

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

Н.Н. Скворцова

ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

Учебное пособие

 **УНИВЕРСИТЕТ ИТМО**

Санкт-Петербург

2015

УДК 577.21
ББК 28.070
С 42

Скворцова Н.Н. Основы молекулярной биологии: Учеб. пособие. – СПб.: Университет ИТМО; ИХиБТ, 2015. – 74 с.

Материал пособия содержит сведения о строении и функциях биомолекул, обеспечивающих наследование и воспроизводство разнообразия жизненных форм. Рассмотрены процессы, происходящие в живой клетке и лежащие в основе молекулярных биотехнологий, объединенных общим названием – генетическая инженерия. Пособие предназначено для студентов второго курса бакалавриата факультета пищевых биотехнологий и инженерии направления 19.03.01 Биотехнология, а также для магистрантов, обучающихся по направлениям: 19.04.01 Биотехнология; 19.04.02 Продукты питания из растительного сырья; 19.04.03 Продукты питания животного происхождения.

Рецензенты: кафедра химии и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного торгово-экономического университета (зав. кафедрой доктор техн. наук Ю.Г. Базарнова); кандидат биол. наук, доц. Т.П. Санькова (Санкт-Петербургский государственный политехнический университет)

Рекомендовано к печати редакционно-издательским советом Института холода и биотехнологий



Университет ИТМО – ведущий вуз России в области информационных и фотонных технологий, один из немногих российских вузов, получивших в 2009 году статус национального исследовательского университета. С 2013 года Университет ИТМО – участник программы повышения конкурентоспособности российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров, известной как проект «5 – 100». Цель Университета ИТМО – становление исследовательского университета мирового уровня, предпринимательского по типу, ориентированного на интернационализацию всех направлений деятельности.

© Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, 2015

© Скворцова Н.Н., 2015

ВВЕДЕНИЕ

Основы молекулярной биологии являются составной частью дисциплины бакалавриата «Основы биохимии и молекулярной биологии» направления 19.03.01 Биотехнология и фундаментальной составляющей следующих дисциплин:

- бакалавриата: «Основы генетической инженерии» (направление 19.03.01 Биотехнология);
- магистратуры: «Молекулярная биотехнология» (направление 19.04.01, магистерские программы «Биотехнология продуктов функционального назначения», «Информационные технологии и измерительные системы в биотехнологии и биоинженерии»; направление 19.04.02 Продукты питания из растительного сырья, магистерская программа «Ферментативные процессы в биотехнологии»; направление 19.04.03 Продукты питания животного происхождения, магистерская программа «Микробиологические процессы в пищевых технологиях»);
- дисциплина магистратуры «Современные проблемы биотехнологии», магистерские программы направления 19.04.01 Биотехнология.

Основы молекулярной биологии являются логическим продолжением содержания дисциплин бакалавриата «Биохимия», «Аналитическая химия и ФХМА», «Органическая химия», «Общая и пищевая микробиология», «Биология и основы микробиологии».

Все дисциплины, составной или базовой частью которых являются «Основы молекулярной биологии», реализуются кафедрой химии и молекулярной биологии на факультете пищевых биотехнологий и инженерии Университета ИТМО.

Молекулярная биология изучает явления жизни на уровне макромолекул в субклеточных структурах, в вирусах, в клетках. Цель молекулярной биологии – установление роли и механизма функционирования этих макромолекул на основе знания их структуры и свойств.

Исторически молекулярная биология сформировалась в ходе развития направлений биохимии, изучающих белки и нуклеиновые кислоты. В то время как биохимия исследует обмен веществ и биоэнергетику процессов, происходящих в живой клетке, молекулярная биология главное внимание сосредоточивает на изучении *способа*

хранения наследственной информации, механизма ее передачи дочерним клеткам и реализации этой информации. Начав с изучения биологических процессов на молекулярно-атомном уровне, молекулярная биология перешла к сложным надмолекулярным клеточным структурам и в настоящее время успешно решает проблемы генетики, физиологии, эволюции и экологии.

Молекулярная биология возникла на границе биохимии, биоорганической химии, биофизики, органической химии, микробиологии, цитологии и генетики. Формальной датой возникновения молекулярной биологии считают 1953 год. В 1953 г. Дж. Уотсон и Ф. Крик, используя рентгенограммы ДНК, впервые полученные Розалиндой Франклин и М. Уилкинсом, и правила Э. Чаргаффа о закономерностях первичной структуры ДНК, установили пространственную структуру ДНК и высказали подтвердившееся позже предположение о механизме ее репликации (удвоении), лежащем в основе наследственности.

Для понимания закономерностей строения нуклеиновых кислот и процессов с их участием в клетке важнейшее значение имеет принцип комплементарности пуриновых и пиримидиновых оснований, установленный в 1953 г. Дж. Уотсоном и Ф. Криком.

Исследование механизма биосинтеза белка позволило установить центральную догму молекулярной биологии, которая характеризует направление движения генетической информации в организме: ДНК → матричная рибонуклеиновая кислота (мРНК) → белок.

В 1954 г. А. Даунс и Г. Гамов сформулировали концепцию генетического кода. Расшифровка генетического кода осуществлена М. Ниренбергом, Х. Маттеи и С. Очоа совместно с Х.Г. Кораной в 1961–65 гг. Открытие генетического кода позволило установить соотношение последовательности нуклеотидов в нуклеиновых кислотах с последовательностью аминокислот в белках.

К середине 60-х гг. XX в. утвердилось представление об универсальности основных черт строения и функции гена как сложной линейной структуры ДНК, который в результате транскрипции и последующей трансляции определяет первичную структуру полипептидной цепи белковых молекул.

В последующие десятилетия знания в области молекулярной биологии стремительно углублялись и расширялись, что позволило сформировать новые направления прикладного характера.

Большое значение имеют исследования репарации (исправлений) повреждений генома, причиненных коротковолновой радиацией или химическими мутагенами.

Самостоятельной областью исследований является изучение механизма действия ферментов, основанного на представлениях о трехмерной структуре белков и роли слабых межмолекулярных взаимодействий.

Важной областью прикладного использования достижений молекулярной биологии является генетическая инженерия, разрабатывающая методы конструирования наследственных структур в виде рекомбинантных молекул ДНК. На базе генетической инженерии активно развивается направление биотехнологии, связанное с производством пептидов и белков.

Целенаправленное изменение структуры генов и их регуляторных областей и введение таких генов в бактериальные, животные и растительные клетки позволило создавать трансгенные организмы с новыми свойствами. Возможность направленного и контролируемого изменения наследственного аппарата животных и растений для получения высокопродуктивных пород и сортов обуславливает важное практическое значение молекулярной биологии в развитии сельского хозяйства, микробиологической промышленности, теоретических основ различных разделов медицины.

По образному выражению профессора В.Н. Рыбчина, создание и реализация искусственных генетических программ (рекомбинантные ДНК) – это генетическая инженерия *in vitro*, в то время как наука, заложившая возможности возникновения этого направления – молекулярная биология, – не что иное, как генетическая инженерия *in vivo*.

В предлагаемое пособие включены краткие сведения о строении молекул генетического аппарата клетки и их функциях. Сведения, выходящие за рамки необходимого минимума, но представляющие несомненный интерес для любознательных, отмечены значком «☼».

Каждый раздел пособия завершается вопросами для самопроверки. Приведены варианты контрольных заданий. Для успешного продвижения в изучении предмета помещен список литературы и интернет-источников, содержащих дополнительные сведения по материалам разделов. Пособие содержит рисунки и схемы, которые будут способствовать усвоению теоретического материала, приложение 1 – строение клетки, приложение 2 – словарь терминов.

1. РЕПЛИКАЦИЯ, СОХРАНЕНИЕ И МОДИФИКАЦИЯ ГЕНОМА

Информация о признаках, присущих организму, сосредоточена в его генетическом аппарате, который обеспечивает сохранение и воспроизведение этих признаков в процессе размножения организма: возникающие дочерние особи обнаруживают в большинстве случаев полное сходство с родительскими. Это говорит о том, что генетический аппарат обладает высокой стабильностью и точностью механизмов, обеспечивающих его функционирование.

Совокупность компонентов клетки человека, обеспечивающих хранение, передачу и реализацию генетической информации, составляет ее генетический аппарат.

Хранение генетической информации осуществляют ядерная и митохондриальная ДНК (*геном*).

Ядерная ДНК представляет собой 46 линейных молекул ДНК, упакованных в форме хроматина или хромосом в ядре, причем 50 % составляют молекулы материнского и 50 % отцовского происхождения. Ядерная ДНК содержит около 30 000 пар кодирующих белки генов, локализованных в 23 парах молекул ДНК, из которых 22 пары аутосом (одинаковых у мужчин и женщин) и пара половых хромосом, отличающихся у мужчин (XY) и женщин (XX). Соматические клетки имеют идентичный генетический материал – диплоидный набор хромосом.

Митохондриальная ДНК состоит из кольцевых молекул ДНК, которые полностью материнского происхождения. Она содержит 13 структурных генов. Соматические клетки отличаются по количеству (в зависимости от интенсивности клеточного метаболизма) и качественному (вследствие мутаций на уровне клетки) составу митохондриальной ДНК.

Двадцать две аутосомы, половые хромосомы X и Y, митохондриальная ДНК человека содержат вместе примерно 3,1 миллиарда пар оснований (п.о.).

Передача генетической информации от клетки к клетке осуществляется во время митоза. В аппарат поддержания и передачи генетической информации входят следующие компоненты: *реплиосома* (комплекс белков, обеспечивающих *репликацию*); белковые факторы, необходимые для *репарации*; центриоли, участвующие в образо-

вании веретена деления и ответственные, таким образом, за точное и равное распределение хромосом в митозе.

Реализация генетической информации, закодированной в структурных генах, протекает в несколько этапов с участием аппарата транскрипции (белковых факторов, распознающих ген-мишень и обеспечивающих синтез *мРНК*); аппарата трансляции – *рибосом*, являющихся местом трансляции и синтеза белка; молекул *тРНК* – переводчиков *генетического кода*; белковых факторов – регуляторов трансляции и созревания белков.

Реализация генетической информации *на молекулярном уровне* проявляется синтезом определенного белка, *на клеточном уровне* – функциями данного белка в клетке, образованием определенной клеточной структуры; *на уровне организма* – наличием определенного фенотипического признака.

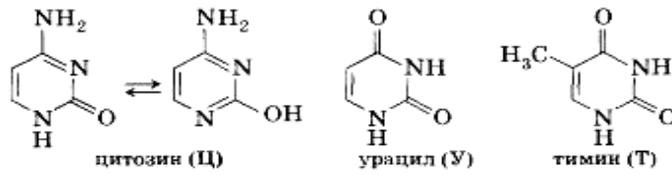
Однако стабильность генетического аппарата не абсолютна, так как это исключало бы всякую возможность его изменений и, следовательно, эволюционных преобразований, приведших к возникновению разнообразных форм жизни. Таким образом, генетический аппарат, с одной стороны, обеспечивает свою стабильность, а с другой – обладает способностью к изменчивости.

1.1. Молекулы генетического аппарата

Подавляющее большинство организмов содержат дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) в качестве генетического материала, и лишь некоторые вирусы лишены ДНК и состоят из белка и рибонуклеиновой кислоты (РНК). **Нуклеиновые кислоты** играют основную роль в передаче генетической информации и управлении процессами биосинтеза белка. Нуклеиновые кислоты есть у всех живых организмов. В клетках эукариот нуклеиновые кислоты находятся в ядре, в клетках прокариот – в цитоплазме.

Нуклеиновые кислоты – это высокомолекулярные соединения с молекулярной массой от 20 тысяч до миллиардов дальтон, полимерные цепи которых построены из мономерных звеньев – **нуклеотидов**. В состав нуклеотидов (рис. 1) входят: сахар (рибоза или дезоксирибоза), остаток фосфорной кислоты (фосфат) и азотсодержащие гетероциклические основания – пурины (гуанин и аденин) и пиримидины (цитозин, тимин, урацил):

Пиримидиновые основания



Пиримидиновые основания способны к таутомерии, которая показана выше на примере цитозина.

Пуриновые основания



Пентозы

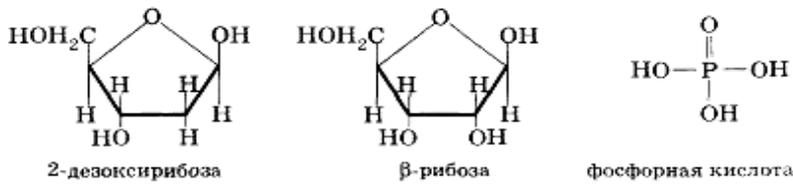


Рис. 1. Составные части нуклеотидов

Сахара вместе с азотистым основанием образуют **нуклеозиды**, которые называются соответственно аденозин, гуанозин, тимидин, цитидин, уридин (рис. 2):

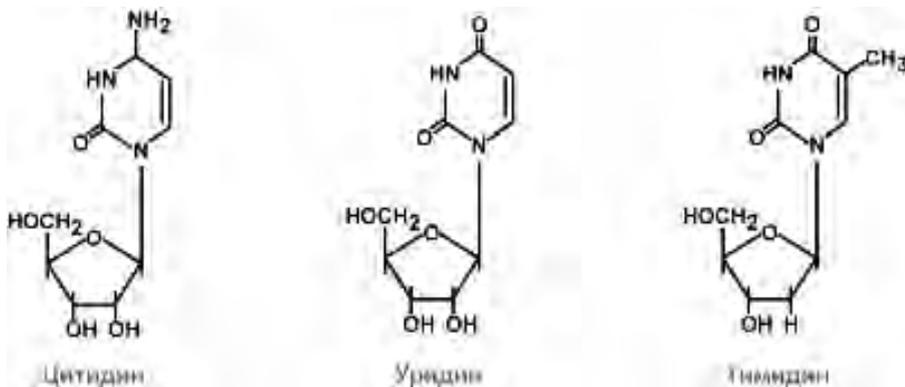


Рис. 2. Строение пиримидиновых нуклеозидов

Если к нуклеозидам присоединены один, два или три фосфорных остатка, то вся эта структура называется, соответственно, нуклеозидмонофосфатом, -дифосфатом или -трифосфатом или **нуклеотидом** (рис. 3):

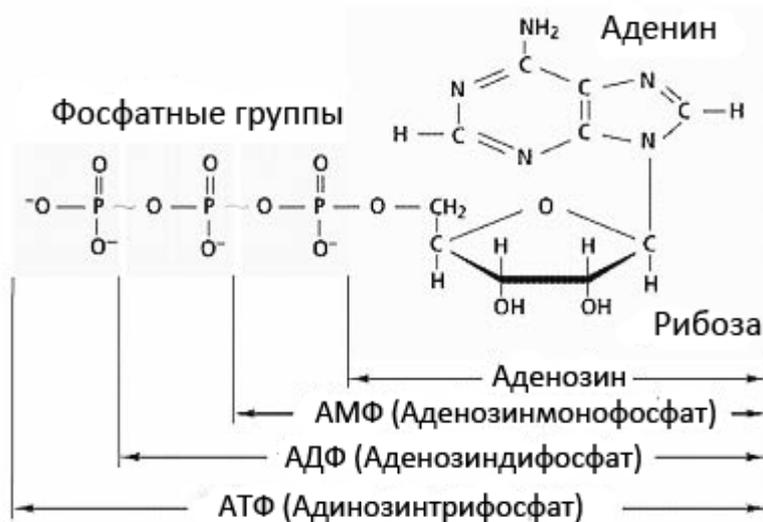


Рис. 3. Строение нуклеотидов:
 АМФ – аденозинмонофосфат,
 АДФ – аденозиндифосфат и АТФ – аденозинтрифосфат

ДНК является полимером **дезоксирибонуклеотидов**, РНК – полимером **рибонуклеотидов**. Эти приставки указывают на структуру сахара, входящего в состав нуклеиновой кислоты (рис. 4):

Номенклатура нуклеозидов является основой для названия соответствующих нуклеотидов, в свою очередь нуклеозиды именуется по названиям входящих в их состав гетероциклических оснований. Буквенное обозначение нуклеотидов в полинуклеотидной цепи соответствует обозначению входящего в его состав гетероциклического основания (табл. 1).

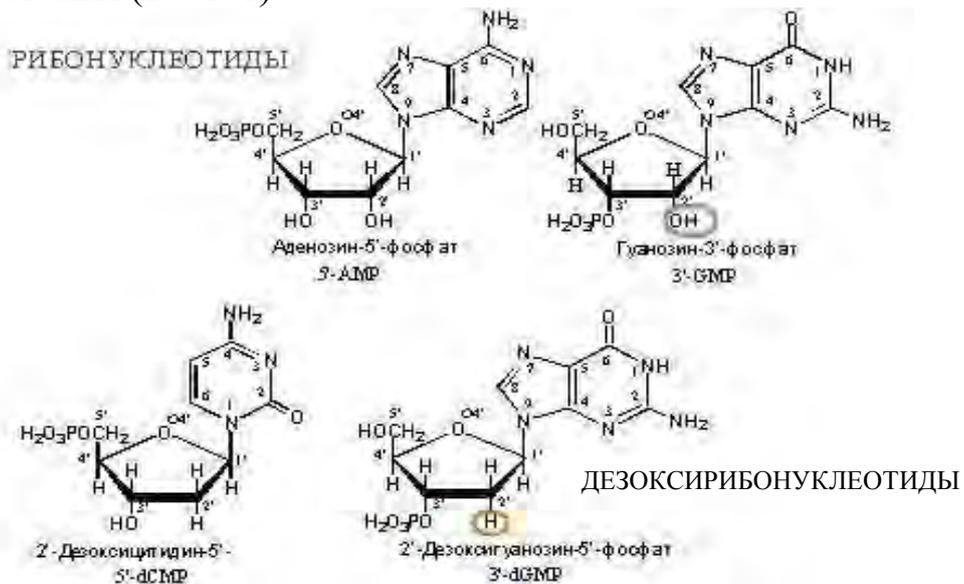


Рис. 4. Нуклеотиды

Отличия в первичной структуре ДНК и РНК показаны в табл. 1. Каждая цепь нуклеиновой кислоты построена из звеньев четырех сортов, причем последовательность звеньев в цепи может быть совершенно произвольной.

Нуклеотидный состав ДНК подчиняется **правилам Э.Чаргаффа**:

1. Количество аденина (А) равно количеству тимина (Т), а количество гуанина (Г) – количеству цитозина (Ц):

$$A = T, \quad G = C;$$

2. Количество пуринов равно количеству пиримидинов:

$$A+G = T+C.$$

Нуклеотидный состав РНК подобным правилам не подчиняется.

