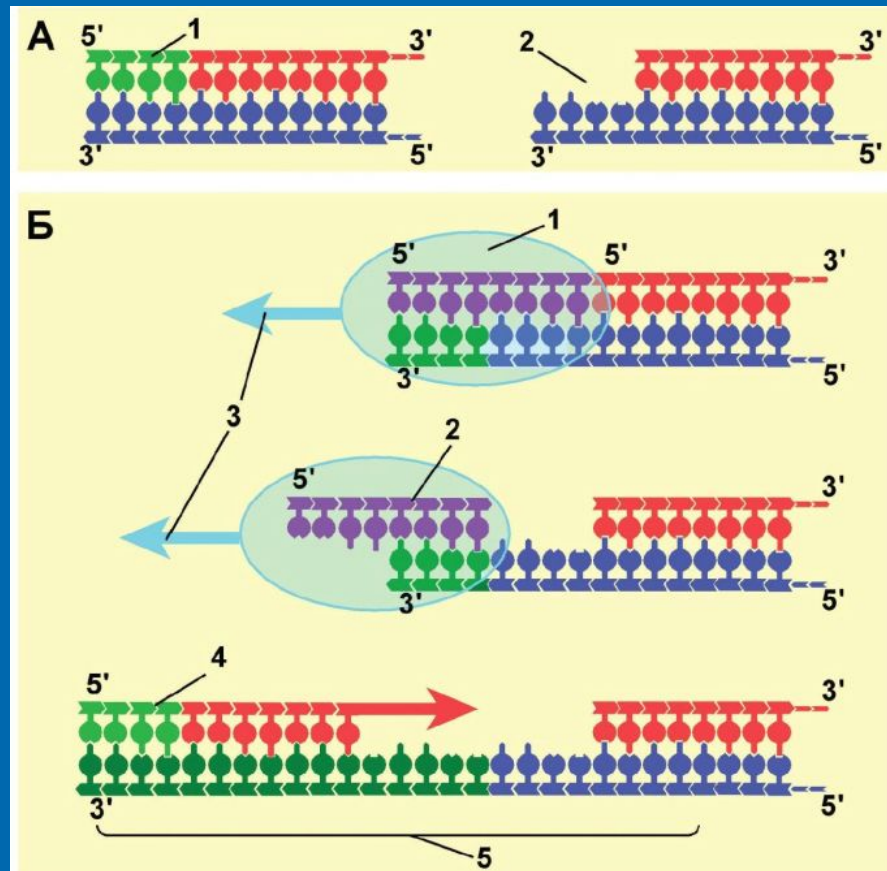
wehi.edu.au

Molecular visualizations of

DNA

2. DNA Replication

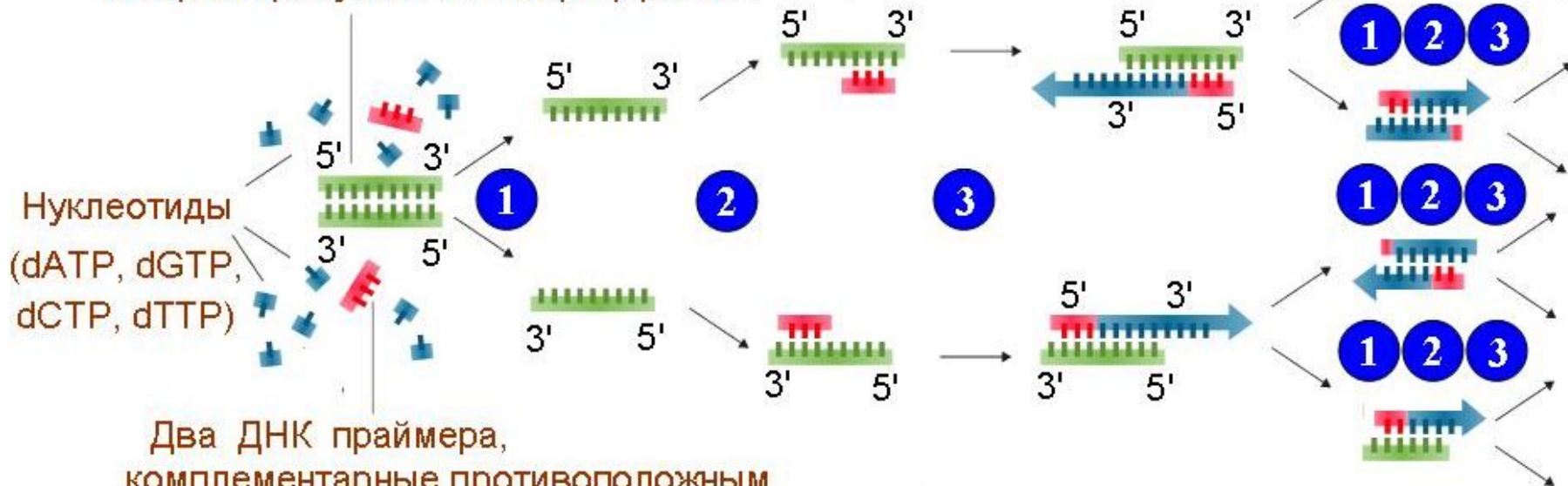
Проблема недорепликации 3'-концов матрицы



А - недорепликация 3'-конца матрицы: 1 - РНК-затравка; 2 - выступающий 3'-конец после удаления затравки; **Б - удлинение 3'-конца молекулы теломеразой:** 1 - теломераза; 2 - РНК-матрица; 3 - направление движения теломеразы; 4 - РНК-затравка; 5 — удлинённая теломера в новом раунде репликации

