

Молекулярні основи
спадковості.

Реалізація спадкової
інформації

Питання теми:

1. Молекулярні основи спадковості. Генетична роль НК.
2. Характеристика нуклеїнових кислот: ДНК і РНК, просторова організація, властивості.
3. Реплікація ДНК.
4. Самокорекція і репарація ДНК.
5. Будова гена про- та еукаріотів.
6. Генетичний код, його властивості.
7. Організація потоку інформації у клітині. Транскрипція. Процесинг, сплайсинг.
8. Трансляція (ініціація, елонгація, термінація).
9. Регуляція експресії генів у прокаріотів.
10. Організація генома еукаріотів.

НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ

Вперше НК виявлені в ядрах загиблих лейкоцитів швейцарським фізіологом, гістологом, біологом Ф.Мішером (1869 рік)



- Термін *нуклеїнові кислоти* (НК) був впроваджений німецьким біохіміком Р.Альтманом у 1889 р.

Етапи розвитку молекулярної біології

Молекулярна біологія виникла у 1940—1950 рр., коли була встановлена генетична роль дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК).

- **Фрідріх Мішер** в 1868—1872 рр. виділив з ядер клітин гною і сперми лосося нову фосфоровмісну речовину, названу ним нуклеїном.
- **Р. Альтман** отримав у 1889 р. нуклеїнову кислоту, вільну від білків, і ввів цей термін в біохімію.
- Розробки методів виділення і вивчення хімічного складу нуклеїнових кислот були продовжені в лабораторіях А. Коссея, У. Джонса, П. Левіна, О. Гаммерстена та ін.
- **О. Ейвері і співр. (1944)** довели, що ДНК є носієм генетичної інформації (трансформація). Це положення отримало підтвердження в експериментах А. Херші і М. Чейз з ДНК бактеріофагів (трансдукція)
- 1953 – Дж. Уотсон та Ф. Крик: модель просторової структури ДНК.
- 1956 – А. Коренберг відкрив фермент ДНК-полімераза, яка синтезує нові, комплементарні ланцюги ДНК.

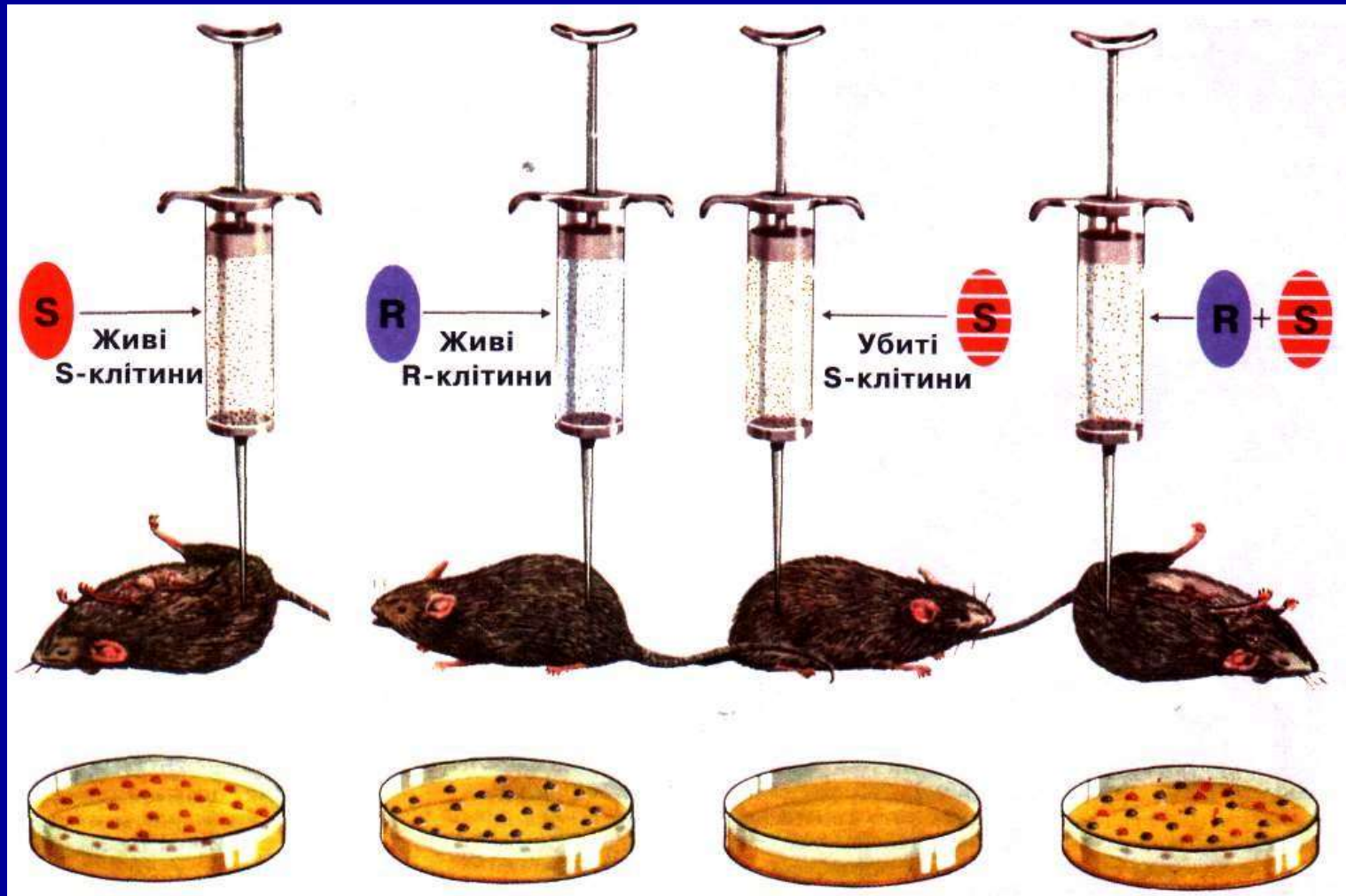
- У 1960 р. відразу в декількох лабораторіях був відкритий фермент РНК-полімераза, що здійснює синтез РНК на ДНК-матрицях.
- 1961-1966 рр. - генетичний код був повністю розшифрований зусиллями лабораторій М. Ніренберга, С. Очоа та Г. Корани.
- 1961 р. Ф. Жакоб і Ж. Моно опублікували схему регуляції синтезу білків на рівні транскрипції за допомогою регуляторних білків.
- 1973 р. одночасно в лабораторіях А. Річа і А. Клуга за допомогою рентгеноструктурного аналізу була встановлена просторова структура т-РНК. Відкрито основний структурний елемент еукаріотичних хромосом – **нуклеосома** – і розроблені методи її дослідження.
- 1970 р Г. Темін і Д. Балтімор відкрили в онкогенних вірусах **РНК-залежну ДНК-полімеразу** і тим самим показали, що потік генетичної інформації може бути обернений – від РНК до ДНК.
- 1977 р. виявлена **мозаїчна (екзон-інтрон) будова** генів, явище сплайсингу і ферментативної активності у РНК, підсилювачі («енхансери») експресії генів, велика кількість регуляторних білків, онкогени і онкобілки, мобільні генетичні елементи.