Таблица 1

Составные части ДНК и РНК

Компоненты	ДНК	РНК
Сахар	2'-дезоксирибоза	Рибоза
Гетероциклические основания:		
пуриновые	Аденин (А) Гуанин (Г, G)	Аденин (А) Гуанин (Г, G)
пиримидиновые	Цитозин (Ц, C) Тимин (Т)	Цитозин (Ц, C) Урацил (У, U)

Молекула ДНК состоит из двух полимерных цепей, образующих правовинтовую, регулярную (витки имеют практически одинаковые размеры) двойную спираль. Обратите внимание на **направленность** в молекулах нуклеиновых кислот: молекула имеет 5'- и 3'-концы в соответствии с нумерацией атомов в молекуле рибозы (рис. 5):

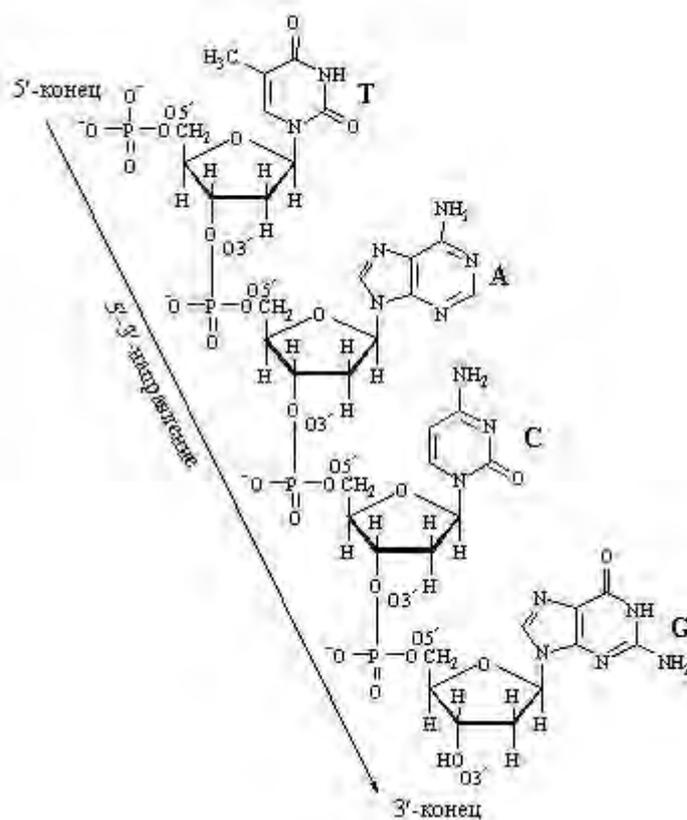


Рис. 5. Схема строения одинарной цепи ДНК (стрелкой показано направление, в котором происходит биосинтез цепи ДНК)

Принципы построения молекулы ДНК:

1. **Нерегулярность.** Существует регулярный сахарофосфатный остов. К каждому остатку сахара присоединены азотистые основания. Их чередование нерегулярно (см. рис. 5).

2. **Антипараллельность.** ДНК состоит из двух полинуклеотидных цепей, ориентированных антипараллельно: 3`-конец одной расположен напротив 5`-конца другой (рис. 6).

3. **Комплементарность (дополнительность).** Напротив каждого азотистого основания одной цепи находится строго определенное азотистое основание другой цепи, причем одно из них пурин, другое – пиримидин. Пурин и пиримидин в паре образуют водородные связи. В паре А–Т две водородные связи, в паре Г–Ц – три (рис. 6).

4. **Наличие регулярной вторичной структуры.** Две комплементарные, антипараллельно расположенные полинуклеотидные цепи образуют правые спирали с общей осью (рис. 6).

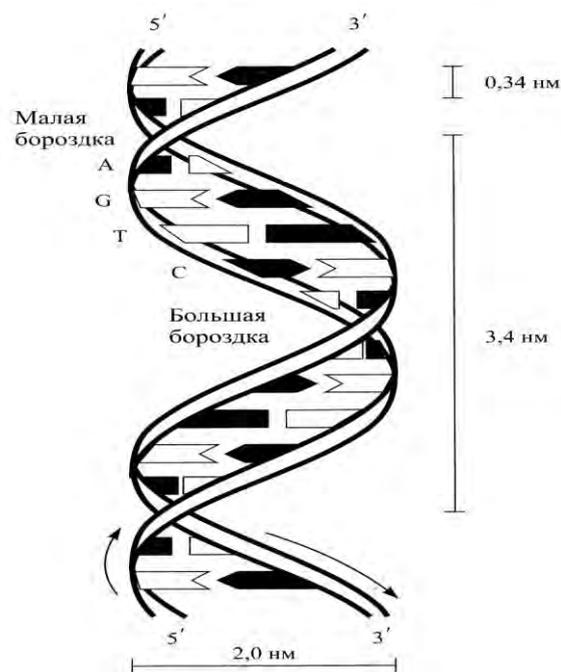


Рис. 6. Схема вторичной структуры ДНК
(стрелками показано направление полинуклеотидной цепи)

Модель структуры ДНК, предложенная в 1953 г. Дж. Уотсоном и Ф. Криком, объяснила кодирование генетической информации, мутационную изменчивость и воспроизведение генов, которые представляют собой участки молекулы ДНК. Комплементарность цепей и последовательность нуклеотидов – химическая основа функций нуклеиновых кислот, хранение, воспроизведение, передача наследственной информации и биосинтез белка.

В средней эукариотической клетке общая протяженность геномной ДНК составляет около 2 м, диаметр ее ядра всего ~10–20 мкм. Сегодня известно, что упаковка ДНК (а) в ядре эукариотической клетки осуществляется в несколько этапов (рис. 7). Сначала нить ДНК укладывается в нуклеосомы (б), затем нуклеосомная нить складывается в так называемую фибриллу (в), соленоид или зигзагообразную нить (г), что обеспечивает дополнительную компактизацию. Последний фрагмент рисунка – хромосома (д):

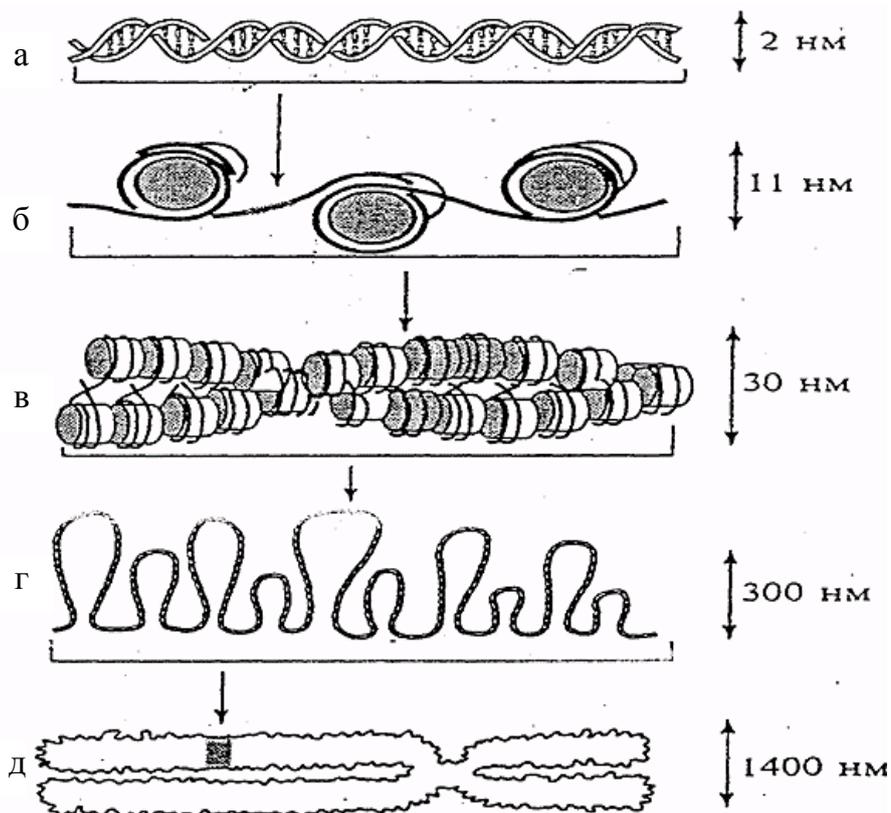


Рис. 7. Пространственная упаковка ДНК (а – д)

Далее фибрилла организуется в большие (50 и более тысяч пар нуклеотидов) петли, концы которых закрепляются на белковом скелете ядра. Таким образом происходит упаковка ДНК одной хромосомы, однако геном эукариотической клетки разделен на несколько хромосом. Например, в клетках плодовой мушки дрозофилы имеются четыре пары хромосом, в клетках человека – 46. Индивидуальные хромосомы можно увидеть под микроскопом только во время митоза.

Все клеточные организмы используют для синтеза белков рибонуклеиновые кислоты (РНК). Выделяют три вида РНК: **матричная (информационная) РНК** – мРНК (иРНК), **транспортная РНК** – тРНК, **рибосомная РНК** – рРНК. Все виды РНК представляют собой неразветвленные одноцепочечные полинуклеотиды, которые имеют специфическую пространственную конформацию. Информация о строении всех видов РНК хранится в ДНК. Процесс синтеза РНК на матрице ДНК называется **транскрипцией**.

Наиболее хорошо изученными являются **транспортные РНК (тРНК)**, которые содержат обычно от 76 до 85 нуклеотидов и имеют молекулярную массу от 25 000 до 30 000 D. На долю тРНК приходится

ся около 10 % от общего содержания РНК в клетке. Отвечает тРНК за транспорт аминокислот к месту синтеза белка, – к рибосомам. В клетке встречается около 30 видов тРНК, каждый из них имеет характерную только для него последовательность нуклеотидов.

Рибосомные РНК (рРНК) содержат 3 000–5 000 нуклеотидов. На долю рРНК приходится 80–85 % от общего содержания РНК в клетке. В комплексе с рибосомными белками рРНК образует рибосомы – органеллы, осуществляющие синтез белка (*трансляцию*).

Информационные (матричные) РНК разнообразны по содержанию нуклеотидов и молекулярной массе (до 30 000 нуклеотидов). На их долю приходится до 5 % от общего содержания РНК в клетке. Функции мРНК:

- перенос генетической информации от ДНК к рибосомам;
- матрица для синтеза молекулы белка;
- определение аминокислотной последовательности первичной структуры белковой молекулы.

1.2. Репликация ДНК

Репликация (от лат. *replicatio* – повторение) – это самовоспроизведение нуклеиновых кислот, обеспечивающее точное копирование генетической информации и передачу ее от поколения к поколению.

Репликацией ДНК называется процесс удвоения ДНК, который происходит при делении клетки: каждая дочерняя клетка получает по одной копии молекулы ДНК, являющейся идентичной ДНК исходной материнской клетки. Такой механизм репликации, получивший название полуконсервативного, послужил первым прямым доказательством справедливости модели Дж. Уотсона и Ф. Крика. В процессе синтеза дочерних цепей родительская двухцепочечная ДНК расплетается, образуя структуру, напоминающую латинскую букву Y – репликативную вилку (рис. 8).

В настоящее время процесс репликации у прокариот достаточно изучен, однако с большой долей вероятности можно утверждать, что в большинстве клеток эукариот этот процесс протекает в основном одинаково. Скорость синтеза ДНК при этом у прокариот на порядок выше (1000 нуклеотидов в секунду), чем у эукариот (100 нуклеотидов в секунду).

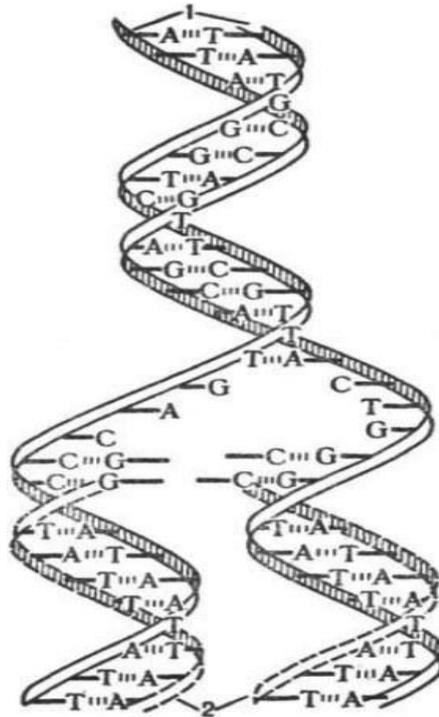


Рис. 8. Схема полуконсервативного механизма репликации:
 А, Т, Г и С – остатки пуриновых (аденина, гуанина)
 и пиримидиновых (тимина, цитозина) оснований;
 1 – исходная (материнская) цепь ДНК;
 2 – новые (дочерние) цепи ДНК

Репликация состоит из большого числа последовательных этапов, которые включают узнавание сайта начала репликации, расплетание исходного дуплекса (спирали), удержание его цепей в изолированном друг от друга состоянии, инициацию синтеза на них новых дочерних цепей, их рост (элонгацию), закручивание цепей в спираль и терминацию (окончание) синтеза.

Ферментные системы синтеза ДНК у про- и эукариот до конца не выяснены. По имеющимся данным, репликация ДНК включает узнавание точки начала процесса, расплетание родительских цепей ДНК в репликационной вилке, инициацию биосинтеза дочерних цепей и дальнейшую их элонгацию (рост) и, наконец, терминацию. В процессе участвуют более 40 ферментов и белковых факторов, объединенных в единую **ДНК-репликационную систему**, называемую **реплисомой**. Все этапы репликации протекают с исключительной точностью.

Функциональная единица репликации (**репликон**) – сегмент ДНК, ограниченный точкой инициации репликации (сайт *ori*), и точкой окончания, в которой репликация останавливается. Бактериальные ДНК содержат один репликон. Эукариотические хромосомы содержат большое число репликонов. В каждом клеточном цикле репликация иницируется только один раз.

На схеме (рис. 9) показана простейшая схема репликации.

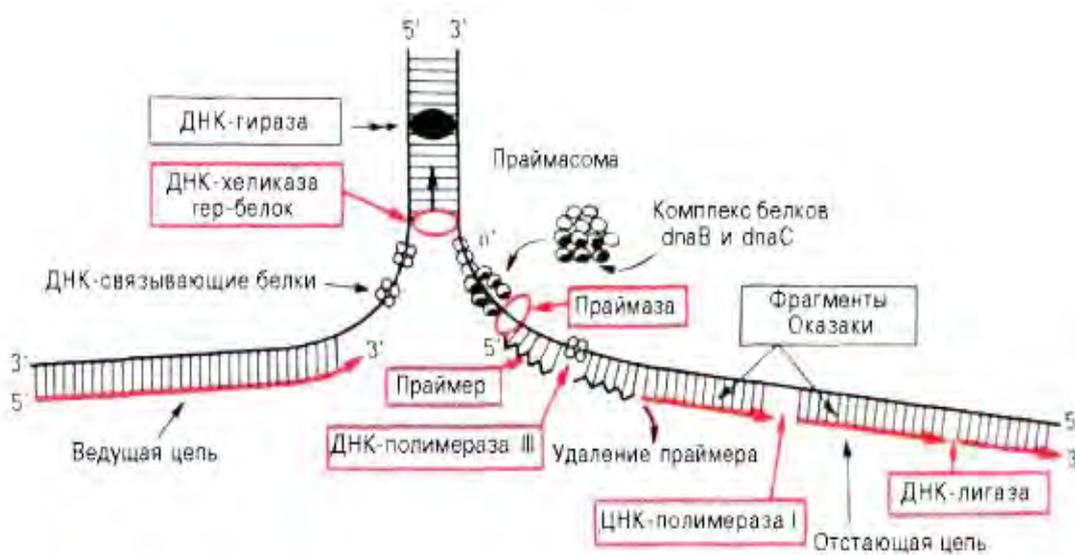


Рис. 9. Основные этапы репликации ДНК

Репликация начинается одновременно в нескольких участках молекулы ДНК, имеющих определенную нуклеотидную последовательность и называемых **ориджинами** (англ. *origin* – начало, **сайт *ori***). С помощью ферментов хеликаз (геликаз) в определенных участках ДНК расплетается, одноцепочечные участки ДНК связываются дестабилизирующими ДНК-связывающими белками, и образуется **репликационная вилка**.

ДНК-полимераза в качестве субстратов для синтеза ДНК использует дезоксирибонуклеозид-5'-фосфаты (АТФ, ГТФ, ЦТФ и ТТФ) и может присоединять нуклеотид только к 3'-углероду дезоксирибозы предыдущего нуклеотида, поэтому фермент способен передвигаться по матричной ДНК только в одном направлении – **от 3'-конца к 5'-концу этой матричной ДНК (3'→5')**. Так как в материнской ДНК цепи анти-

параллельны, то на разных цепях сборка дочерних полинуклеотидных цепей происходит по-разному и в противоположных направлениях. На цепи 3'→5' синтез дочерней полинуклеотидной цепи идет без перерывов, эта дочерняя цепь называется *ведущей (лидирующей)*. На цепи 5'→3' синтез идет прерывисто, фрагментами (*фрагменты Оказаки*), которые после завершения репликации сшиваются в одну цепь ферментами ДНК-лигазами. Эта дочерняя цепь будет называться *отстающей (запаздывающей)*. Особенность ДНК-полимеразы: она может начинать свою работу только с «затравки» (*праймера*). Роль затравок выполняют короткие последовательности РНК (олигорибонуклеотид), образуемые при участии фермента *РНК-праймазы* и спаренные с матричной ДНК:



РНК-праймеры после окончания сборки полинуклеотидных цепочек удаляются и заменяются на нуклеотиды ДНК другой ДНК-полимеразой.

В образованной таким образом двойной спирали ДНК только одна из цепей синтезирована заново. Поэтому говорят, что репликация ДНК происходит по полуконсервативному механизму.

Частота ошибок при ДНК-репликации не превышает 1 на 10^9 – 10^{10} нуклеотидов, и подобные ошибки, как правило, легко исправляются за счет процессов *репарации*. Столь высокая степень точности воспроизведения информации определяется не только комплементарностью нуклеотидов, но и действием ДНК-полимераз, которые способны распознать ошибку в образующейся последовательности и исправить её.

Следует заметить, что точность воспроизведения РНК (транскрипция) и белков (трансляция) в тысячи раз ниже. Это связано с тем, что эти процессы, затрагивающие только одну клетку, не столь жизненно важны, как *репликация*, которая определяет будущее всего вида.

1.3. Транскрипция

Транскрипция (лат. *transcriptio* – переписывание) – это перенос генетической информации с ДНК на РНК, т. е. процесс синтеза РНК с использованием ДНК в качестве матрицы, происходящий во всех живых клетках.

Транскрипция состоит из стадий инициации, элонгации и терминации. В результате транскрипции образуются три класса молекул РНК: матричные (мРНК), транспортные (тРНК) и рибосомальные (рРНК).

При транскрипции транскрибируются только небольшие участки молекулы ДНК. Транскрибируемый участок ДНК ограничен со стороны 3'-конца **промотором** – участком, с которым связывается РНК-полимераза, а со стороны 5'-конца – **терминатором**, т. е. участком, в котором прерывается синтез РНК. Последовательность ДНК, ограниченная промотором и терминатором, представляет собой единицу транскрипции – **транскриптон** (рис. 10).