Полимеразная цепная реакция - ПЦР

ДНК-матрица, с участком ДНК, который требуется амплифицировать



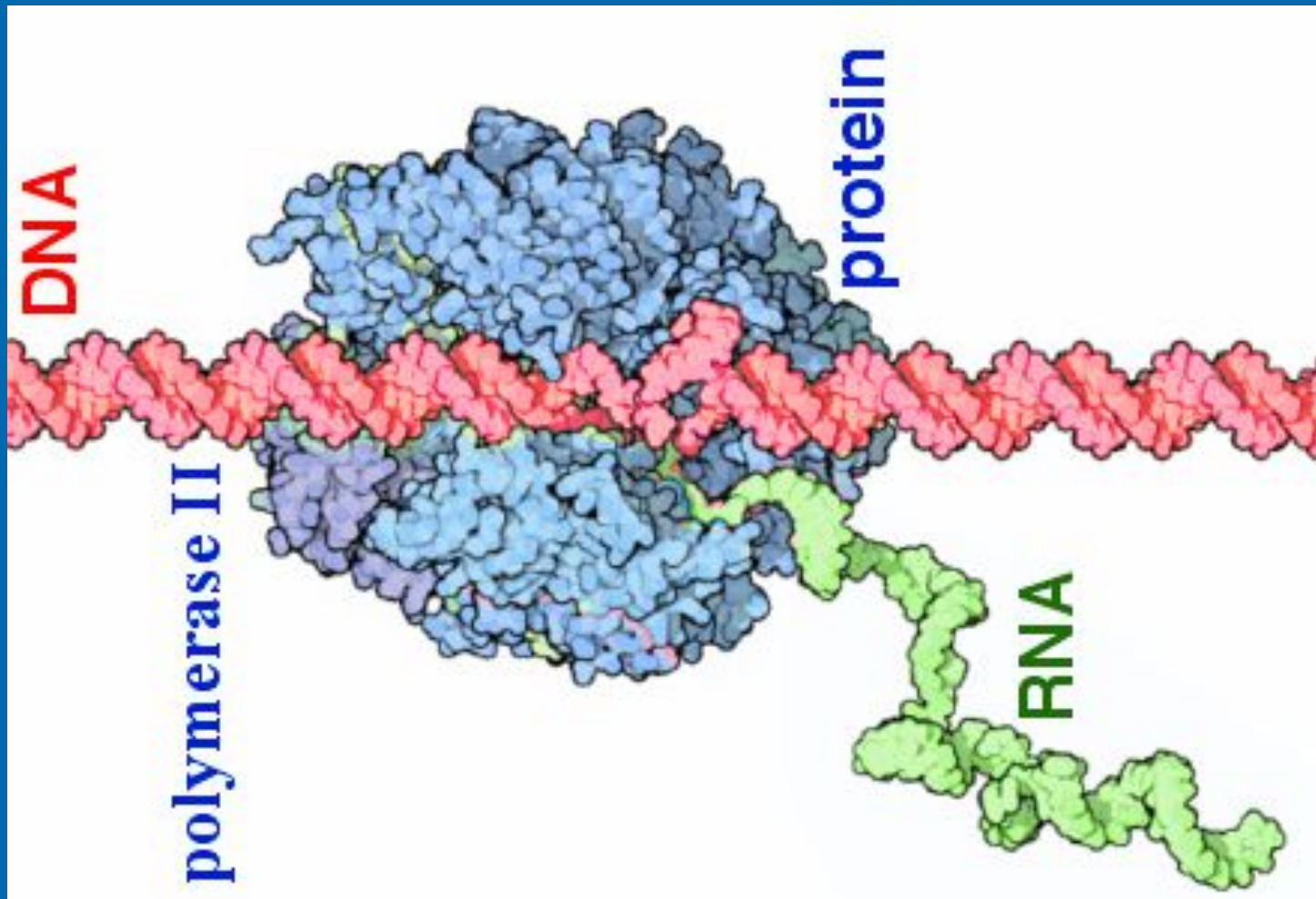
1 Денатурация при 94 - 96°C

2 Отжиг при ~ 68°C

3 Элонгация при 72°C

РЕАЛИЗАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

2. ТРАНСКРИПЦИЯ



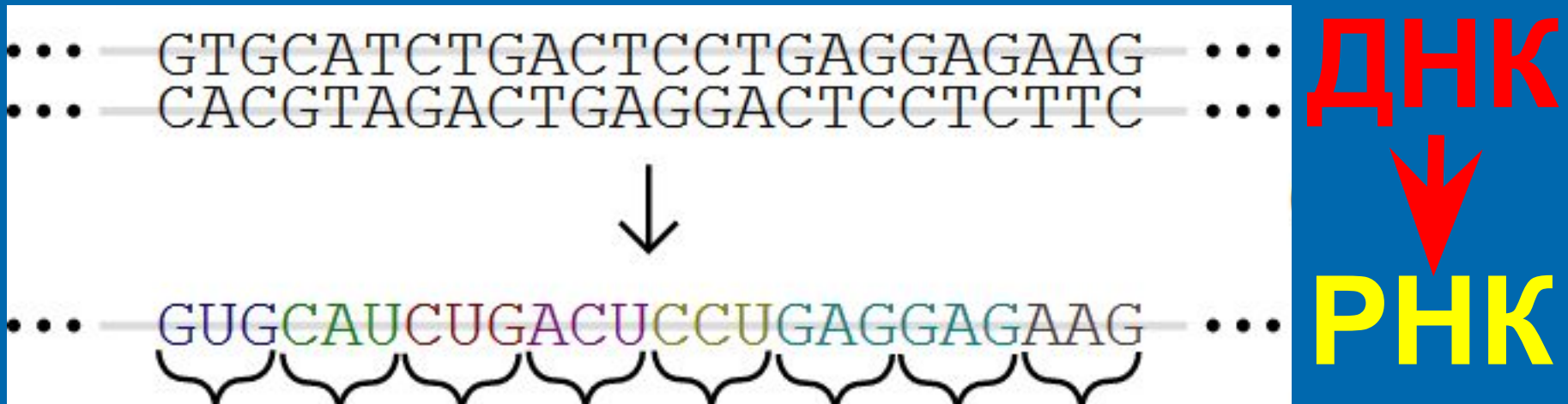
ДНК



РНК

РЕАЛИЗАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

2. ТРАНСКРИПЦИЯ



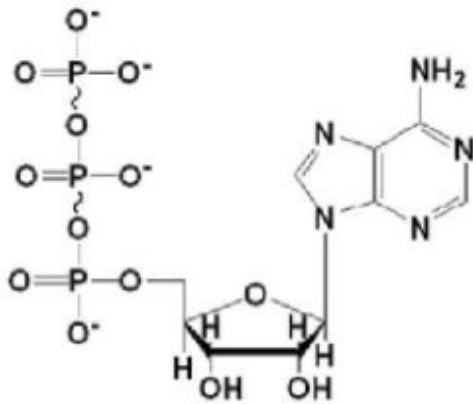
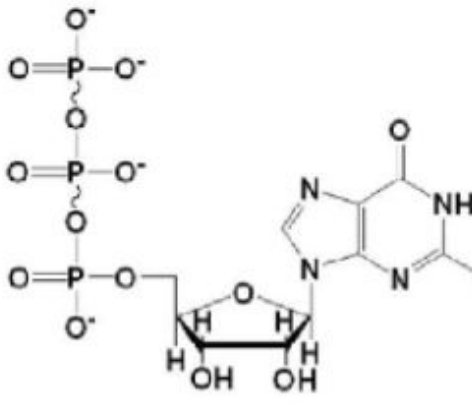
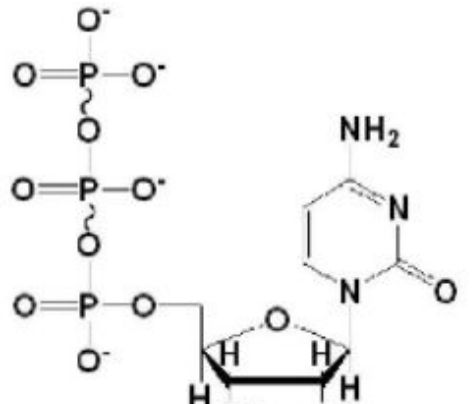
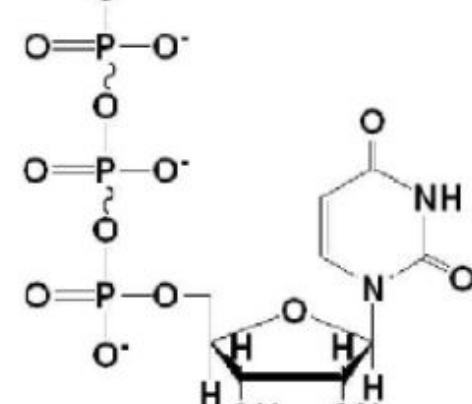
Ген из 4-символьного алфавита **ДНК (A,T,G,C)** переписывается с помощью транскрипции в 4-символьный алфавит **РНК (A,U,G,C)**

РЕАЛИЗАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

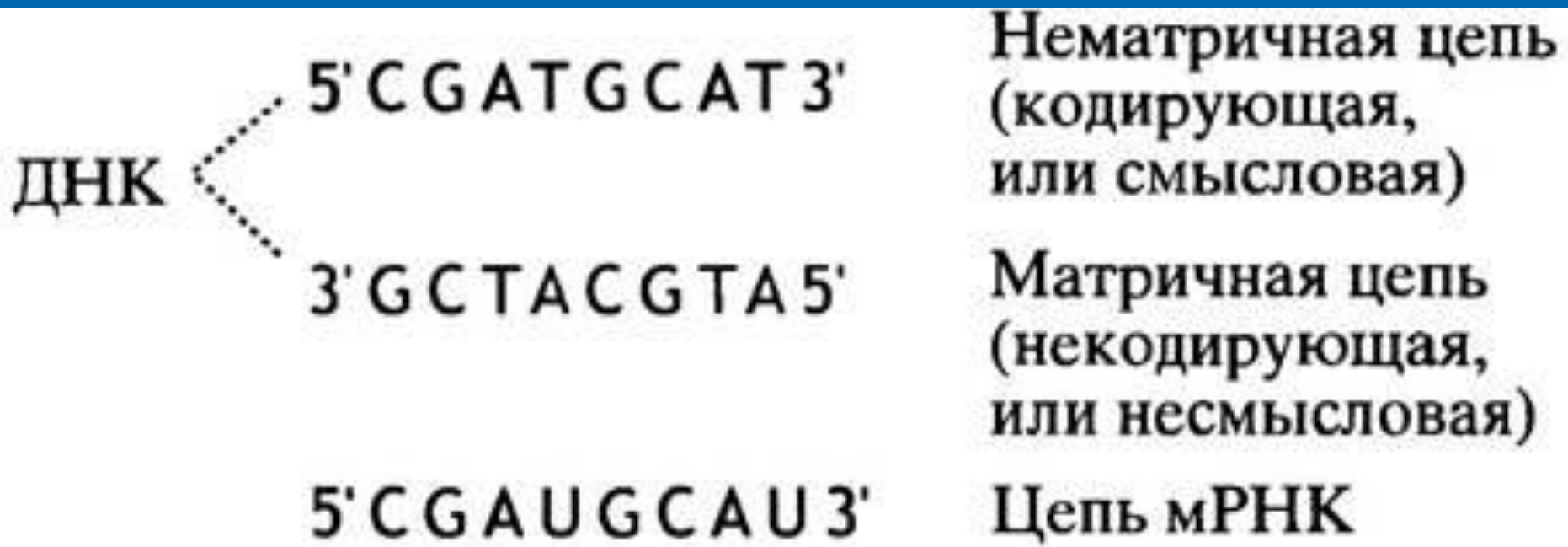
2. ТРАНСКРИПЦИЯ

- **Транскрипция** (от лат. transcriptio «переписывание») — происходящий во всех живых клетках процесс синтеза РНК с использованием **ДНК в качестве матрицы**; перенос генетической информации с ДНК на РНК.
- Транскрипция катализируется ферментом **ДНК-зависимой РНК-полимеразой**. РНК-полимераза движется по молекуле ДНК в направлении $3' \rightarrow 5'$.
- Цепочка ДНК, которая служит шаблоном для достраивания РНК, называют некодирующей или **матричной**. Последовательность, полученная в результате такого синтеза РНК будет **идентична** последовательности кодирующей цепочки ДНК (исключая замену тимина ДНК на урацил РНК) согласно принципу **комплементарности**.