Докази генетичної ролі НК

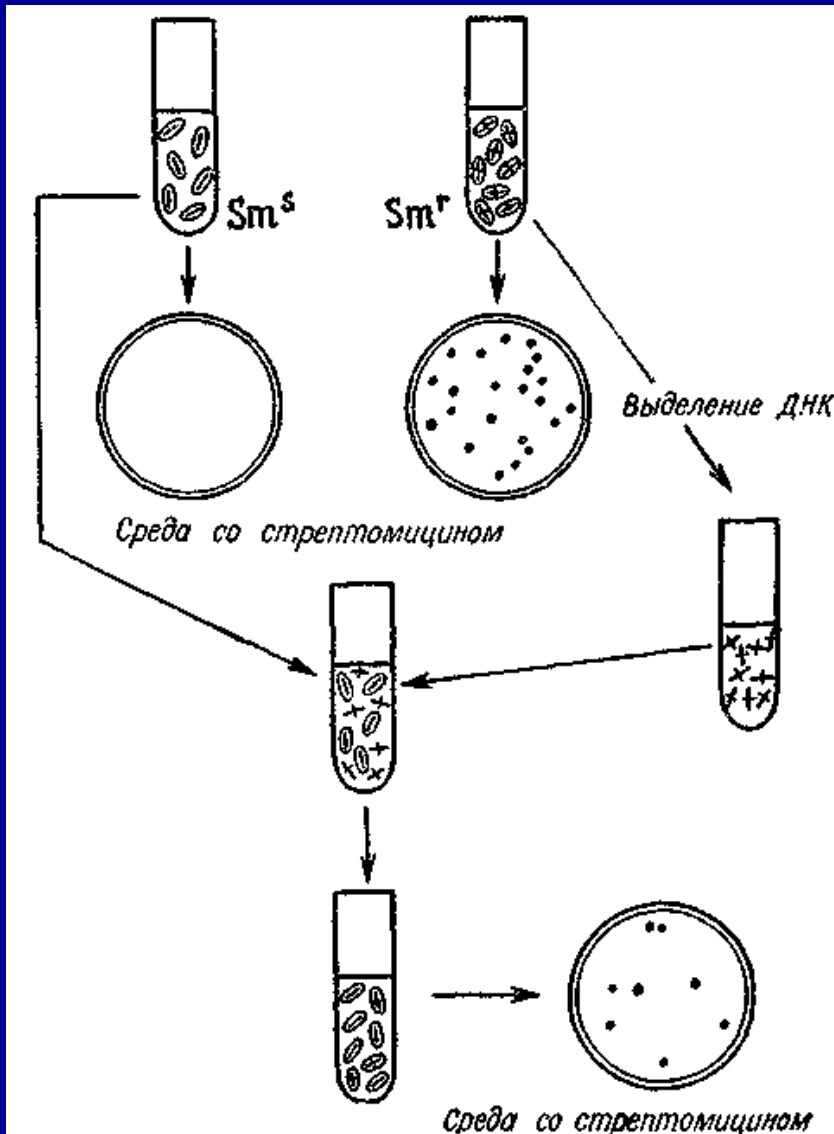
- Трансформація
(Гріффітс, 1928, Эвері и др., 1944)
- Трансдукція
(Леденберг, Циндер, 1952)
- Кон'югація у бактерій (Леденберг, Татум, 1946)

- **Трансформація** (від лат. *transformatio* - перетворення) - включення чужорідної ДНК у геном клітини хазяїна, що призводить до зміни її структури і функціональних властивостей.
- **Трансдукція** (від лат. *transductio* - переміщення) полягає у тому, що віруси, залишивши бактеріальні клітини, в яких паразитували, можуть захоплювати частину їх ДНК і, потрапивши в нові клітини, передають новим хазяїнам властивості попередніх.
- **Кон'югація** (від лат. *conjugatio* - з'єднання) - це перенесення генетичного матеріалу від однієї бактерії до іншої шляхом утворення цитоплазматичного містка, переміщення частини ДНК та її інтеграція з геном клітини-реципієнта.

Досліди Гріффітса (1928)