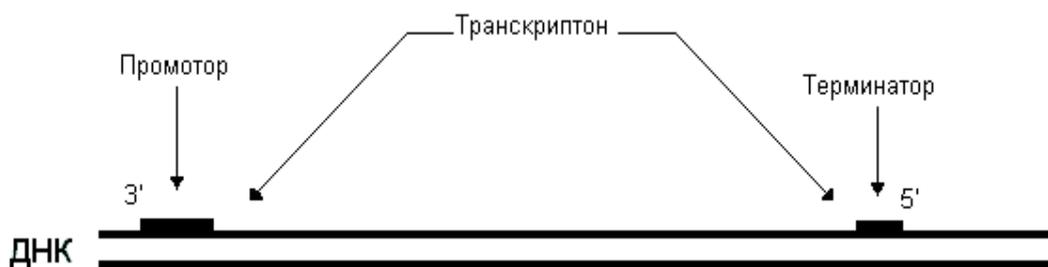


Рис. 10. Схема транскриптона

РНК-полимераза в качестве субстратов для синтеза РНК использует рибонуклеозид-5'-трифосфаты (АТФ, ГТФ, ЦТФ и УТФ). Как и ДНК-полимераза, при репликации РНК-полимераза удлиняет цепь, присоединяя нуклеотиды к 3'-концу, наращивая цепь в направлении 5'→3'. Из двух цепей ДНК транскрибируется только одна. В отличие от ДНК-полимеразы РНК-полимераза не нуждается в заправке. Нуклеотиды присоединяются к цепи в соответствии с **принципом комплементарности**. Образовавшаяся в результате транскрипции РНК комплементарна матричной цепи ДНК (рис. 11):

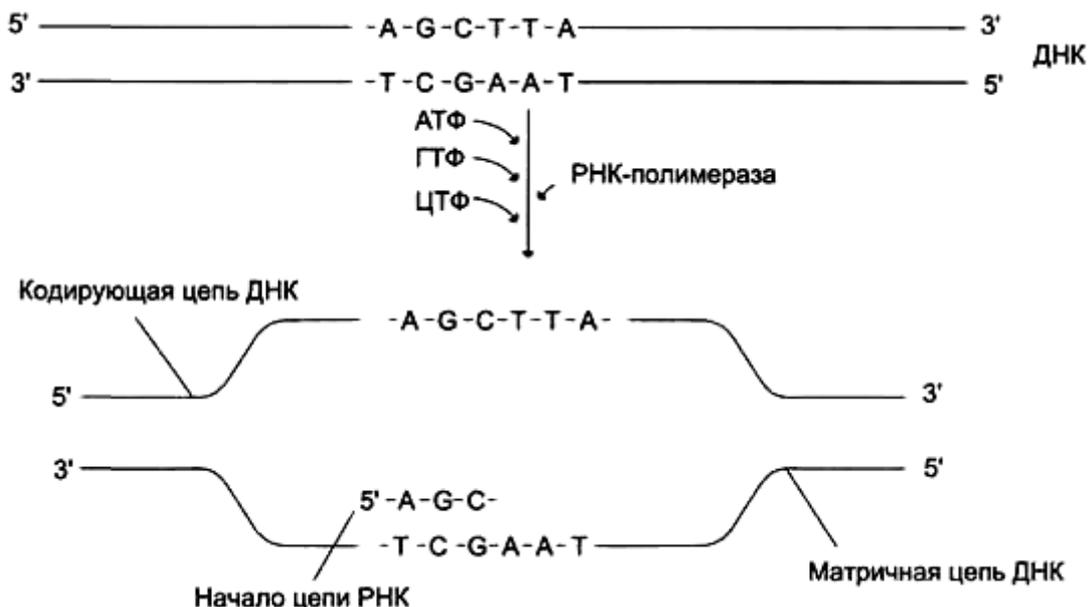


Рис. 11. Транскрипция РНК на матричной цепи ДНК

В процессе транскрипции выделяют три стадии: **инициацию**, **элонгацию** и **терминацию**. На стадии инициации РНК-полимераза, взаимодействуя с промотором, вызывает расхождение цепей ДНК (плавление ДНК) и начинает синтез молекулы РНК. В процессе транскрипции расплетенный участок ДНК (транскрипционный пузырь) занимает 12–18 пар оснований. Как только РНК-полимераза достигнет терминирующих последовательностей, запускается последняя стадия – терминация. По ее завершении происходит освобождение вновь синтезированной цепи РНК (см. рис. 11).

Синтезированные молекулы РНК могут подвергаться посттранскрипционным ковалентным модификациям – так называемому **процессингу** (созреванию): РНК синтезируются в виде более длинных предшественников, которые затем расщепляются и модифицируются. В процессе созревания у некоторых предшественников тРНК наряду с удалением концевых последовательностей может происходить и присоединение нуклеотидных последовательностей, играющих важную роль в их функционировании.

В 1959 г. за открытие механизма биологического синтеза РНК американскому и испанскому биохимику Северо Очоа (*Severo Ochoa*) была присуждена Нобелевская премия.

1.4. Синтез ДНК на матрице РНК (обратная транскрипция)

У некоторых вирусов геномом служит не ДНК, а РНК. Среди них выделяется группа ретровирусов (ретро – обратный), которые способны осуществлять синтез ДНК на РНК матрице, т. е. противоположно тому, что происходит в клетках высших организмов. Такой процесс получил название *обратной транскрипции*, а фермент, его осуществляющий, был назван *обратной транскриптазой*, или *ревертазой*.

После инфицирования клетки ретровирусом начинается синтез вирусного ДНК-генома на матрице РНК вируса. Вирусный фермент – обратная транскриптаза – синтезирует сначала одну нить ДНК на матрице вирусной РНК. Затем уже на матрице синтезированной нити ДНК фермент клетки ДНК-полимераза достраивает вторую, комплементарную ей нить. Образуется двунизовая молекула ДНК, которая интегрируется в хромосомную ДНК клетки-хозяина (рис. 12).

Обратная транскриптаза была открыта в 1970 г. американским учеными генетиком и вирусологом Говардом Теминым (университет Висконсин-Мэдисон) и независимо биохимиком Дэвидом Балтимором (Массачусетский технологический институт). Оба исследователя получили Нобелевскую премию в области физиологии и медицины в 1975 г. совместно с итальянским и американским вирусологом Ренато Дульбекко «за открытия, касающиеся взаимодействия между онкогенными вирусами и генетическим материалом клетки».

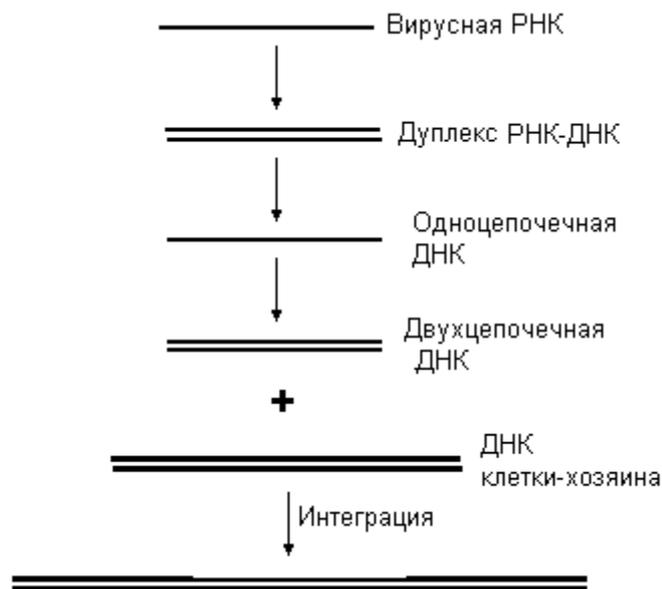


Рис. 12. Схема обратной транскрипции

Открытие обратной транскриптазы имело большое значение для всей науки о живом, поскольку указывало на возможность передачи наследственной информации от РНК на ДНК, не подчиняясь первоначальной формулировке основного постулата – центральной догме молекулярной биологии, сформулированной в 1958 году, которая гласила, что поток информации идет только в одном направлении: ДНК→РНК→БЕЛОК.

1.5. Репарация ДНК

Репарация (от лат. *reparatio* – восстановление) – особая функция клеток всех живых организмов, заключающаяся в способности исправлять химические повреждения и разрывы в молекулах ДНК, повреждённой при нормальном биосинтезе ДНК в клетке, или в результате воздействия физических (УФ-облучение, радиация) или химических агентов. Под действием ультрафиолетовой радиации Солнца может происходить образование пиримидиновых димеров. Такие димеры изменяют структуру ДНК и останавливают репликацию. Репарационные механизмы в большинстве случаев основаны на том, что в клетке имеются две копии информации, записанные на каждую из двух цепей ДНК: изменение одной нуклеотидной последовательности восстанавливается благодаря сохранившейся цепи.

В зависимости от того, участвует ли видимый свет в модификации повреждений ДНК, репарацию можно подразделить на **световую** (фотореактивация) и **темновую**.

Механизм **фотореактивации** действует только на пиримидиновые димеры тимина, которые образуются при УФ-облучении. В этом процессе участвует фермент фотореактивации, который связывается с димерами тимина. Образующийся фермент-субстратный комплекс активируется видимым светом, что приводит к мономеризации димеров *in situ* (рис. 13).

Под **темновой репарацией** понимают репарацию без участия света. В настоящее время известны две системы такого типа – **эксцизионная** репарация и **рекомбинационная** репарация. Репарация первого типа требует присутствия ферментов, которые узнают нарушения структуры ДНК, удаляют затронутые участки, замещая их нормальными нуклеотидными последовательностями, и, наконец, вос-

становливают первоначальную структуру ДНК, замыкая полинуклеотидную цепь.

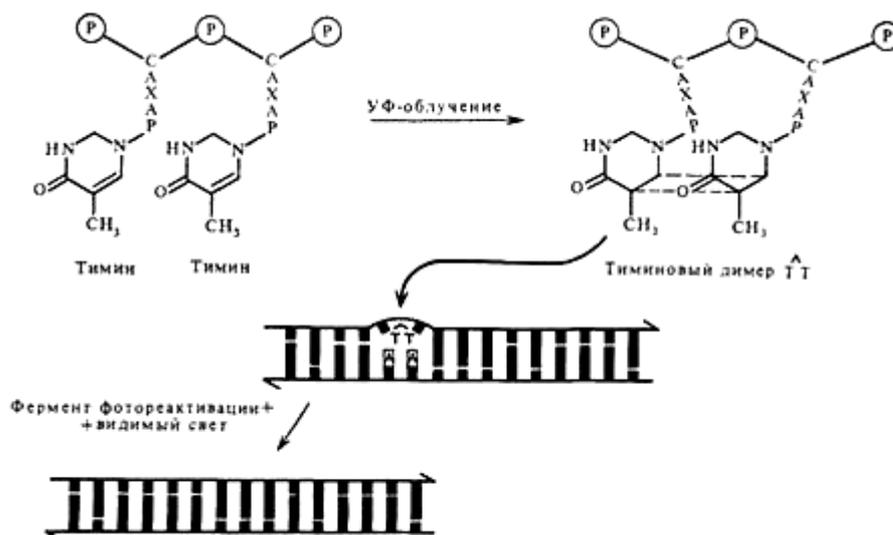


Рис. 13. Световая репарация ДНК

При *рекомбинационной репарации* происходит замещение поврежденного участка одной из нитей двойной спирали ДНК на неповрежденный в результате обмена нитями между гомологичными хромосомами, как при генетической рекомбинации. Подобным образом репарируются сложные дефекты структуры ДНК, затрагивающие обе нити макромолекулы. В половых клетках такого типа повреждения не репарируются.

Репарация осуществляется специальными ферментными системами клетки (системы репарации). Каждая из систем репарации содержит следующие компоненты:

- **ДНК-геликаза** – фермент, «узнающий» химически изменённые участки в цепи и катализирующий расплетание двойной спирали цепи вблизи от повреждения;
- **экзонуклеаза** – фермент, катализирующий удаление повреждённого участка;
- **ДНК-полимераза** – фермент, катализирующий наращивание соответствующего участка цепи ДНК взамен удалённого;
- **ДНК-лигаза** – фермент, катализирующий образование ковалентной связи между участками в полимерной цепи и в результате восстанавливающий её непрерывность.

В основе устойчивости микроорганизмов лежат разнообразные внутриклеточные процессы, участвующие в репарации поврежденной ДНК.

1.6. Рекомбинация ДНК

Генетическая рекомбинация – это реорганизация генетического материала, обусловленная обменом отдельными сегментами (участками) двойных спиралей ДНК, приводящая к возникновению новых комбинаций генов.

В то время как процессы **репликации** и репарации ДНК обеспечивают воспроизведение и сохранение генетического материала, рекомбинация приводит к генетической изменчивости и является, таким образом, главным фактором непостоянства генома, основой большинства его изменений, которые обуславливают естественный отбор, микро- и макроэволюции.

Биологическое значение рекомбинации столь велико, что она получила развитие у всех живых организмов. Она может происходить у эукариот (как при образовании половых клеток – гамет, так и в соматических клетках), у бактерий и даже при размножении вирусов, в том числе таких, генетический материал которых состоит из РНК.

Из широкого круга рекомбинационных явлений интерес молекулярных биологов в первую очередь вызывает рекомбинация, заключающаяся в **обменах частями между молекулами ДНК**. Эти исследования перекрываются с изучением других важных генетических процессов, прежде всего **репликации** и **репарации ДНК**. Рассмотрим один из многочисленных процессов генетической рекомбинации, который позволит понять сущность методов генетической инженерии – сайт-специфическую рекомбинацию.

Сайт-специфическая рекомбинация широко распространена у прокариот и низших эукариот. Обмен фрагментами осуществляется между разными молекулами ДНК только в участках со строго определенными короткими нуклеотидными последовательностями, имеющими гомологичные участки (от 15 до 30 п.н.) за счет взаимодействия белков, которые специфически связываются с этими участками. Характерным примером такой рекомбинации служит встраивание кольцевой ДНК фага λ в хромосому *E. coli* (рис. 14).

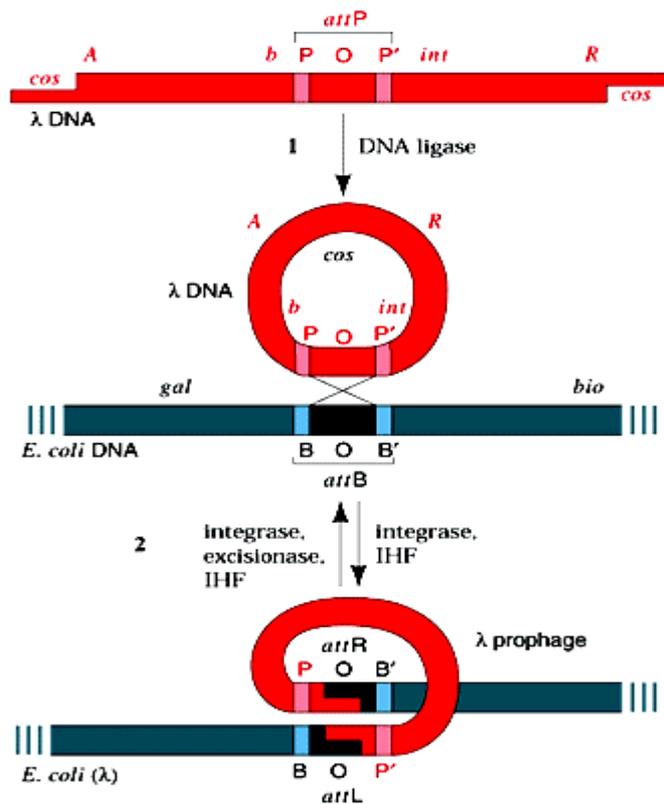


Рис. 14. Механизм сайт-специфической рекомбинации

Рекомбинация происходит в пределах специфической нуклеотидной последовательности ДНК фага λ (*attP*-сайт) и уникальной последовательности ДНК *E. coli* (*attB*-сайт). Нуклеотидные последовательности *attP*- и *attB*-сайтов совершенно различны, хотя имеют общий участок (*O*) протяженностью в 15 нуклеотидных пар. *AttP* (*POP'*) простирается на 150 нуклеотидов влево (*P*) и на 75 нуклеотидов вправо (*P'*) от общего участка, а *attB* (*BOB'*) – это сегмент длиной всего около 25 нуклеотидов, включая и общий участок.

Генетическая рекомбинация происходит, например, между двумя копиями какой-либо хромосомы. У **эукариот** наиболее типичен обмен участками гомологичных хромосом в **мейозе** (деление клеток, в результате которого происходит уменьшение числа хромосом в дочерних клетках – основная стадия образования половых клеток). Этот обмен может происходить между плотно конъюгированными хромосомами на ранних стадиях развития яйца или сперматозоида. Реже генетическая рекомбинация осуществляется при обычном делении клеток (с сохранением числа хромосом) – митозе.

У *прокариот* геном представлен только одной молекулой ДНК, поэтому генетическая рекомбинация сопряжена с такими естественными формами обмена и переноса генетического материала, как *конъюгация* (хромосомы из донорской клетки передаются в реципиентную), *трансформация* (ДНК проникает из среды через клеточную оболочку), *трансдукция* (передача ДНК осуществляется бактериофагом, или вирусом бактерий). У *вирусов* генетическая рекомбинация происходит при заражении ими клеток. После лизиса клетки обнаруживаются вирусы с *рекомбинантными ДНК*.

1.7. Подвижные (мобильные) генетические элементы: транспозоны

Транспозоны – фрагменты ДНК, которые могут менять свое местоположение в геноме. Подвижные (мобильные) генетические элементы (ПГЭ, МГЭ) встречаются у всех живых систем – от бактерий до высших эукариот, включая человека. Перемещение фрагментов генетического материала играет важную роль в эволюции, являясь одним из источников генетической изменчивости. При этом перемещения и изменчивость часто нужны для нормальной жизнедеятельности, но могут причинять вред организму. МГЭ могут перемещаться по хромосомам, менять свое положение и, внедряясь в какой-нибудь ген, менять его проявление, вызывать изменение этого гена – мутацию (в сайтах, где присутствуют МГЭ, могут возникать *делеции, инверсии, разрывы хромосом*). Какой-либо логики в поведении мобильных элементов нет. Они могут вызывать как мелкие изменения, так и крупные, когда речь идет о половых ДНК.

Эти операции осуществляются ферментами (транспозазами), которые кодируются генами транспозонов. У большинства МГЭ центральная часть, содержащая информацию о механизме перемещения, фланкирована инвертированными повторами. Такая структура получила название транспозонной, а сами подвижные генетические элементы называют *транспозонами*.

Транспозоны бактерий обладают сходной структурной организацией. Простейшими и впервые описанными транспозонами являются *IS-элементы*, состоящие менее чем из 2 т.п.н. В центральной части содержатся гены, кодирующие фермент, катализирующий пе-

ремещение – *транспозазу*. Структурными компонентами транспозонов являются концевые инвертированные повторы (хотя бы частичное изменение структуры лишает транспозоны способности к транспозиции). С обоих концов они ограничены прямыми повторами реципиентной ДНК (ДНК-мишени) (рис. 15):

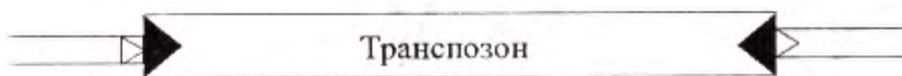


Рис. 15. Принципиальное строение бактериального транспозона:

- ▷ – прямые повторы ДНК-мишени;
- ▶ ◀ – концевые инвертированные повторы транспозона

Более сложные транспозоны (*Tn*-элементы) придают клеткам *устойчивость к различным антибиотикам и солям тяжелых металлов*, содержат информацию о синтезе энтеротоксина, гемолизина, о сбраживании лактозы и в принципе могут нести любые другие гены. По степени использования в генетической инженерии можно выделить *составные транспозоны*. Они ограничены *IS-элементами*, находящимися в прямой или инвертированной ориентации. Именно в них содержится информация о транспозиции данных транспозонов. Центральная часть несет гены, придающие клеткам определенные свойства (рис. 16):

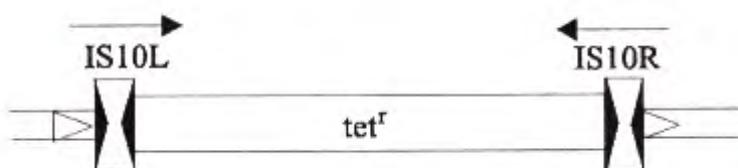


Рис. 16. Принципиальное строение составного транспозона Tn10:

- ▷ – прямые повторы ДНК-мишени;
- ▶ ◀ – концевые инвертированные повторы IS-элемента;
- тонкие стрелки – ориентация IS-элемента;
- tet^r – ген устойчивости к тетрациклину

Биологическая роль транспозонов состоит в способности индуцировать геномные перестройки и мутации, а также переносить гены.

В 1983 г. за открытие мобильных генетических элементов Нобелевская премия была вручена ученому-цитологу Барбаре Мак-Клинток (США, *B. McClintock*).

1.8. Внехромосомные генетические элементы: плазмиды

Плазмиды – стабильно наследуемые внехромосомные генетические элементы, являющиеся обычным компонентом бактериальных клеток. Встречаются также и у низших эукариот.