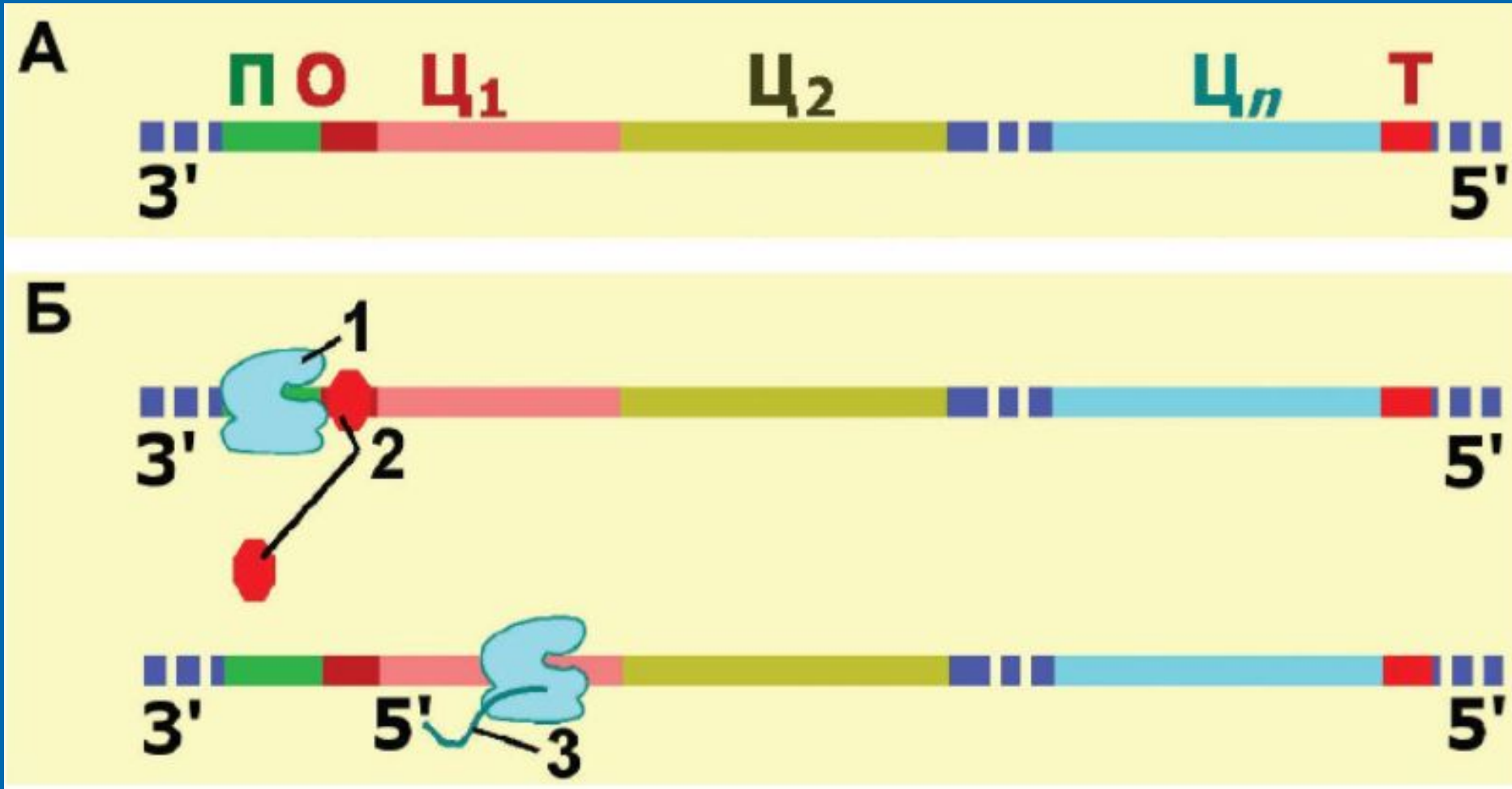
Активирование нуклеотидов

пуриновые	 <p>Аденозинтрифосфат (АТФ)</p>	 <p>Гуанозинтрифосфат (ГТФ)</p>
пиримидиновые	 <p>Цитидинтрифосфат (ЦТФ)</p>	 <p>Уридинтрифосфат (УТФ)</p>

Рибонуклеозидтрифосфаты



Схематичное изображение, показывающее на примере мРНК термины «матричная» и «нематричная» для цепи ДНК как переносчика информации

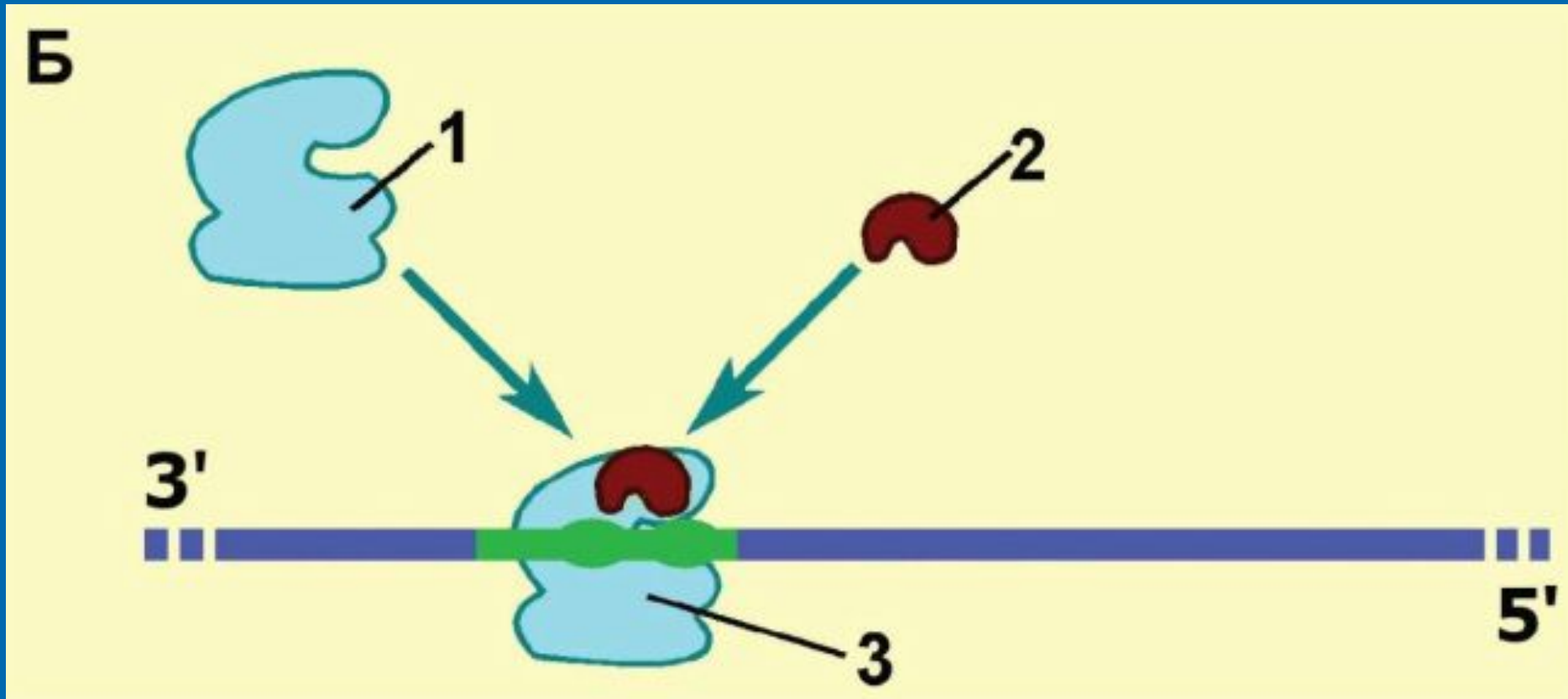


Оперон прокариотической клетки

А – строение оперона: П - промотор; О - оператор; Ц – цистроны; Т – терминатор. **Б – транскрипция оперона:** 1 – РНК-полимераза; 2 – белок-репрессор; 3 – синтезируемая РНК