Трасформація - процес передачі ДНК



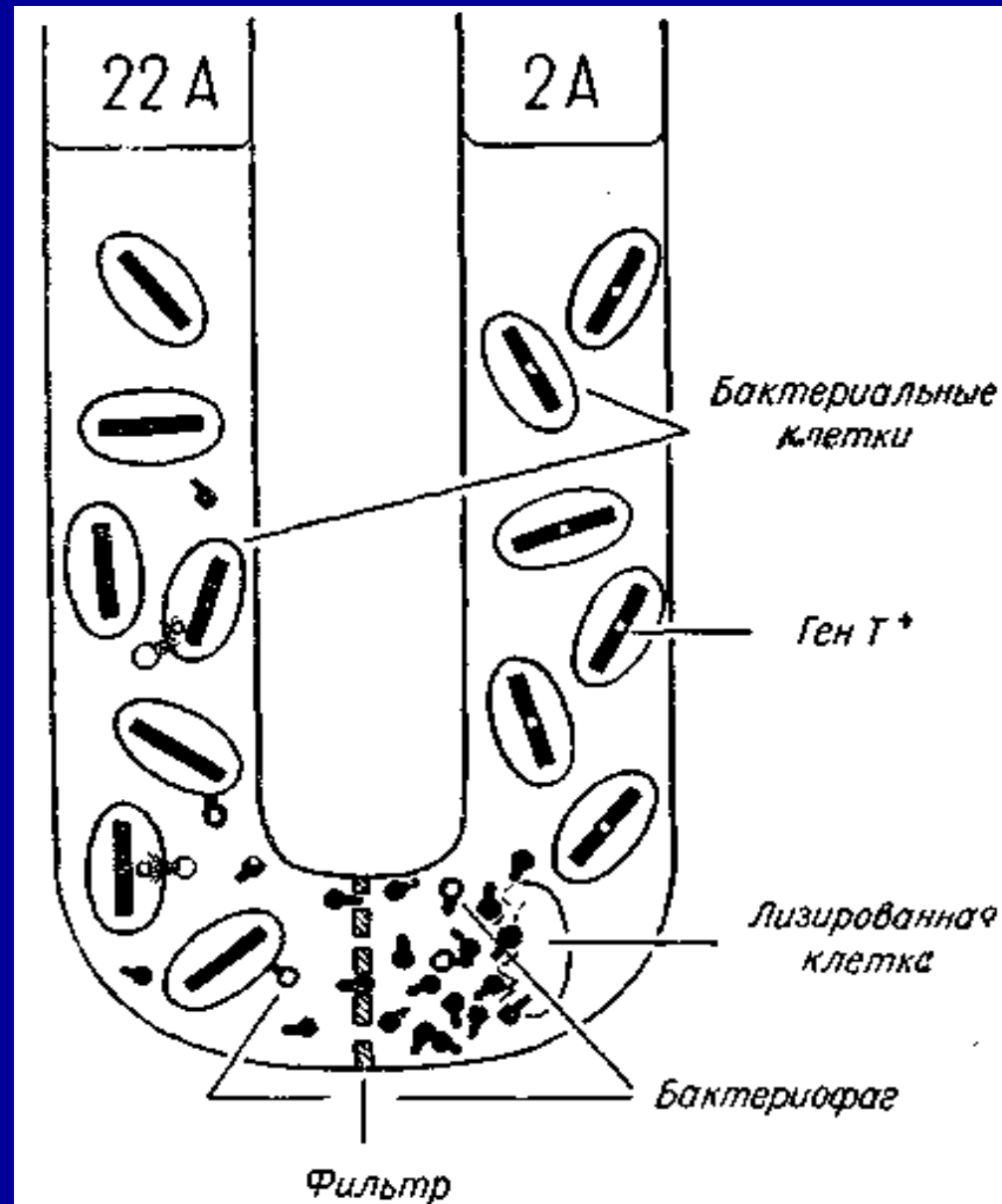
Трансформація у бактерій.

- Sm^s – штам чутливий до стрептоміцину,
- Sm^r – штам стійкий до стрептоміцину

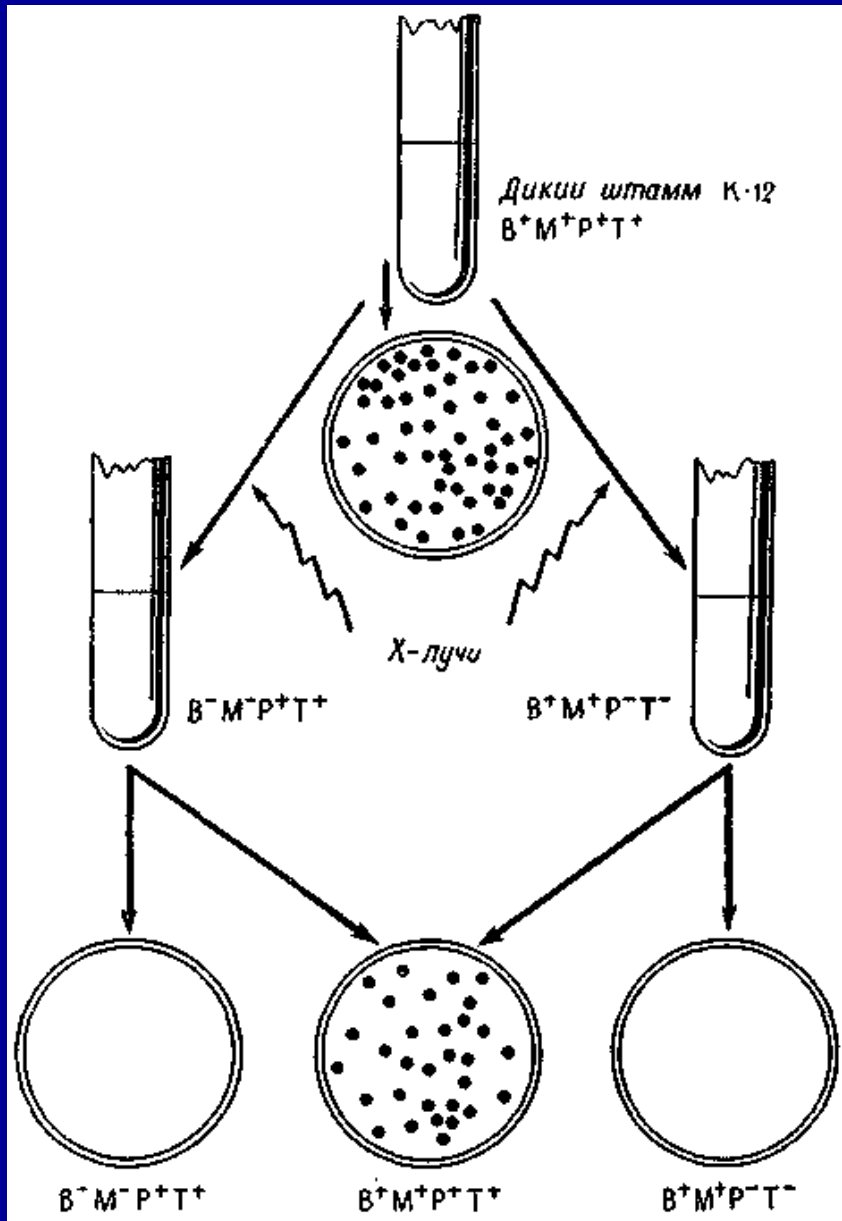
Трансдукція - передача ДНК за допомогою вірусів

Трансдукція у *Salmonella typhimurium*:

- 22А - штам бактерій, який не здатний синтезувати триптофан (Т-);
- 2А - штам бактерій, здатний синтезувати триптофан (Т+).