В большинстве случаев плазмиды представляют собой ковалентно-замкнутые кольцевые молекулы ДНК длиной от 2 до 600 тыс. пар нуклеотидов (т.п.н.). Благодаря кольцевой структуре они не подвергаются действию экзонуклеаз. Клетки, приобретающие плазмиды, как правило, приобретают и новые признаки.

Функции плазмид:

- плазмиды в мире микроорганизмов играют роль своеобразных посредников (**векторов**) при межклеточном обмене генами;
- обмен генами способствует быстрой **адаптации клеток** к изменяющимся факторам среды.

Основные свойства плазмид:

- **автономная репликация.** Молекулы ДНК приобретают ее в том случае, если в них имеется **участок начала репликации – сайт *ori***. Такие молекулы получили название **репликонов**. Репликация плазмид осуществляется в основном бактериальными белками;

- **интеграции** в бактериальную хромосому через IS- или Tn-элементы, содержащиеся в плазмиде. При этом плазмиды подчиняются репликационному аппарату бактериальной хромосомы и могут неопределенно долго существовать в ее составе. Такие плазмиды получили название **эписом**;

- **конъюгация.** Плазмиды, способные передавать свою копию в другие клетки методом конъюгации, называют **конъюгативными**. Следует подчеркнуть, что такой канал переноса генов между различными видами и родами бактерий способствует адаптации клеток к изменяющимся условиям;

- **стабильность.** Как и для всего живого, главное – это обеспечение своего стабильного существования. С этой целью в процессе эволюции у плазмид выработалось несколько механизмов: надежный

контроль числа копий, точное распределение плазмидных ДНК по дочерним клеткам и гибель бесплазмидных клеток.

1.9. Бактериофаги

Бактериофа́ги (*фаги*) (от греч. *φάγος* – пожирать) – вирусы, избирательно поражающие бактериальные клетки. Везде, где имеются бактерии, удастся обнаружить и паразитирующие в них бактериофаги. Важным свойством фагов является их *специфичность* в отношении клеток хозяев: они лизируют культуры определенного вида, более того, существуют так называемые типовые бактериофаги, лизирующие варианты вида бактерий.

Типичная частица бактериофага имеет *головку*, в которой заключена плотно упакованная ДНК, и *отросток* с отходящими от него тонкими белковыми *нитями* – фибриллами (рис. 17). В головке, окруженной белковой оболочкой – *капсидом*, содержится нуклеиновая кислота. Различают ДНК-содержащие и РНК-содержащие бактериофаги. Длина отростка обычно в 2–4 раза больше диаметра головки, но существуют также бактериофаги с коротким отростком, не имеющие отростка и нитевидные.

Сборка головки и отростка, а также упаковка ДНК четко скоординированы.

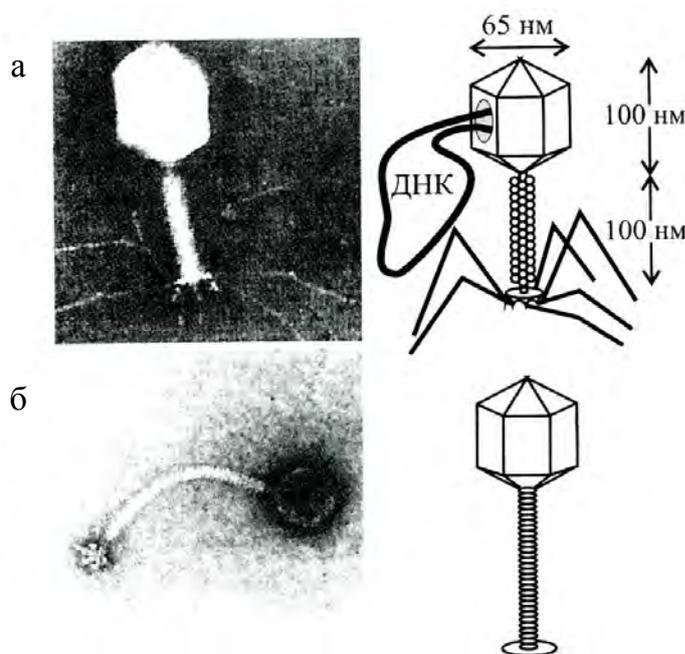


Рис. 17. Строение бактериофага λ (а – б)

Двунитевая линейная ДНК фага λ состоит из 48514 п.н. и содержит около 60 генов, причем значительная ее часть (около 20 т. п. н.) несущественна для размножения фага и отвечает за его встраивание в хозяйскую ДНК.

Длина молекулы ДНК менее 38 т.п.н. – неинфекционная фаговая частица, молекулы ДНК длиной более 52 т.п.н. не умещаются в головку.

На концах ДНК фага имеются одностранные комплементарные участки, состоящие из 12 нуклеотидных остатков (***cos-сайты***). Они обеспечивают превращение линейной молекулы в кольцевую.

Формы существования бактериофагов:

- **зрелый фаг** – инертная частица, находящаяся во внешней среде и не проявляющая признаков жизни;
- **вирулентный фаг** – размножающийся в клетке хозяина и воспроизводящий свое потомство, приводя к лизису клетки хозяина;
- **умеренный фаг** – внедряющий ДНК в клетку хозяина, но не лизирующий ее, а сожительствующий с ней (плазмидное состояние);
- **профаг** – ДНК бактериофага, интегрированная с бактериальной хромосомой.

После проникновения фага λ в клетку *E.coli* события могут развиваться по двум сценариям. 1. Интенсивное размножение фага и лизис клетки примерно через 20 мин с высвобождением до 100 фаговых частиц – это **литический цикл**. 2. Альтернативное состояние **лизогении** (плазмидное состояние), происходящее в случае, если фаговая ДНК включается как профаг в хромосому *E.coli* и реплицируется в клетке вместе с нормальными бактериальными генами. Однако при недостатке питательных веществ или иных неблагоприятных обстоятельствах интегрированная фаговая ДНК высвобождается и запускается **литический цикл** развития.

Процесс размножения фага сложный и состоит из следующих последовательно протекающих этапов (рис. 18): 1) адсорбция фаговой частицы на поверхности микробной клетки; 2) проникновение содержимого головки фаговой частицы (нуклеиновой кислоты) в микробную клетку; 3) внутриклеточное развитие фага, заканчивающееся образованием новых фаговых частиц; 4) лизис клетки и выход из нее новых фагов. Время с момента инфицирования клетки фагом до лизиса клетки называется латентным, или скрытым периодом.

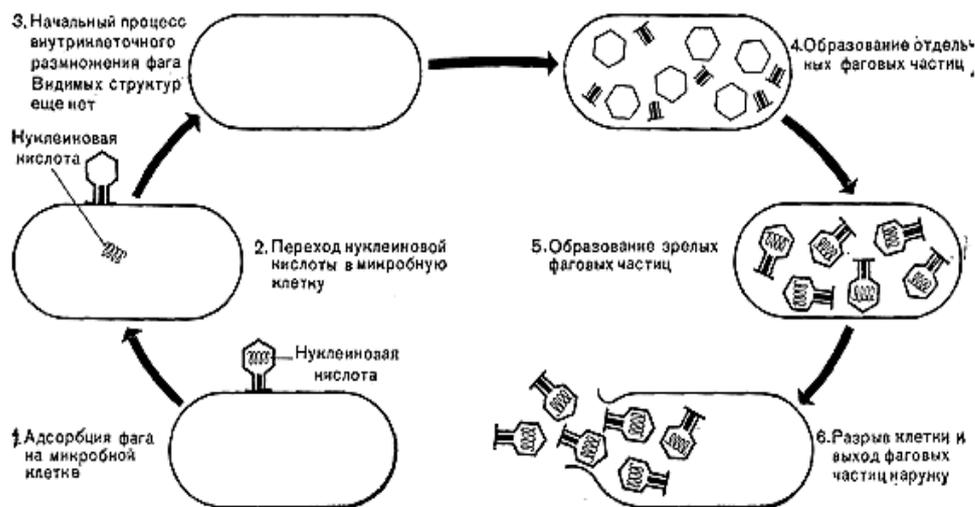


Рис. 18. Схема размножения фага

Интерес к бактериофагам возрос в связи с возможностью их применения против лекарственно-устойчивых форм патогенных и условно-патогенных бактерий.

Перенос ДНК из одной клетки (донор) в другую (реципиент) с помощью бактериофагов широко распространен в природе и получил название *трансдукции*. При ограниченной трансдукции (см. рис. 14) происходит рекомбинация между фаговой и хромосомной бактериальной ДНК: фрагмент бактериальной ДНК связывается ковалентно с фаговой хромосомой и реплицируется в ее составе. Это явление используется в генетической инженерии, так как возможность мультиплицировать (умножать) трансдуцируемые бактериальные гены позволяет изучать их в лабораторных условиях.

Вопросы для повторения

1. Перечислите принципы строения молекулы ДНК.
2. Какие пуриновые и пиримидиновые основания входят в молекулу а) ДНК и б) РНК?
3. Чем отличаются первичные структуры молекул ДНК и РНК?
4. Что такое правила Чаргаффа?
5. Опишите строение тРНК.
6. В какой части клетки ДНК выполняет матричные функции?
7. Дайте определение репликона.

8. Какие процессы происходят при выполнении матричной функции ДНК?
9. Как называется процесс синтеза РНК с использованием ДНК в качестве матрицы?
10. Какие белки работают в вилке репликации *E. coli*?
11. Какая структура служит праймером при репликации ДНК в клетке?
12. Какие элементы входят в состав транскриптона?
13. Какой процесс происходит при инфицировании клетки ретровирусом?
14. Как называется фермент, синтезирующий дуплекс ДНК на матрице РНК? Опишите этот процесс.
15. Изобразите схему матрицы и затравки при синтезе ДНК на ДНК-матрице.
16. Что такое фрагменты Оказаки?
17. В каких организмах РНК выполняет функции генетического материала?
18. В какой части клетки мРНК выполняют матричные функции? Назовите процесс, который при этом происходит.
19. Что такое репарация ДНК?
20. Какие ферменты входят в состав систем репарации?
21. Какие внехромосомные генетические элементы прокариот Вы знаете?
22. Как называются фрагменты ДНК, которые могут перемещаться по геному?
23. Какие условия необходимы для сайт-специфической рекомбинации?
24. Какие формы переноса генетического материала происходят у прокариот?
25. Изобразите схему подвижного генетического элемента бактериальных хромосом.
26. В чем заключается биологическое значение транспозонов?
27. Почему для стабильного существования бактериальным клеткам необходимы плазмиды?
28. Назовите формы существования бактериофагов.
29. Назовите этапы процесса размножения бактериофага в бактериальной клетке.

2. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПЕРЕДАЧИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

2.1. Центральная догма молекулярной биологии

Центральная догма молекулярной биологии – обобщающее, наблюдаемое в природе правило реализации генетической информации: информация передаётся от нуклеиновых кислот к белку, но не в обратном направлении.

Переход генетической информации от ДНК к РНК и от РНК к белку является универсальным для всех без исключения клеточных организмов и лежит в основе биосинтеза макромолекул.

Правило сформулировано Френсисом Криком в 1958 г. и дополнено в соответствии с накопившимися данными в 1970 г. Репликации генома соответствует информационный переход ДНК → ДНК. В природе встречаются также переходы РНК → РНК (репликация РНК) и РНК → ДНК (обратная транскрипция) (рис. 19):



Рис. 19. Центральная догма молекулярной биологии: 1970 г.

2.2. Уровни организации наследственного материала

Различают следующие уровни структурно-функциональной организации наследственного материала: генный, хромосомный и геномный.

Элементарной структурой генного уровня организации является *ген*. *Гены клеток эукариот* находятся в *хромосомах*, обеспечивая хромосомный уровень организации наследственного материала. Гены одной хромосомы образуют группу сцепления и совместно передаются от родителей потомкам. Вся совокупность генов организма в функциональном отношении ведет себя как целое и образует единую

систему, называемую *геномом* или *генотипом*. Один и тот же ген в разных генотипах может проявлять себя по-разному.

Набор генов организма, которые он получает от своих родителей, называется *генотипом*, а содержание генов в гаплоидном наборе хромосом – *геномом*.

Совокупность всех внешних и внутренних признаков организма, развивающихся на основе генотипа под воздействием факторов среды, называется фенотипом. *Фенотип* можно определить как внешнее проявление какого-либо признака. В фенотипе никогда не реализуются все генотипические возможности, фенотип каждого организма есть лишь частный случай проявления его генотипа в *онтогенезе* (в конкретно сложившихся условиях индивидуального развития).

Все гены по функциям подразделяются на *структурные* и *функциональные*. Структурные гены несут информацию о белках и последовательности нуклеотидов в различных видах РНК. Среди функциональных генов выделяют гены-модуляторы, усиливающие или ослабляющие действие структурных генов, и гены-регуляторы, влияющие на работу структурных генов.

Известно, что генотип у всех соматических клеток организма одинаковый (следствие равного распределения генетического материала между дочерними клетками при митозе), однако клетки разных тканей и органов одного организма сильно отличаются (нервные, мышечные, эпителиальные, соединительнотканые). В разных клетках работают разные блоки генов.

2.3. Строение и экспрессия генов в клетках прокариот и эукариот

Структурные гены кодируют мРНК. Процесс образования мРНК называется *транскрипцией* (раздел 1.3.). Это первый этап реализации генетической информации, т. е. *экспрессии* генов, результатом которой является биосинтез белков, необходимых для ферментативных или структурных функций организма.

2.3.1. Гены прокариот. Опероны. Регуляция транскрипции

Основные молекулярно-генетические сведения, касающиеся прокариот, получены при изучении клеток *E.coli*.

Индивидуально работающий *ген прокариот* состоит из трех обязательных элементов: *промотора (p)*, *белок-кодирующей области (структурный ген)* и *терминатора (t)* транскрипции. У прокариот *структурный ген* представляет собой непрерывный участок молекулы ДНК (рис. 20):



Рис. 20. Схема прокарриотического структурного гена (+1)
(стрелка – направление транскрипции)

Сигнал инициации транскрипции (*промотор, p*) располагается перед кодирующей последовательностью структурного гена (5'-фланкирующая последовательность), а сигнал терминации транскрипции (*терминатор, t*) – вслед за ней (3'-фланкирующая последовательность). *Промотор и терминатор – нетранслируемые области генома*. Промотор – основной регулятор работы гена – место взаимодействия ДНК с ферментом РНК-полимеразой, осуществляющим комплементарный синтез РНК на матрице ДНК в процессе транскрипции. У большинства прокариот транскрипция всех РНК осуществляется с помощью одной и той же РНК-полимеразы. Промотор определяет правильное начало транскрипции с первого +1 нуклеотида.

Бактериям необходимо быстро отвечать на изменения в окружающей среде. Их выживаемость зависит от способности переключать метаболизм с одного субстрата на другой, так как поступление питательных веществ может постоянно меняться. Бактерия не синтезирует ферменты метаболического пути в отсутствие субстрата, но способна начать синтез при его появлении. Для осуществления подобного реагирования гены бактерий объединены в кластеры таким образом, что ферменты, необходимые для определенного пути биосинтеза, кодируются генами, находящимися под общим контролем единых регуляторных элементов. Вся система, включающая структурные гены и регуляторные элементы, контролирующие их экспрессию, формирует общую единицу регуляции, называемую *опероном*. Примером кластерной регуляции у бактерии *E.coli* являются гены лактозного оперона (рис. 21):

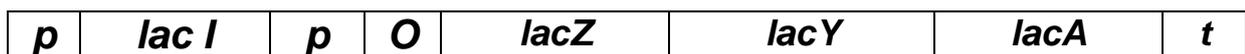


Рис. 21. Схема молекулы ДНК лактозного оперона:

p – промотор (место присоединения РНК-полимеразы); *lacI* – ген, кодирующий синтез белка-репрессора; *O* – оператор (место присоединения регуляторного белка); *lacZ*, *lacY*, *lacA* – структурные гены ферментов метаболизма лактозы; *t* – терминатор (место окончания транскрипции)

Весь кластер генов лактозного оперона занимает около 6 т.п.н. Ген *lacI* имеет свои промотор и терминатор. Транскрипции генов *lacZ*, *lacY*, *lacA* контролируются белком-репрессором, кодируемым геном *lacI*. Белок-репрессор имеет два сайта связывания: один – для индуктора (лактозы), другой для оператора (участок ДНК «O»). Гены, входящие в состав лактозного оперона, индуцируются и репрессируются под действием субстрата – лактозы (рис. 22). При добавлении лактозы (галактозида) в бактериальных клетках очень быстро усиливается синтез ферментов, новые молекулы появляются уже через 2–3 мин. Вскоре их число превышает 5000. При удалении субстрата (лактозы) из среды синтез фермента прекращается так же быстро. Быстрое увеличение активности фермента за счет его синтеза под действием субстрата называется *индукцией*, а уменьшение активности под действием субстрата – *репрессией*.

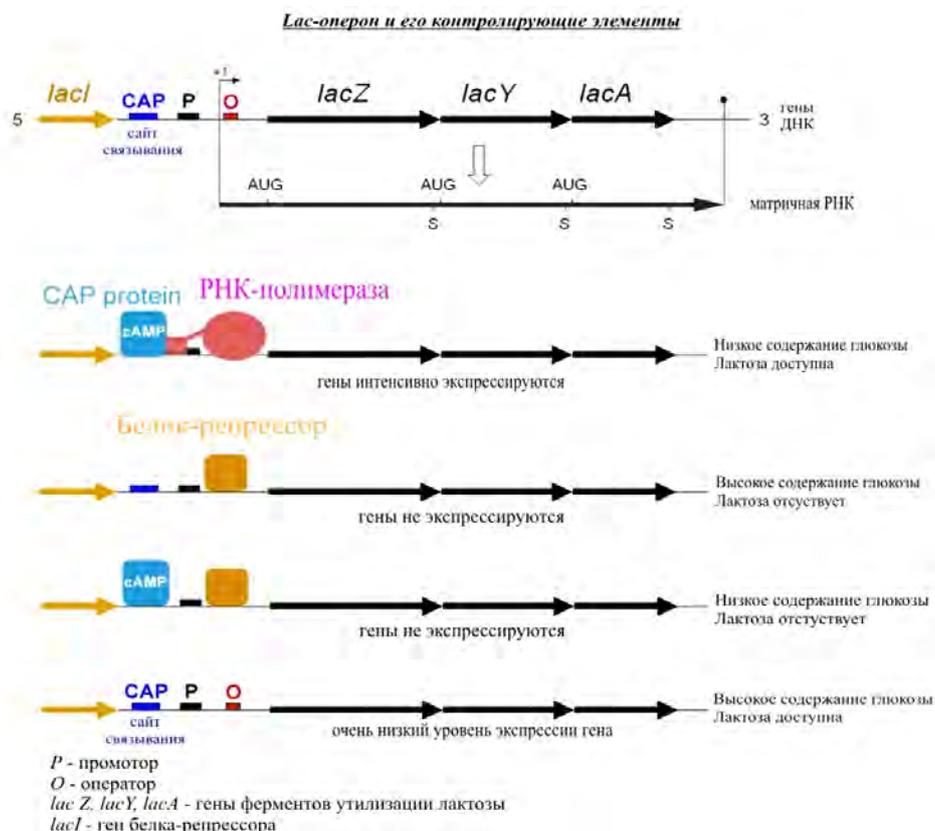


Рис. 22. Схема регуляции лактозного оперона

Ферменты для усвоения лактозы синтезируются в клетке кишечной палочки при двух условиях – наличии лактозы и отсутствии глюкозы.

Когда индуктор – лактоза – попадает в клетку, две молекулы лактозы связываются с белком-репрессором, что приводит к диссоциации белка-репрессора от операторного участка ДНК, так как образуется неактивный репрессор-индукторный комплекс. Происходит индукция транскрипции генов лактозного оперона.

Данный механизм регуляции активности лактозного оперона называют **позитивной индукцией**.