- Транскрипция состоит из стадий **узнавания, инициации, элонгации и терминации.**

УЗНАВАНИЕ

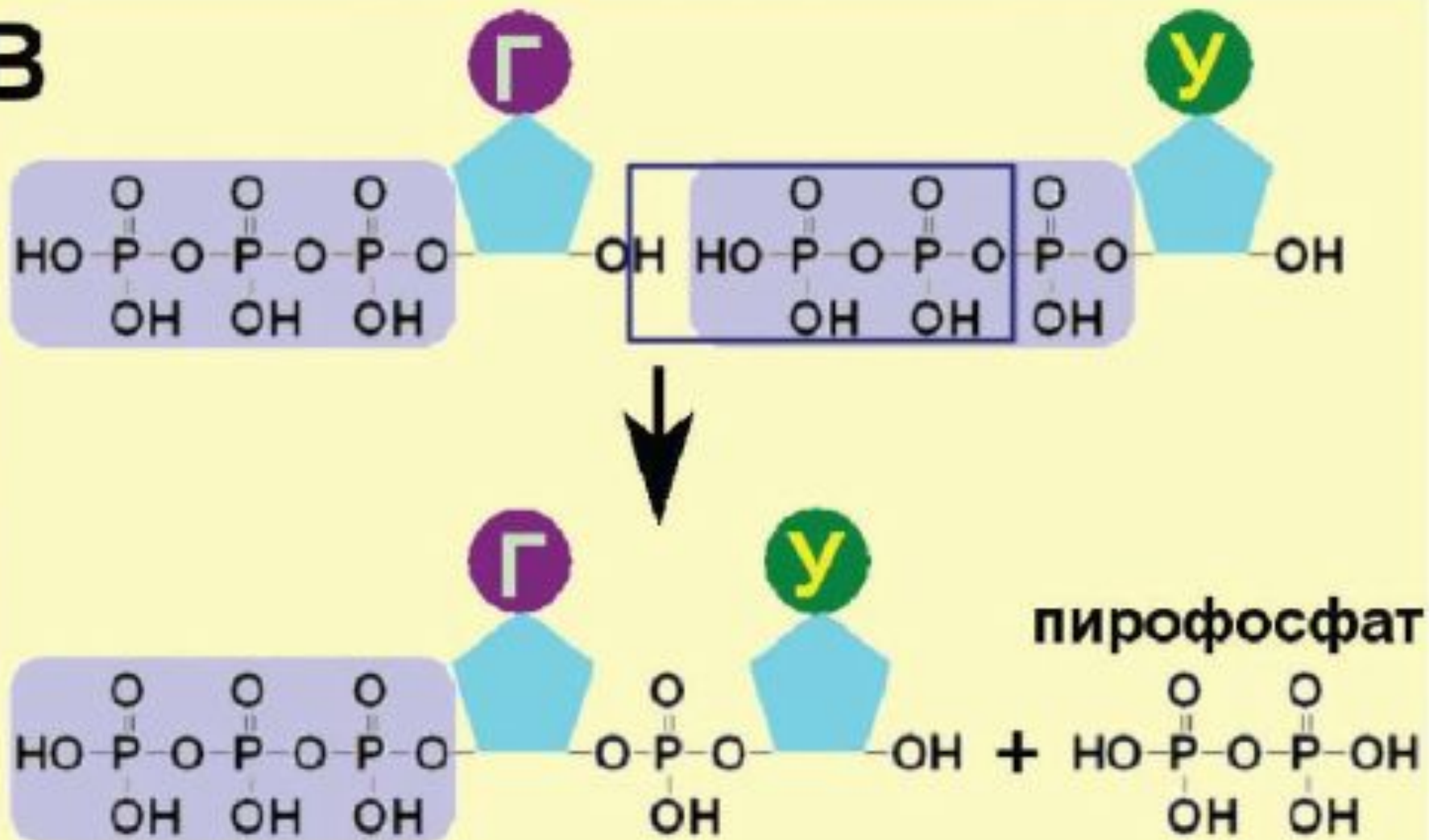


Связывание РНК-полимеразы с промотором:

1 - корфермент; 2 — σ -фактор; 3 — холофермент

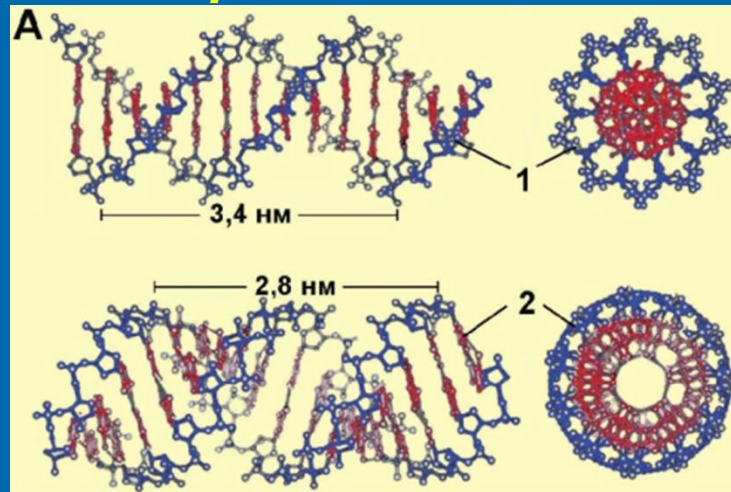
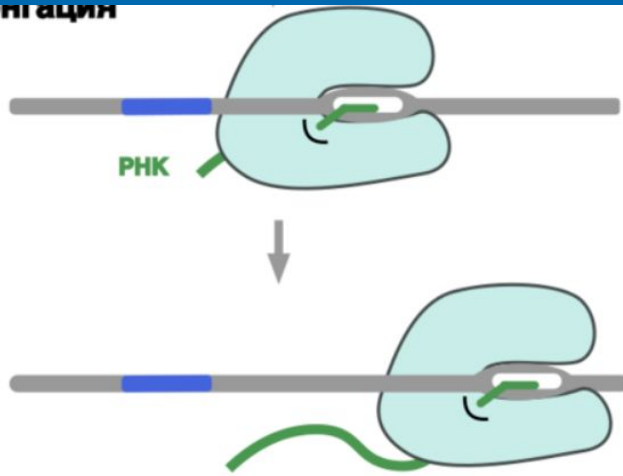
ИНИЦИАЦИЯ

В



ЭЛОНГАЦИЯ

Элонгация



B-форма

A-форма

ДНК
закручивается

5'
3'

Хромосома

5' мРНК

РНК-полимераза

Транскрипционный глазок

спираль РНК-ДНК
длиной 12 п.о.

ДНК

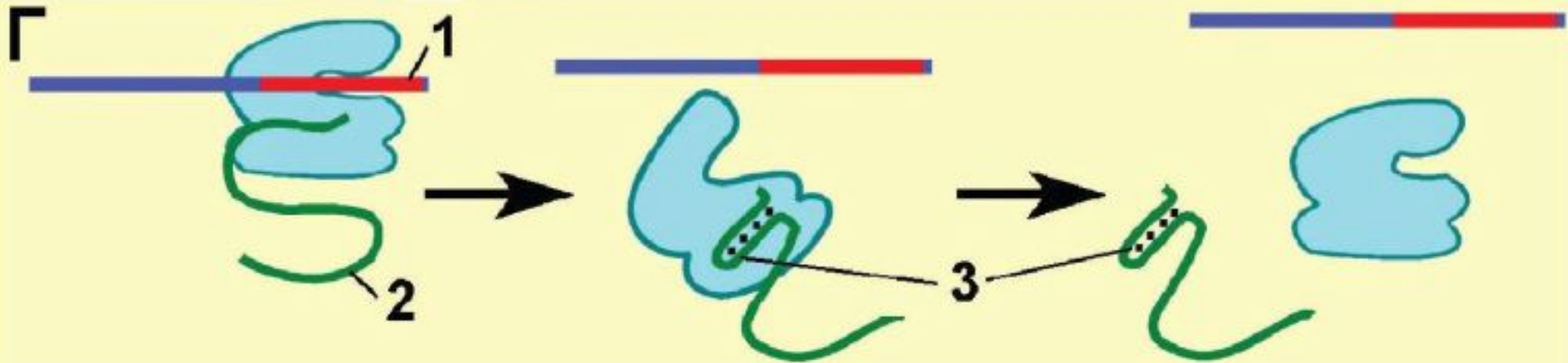
раскручивается

3'
5'