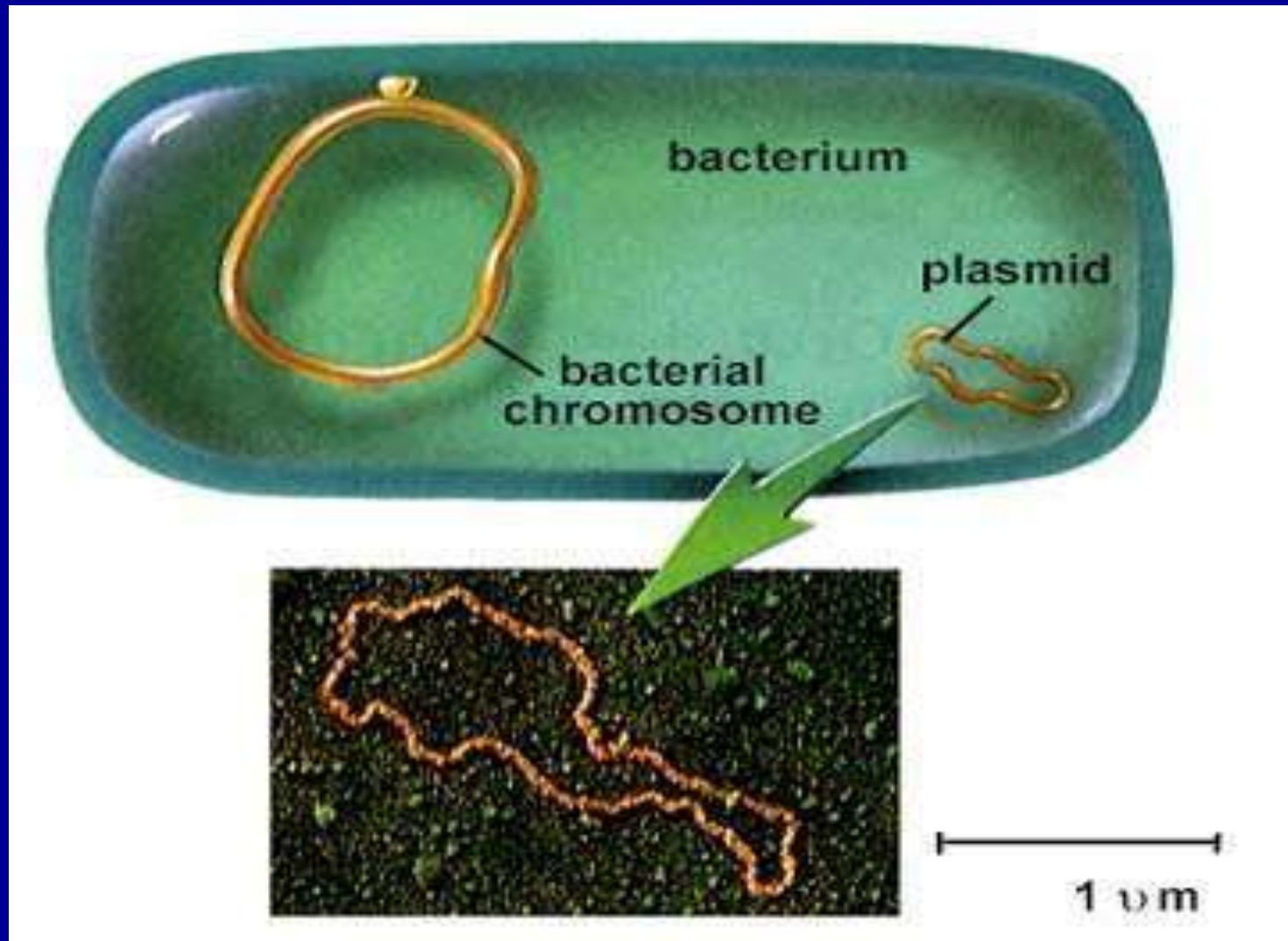
Кон'югація у бактерій



Рекомбінація у бактерій:

- B^- – потреба в біотині,
- M^- – у метіоніні,
- P^- – у проліні,
- M^- – у треоніні;
- Відсутність потреби в цих речовинах – “+”.