При снижении концентрации лактозы новые порции белка-репрессора взаимодействуют с операторными последовательностями и препятствуют транскрипции. Таким образом, в отсутствие лактозы в клетке ферменты для метаболизма лактозы не синтезируются.

Регуляция работы лактозного оперона в зависимости от концентрации лактозы происходит по принципу отрицательной обратной связи: чем больше лактозы, тем больше ферментов для её катаболизма (положительная прямая связь); чем больше ферментов, тем меньше лактозы; чем меньше лактозы, тем меньше производится ферментов (двойная отрицательная обратная связь).

Если в клетке концентрация глюкозы достаточна для поддержания метаболизма, то активация лактозного оперона также не происходит. Когда концентрация глюкозы в клетке снижается, в присутствии лактозы происходит экспрессия генов оперона. Данный механизм регуляции активности лактозного оперона называют **негативной индукцией**. «Негативным индуктором» служит глюкоза, которая снижает активность лактозного оперона даже при наличии лактозы.

Регуляция экспрессии генов метаболизма лактозы у *Escherichia coli* была впервые описана в 1961 г. французскими микробиологами Франсуа Жакобом и Жаком Моно, получившими в 1965 г. Нобелевскую премию совместно с Андре Львовым «за открытия, касающиеся генетического контроля синтеза ферментов и вирусов».

Основным преимуществом оперонной организации генов микроорганизмов является координация регуляции активности: все гены экспрессируются или не экспрессируются в унисон.

2.3.2. Гены эукариот

Гены эукариот по строению и характеру транскрипции значительно отличаются от прокариотических генов. Их отличительной особенностью является прерывность, т. е. чередование в них последовательностей нуклеотидов, которые представлены (**экзоны**) или не представлены (**интроны**) в мРНК (рис. 23). Интроны относятся к некодирующим последовательностям. Их длина может превышать 10 т.п.н. У низших эукариот прерывные гены составляют меньшинство всех генов (5 % у дрожжей), а у высших – большинство (94 % у млекопитающих).



Рис. 23. Структура генов эукариот

В структуру гена входят также 5'- и 3'-нетранслируемые области. В 5'-нетранслируемой области находятся **промоторы**. Промоторы, обеспечивающие высокую скорость синтеза пре-мРНК, называются **сильными**, а низкую – **слабыми**. Есть промоторы, которые для своей работы требуют присутствия какой-то другой молекулы, они называются **индуцибельными**. Транскрипция заканчивается при достижении определенных терминирующих сигналов. В 3'-нетранслируемой области гена локализованы последовательности, участвующие в регуляции **процессинга** мРНК и трансляции.

Гены эукариот не группируются в опероны, поэтому каждый из них имеет собственный **промотор** и **терминатор** транскрипции.

☀ *Открытие мозаичной структуры генов эукариот оказалось совершенно неожиданным и относится к разряду мини-революции в генетике. Термины экзон и интрон были введены Уолтером Гилбертом в 1978 г. и сразу были приняты научным сообществом. Эволюци-*

онный прогресс эукариот в значительной степени связывают с появлением мозаичных генов. В отличие от кодирующих белок последовательностей (экзонов) численность и протяженность интронов прямо коррелирует со сложностью организации жизни. У одноклеточных эукариот, например, таких, как дрожжи, интроны занимают от 10 до 20 % пре-РНК, их средняя длина менее 100 нуклеотидов, и они распределены с плотностью 1–3 на 1000 нуклеотидов экзонов. В генах высших растений от 2 до 4 интронов, их длина составляет около 250 нуклеотидов, и они занимают до 50 % пре-РНК. У животных, например у дрозофилы или нематоды, средняя длина интронов увеличивается до 500 пар оснований, у человека число нуклеотидов доходит до 3400, в среднем их 6–7 на ген, и они занимают более 95 % от общей длины первичного РНК-транскрипта.

Эволюционно связанные гены, обладающие высокой степенью физической гомологии, образуют семейства. Белки, кодируемые такими генами, действуя одновременно или на разных этапах развития организма, выполняют одинаковые функции. Например, состав белков в α - и β -цепях гемоглобина крови млекопитающих различен у эмбриона, плода и взрослого организма, что вызвано различной экспрессией генов, входящих в α - и β -семейства глобиновых генов.

Характерной чертой генов, входящих в семейство, является сходная картина локализации большинства интронов. Это сходство не ограничивается рамками определенного генома. Так, в случае глобиновых генов сходными по расположению интронов оказались гены у всех исследованных животных – у млекопитающих, птиц и лягушек. Однако длины и нуклеотидные последовательности интронов могут значительно варьировать, меняя таким образом и размеры самих генов.

2.3.3. Транскрипция и процессинг РНК у эукариот

Транскрипция и трансляция с образованием конечного продукта – два этапа работы гена, или его **экспрессии**.

Все гены присутствуют в ядрах клеток разных специализированных тканей организма, так как в них содержится одинаковая молекула ДНК. Однако далеко не все гены экспрессируются в разных тканях. Существует определенный набор генов, которые экспрессируются в любых типах клеток. Эти гены, получившие название **генов**

домашнего хозяйства, обеспечивают энергетику, дыхание и другие процессы, без которых клетки жить не могут. Но основная масса генов – это **тканеспецифические** гены, которые работают только в определенных клетках и на определенных стадиях их развития. Считается, что в среднем в специализированных клетках одновременно работает не более 20 % всех генов. Процесс дифференцировки непосредственно зависит от набора экспрессирующихся генов. Важную роль в этом играют **транскрипционные факторы** – регуляторные белки, способные активировать или репрессировать целую группу других генов.

Особенностью транскрипционного аппарата эукариотических клеток является наличие в ДНК специфических локусов – **энхансеров** (*enhancer* – усилитель). Они увеличивают эффективность транскрипции ближайшего гена в десятки и сотни раз. При этом энхансер может находиться в любой ориентации по отношению к гену, располагаться с любой его стороны, внутри него (в интроне) и даже на расстоянии в несколько тысяч пар нуклеотидов. По-видимому, так же работают и локусы с противоположным эффектом действия – **сайленсеры** (*silencer* – успокоитель), в присутствии которых транскрипционная активность РНК-полимеразы уменьшается.

Промоторы высших эукариот представляют собой мозаику из различных **консервативных последовательностей**. Структура прокариотических промоторов более приспособлена для регуляции по принципу «все или ничего», в то время как мозаичность строения эукариотических промоторов позволяет осуществить нюансированную регуляцию – от полной экспрессии до полной репрессии, что достигается, например, изменением внутриклеточных условий. Сигналами завершения синтеза мРНК являются **терминаторы транскрипции**, содержащие повторы стоп-кодонов.

Транскрипция генов у эукариот происходит в ядрах, что приводит к образованию мРНК-предшественников (**пре-мРНК**). Уже на начальном этапе синтеза к их 5'-концам через связь 5'–5' присоединяется необычное основание (*cap*, кэп) – 7-метилгуанозин. Модифицированный 5'-конец обеспечивает инициацию трансляции, удлиняет время жизни мРНК, защищая её от действия 5'-экзонуклеаз в цитоплазме. Кэпирование необходимо для инициации синтеза белка, так как иницирующие триплеты АУГ распознаются рибосомой только при наличии кэпа. Наличие кэпа также необходимо для работы слож-

ной ферментной системы, обеспечивающей удаление интронов. После завершения транскрипции к 3'-концу присоединяется полиадениловая цепочка (полиА-последовательность), состоящая из 100–200 последовательно соединенных адениновых нуклеотидов (рис. 24). Полиадениловая цепочка способствует инициации *трансляции* (трансляционный энхансер).

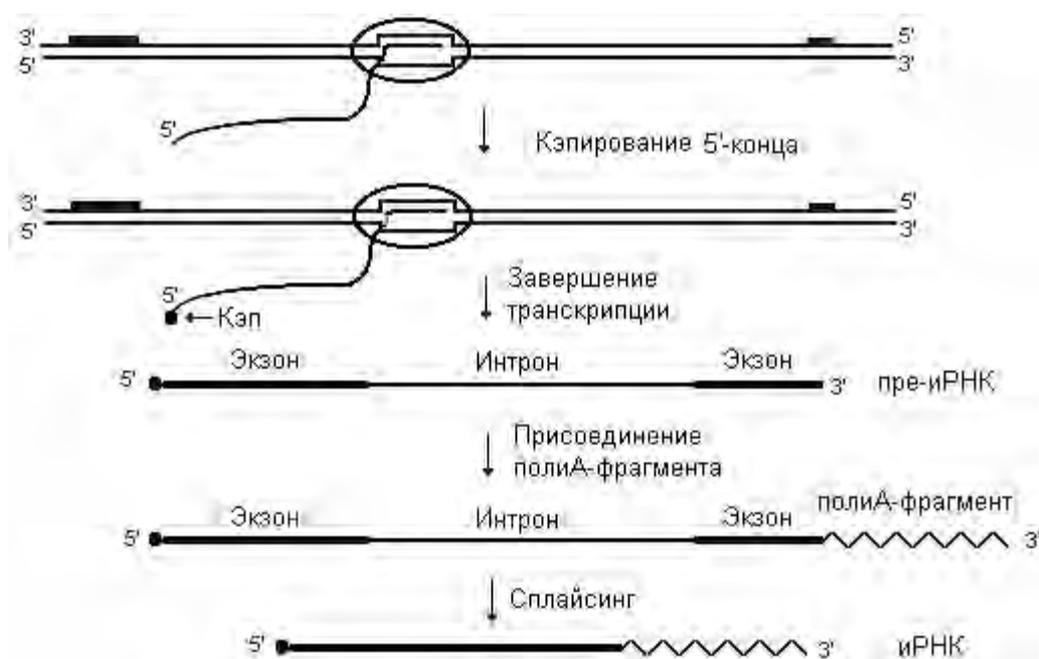


Рис. 24. Схема процессинга мРНК (пояснение см. в тексте)

Матричную роль мРНК выполняют только в цитоплазме. При перемещении из ядра в цитоплазму происходит превращение пре-мРНК в *мРНК*. Вырезание интронов из пре-мРНК (первичного продукта транскрипции) с помощью ферментов и сшивание экзонов друг с другом «торец в торец» с образованием функциональной мРНК называется *сплайсингом*. В результате сплайсинга зрелая молекула мРНК становится значительно короче пре-иРНК. Обычно длина экзонов составляет от 150 до 200 нуклеотидов, а длина интронов – от 40 до 10 000 нуклеотидов. Размер типичного гена и ядерной пре-мРНК млекопитающих составляет от 15 000 до 17 000 нуклеотидов, а размер мРНК – около 2000 нуклеотидов. Этапы процессинга мРНК представлены на рис. 24. *Сплайсинг для мРНК прокариот нехарактерен.*

Иногда сплайсинг мРНК может проходить по альтернативному варианту. Например, в одной ткани функциональная мРНК может образовываться в результате соединения всех экзонов первичного

транскрипта, а в другой какой-то экзон будет вырезан вместе с фланкирующими его интронами, и образуется другая функциональная мРНК. Например, в клетках щитовидной железы сплайсинг первичного транскрипта приводит к образованию мРНК гена белка кальцитонина, которая включает 4 экзона. В клетках мозга образуется мРНК, содержащая экзоны 1, 2, 3, 5, 6 (рис. 25):

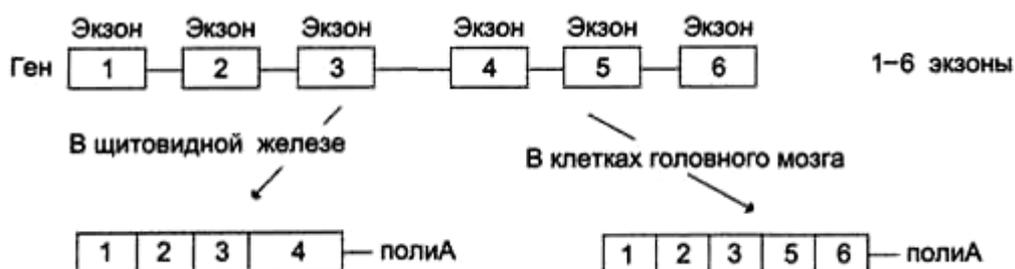


Рис. 25. Альтернативный сплайсинг гена кальцитонина

Итак, благодаря *альтернативному сплайсингу* в разных тканях могут образовываться разные продукты одного и того же структурного гена.

Таким образом, регуляция транскрипции у эукариот – это очень сложный процесс. Структурный ген может иметь множество регуляторных элементов, которые активируются специфическими сигналами в клетках разного типа в разное время клеточного цикла. Однако некоторые структурные гены находятся под контролем уникального фактора транскрипции. Специфические белки могут взаимодействовать с определенными регуляторными элементами, блокируя, таким образом, транскрипцию, или связываться со всем транскрипционным комплексом еще до инициации транскрипции или во время элонгации.

Следующий этап биосинтеза белка – *трансляция*. В процессе трансляции происходит перевод молекулярной информации с языка нуклеиновых кислот (4 нуклеотида мРНК) на язык белков (20 аминокислот). Отсутствие соответствия между числом мономеров в матрице мРНК и синтезируемом белке, а также отсутствие структурного сходства между мономерами РНК и белка вызвали необходимость в создании «словаря». Этот «словарь», позволяющий определить, какая последовательность нуклеотидов мРНК обеспечивает включение в белок аминокислот в заданной последовательности, получил название *генетический код*.

2.4. Генетический код и его свойства

Генетический код – это система записи информации о порядке расположения аминокислот в белках с помощью **последовательности расположения нуклеотидов**.

Поскольку генетический код считывается с мРНК, его обычно записывают, используя четыре основания, присутствующие в РНК: У, Ц, А, Г (рис. 26).

		Второй нуклеотид кодона							
		У	Ц	А	Г				
Первый нуклеотид кодона	У	УУУ } Фен УУЦ } УУА } Лей УУГ }	УЦУ } УЦЦ } Сер УЦА } УЦГ }	УАУ } Тир УАЦ } УАА } УАГ } <i>Терм</i>	УГУ } Цис УГЦ } УГА } <i>Терм</i> УГГ } Трп	У	Ц	А	Г
	Ц	ЦУУ } Лей ЦУЦ } ЦУА } ЦУГ }	ЦЦУ } ЦЦЦ } Про ЦЦА } ЦЦГ }	ЦАУ } Гис ЦАЦ } ЦАА } Гли ЦАГ }	ЦГУ } ЦГЦ } Арг ЦГА } ЦГГ }	У	Ц	А	Г
	А	АУУ } АУЦ } Иле АУА } АУГ Мет + <i>Иниц</i>	АЦУ } АЦЦ } Тре АЦА } АЦГ }	ААУ } Асн ААЦ } ААА } Лиз ААГ }	АГУ } Сер АГЦ } АГА } Арг АГГ }	У	Ц	А	Г
	Г	ГУУ } ГУЦ } Вал ГУА } + <i>Иниц</i> ГУГ }	ГЦУ } ГЦЦ } Ала ГЦА } ГЦГ }	ГАУ } Асп ГАЦ } ГАА } Гли ГАГ }	ГГУ } ГГЦ } ГГА } ГГГ }	У	Ц	А	Г
						Третий нуклеотид кодона			

Рис. 26. Таблица генетического кода

Генетический код имеет следующие свойства:

1. **Триплетность**

Каждая аминокислота кодируется последовательностью из трех нуклеотидов (триплет). Каждый триплет называется кодоном.

Смысл кодонов стал понятен в 60-х гг. XX столетия, когда, используя бесклеточную систему синтеза белков и синтетические полирибонуклеотиды с заданной последовательностью нуклеотидов в качестве матрицы, М. Ниренберг и Г. Маттеи синтезировали полипептиды определённого строения. Так, на матрице поли-У, состоящей только из остатков УМФ, был получен полифенилаланин, а на

матрице поли-Ц – полипролин. Из этого следовало, что триплет УУУ кодирует фенилаланин (Фен), а триплет ЦЦЦ – пролин (Про).

В последующих экспериментах использовали смешанные синтетические полирибонуклеотиды с известным составом. В результате этой работы удалось установить, что из 64 кодонов включение аминокислот в синтезирующуюся полипептидную цепь шифрует 61 триплет, а три остальных – УАА, УАГ, УГА не кодируют включение в белок аминокислот.

2. **Неперекрываемость**

Каждый нуклеотид входит в состав лишь одного кодона.

В 1961 г. Ф. Крик и его коллеги показали, что ген должен читаться неперекрывающимися триплетами с фиксированной стартовой точки. Неperекрывание подразумевает, что каждый кодон состоит из трех нуклеотидов и каждый последующий кодон представлен следующими тремя нуклеотидами. Фиксированная точка означает, что считывание начинается на одном конце и завершается на другом. **Началом любого гена является кодон АУГ.** В конце гена обязательно стоят кодоны УАА, УАГ или УГА, которые не кодируют аминокислот и являются сигналами окончания гена – стоп-кодоны (кодоны-терминаторы).

☼ *Нуклеотидная последовательность, которая начинается с иницирующего кодона, делит последующие нуклеотиды на триплеты, кодирующие аминокислоты, и заканчивается терминирующим кодоном, называется **рамкой считывания**. Интервал между стартовым и стоп-кодоном называется **открытой рамкой считывания (ORF)**. Мутация, в результате которой происходит утрата или добавление одного нуклеотида, называется **сдвигом рамки считывания**. Новая рамка считывания приводит к полному изменению последовательности белка, а следовательно, и к утрате его функций.*

3. **Вырожденность**

Все аминокислоты, за исключением метионина и триптофана, кодируются более чем одним триплетом. Избыточность кодирующих последовательностей – ценнейшее свойство кода, так как она повышает устойчивость информационного потока к неблагоприятным воздействиям внешней и внутренней среды.

Всего 61 триплет кодирует 20 аминокислот (табл. 2).

Вырожденность генетического кода

Число аминокислот	Число кодирующих триплетов	Общее число триплетов
2	1	2
9	2	18
1	3	3
5	4	20
3	6	18
20		61

4. Однозначность

Каждый кодон кодирует лишь одну аминокислоту.

Исключение составляет кодон АУГ. В клетке прокариот в начале гена он кодирует формилметионин, а в любой другой – метионин.

5. Колинеарность гена и продукта

У прокариотов обнаружено линейное соответствие последовательности кодонов гена и последовательности аминокислот в белковом продукте, или, как говорят, существует **колинеарность** гена и продукта.

У эукариотов последовательности оснований в гене, колинеарные аминокислотной последовательности в белке, прерываются нитронами. Поэтому в эукариотических клетках аминокислотная последовательность белка колинеарна последовательности экзонов в гене или зрелой мРНК после посттранскрипционного удаления интронов.

6. Универсальность

Генетический код един для всех живущих на Земле существ разного уровня сложности – от вирусов до человека. На этом основаны методы геной инженерии, и это является сильнейшим свидетельством в пользу единства происхождения и эволюции.

☀ *В настоящее время известно 16 организмов, представляющих разные ветви эволюционного древа, у которых генетический код немного отличается от универсального. Так, многие виды зеленых водорослей *Acetabularia* транслируют стандартные стоп-кодона УАГ и УАА в аминокислоту глицин, а грибок *Candida* транслирует кодон ЦУГ не как лейцин, а как серин. Существование таких вариаций свидетельствует о возможной эволюции генетического кода.*

В коде генома митохондрий человека также есть два исключения, которые касаются принципиальных моментов – начала и конца синтеза белка. Так, кодон АУА кодирует метионин (вместо изолейцина в ядерной ДНК), кодоны АГА и АГГ – стоп-кодоны (в ядерной ДНК кодируют аргинин). Кодон УГА (стоп-кодон ядерной ДНК) в митохондриальном геноме кодирует триптофан.