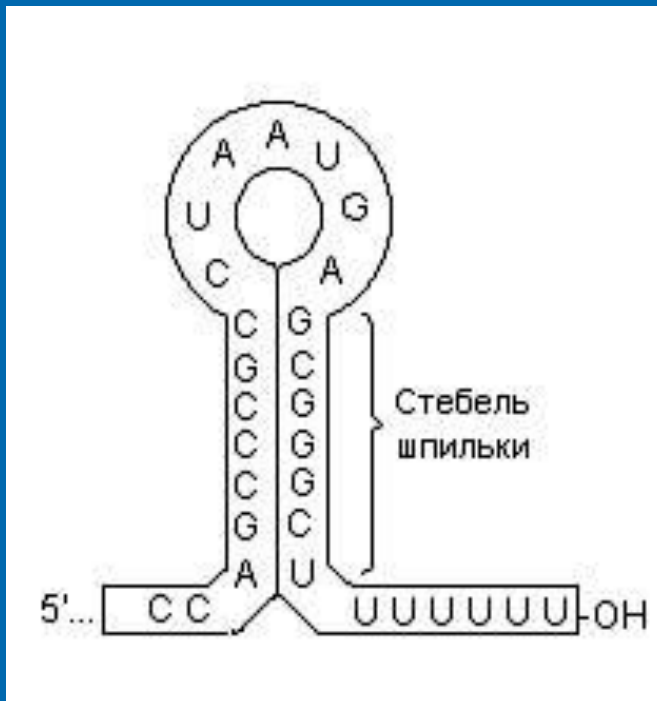
Движение
полимеразы

Участок
синтеза РНК

ТЕРМИНАЦИЯ

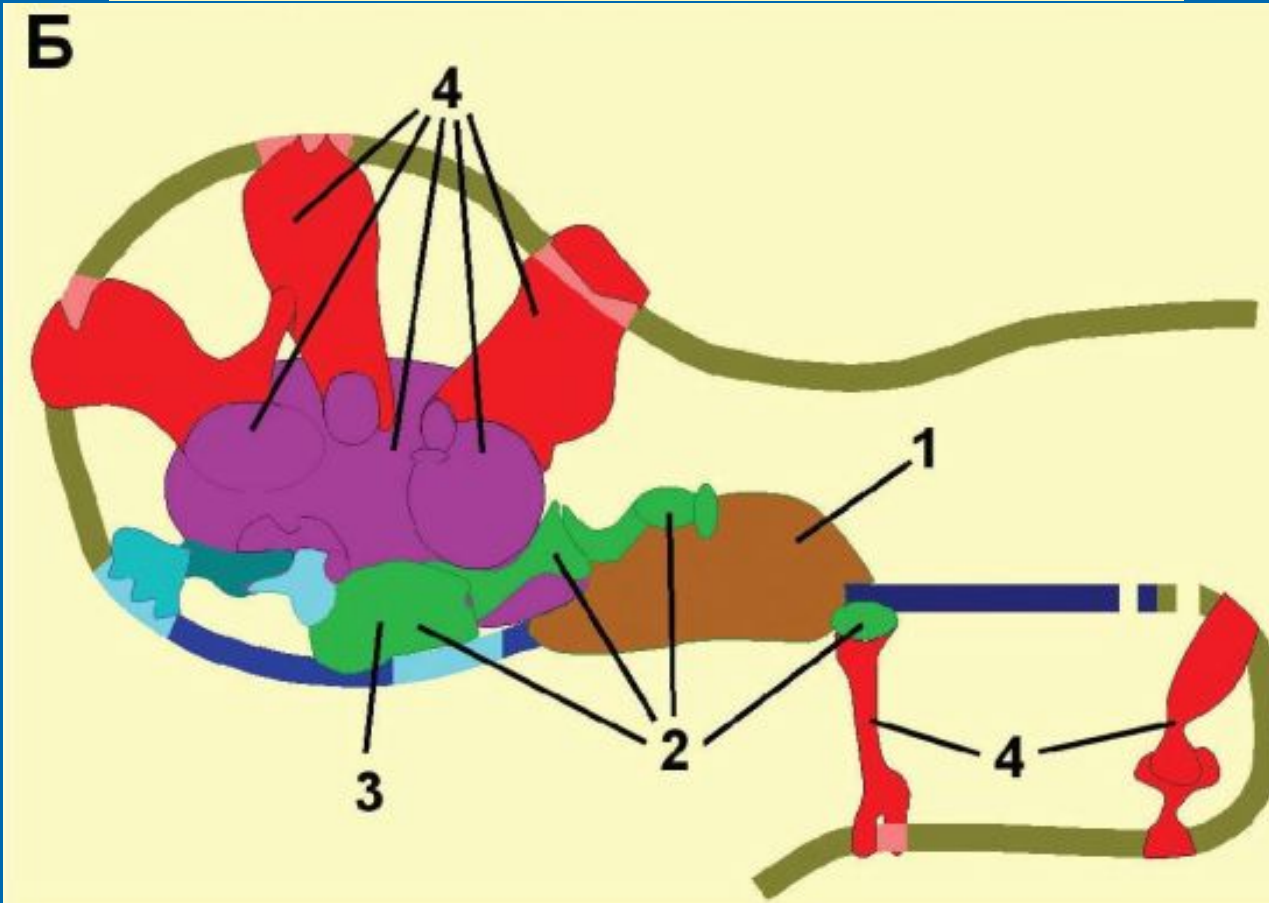
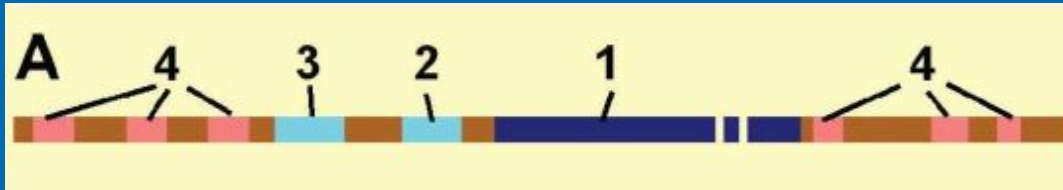


1 - палиндром; 2 — синтезированная РНК; 3 — шпилька



Структура шпильки транскрипта РНК, который обуславливает терминацию транскрипции гена

Транскрипция у эукариот:

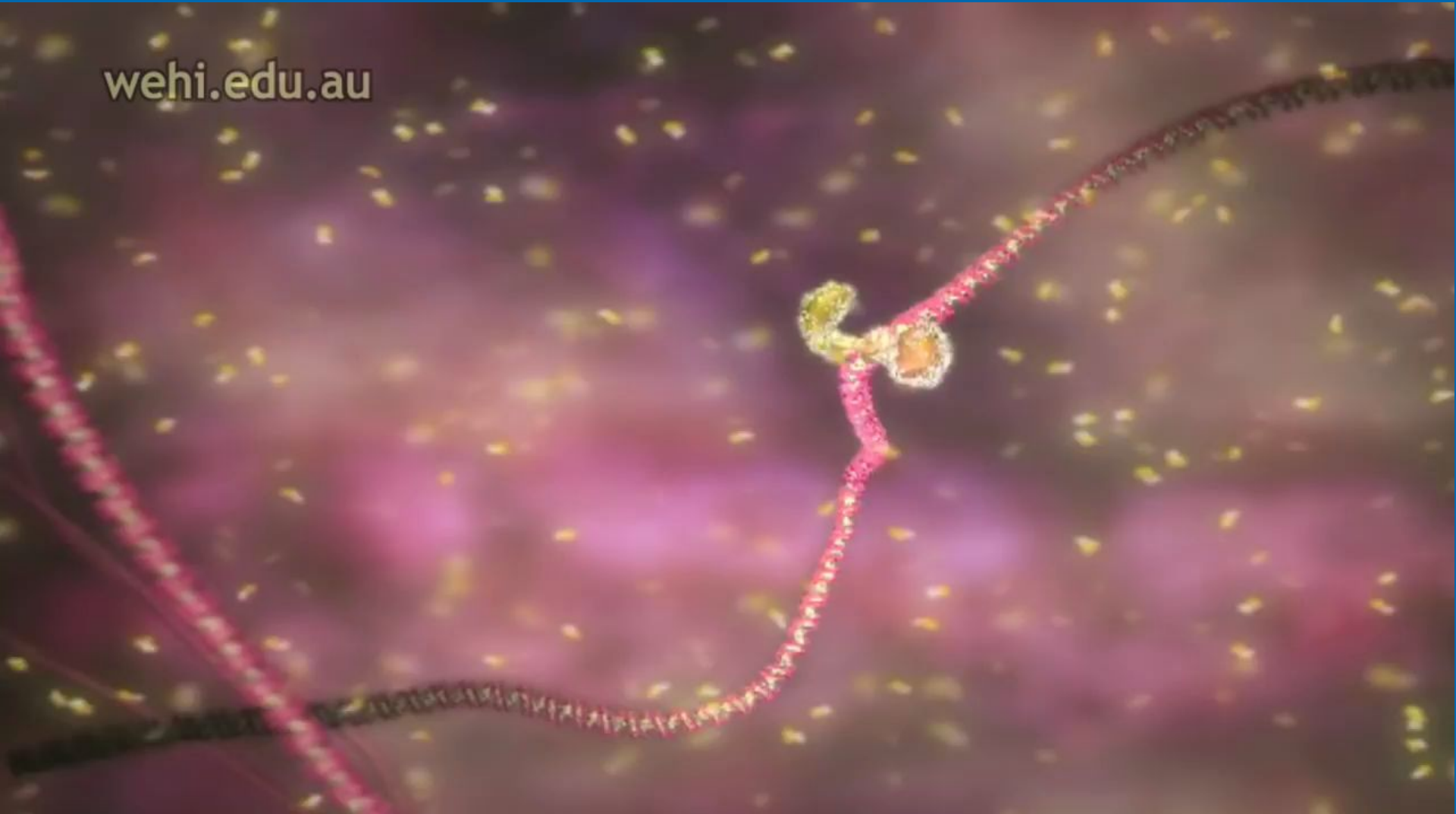


А — единица транскрипции: 1 – ген; 2 - ТАТА-бокс; 3 - ЦЦААТ-мотив; 4 - модули энхансера; **Б — транскрипционный комплекс:** 1 - РНК - полимераза II; 2 – основные факторы транскрипции; 3 - TFIID; 4 – транскрипционные факторы

РЕАЛИЗАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

2. ТРАНСКРИПЦИЯ

wehi.edu.au

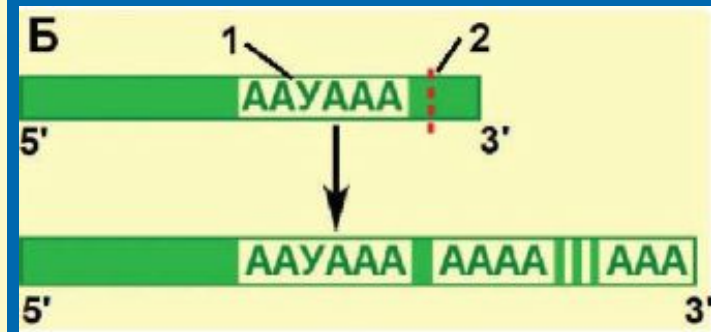
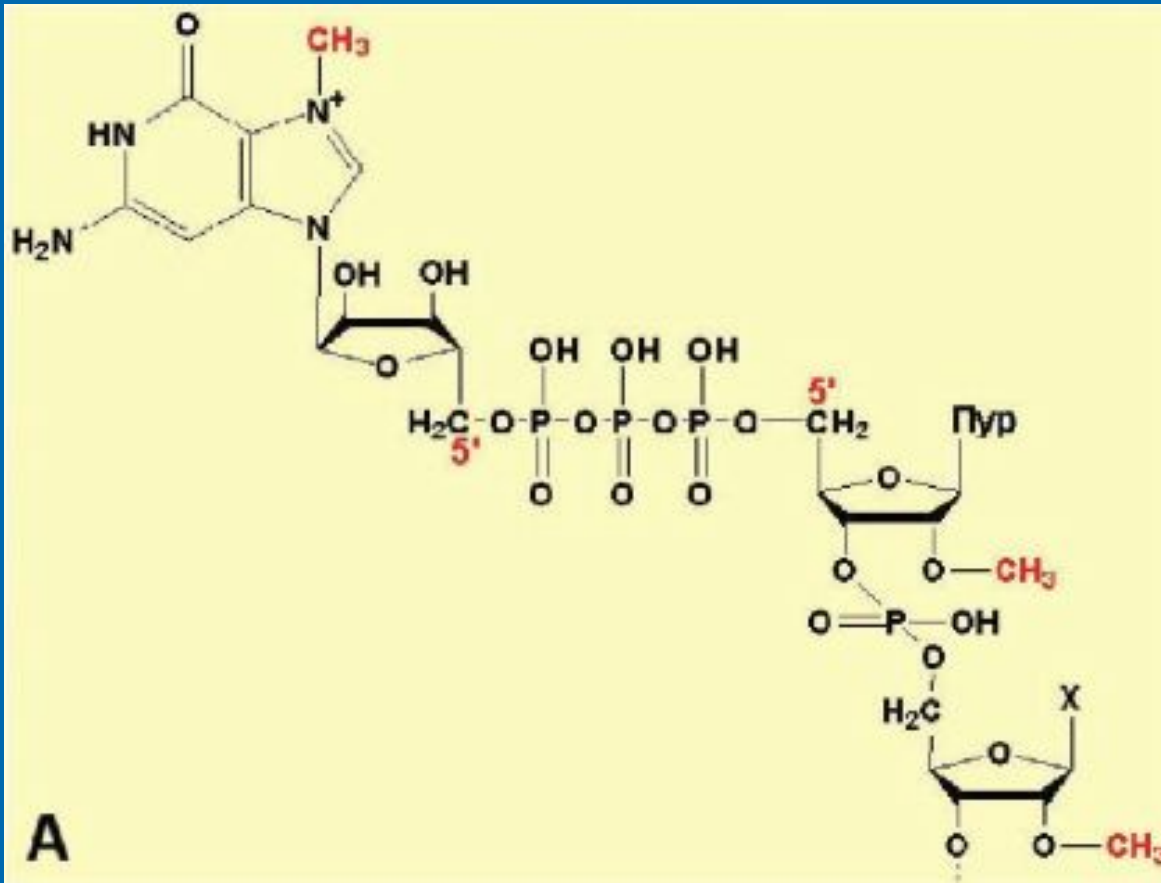


Процессинг мРНК у эукариот:

- Кепирование
- Полиаденилирование
- Сплайсинг
- Редактирование

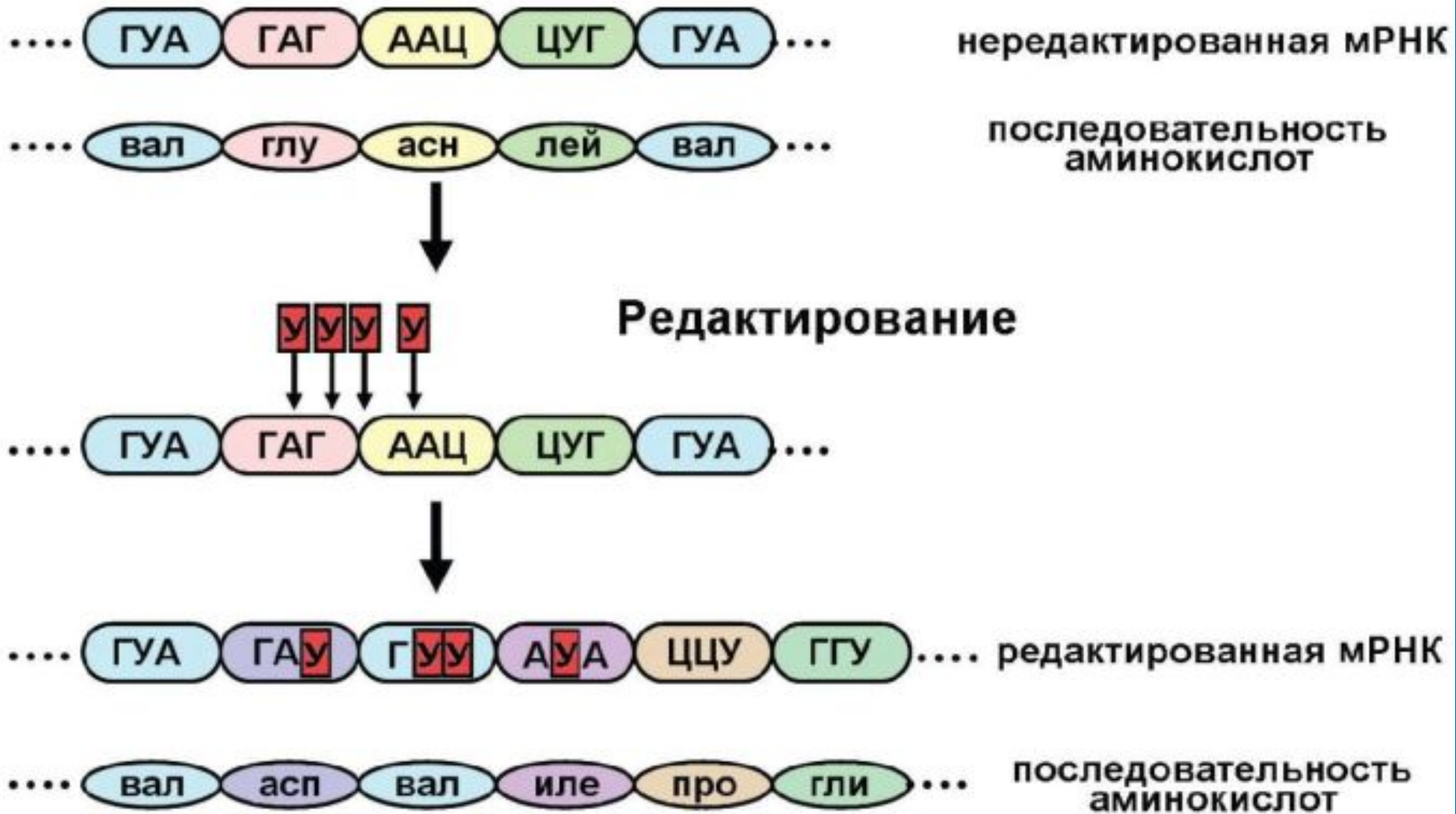


Процессинг мРНК у эукариот:



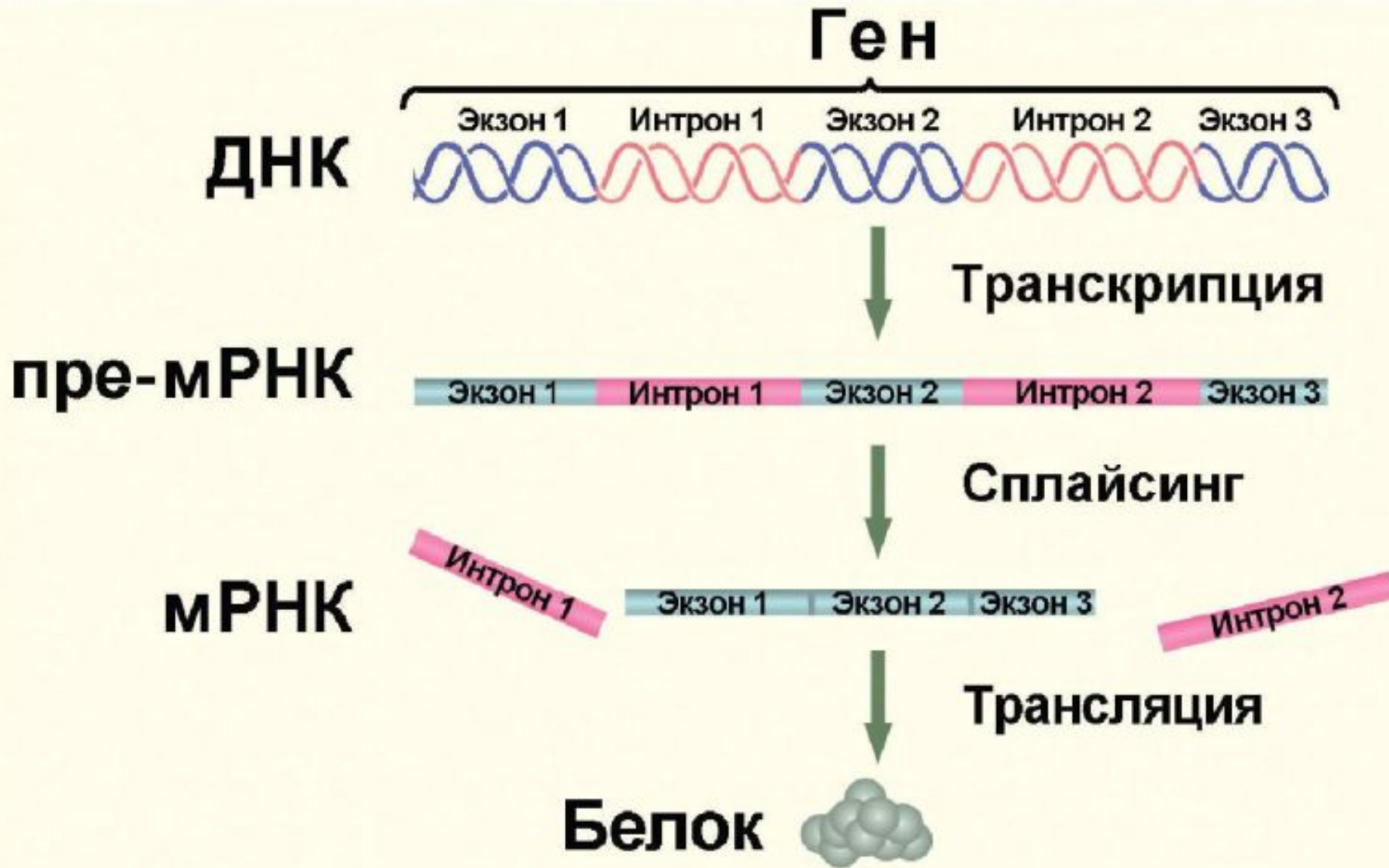
А — кепирование; **Б** — полнаденилирование: 1 - сигнал полиаденилирования; 2 – место разрезания эндонуклеазой