Бактеріальна клітина



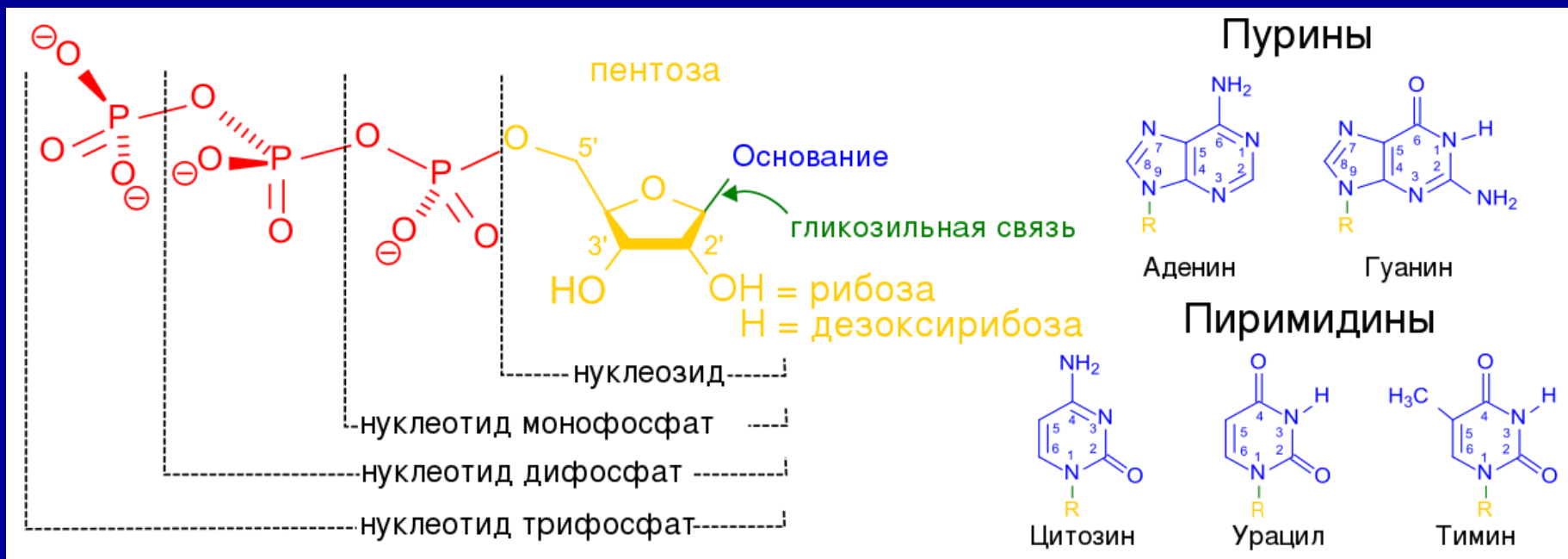
Рибонуклеїнові кислоти (РНК) - високомолекулярні органічні сполуки, які представлені одним полінуклеотидним ланцюгом.

РНК - це біополімер, мономерами якого є рибонуклеотиди, які складаються з трьох компонентів:

- 1) цукру пентози - рибози;
- 2) однієї з чотирьох азотистих основ: аденін (А) і гуанін (Г) належать до класу пуринових, цитозин (Ц) і урацил (У) - до класу піримідинових основ;
- 3) залишку фосфорної кислоти.

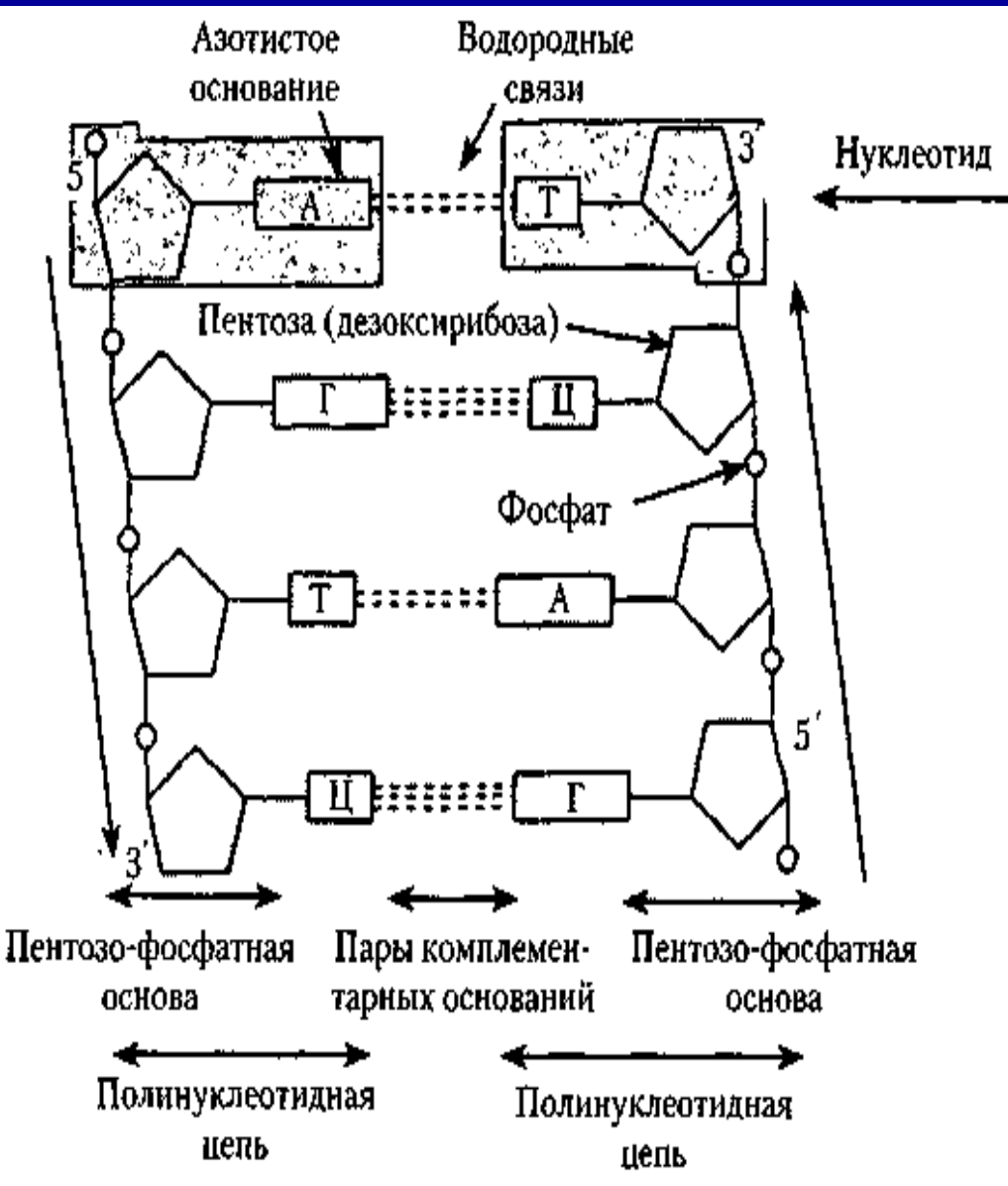
Будова нуклеїнових кислот

Структура нуклеотиду



У ланцюгу ДНК нуклеотиди сполучаються між собою за допомогою **фосфодієфірних зв'язків**, які утворюються між **3'-** і **5'-** гідроксильними групами дезоксирибоз сусідніх нуклеотидів.