2.5. Трансляция. Биосинтез белка

Трансляция – это процесс биосинтеза белка, в результате которого информация с языка последовательности нуклеотидов в мРНК переводится (транслируется) на язык последовательности аминокислот в полипептидной молекуле. **Трансляция мРНК осуществляется в направлении 5' → 3'.** Синтез белка протекает с чрезвычайно высокой скоростью (20 аминокислотных остатков в секунду).

Трансляция является самым сложным из биосинтетических процессов. Для его осуществления необходимы следующие составляющие:

- матрицы – мРНК (каждая зрелая мРНК несет информацию только об одной полипептидной цепи);
- растущая цепь белка – полипептид;
- субстраты для синтеза полипептида – 20 протеиногенных аминокислот и тРНК;
- источник энергии – ГТФ;
- рибосомальные белки, рРНК, белковые трансляционные факторы.

Общее количество биомолекул, участвующих в процессе, по видимому, доходит до трёхсот. Часть из них входит в состав рибонуклеопротеидных субклеточных структур, на которых происходит сборка аминокислот в белки – рибосомы.

Рибосомы представляют собой внутриклеточные белоксинтезирующие органеллы. Различают два основных типа рибосом – эукариотические и прокариотические. Эукариотические рибосомы имеют константу седиментации 80S и состоят из 40S (малой) и 60S (большой) субъединиц (рис. 27), прокариотические – соответственно 70S, 30S и 50S (рис. 28).

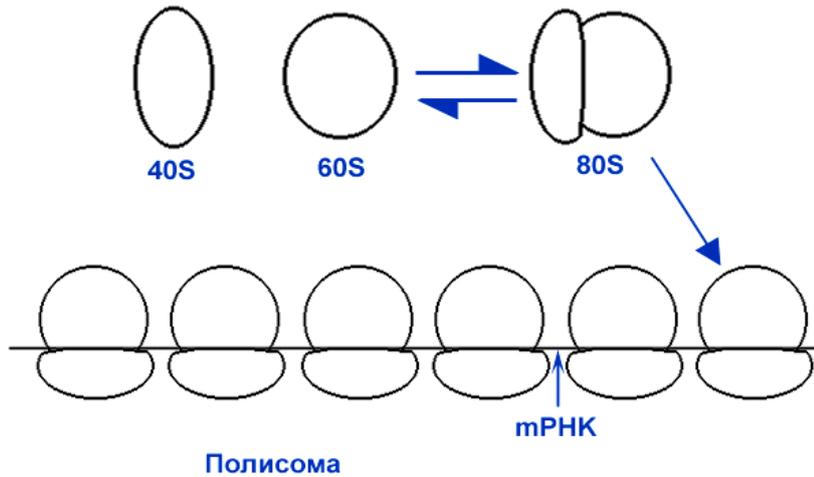


Рис. 27. Схема строения эукариотической рибосомы и полирибосомы (полисомы)

☼ Каждая субъединица рибосомы включает рРНК и белки. В 40S субъединицу входит рРНК с константой седиментации 18S и около 30–40 белков. В 60S субъединице обнаружено 3 вида рРНК: 5S, 5,8S и 28S, а также около 50 различных белков. Белки выполняют структурную функцию, обеспечивая «узнавание» и взаимодействие между мРНК и тРНК, связанными с аминокислотой или пептидом. В присутствии мРНК 40S и 60S субъединицы объединяются с образованием полной рибосомы, масса которой примерно в 650 раз больше массы молекулы гемоглобина.

Одну молекулу мРНК могут одновременно транслировать несколько рибосом (рис. 28), образуя комплекс – полирибосому (полисому). Двигаясь по цепи мРНК друг за другом, каждая рибосома синтезирует одну белковую цепь, считывая генетическую информацию с одной и той же мРНК. Количество полирибосом в клетке указывает на интенсивность биосинтеза белка.

В эукариотических клетках часть рибосом связана специальными белками большой субъединицы с мембранами эндоплазматической сети. Эти рибосомы синтезируют в основном белки, которые поступают в комплекс Гольджи (см. прил. 1) и секретируются клеткой. Свободные рибосомы синтезируют белки для внутренних нужд клетки.

Общая схема трансляции – это последовательность следующих стадий:

1. **Активация аминокислот.** Каждая из 20 аминокислот белка присоединяется ковалентными связями к определённой тРНК, используя энергию АТФ (рис. 29):

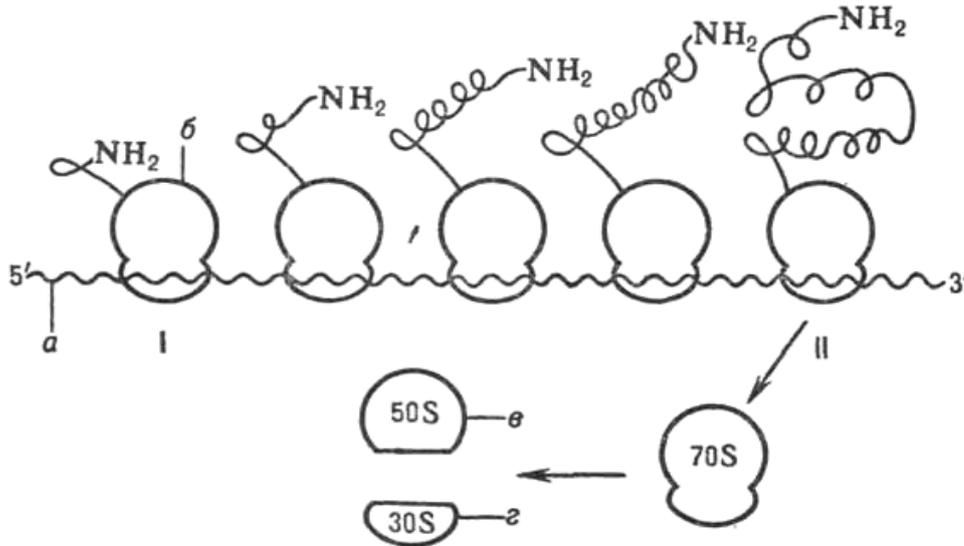


Рис. 28. Схематичное изображение биосинтеза белка на прокариотической полирибосоме:
 а – мРНК; б – рибосома; в – большая субъединица; г – малая субъединица
 I – инициация транскрипции; II – терминация транскрипции и диссоциация рибосомы на субъединицы

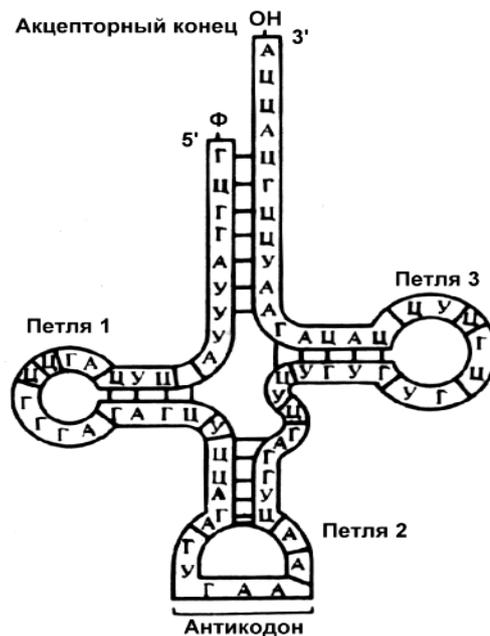


Рис. 29. Схема вторичной структуры тРНК

У любой тРНК есть петля 1 для контакта с рибосомой, петля 2 с антикодоном, петля 3 – для контакта с ферментом (акцепторный стебель). Аминокислота присоединяется к 3'-концу акцепторного

стебля. Антикодон соответствует прикрепленной аминокислоте и представляет собой три нуклеотида, комплементарные кодону аминокислоты в мРНК, которая кодирует молекулу полипептида (см. раздел 2.4).

Следует подчеркнуть, что *конкретная тРНК может транспортировать строго определенную аминокислоту, соответствующую ее антикодону*. Специфичность соединения аминокислоты и тРНК достигается благодаря свойствам ферментов аминоацил-тРНК-синтетаз, требующих присутствия ионов магния Mg^{2+} .

2. Инициация белковой цепи начинается с трансляции стартового кодона АУГ. Для этого необходимы мРНК, ГТФ, малая и большая субъединицы, три белковых фактора инициации (ИФ), метионин и тРНК для метионина. Сначала с малой субъединицей связываются мРНК, метионил-тРНК и факторы инициации; затем образовавшийся комплекс присоединяется к большой субъединице. Связь оказывается очень прочной и исчезает только после завершения трансляции. Связывание осуществляется только при наличии двухвалентных катионов магния Mg^{2+} .

☀ *Механизмы инициации трансляции у про- и эукариот существенно отличаются. Стартовому кодону АУГ у прокариот соответствует формилметионин. Прокариотические рибосомы потенциально способны находить стартовый АУГ и инициировать синтез, в то время как эукариотические рибосомы обычно присоединяются к мРНК в области кэпа и сканируют её в поисках стартового кодона.*

Инициация трансляции предусматривает узнавание рибосомой стартового кодона и привлечение инициаторной метионил(формилметионил)-тРНК. Для инициации трансляции необходимо также наличие определённых нуклеотидных последовательностей в районе стартового кодона (последовательность Шайна–Дальгарно у прокариот и последовательность Козак у эукариот). Существование последовательности, отличающей стартовый кодон АУГ от внутренних кодонов, совершенно необходимо, так как в противном случае инициация синтеза белка происходила бы хаотично на всех АУГ-кодонах.

Рибосома имеет специфические места для присоединения аминоацил-тРНК, пептидил-тРНК, места образования пептидной связи между аминокислотами растущей белковой молекулы и гидролиза

ГТФ. Это обеспечивает постепенное скольжение рибосомы вдоль молекулы мРНК при синтезе полипептидной цепи.

3. **Элонгация.** Для элонгации необходимы: 20 протеиногенных аминокислот и тРНК для каждой из них, белковые факторы элонгации, ГТФ.

4. **Терминация.** После завершения синтеза цепи, о чём сигнализирует терминирующий кодон мРНК (УАА, УАГ, УГА), при вхождении этих кодонов в рибосому активируются белковые факторы терминации, полипептид высвобождается из рибосомы, рибосома диссоциирует на субъединицы.

5. **Сворачивание и процессинг.** Чтобы принять обычную форму, белок должен свернуться (фолдинг), образуя при этом определённую пространственную конфигурацию. До или после сворачивания полипептид может претерпевать процессинг, осуществляющийся ферментами и заключающийся в удалении лишних аминокислот, присоединении фосфатных, метильных, простетических групп и т. п.

Вопросы для повторения

1. Сформулируйте и схематично изобразите правило реализации генетической информации в живой клетке.
2. Дайте определение понятий ген, генотип, геном.
3. Какой признак лежит в основе подразделения генов на структурные и функциональные?
4. Дайте определение основных этапов процесса экспрессии генов.
5. Охарактеризуйте сигнал инициации транскрипции.
6. Дайте определение оперона.
7. Изобразите схему строения лактозного оперона.
8. Какова биологическая роль оперонной структуры генетического материала прокариот?
9. Роль оператора в структуре оперона.
10. В чём заключаются функции промотора?
11. Какие регуляторные последовательности фланкируют ген?
12. Опишите механизм позитивной индукции лактозного оперона.
13. Опишите механизм негативной индукции лактозного оперона.

14. Как влияет глюкоза на активность лактозного оперона?
15. Чем отличается строение генов про- и эукариот?
16. Дайте характеристику промотора.
17. Что такое экзоны и интроны?
18. Дайте сравнительную характеристику регуляторных последовательностей в клетках про- и эукариот.
19. Что означают понятия сильный и слабый в характеристике промоторов?
20. Охарактеризуйте роль энхансеров в регуляции активности генов.
21. В чем состоит отличие пре-мРНК от функциональной мРНК?
22. Перечислите и охарактеризуйте этапы процессинга мРНК в клетке эукариот.
23. Что такое сплайсинг?
24. Какова биологическая роль альтернативного сплайсинга?
25. Чем вызвана необходимость в расшифровке генетического кода?
26. Перечислите основные свойства генетического кода.
27. Как Вы понимаете свойство «неперекрываемость» генетического кода?
28. Назовите и охарактеризуйте основные стадии общей схемы процесса трансляции.
29. Какие составляющие элементы необходимы для осуществления процесса трансляции?
30. В чем заключается процессинг синтезированного на рибосоме белка? Приведите примеры.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

Задания включают вопросы о строении и свойствах нуклеиновых кислот, процессах матричного синтеза с их участием в клетках прокариот и эукариот, а также вопросы изменчивости генома, изучение которой привело к разработке технологий генетической инженерии.

Для выполнения работы Вам необходимо иметь представление о строении генов прокариот и эукариот, знать этапы биосинтеза белка и принципы, которые лежат в их основе.

Для решения задач по матричному синтезу нуклеиновых кислот и биосинтезу белка рекомендуется запомнить несколько простых правил:

1. **Репликация ДНК.** Комплементарная цепь ДНК всегда синтезируется в направлении $5' \rightarrow 3'$. В начале репликации фермент праймаза синтезирует короткую РНК-последовательность, комплементарную к матричной ДНК, которая автоматически удаляется благодаря экзонуклеазной активности ДНК-полимеразы.

2. **Транскрипция.** РНК синтезируется на матричной цепи ДНК в направлении $5' \rightarrow 3'$. В РНК тимин (Т) заменяется на урацил (U).

3. **Трансляция.** Рибосомы двигаются вдоль мРНК в направлении $5' \rightarrow 3'$.

Домашнюю работу рекомендуется выполнять по одному из нижеприведенных вариантов, выбор которого определяется последней цифрой номера зачетной книжки (шифра).

Ваши ответы на поставленные вопросы должны быть краткими, ясными и исчерпывающими и содержать обоснования излагаемых положений. Обязательным условием является написание необходимых химических формул, схем и рисунков. Не рекомендуется вклеивать ксерокопии рисунков и таблиц из учебников или сети Интернет.

В конце домашней работы следует привести ссылки на источники информации, которые использованы Вами при ее выполнении.

Задание № 1

Выберите и запишите в таблицу 3 соответствующие термины, отметив знаком «+» принадлежность к генетическому аппарату прокариот и/или эукариот: оперон, репликация, транскрипция, экзон, промотор, энхансер, оператор, репрессор, сплайсинг, интрон, праймер, альтернативный сплайсинг, ген, геном, индуктор, кодон, процессинг, репликатор.

Таблица 3

Определение	Термин	Генетический аппарат	
		прокариот	эукариот
1. Процесс удвоения ДНК, который происходит при делении клетки			
2. Низкомолекулярное вещество, которое предотвращает связывание репрессора с операторной областью и возобновляет транскрипцию			
3. Синтез РНК на ДНК-матрице			
4. Регуляторный белок, подавляющий активность генов			
5. Нуклеотидная последовательность, в которой закодировано несколько белков, обычно контролируемых родственными функциями			
6. Процесс формирования зрелой мРНК путем удаления некодирующих последовательностей из молекулы пре-мРНК			
7. Регуляторный участок гена (оперона), к которому присоединяется РНК-полимераза, с тем чтобы начать транскрипцию			
8. Кодированные последовательности генов (представлены в мРНК)			
9. Некодированные последовательности генов (не представлены в мРНК)			
10. Регуляторный участок ДНК, усиливающий транскрипцию ближайшего гена в десятки и сотни раз			
11. Синтез ДНК на РНК-матрице			
12. Регуляторный участок ДНК, ослабляющий транскрипцию ближайшего гена			
13. Короткая нуклеотидная последовательность со свободной 3'-ОН-группой, комплементарно связанная с односторонней ДНК			
14. Обмен генетическим материалом между двумя гомологичными молекулами ДНК			
15. Фаза жизненного цикла фага, начинающаяся инфекцией клетки и заканчивающаяся её лизисом			
16. Явление носительства клетками фага в виде профага			

Варианты задания № 2

Вариант 0

1. В молекуле ДНК на долю цитозиновых нуклеотидов приходится 18 %. Определить процентное содержание других нуклеотидов, входящих в молекулу ДНК.

2. Внесите необходимую информацию о механизме репликации ДНК в соответствующие колонки таблицы, содержащей перечень некоторых белков и ферментов, участвующих в процессе репликации:

Белки	Функции в вилке репликации	Этап репликации
Геликаза Дестабилизирующие белки (SSBP) ДНК-полимераза Лигаза РНК-праймаза		

3. Опишите механизм позитивной индукции лактозного оперона.

Вариант 1

1. В препаратах ДНК, выделенной из клеток туберкулезных бактерий, содержание аденина составило 15,1 % от общего количества оснований. Определите примерное количество гуанина, тимина и цитозина в этой ДНК.

2. Определите возможное число информационных триплетов в участке молекулы ДНК, состоящем из 360 пар нуклеотидов, если молекула мРНК содержит 300 нуклеотидов.

3. Опишите строение бактериофага λ . Какие особенности имеет первичная структура его молекулы ДНК?

Вариант 2

1. Исследования показали, что 34 % от общего числа нуклеотидов мРНК приходится на гуанин, 18 % – на урацил, 28 % – на цитозин, 20 % – на аденин. Определить процентный состав азотистых оснований двухцепочечной ДНК, копией которой является указанная мРНК.

2. Определите характер возможных нарушений в функционировании лактозного оперона в случае мутации в операторе, что дела-

ет невозможным прикрепление к нему активного белка-репрессора, но при этом не нарушены функции РНК-полимеразы.

3. Опишите схему общей трансдукции между линиями *E.coli* с участием бактериофага λ .

Вариант 3

1. Участок молекулы белка имеет строение: про-лиз-гис-вал-тир. Сколько возможных вариантов строения фрагмента молекулы ДНК кодирует эту часть молекулы белка?

2. Используя таблицу генетического кода, составьте схему, демонстрирующую принцип коллинеарности полинуклеотида (участка матричной РНК) и кодируемого им полипептида. На основе этой схемы проиллюстрируйте некоторые из принципов генетического кода (триплетность, неперекрываемость, непрерывность).

3. Опишите особенности темновой репарации молекулы ДНК.

Вариант 4

1. Большая из двух цепей белка инсулина (цепь В) начинается со следующих аминокислот: фен-вал-асп-глу-гис-лей. Напишите последовательность нуклеотидов молекулы ДНК, хранящих информацию об этом участке белка.

2. Определите характер возможных нарушений в функционировании лактозного оперона в случае мутации в нуклеотидной последовательности промотора, узнаваемой РНК-полимеразой (исключает возможность специфического прикрепления этого фермента).

3. Опишите типы репарации ДНК

Вариант 5

1. Участок гена имеет следующее строение: 5'-ЦГГ ЦГЦ ТЦА ААА ТЦГ-3'. Укажите строение соответствующего участка того белка, информация о котором содержится в данном гене. Как отразится на строении белка удаление из гена 4-го нуклеотида?

2. Определите характер возможных нарушений в функционировании лактозного оперона в случае мутации в гене-регуляторе, которая привела к стабильной инактивации белка-репрессора.

3. Перечислите последовательность событий процесса трансляции в клетках эукариот.

Вариант 6

1. Объясните причину ситуации, при которой ген эукариотической клетки, занимающий участок ДНК размером в 2400 пар нуклеотидов, кодирует полипептид, состоящий из 180 аминокислотных остатков.

2. Антикодоны молекул т-РНК содержат следующие нуклеотиды: АГУ ГЦА ЦГУ УАГ ААА УУА. Определите последовательность аминокислот, доставляемых в рибосому данными молекулами тРНК.

3. Опишите механизм негативной индукции лактозного оперона.

Вариант 7

1. Сложный белок состоит из четырёх полипептидных цепей, количество аминокислот в каждой из них: 116, 134, 162, 148. Какова длина оперона, кодирующего данный белок, если его регуляторная часть содержит 372 нуклеотида? Размер одного нуклеотида 0,34 нм.