Процессинг мРНК у эукариот

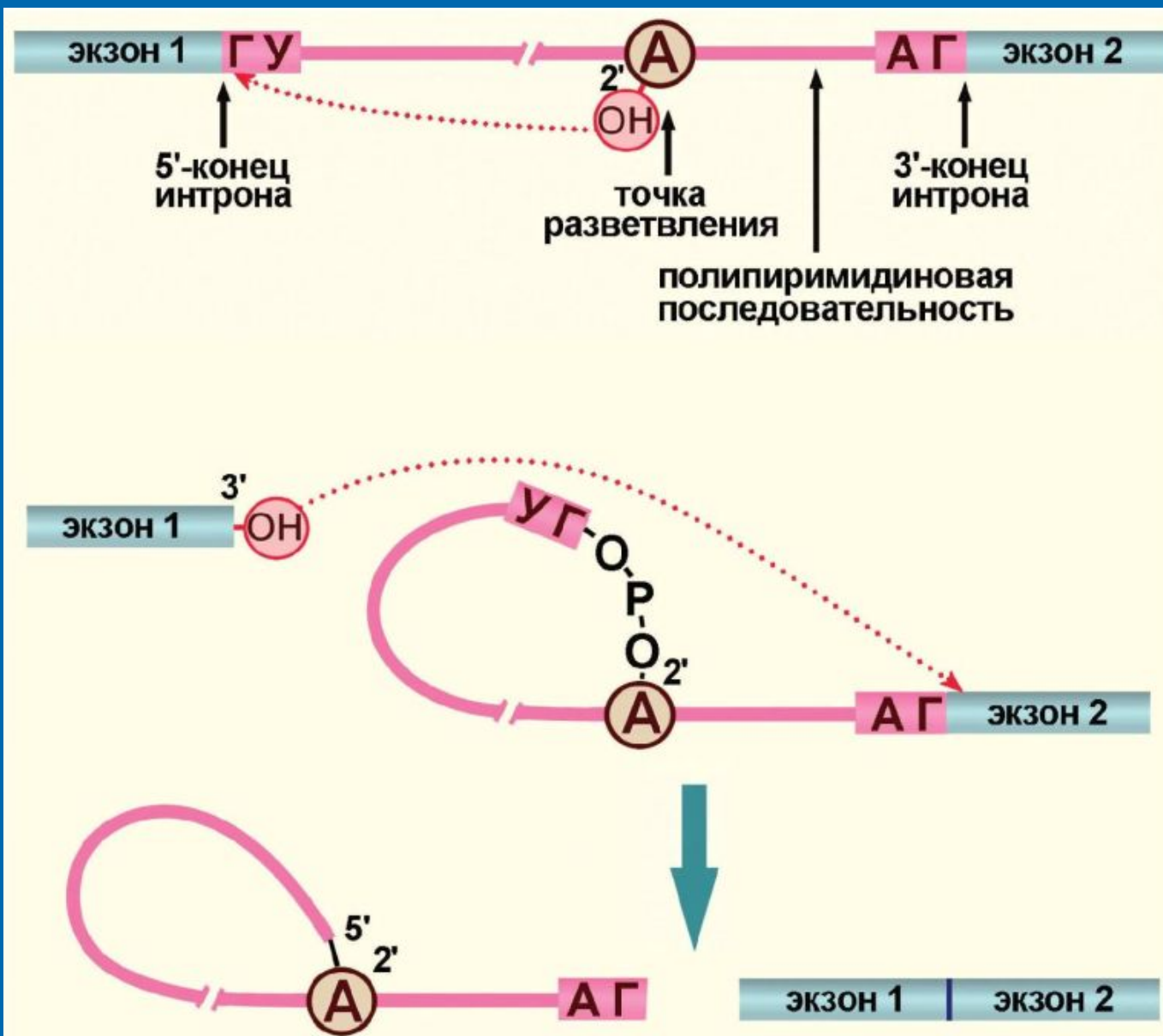


Редктирование мРНК у трипаносомы

СПЛАЙСИНГ

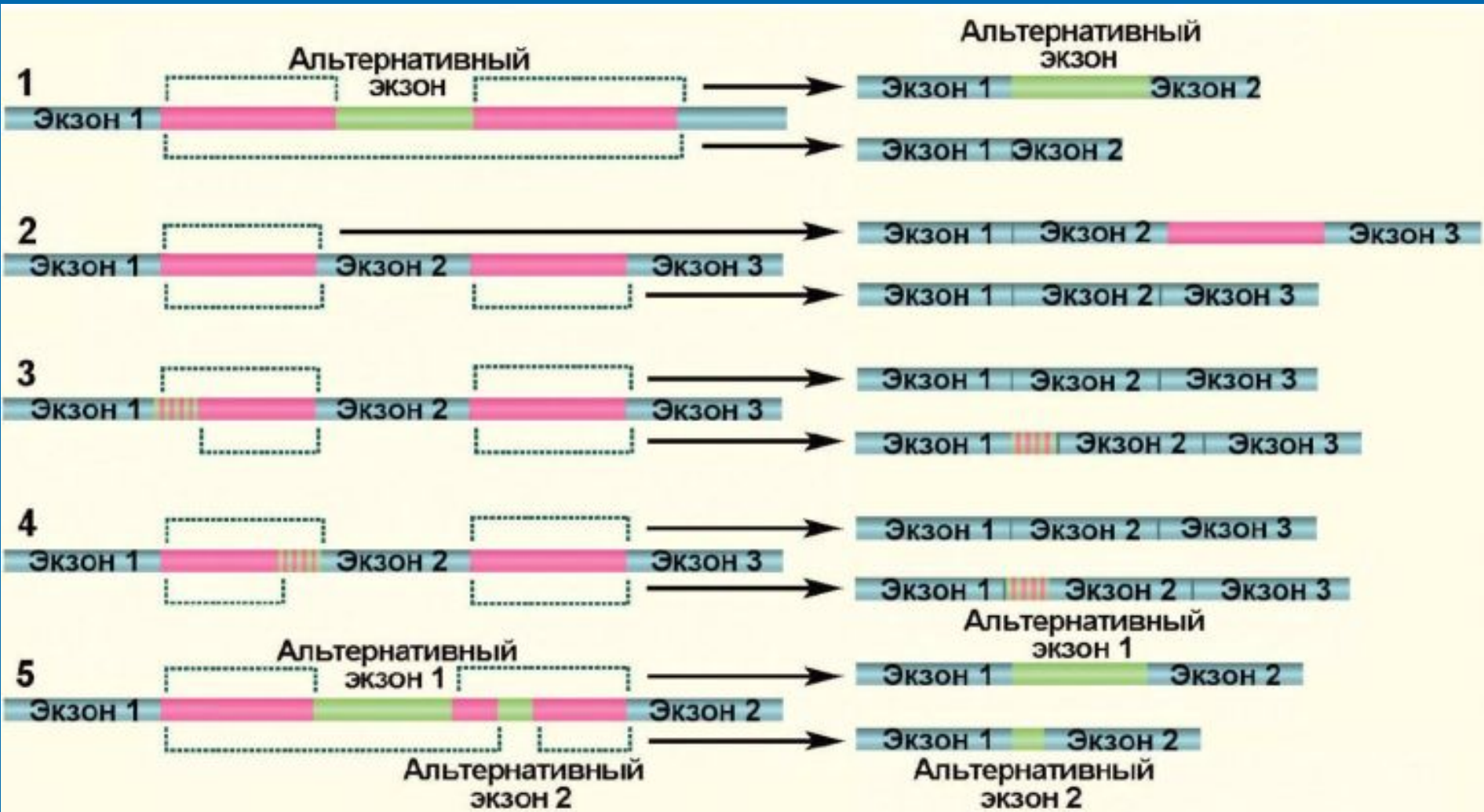


При созревании мРНК интроны вырезаются, а экзоны сшиваются



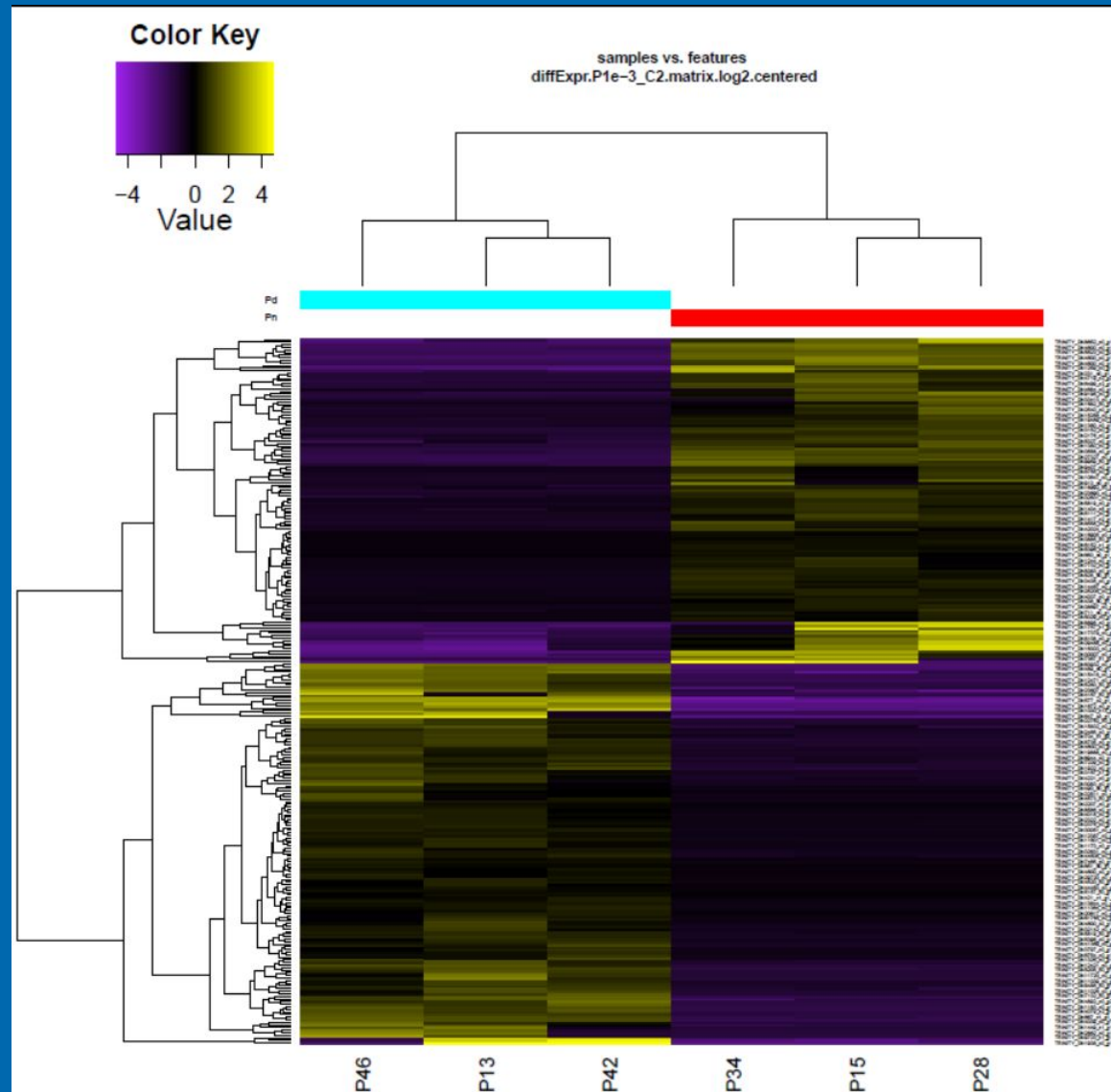
На концах интронов ядерных генов имеются короткие консенсусные последовательности 5' ГУ----- //----- АГ 3'. Адениловый нуклеотид в точке разветвления своей 2'-ОН группой атакует 5'-конец интрона

Альтернативный сплайсинг



1 - с оставлением или вырезанием экзона; 2 – с оставлением или вырезанием интрона; 3 - с распознаванием разных 5'-концов в интроне; 4 – с распознаванием разных 3'-концов в интроне; 5 - с взаимоисключающим оставлением экзонов

ТРАНСКРИПТОМЫ. АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ



Тепловая карта, отражающая **экспрессию генов**, достоверно регулируемых между головным отделом почки байкальского омуля, не зараженного (P15, P28, P34) и зараженного *D. dendriticum* (P13, P42, P46).