У полінуклеотидному ланцюзі ДНК виділяють два кінці. Один кінець несе гідроксильну групу (**-ОН**), яка зв'язана з **3'-** вуглецем цукру дезоксирибози, а на іншому кінці знаходиться залишок фосфорної кислоти в **5'-**положенні цукру. У складі нуклеотиду дезоксирибоза розташована посередині - між фосфорною кислотою і азотистою основою.

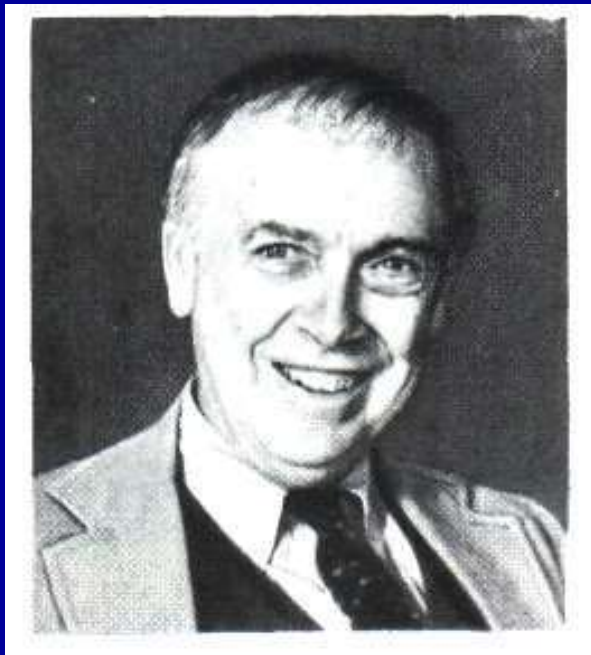


Нуклеотиди:

А - дезоксиаденозин фосфат,
 Г - дезоксигуанін фосфат;
 Т - тимідин фосфат;
 Ц - дезоксицитозин фосфат

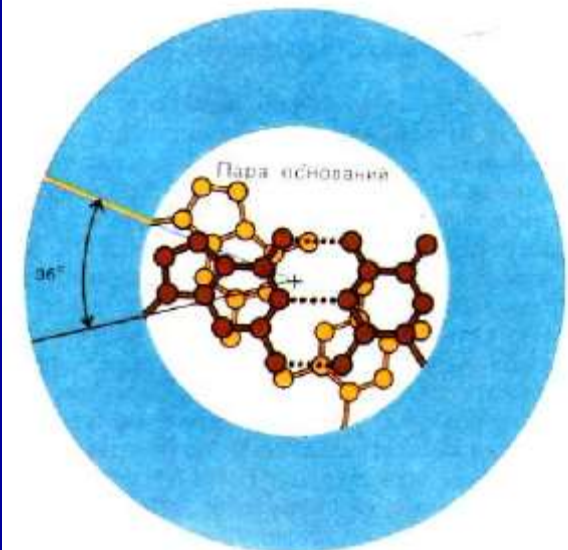
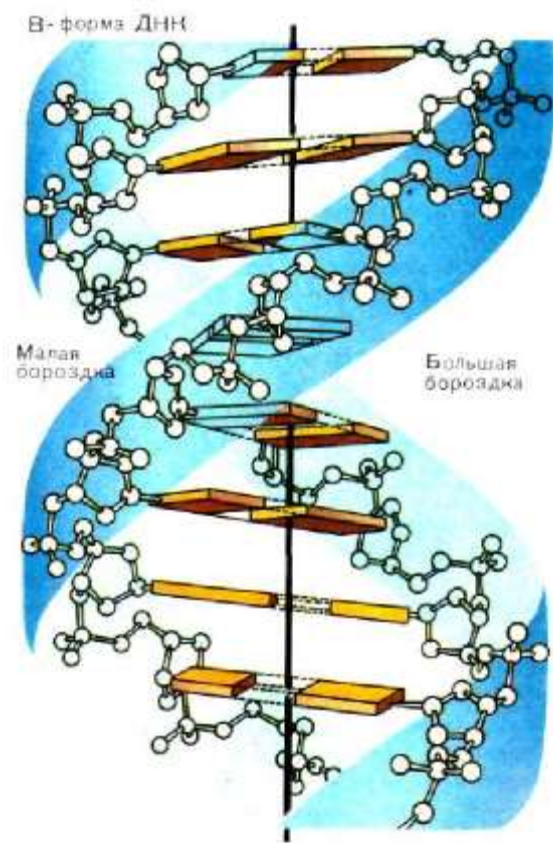
Правила Чаргаффа:

- сума пуринових основ дорівнює сумі піримідинових основ: $A+G=T+C$;
- кількість гуаніну і тиміну дорівнює кількості аденіну і цитозину: $G+T=A+C$, або $(G+T)/(A+C) = 1$;
- вміст аденіну дорівнює вмісту тиміну, а вміст гуаніну дорівнює вмісту цитозину (правило еквівалентності): $A=T, G=C$.
- склад ДНК різних організмів може варіювати лише за відношенням $(A+T) / (G+C)$, але для організмів даного виду це відношення є постійним: у людини воно дорівнює 1,54, у бактерії кишкової палички - 1,0.
- Існують ДНК: АТ-типу, де $A+T > G+C$ і ГЦ-типу, де $G+C > A+T$. АТ-тип ДНК характерний для вищих рослин, тварин і людини, а ГЦ-тип - для грибів, бактерій, вірусів.