2. Составьте схему прерывистой структуры гипотетического гена, состоящего из 5 экзонов и 4 интронов и кодирующего полипептид, включающий 300 аминокислотных остатков (относительные размеры отдельных экзонов и интронов можно выбрать произвольно).

Вариант 8

1. Содержание нуклеотидов в цепи мРНК составляет: цитозин – 20 %, аденин – 25 %, урацил – 23 %, гуанин – 32 %. Определите процентный состав нуклеотидов участка молекулы ДНК, являющейся матрицей для этой мРНК.

2. Определите нуклеотидную последовательность и ориентацию концов фрагмента одной из нитей молекулы ДНК, если известна последовательность и ориентация комплементарного участка другой нити этой молекулы: 3'-А-Т-С-Г-Т-Т-С-Г-А-5'.

3. Составьте и опишите схему транскрипции гена эукариот.

Вариант 9

1. Определить аминокислотный состав полипептида, который кодируется последовательностью и-РНК: ЦЦА ЦЦУ ГГУ УУУ ГГЦ .

2. Определите направление синтеза и нуклеотидную последовательность каждой из двух дочерних нитей, которые возникнут при репликации приведенного ниже двухцепочечного фрагмента ДНК:

3'-А-Г-Т-С-Т-Т-Г-С-А-5'

5'-Т-С-А-Г-А-А-С-Г-Т-3'

3. Приведите схему и опишите цикл элонгации трансляции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основной

1. **Глик Б., Пастернак Дж.** Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. – М.: Мир, 2002. – 598 с.
2. **Жимулев И.Ф.** Общая и молекулярная генетика: Учеб. пособие. Изд. 2-е, испр. и доп. – Новосибирск: Изд-во Сиб. ун-та, 2003. – 479 с.
3. **Рыбчин В.Н.** Основы генетической инженерии: Учеб. для вузов. – СПб.: Изд-во СПбГТУ, 1999. – 522 с.
4. Молекулярная биология клетки / Б. Альбертс, Д. Брей, Дж. Льюис, К. Робертс, Дж. Уотсон. – М.: Мир, 1994.
5. **Рис Э., Стернберг М.** Введение в молекулярную биологию (от клеток к атомам). – М.: Мир, 2002.
6. **Клаг У., Каммингс М.** Основы генетики. – М.: Техносфера, 2007.
7. **Комов В.П., Шведова В.Н.** Биохимия: Учеб. – М.: Дрофа, 2008. – 638 с.

Дополнительный

8. Общая биология / Л.В. Высоцкая и др. – М.: Научный мир, 2001.
9. **Neil A. Campbel, Jan B. Reece.** Essential Biology / Copiring 2001. – San Francisco, USA.
10. Биохимия: Учеб. для вузов / Под ред. Е.С. Северина, 2006. – 784 с.
11. Биологический энциклопедический словарь / Под ред. М.С. Гилярова. Изд. 2-е, испр. – М.: Сов. Энциклопедия, 1986.
12. **Busby S., Ebright RH.** Transcription activation by catabolite activator protein (CAP) // J. Mol. Biol. 2001. 293. P. 199–210.
13. **Санькова Т.П.** Введение в биологию для физиков: Учеб. пособие. – СПб.: Изд-во Политех. ун-та, 2011. – 138 с.

Интернет-ресурсы

1. Электронный учебник «Наглядная биохимия» / http://yanko.lib.ru/books/biolog/nagl_biochem/index.htm

2. Сайт «Классическая и молекулярная биология»: www.molbiol.ru
3. Образовательный видеопортал <http://univertv.ru/>, раздел Биология
4. Библиотека. Единое окно доступа к образовательным ресурсам: <http://window.edu.ru>
5. Российская электронная библиотека: <http://www.elbib.ru>
6. Студенческая библиотека – онлайн: <http://www.referats.net>.
7. Российское образование – Федеральный портал: <http://www.edu.ru>
8. Научный информационный журнал Биофайл: <http://biofile.ru>
9. Сайт о химии <http://www.xumuk.ru/encyklopedia/>
10. <http://biochemistry.terra-medica.ru/lekcii-po-biohimii.html>
11. <http://dailyfit.ru/>
12. <http://bio.fizteh.ru/student/files/biology/biolections/lecture04.html>
13. http://lib.sinp.msu.ru/static/tutorials/01_textbook/index-897.htm
14. http://www.biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Part28-162.html
15. http://ebooks.grsu.by/osnovi_biohimii/index.htm
16. <http://www.bioinformer.ru/binfs-113-1.html>
17. <http://www.cellbiol.ru>
18. <http://biofile.ru/chel/1782.html>
19. http://ebooks.grsu.by/osnovi_biohimii/index.htm
20. <http://900igr.net/fotografii/biologija/Stroenie-kletki-i-ejo-funktsii/026-Nemembrannye-organelly.html>
21. <http://rudocs.exdat.com/docs/index-294820.html>
22. <http://www.ebio.ru/kle01.html>
23. https://online.science.psu.edu/biol011_sandbox_7239/node/7412
24. <http://gmgmesjwk.pbworks.com/w/page/6526700/FrontPage>

Приложение 1 СТРОЕНИЕ КЛЕТКИ

Клетка – структурно-функциональная единица живой материи, способная к саморегуляции, самовоспроизведению и обмену веществ. Все живые организмы состоят из клеток. Клетка представляет собой целостную живую систему, состоящую из неразрывно связанных между собой **цитоплазмы** и **ядра** (рис. 30). От внешней среды цитоплазма отграничена наружной **клеточной мембраной**, называемой **плазмалеммой**. Цитоплазма содержит множество специализированных компонентов, называемых **органеллами**. Органеллы взвешены в жидкой среде цитоплазмы, которую называют цитоплазматическим матриксом, или **гиалоплазмой**.

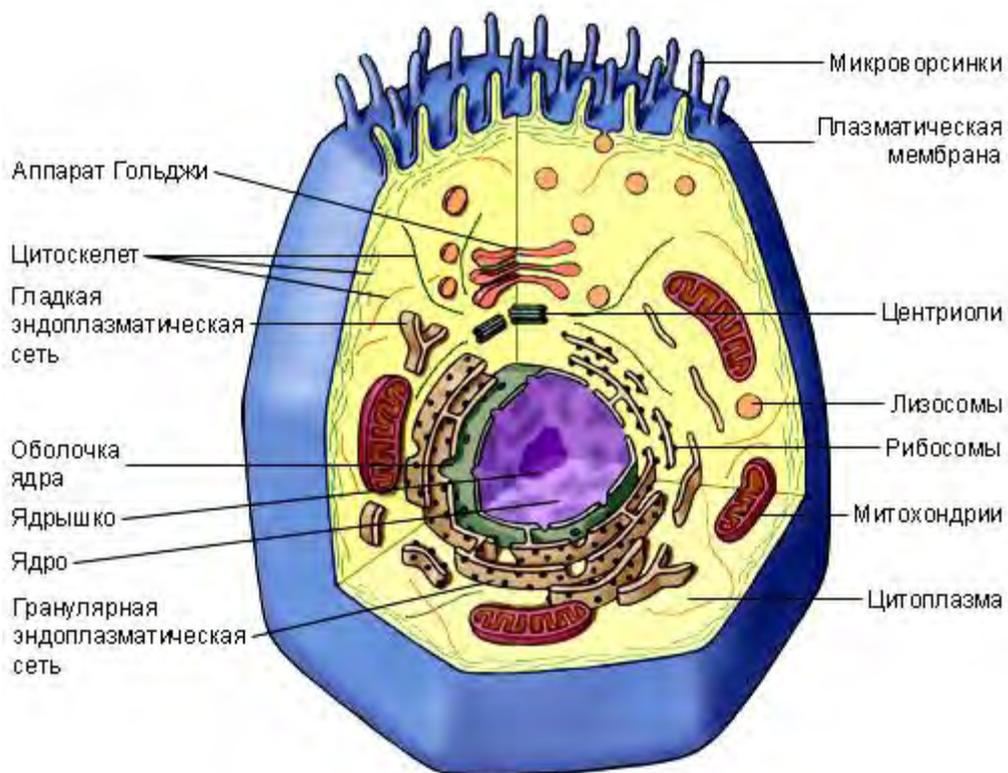


Рис. 30. Строение животной клетки

Эндоплазматический ретикулум (эндоплазматическая сеть) – это разветвленная система каналов и цистерн, ограниченных мембранами, пронизывающими гиалоплазму. Существует гладкий

и шероховатый эндоплазматический ретикулум. На мембранах первого типа находятся ферменты жирового и углеводного обмена. На мембранах второго типа располагаются **рибосомы**. Белки, синтезируемые в них, накапливаются в каналах и полостях эндоплазматической сети и затем по ним доставляются к различным органеллам клетки, где используются или сосредотачиваются в цитоплазме в качестве клеточных включений.

Рибосомы – это небольшие органеллы, которые содержат примерно равные количества белка и рибосомальной РНК и лишены мембранной структуры. Каждая рибосома состоит из двух субъединиц различной величины, соединенных между собой. Субъединицы образуются в ядрышках; сборка рибосом осуществляется в цитоплазме. Рибосомы – постоянная составная часть клетки. Часть их располагается в гиалоплазме свободно, другая часть прикреплена к поверхности мембран эндоплазматической сети. Последние функционально более активны. Рибосомы могут располагаться на мембране поодиночке или объединяться в группы по 4–40 единиц, образуя цепочки – полисомы, или **полирибосомы**, в которых отдельные рибосомы связаны между собой нитевидной молекулой мРНК. Рибосомы несколько меньшего размера содержатся в митохондриях и пластидах. Основная функция рибосом – «сборка» белковых молекул из аминокислот.

Митохондрии содержатся во всех аэробных эукариотических клетках. Число митохондрий в клетке колеблется в широких пределах и зависит от типа тканей и возраста слагающих их клеток. Митохондрии способны перемещаться в клетке. При этом они концентрируются преимущественно возле ядра, хлоропластов и других органелл, где процессы жизнедеятельности наиболее интенсивны. Каждая митохондрия окружена двумя мембранами – наружной и внутренней, между которыми находится бесструктурная жидкость матрикс. В митохондриях осуществляется процесс дыхания. На их внутренних мембранах окисляются макрокомпоненты пищи и накапливается химическая энергия в макроэргических фосфатных связях АТФ. Митохондрии называют энергетическими центрами клетки.

Лизосомы обнаруживаются в клетках большинства эукариотических организмов, но особенно много их в тех животных клетках, которые способны к фагоцитозу. Это органеллы сферической формы величиной 0,5–2 мкм, окруженные мембраной и заполненные мат-

риксом. Лизосомы содержат ферменты, которые могут разрушать белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды, липиды и другие органические соединения при внутриклеточном пищеварении. Число ферментов в лизосомах так велико, что при освобождении они способны разрушить клетку.

Аппарат Гольджи назван по имени открывшего его в 1898 г. итальянского ученого К. Гольджи, является компонентом всех эукариотических клеток. В аппарат Гольджи поступают синтезированные на мембранах *эндоплазматической сети* белки и липиды. Эти соединения, а также синтезируемые в комплексе полисахариды «упаковываются» в гранулы и затем либо используются самой клеткой, либо выводятся из неё. Аппарат Гольджи представляет собой важнейшую мембранную органеллу, управляющую процессами внутриклеточного транспорта. Основными функциями аппарата Гольджи являются модификация, накопление, сортировка и направление различных веществ в соответствующие внутриклеточные компартменты, а также за пределы клетки. Он состоит из набора окруженных мембраной уплощенных цистерн, напоминающих стопку тарелок. Каждая стопка Гольджи (у растений называемая дактиосомой) обычно содержит от четырех до шести цистерн, имеющих, как правило, диаметр около 1 мкм. Число стопок Гольджи в клетке в значительной степени зависит от ее типа: некоторые клетки содержат одну большую стопку, тогда как в других имеются сотни очень маленьких стопок. Со стопками Гольджи всегда ассоциирована масса мелких (диаметром приблизительно 60 нм) ограниченных мембраной пузырьков. Полагают, что эти пузырьки (пузырьки Гольджи) переносят белки и липиды в аппарат Гольджи, транспортируют их из него и между остальными цистернами.

Клеточный центр – органелла, находящаяся вблизи ядра в клетках животных. Она состоит из двух маленьких телец цилиндрической формы (центриолей), расположенных под прямым углом друг к другу. Центриоли содержат ДНК и относятся к самовоспроизводящимся органеллам цитоплазмы. Стенка центриоли состоит из микротрубочек. Центриоли играют важную роль при делении клетки: от них начинается рост микротрубочек, формирующих веретено деления.

Ядро – это органелла, где хранится и воспроизводится наследственная информация, определяющая признаки данной клетки и всего организма.

Форма ядра чаще всего шаровидная или эллипсоидальная, реже линзообразная или веретеновидная. Размер ядра очень изменчив и зависит от вида организма, а также от возраста и состояния клетки.

Почти вся ДНК клетки (99 %) находится в ядре, где она образует комплексы с белками – дезоксирибонуклеопротеиды. Общий план строения ядра одинаков как у растительных, так и у животных клеток. Структура же компонентов ядра существенно изменяется на разных фазах жизненного цикла клетки, что связано с различием выполняемых ядром функций. В ядре различают: 1) ядерную оболочку; 2) хроматин (хромосомы); 3) одно–два, иногда несколько ядрышек; 4) ядерный сок.

Хроматин, или хромосомы, – основной морфологический компонент ядра. Хромосомы хорошо видимы в световой микроскоп во время митоза. Для клеток каждого вида характерно постоянное число хромосом определенной величины и формы. Совокупность хромосом называется *хромосомным набором*. Число хромосом в соматических клетках (от лат. soma – тело) обычно двойное (диплоидное). Оно получается после слияния двух половых клеток, в которых всегда одинарное (гаплоидное) число хромосом.

Размеры и форма хромосом одного гаплоидного набора неодинаковы, но в каждой половой клетке одного вида организма строго повторяется не только число хромосом, но и размеры и форма каждой из них. Естественно, что в диплоидном наборе каждой хромосоме соответствует парная (гомологичная) хромосома, такая же по форме и размерам. Все организмы одного вида имеют одинаковое число хромосом. Внутреннее строение хромосомы, число нитей ДНК в ней меняется в жизненном цикле клетки. Функции хромосом состоят в синтезе специфических для данного организма ДНК, хранящих и передающих наследственную информацию в клеточных поколениях, и РНК, управляющих синтезом белков в клетке.

Ядрышко – производное хромосомы, один из ее локусов, активно функционирующий в интерфазе. В клетке обычно содержится 1–2 ядрышка, иногда более двух. Основная функция ядрышка – синтез рибосом; в нем содержатся факторы, участвующие в транскрипции рибосомных генов и процессинге пре-рРНК. Ядрышко – высокоорганизованная структура внутри ядра. В составе ядрышка выявляются большие петли ДНК, содержащие гены рРНК, которые с необычайно высокой скоростью транскрибируются. В отличие от цито-

плазматических органелл ядрышко не имеет мембраны, которая окружала бы его содержимое. Размер ядрышка отражает степень его функциональной активности, которая широко варьирует в различных клетках и может изменяться в индивидуальной клетке.

Ядерный сок (кариоплазма) – бесструктурная масса, близкая к гиалоплазме цитоплазмы. Он состоит в основном из простых растворимых белков, а также из нуклеопротеидов, гликопротеидов. В нем находится большая часть ферментов ядра. Основная функция ядерного сока – осуществление взаимосвязи ядерных структур (хроматина и ядрышка), но он не является инертной средой, а трансформирует проходящие через него вещества.

Таким образом, клетки подавляющего большинства живых организмов имеют сложно устроенное оформленное ядро. Их называют **эукариотами**. Бактерии относят к **прокариотам**, основной отличительный признак которых – отсутствие ограниченного оболочкой ядра. У них наследственный материал представлен одной-единственной хромосомой, расположенной непосредственно в цитоплазме (рис. 31).

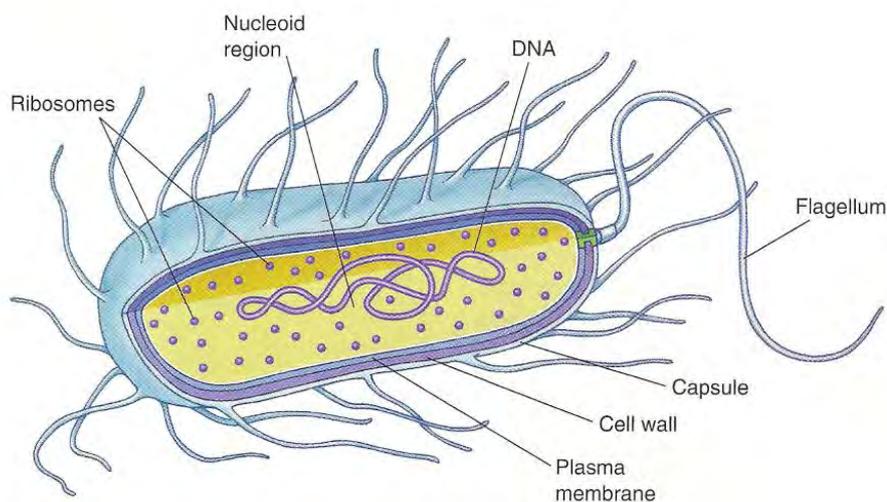


Рис. 31. Строение клетки прокариот

Пластиды характерны для клеток автотрофных растений (рис. 32). Именно с пластидами связан процесс первичного и вторичного синтеза углеводов. Пластиды различают по окраске: 1) бесцветные – *лейкопласты*; 2) окрашенные в зеленый цвет – *хлоропласты*; 3) окрашенные преимущественно в желто-красные тона – *хромопласты*. Все три группы пластид связаны общим происхождением и сходным строением.

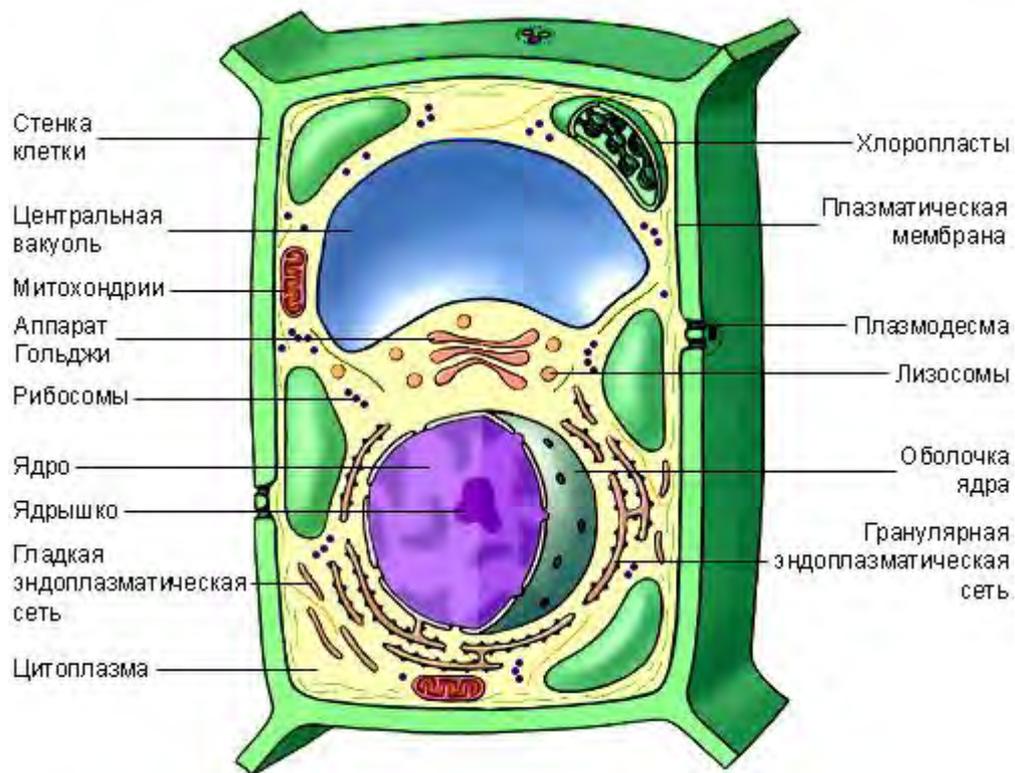


Рис. 32. Строение клетки растений

Лейкопласты сосредоточены преимущественно в тканях и органах растений, лишенных доступа света, – спорах, гаметах, семенах, клубнях, корневищах. Основная функция лейкопластов – синтез и накопление запасных продуктов питания, в первую очередь крахмала, реже белков и жиров. Наиболее часто в лейкопластах образуются зерна вторичного запасного крахмала из сахаров, притекающих из листьев в запасяющие органы. Крахмальные зерна быстро разрастаются, и, наконец, весь лейкопласт заполняется крахмалом. Запасной белок в лейкопластах может откладываться в форме кристаллов или аморфных включений.

Хлоропласты содержат зеленый пигмент *хлорофилл* и осуществляют первичный синтез углеводов при участии световой энергии. Это органеллы фотосинтеза, поэтому в соответствии с функцией хлоропласты находятся преимущественно в фотосинтезирующих органах и тканях, обращенных к свету (в листьях, молодых стеблях, зеленых плодах). Хлоропласты есть у всех зеленых растений. Кроме хлорофилла хлоропласты содержат еще каротиноиды – два пигмента оранжевого и желтого цвета – каротин и ксантофилл.

Хромопласты – нефотосинтезирующие пластиды, встречаются в цитоплазме клеток цветков, стеблей, плодов, листьев, придавая им соответствующую окраску. Хромопласты имеют более простое строение и содержат разные пигменты – каротиноиды – красные, желтые, оранжевые, коричневые. Хромопласты считаются конечной стадией развития пластид. Основная функция хлоропластов – окрашивание цветов и плодов и тем самым привлечение опылителей и распространителей семян, а также запас питательных веществ.

Целлюлозная клеточная стенка. Этот важнейший компонент, присущий только растительным клеткам, также является продуктом жизнедеятельности органелл. В процессе развития клеток в зависимости от выполнения ими разных функций происходят следующие видоизменения клеточной стенки.

Вакуоли – полости в цитоплазме животных и растительных клеток; ограничены мембраной и заполнены жидкостью. У одноклеточных животных (*простейших*) пищеварительные вакуоли содержат ферменты, расщепляющие органические вещества; сократительные вакуоли регулируют осмотическое давление и служат органами выделения. У многоклеточных животных пищеварительные вакуоли – одна из форм *лизосом*. У растений вакуоли представлены системой канальцев и пузырьков, которые в зрелой клетке сливаются в одну большую центральную вакуоль, занимающую почти весь объём клетки. Она содержит растворённые в воде органические и неорганические соли, сахара, аминокислоты, некоторые пигменты и др., поддерживает тургорное давление, накапливает запасные вещества и промежуточные продукты обмена, выводит из обмена токсичные вещества. Вакуоли особенно хорошо заметны в клетках растений: во многих зрелых клетках они составляют более половины объёма клетки, при этом они могут сливаться в одну гигантскую вакуоль. Одна из важных функций растительных вакуолей – накопление ионов и поддержание тургорного давления. Вакуоль – это место запаса воды.

На рис. 33 показано сравнение клеточных структур. Сходство строения и химического состава клеток всех организмов служит доказательством единства живой природы.

Some typical cells

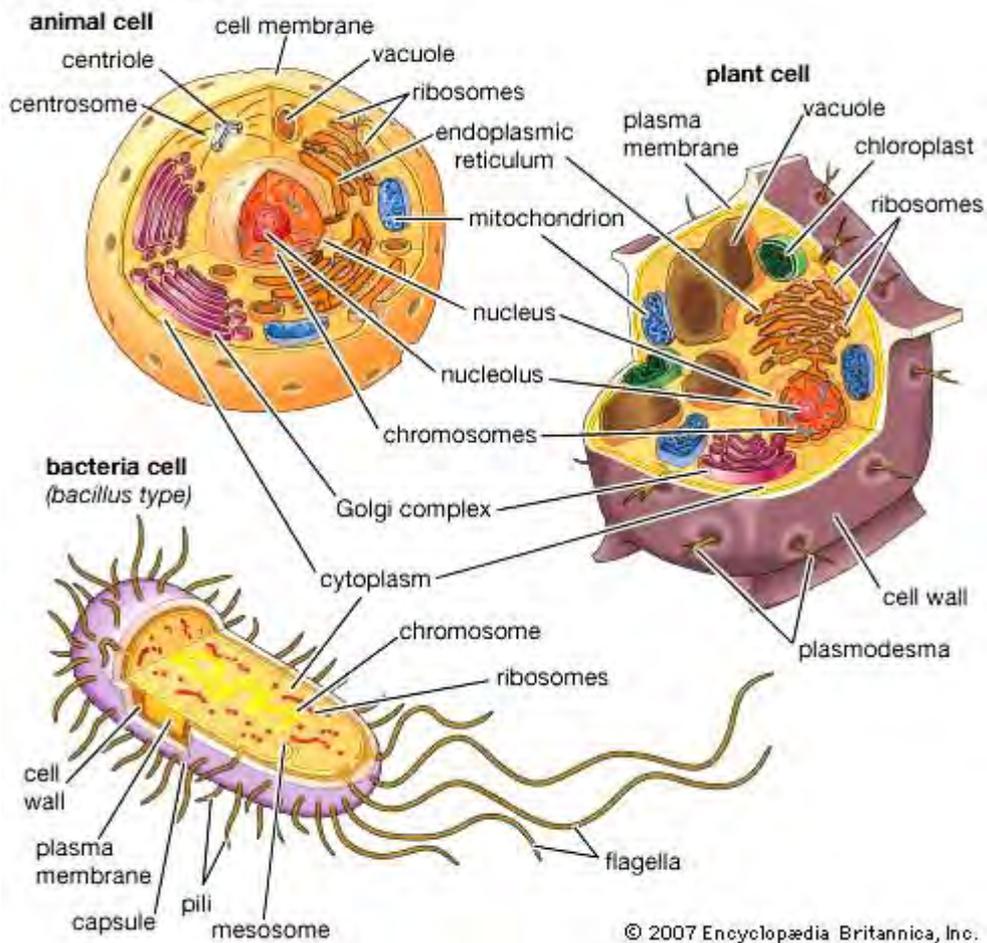


Рис. 33. Сравнение клеточных структур эукариотических (растительной и животной) и прокариотической клеток

Приложение 2

СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

Бактериофаги (фаги) (от греч. φάγος – пожирать) – вирусы, избирательно поражающие бактериальные клетки.

Гаметы – репродуктивные клетки, имеющие гаплоидный (одинарный) набор хромосом и участвующие в половом размножении.

Ген – участок ДНК, кодирующий одну полипептидную цепь или одну молекулу тРНК, рРНК или sРНК. Гены тРНК, рРНК, sРНК белки не кодируют.

Генетический код – это система записи информации о порядке расположения аминокислот в белках с помощью последовательности расположения нуклеотидов в ДНК.

Генетический код идеальный – код, в котором выполняется правило вырожденности: если в двух триплетях совпадают первые два нуклеотида, а третьи нуклеотиды относятся к одному классу (оба – пурины или оба пиримидины), то эти триплеты кодируют одну и ту же аминокислоту.

Геном – совокупность генов в гаплоидном (одинарном) наборе хромосом.

Генотип – набор генов организма, которые он получает от своих родителей.

Гены домашнего хозяйства – определенный набор генов организма, которые экспрессируются в любых типах клеток и обеспечивают энергетiku, дыхание и другие процессы, без которых клетки жить не могут.

Гены тканеспецифические – гены, которые работают только в определенных клетках организма и на определенных стадиях его развития (большинство генов).

Делеция – мутация, связанная с утратой какого-то участка хромосомы.

Дупликация – мутация, связанная с появлением дополнительного наследственного материала, идентичного тому, который уже есть в геноме.

Инверсии – хромосомные перестройки (мутации), связанные с поворотом отдельных участков хромосомы на 180°;

Индуктор – низкомолекулярное вещество, которое приводит к инициации транскрипции.

Интроны – некодирующие последовательности генов эукариот (не представлены в мРНК).

Кодон (триплет) – последовательность из трех нуклеотидов, кодирующая одну аминокислоту.

Коллинеарность гена и продукта: линейное соответствие последовательности кодонов гена и последовательности аминокислот в белковом продукте (обнаружено в клетках прокариот).

Кэп (cap) – необычное основание (7-метилгуанозин), которое присоединяется к 5'-концу транскрипта (пре-мРНК) в клетках эукариот. Модифицированный 5'-конец мРНК обеспечивает инициацию трансляции, удлиняет время жизни мРНК, защищая её от действия 5'-экзонуклеаз в цитоплазме.

Матричная РНК (мРНК) синтезируется на матрице ДНК в процессе транскрипции, после чего, в свою очередь, используется в процессе трансляции как матрица для синтеза белков. мРНК играет важную роль в экспрессии генов.

Мейоз – процесс клеточного деления клеток, в результате которого происходит уменьшение числа хромосом в дочерних клетках с диплоидного (двойного) до гаплоидного (одинарного). Основная стадия образования половых клеток.

Мутации – любое изменение в последовательности ДНК.

Мутации консервативные – замены нуклеотидов, не приводящие к смене класса кодируемой аминокислоты.

Мутации радикальные – замены нуклеотидов, приводящие к смене класса кодируемой аминокислоты.

Оказаки фрагменты – относительно короткие фрагменты ДНК (с РНК-праймером на 5'-конце), которые образуются в процессе репликации отстающей цепи ДНК.

Оператор – регуляторный участок гена (оперона), с которым специфически связывается репрессор, предотвращая транскрипцию.

Оперон – совокупность совместно транскрибируемых генов, обычно контролирующая родственные функции в клетках прокариот.

Ориджин (англ. *origin* – начало, *сайт ori*) – сайт начала репликации в молекуле ДНК.

Плазмиды – стабильно наследуемые внехромосомные генетические элементы (ДНК), являющиеся обычным компонентом бактериальных клеток. Встречаются также и у низших эукариот.

Праймер (затравка) – короткие последовательности РНК (олигорибонуклеотид), образуемые в процессе репликации при участии фермента РНК-праймазы и спаренные с матричной ДНК.

Прокариоты – одноклеточные организмы, клетки которых не содержат ядра.

Промотор – сигнал инициации транскрипции, располагается перед кодирующей последовательностью (5'-фланкирующая последовательность). Имеет две консервативные последовательности: для узнавания и для тесного связывания с РНК-полимеразой. Регуляторный участок гена (оперона), к которому присоединяется РНК-полимераза для начала транскрипции.

Промоторы индуцибельные – промоторы, которые для своей работы требуют присутствия какой-то другой молекулы.

Процессинг белка – сворачивание полипептидной цепи белка (фолдинг) и ковалентная химическая модификация белка (посттрансляционная модификация) после его синтеза на рибосоме.

Рекомбинация генетическая – реорганизация генетического материала, обусловленная обменом отдельными сегментами двойных спиралей ДНК, приводящая к возникновению новых комбинаций генов.

Рекомбинантные ДНК – молекулы ДНК, полученные вне живой клетки путем соединения природных или синтетических фрагментов ДНК с молекулами, способными реплицироваться в клетке.

Рекомбинация сайт-специфическая широко распространена у прокариот и низших эукариот. Обмен фрагментами осуществляется между разными молекулами ДНК только в участках со строго определенными короткими нуклеотидными последовательностями, имеющими гомологичные участки (15–30 п.н.).

Репарация (от лат. *reparatio* – восстановление) – особая функция клеток всех живых организмов, заключающаяся в способности исправлять химические повреждения и разрывы в молекулах ДНК, повреждённой при нормальном биосинтезе ДНК в клетке, а также в результате воздействия физических (УФ-облучение, радиация) или химических агентов.

Репликация (от лат. *replicatio* – повторение) – это самовоспроизведение нуклеиновых кислот, обеспечивающее точное копирование генетической информации и передачу ее от поколения к поколению.

Репликационная вилка – участок ДНК, в котором дуплекс расплетается и одноцепочечные последовательности связываются дестабилизирующими ДНК-связывающими белками.

Репликон – функциональная единица репликации – сегмент (участок) ДНК, ограниченный точкой инициации репликации (сайт *ori*) и точкой окончания, в которой репликация останавливается.

Репрессор – белок, подавляющий активность генов.

Реципиентная клетка – клетка, получающая генетический материал от другой клетки, называемой донором.

Соматические клетки – клетки, составляющие тело (сому) многоклеточных организмов и не принимающие участия в половом размножении. Таким образом, это все клетки, кроме половых клеток (гамет).

Сплайсинг – процесс формирования зрелой мРНК в клетках эукариот путем удаления интронов из молекулы пре-мРНК.

Сплайсинг альтернативный – процесс формирования мРНК путем удаления интронов и некоторых экзонов, находящихся между ними.

Трансдукция – перенос ДНК из одной клетки (донор) в другую (реципиент) с помощью бактериофагов.

Транскриптон – единица транскрипции, участок ДНК, ограниченный со стороны 3'-конца промотором, со стороны 5'-конца – терминаторной последовательностью.

Транскрипция (лат. *transcriptio* – переписывание) – это перенос генетической информации с ДНК на РНК, т.е. процесс синтеза РНК с использованием ДНК в качестве матрицы, происходящий во всех живых клетках.

Транслокации – хромосомные перестройки (мутации), в результате которых часть хромосомы переносится в другое место той же хромосомы или в другую хромосому, но общее число генов не меняется.

Трансляция (1) – это процесс биосинтеза белка, в результате которого информация с языка последовательности нуклеотидов в мРНК переводится (транслируется) на язык последовательности аминокислот в полипептидной молекуле. Трансляция мРНК осуществляется в направлении $5' \rightarrow 3'$.

Трансляция (2) – процесс, в результате которого информация с языка последовательности нуклеотидов в мРНК переводится (транслируется) на язык последовательности аминокислот в молекуле белка.

Транспозоны – фрагменты ДНК, которые могут менять свое местоположение в геноме; подвижные (мобильные) генетические элементы (ПГЭ, МГЭ).

Факторы транскрипции – специфические белки, с помощью которых осуществляется регуляция транскрипции у эукариот.

Фенотип – внешнее проявление свойств организма.

Хромосомы – нуклеопротеидные структуры в ядре клетки, в которых сосредоточена большая часть наследственной информации и которые предназначены для её хранения, реализации и передачи.

Эзоны – кодирующие последовательности генов эукариот (представлены в мРНК).

Экспрессия генов – процесс, в ходе которого наследственная информация от гена преобразуется в функциональный продукт – РНК или белок.

Энхансер – регуляторный участок ДНК эукариотических клеток, усиливающий транскрипцию ближайшего гена в десятки и сотни раз; используется для повышения эффективности транскрипции и регуляции активности гена.

Энхансеры временные – регуляторные участки ДНК, активные только в определенное время развития организма.

Энхансеры индуцибельные реагируют на изменения в окружающей среде (тепловой шок, вирусная инфекция, появление тяжелых металлов, ростовых факторов, стероидов и т. п.).

Энхансеры тканеспецифичные – регуляторные участки ДНК, активные только в определенных клетках.

Эукариоты – одноклеточные или многоклеточные организмы, клетки которых содержат ядро.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1. Репликация, сохранение и модификация генома	6
1.1. Молекулы генетического аппарата.....	7
1.2. Репликация ДНК	14
1.3. Транскрипция	18
1.4. Синтез ДНК на матрице РНК (обратная транскрипция)	20
1.5. Репарация ДНК	21
1.6. Рекомбинация ДНК	23
1.7. Подвижные (мобильные) генетические элементы: транспозоны	25
1.8. Внехромосомные генетические элементы: плазмиды	27
1.9. Бактериофаги.....	28
Вопросы для повторения.....	30
2. Структурно-функциональная организация передачи генетической информации.....	32
2.1. Центральная догма молекулярной биологии.....	32
2.2. Уровни организации наследственного материала	32
2.3. Строение и экспрессия генов в клетках прокариот и эукариот	33
2.4. Генетический код и его свойства	42
2.5. Трансляция. Биосинтез белка	45
Вопросы для повторения.....	49
Задания для самостоятельной работы	51
Задание № 1	51
Варианты задания № 2	53
Список литературы.....	56
Приложение 1. СТРОЕНИЕ КЛЕТКИ.....	58
Приложение 2. СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ.....	66

Миссия университета – генерация передовых знаний, внедрение инновационных разработок и подготовка элитных кадров, способных действовать в условиях быстро меняющегося мира и обеспечивать опережающее развитие науки, технологий и других областей для содействия решению актуальных задач.

ИНСТИТУТ ХОЛОДА И БИОТЕХНОЛОГИЙ



Институт холода и биотехнологий является преемником Санкт-Петербургского государственного университета низкотемпературных и пищевых технологий (СПбГУНиПТ), который в ходе реорганизации (приказ Министерства образования и науки Российской Федерации № 2209 от 17 августа 2011г.) в январе 2012 года был присоединен к Санкт-Петербургскому национальному исследовательскому университету информационных технологий, механики и оптики.

Созданный 31 мая 1931года институт стал крупнейшим образовательным и научным центром, одним из ведущих вузов страны в области холодильной, криогенной техники, технологий и в экономике пищевых производств.

За годы существования вуза сформировались известные во всем мире научные и педагогические школы. В настоящее время фундаментальные и прикладные исследования проводятся по 20 основным научным направлениям: научные основы холодильных машин и термотрансформаторов; повышение эффективности холодильных установок; газодинамика и компрессоростроение; совершенствование процессов, машин и аппаратов криогенной техники; теплофизика; теплофизическое приборостроение;

машины, аппараты и системы кондиционирования; хладостойкие стали; проблемы прочности при низких температурах; твердотельные преобразователи энергии; холодильная обработка и хранение пищевых продуктов; тепломассоперенос в пищевой промышленности; технология молока и молочных продуктов; физико-химические, биохимические и микробиологические основы переработки пищевого сырья; пищевая технология продуктов из растительного сырья; физико-химическая механика и тепло-и массообмен; методы управления технологическими процессами; техника пищевых производств и торговли; промышленная экология; от экологической теории к практике инновационного управления предприятием.

На предприятиях холодильной, пищевых отраслей реализовано около тысячи крупных проектов, разработанных учеными и преподавателями института.

Ежегодно проводятся международные научные конференции, семинары, конференции научно-технического творчества молодежи.

Издаются научно-теоретический журнал «Вестник Международной академии холода» и Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Холодильная техника и кондиционирование», Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств», Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Экономика и экологический менеджмент».

В вузе ведется подготовка кадров высшей квалификации в аспирантуре и докторантуре.

Действуют два диссертационных совета, которые принимают к защите докторские и кандидатские диссертации.

Вуз является активным участником мирового рынка образовательных и научных услуг.

www.ifmo.ru

ihbt.ifmo.ru

Скворцова Наталья Николаевна

ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

Учебное пособие

Ответственный редактор

Т.Г. Смирнова

Редактор

Р.А. Сафарова

Компьютерная верстка

Д.Е. Мышковский

Дизайн обложки

Н.А. Потехина

Подписано в печать 08.06.2015. Формат 60×84 1/16

Усл. печ. л. 4,42. Печ. л. 4,75. Уч.-изд. л. 4,5

Тираж 80 экз. Заказ № С 35

Университет ИТМО. 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49

Издательско-информационный комплекс
191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9