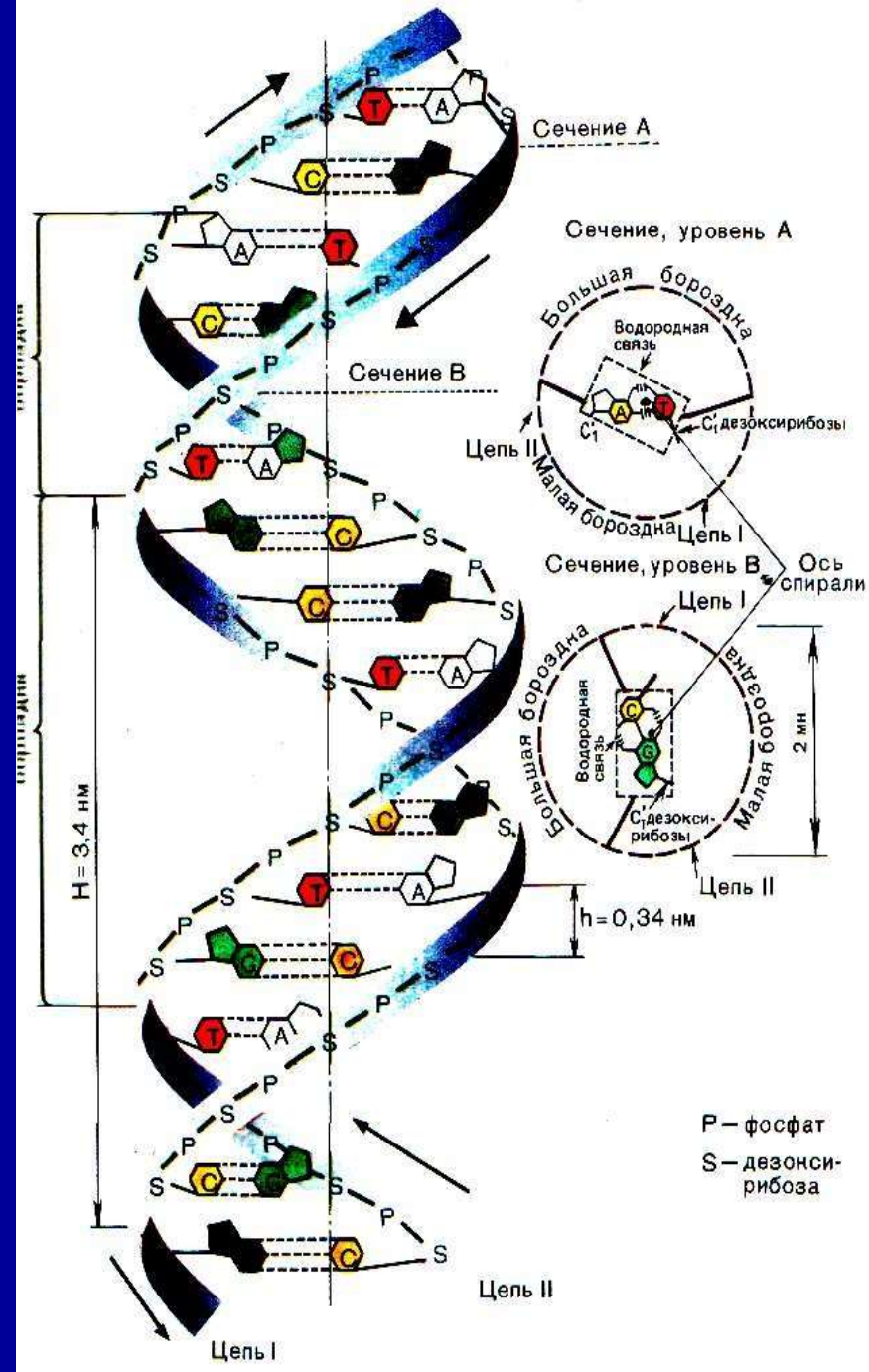
В-форма ДНК

Уотсон (Watson) Джеймс Дьюї (р. 1928), американський біохімік, один з основоположників молекулярної біології. Освіту здобув в університеті Чикаго і університеті штату Індіана. Основні праці присвячені біосинтезу білка і вивчення структури ДНК. Спільно з Ф. Криком розшифрував структуру ДНК і запропонував її модель у вигляді подвійної спіралі (1953). Лауреат Нобелівської премії з фізіології і медицині (1962, спільно з Ф. Криком і М. Вілкінсом).





Крик (Crick) Френсіс Гаррі Комптон (р. 1916), англійський фізик, один з основоположників молекулярної біології. Закінчив Лондонський університет (1937). Основні праці присвячені вивченню структури нуклеїнових кислот. У 1953 р спільно з Дж. Уотсоном запропонував модель ДНК у вигляді подвійної спіралі (модель Уотсона - Кріка) і пояснив процес реплікації її молекули при діленні клітин. У дослідях на фагах Т4 вперше встановив основні принципи генетичного коду. Лауреат Нобелівської премії з фізіології і медицині (1962, спільно з Дж. Уотсоном і М. Вілкінсом).



Дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК) - високомолекулярна органічна сполука, біополімер, мономерами якого є нуклеотиди, з'єднані між собою в довгий полінуклеотидний ланцюг. Кожен нуклеотид ДНК (*дезоксирибонуклеотид*) складається з трьох компонентів:

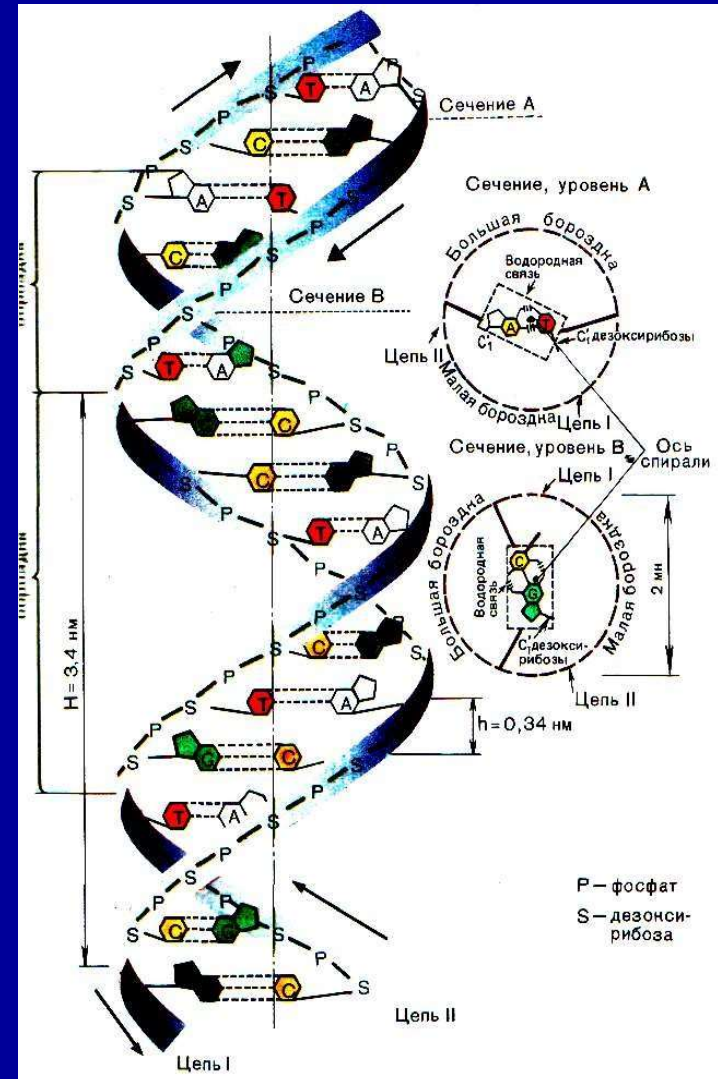
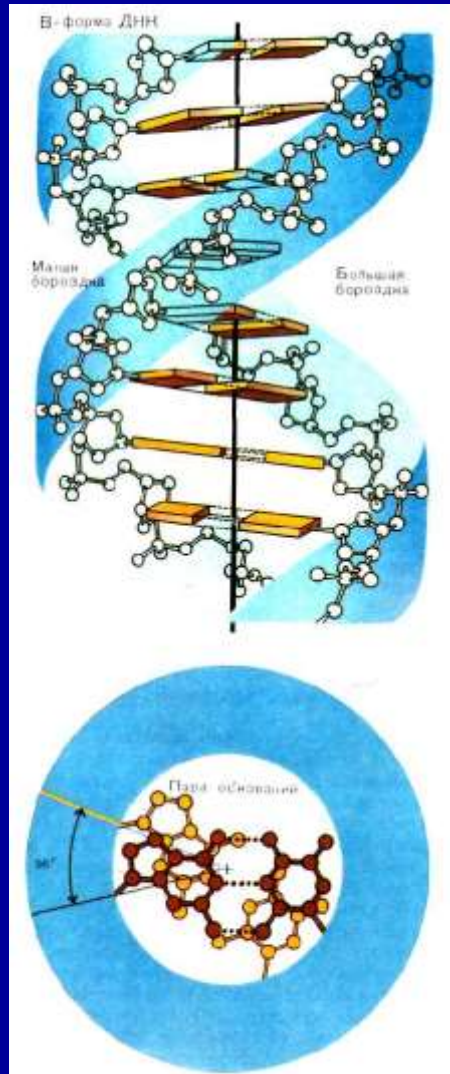
- 1) цукру пентози - дезоксирибози;
- 2) однієї з чотирьох азотистих основ, які належать до різних класів: аденін (А) і гуанін (Г) - до класу пуринових; цитозин (Ц) і тимін (Т) - до класу піримідинових основ;
- 3) залишку фосфорної кислоти.

Два ланцюги в молекулі ДНК *антипаралельні*: один ланцюг має напрямок $5' \rightarrow 3'$, інший - $3' \rightarrow 5'$. Подвійна спіраль молекули ДНК утримується *водневими зв'язками* між основами протилежних ланцюгів за принципом *комплементарності*: аденін одного ланцюга завжди з'єднаний з тиміном іншого (А-Т), а гуанін - з цитозином (Г-Ц). Між аденіном і тиміном *подвійний водневий зв'язок*, між гуаніном і цитозином - *потрійний*. Спарені основи розташовані між двома ланцюгами перпендикулярно загальній осі. Вся структура нагадує гвинтову дробину, бічні частини якої утворені цукрофосфатним каркасом, а східці - спареними основами.

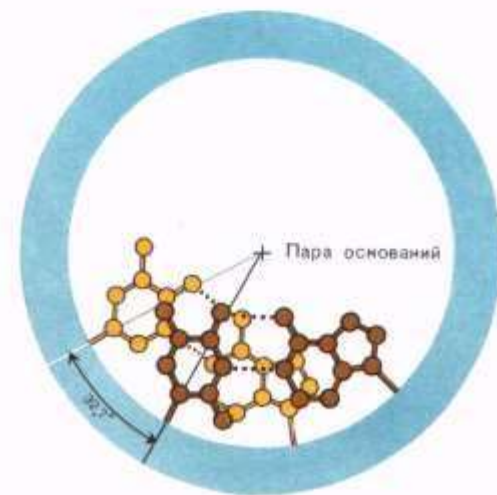
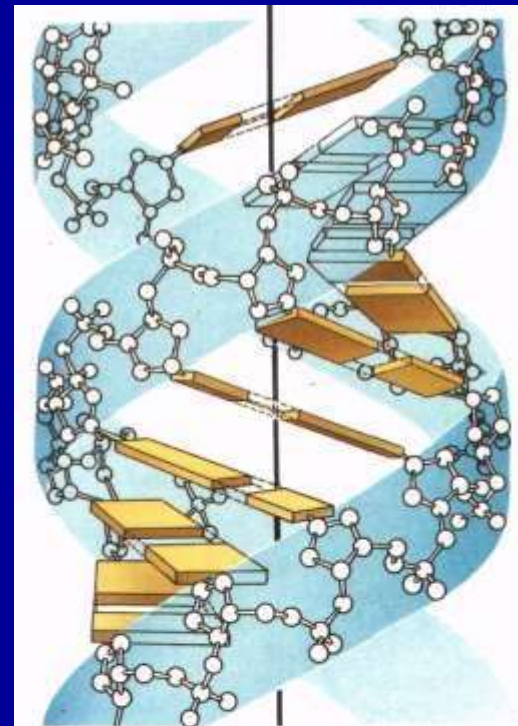
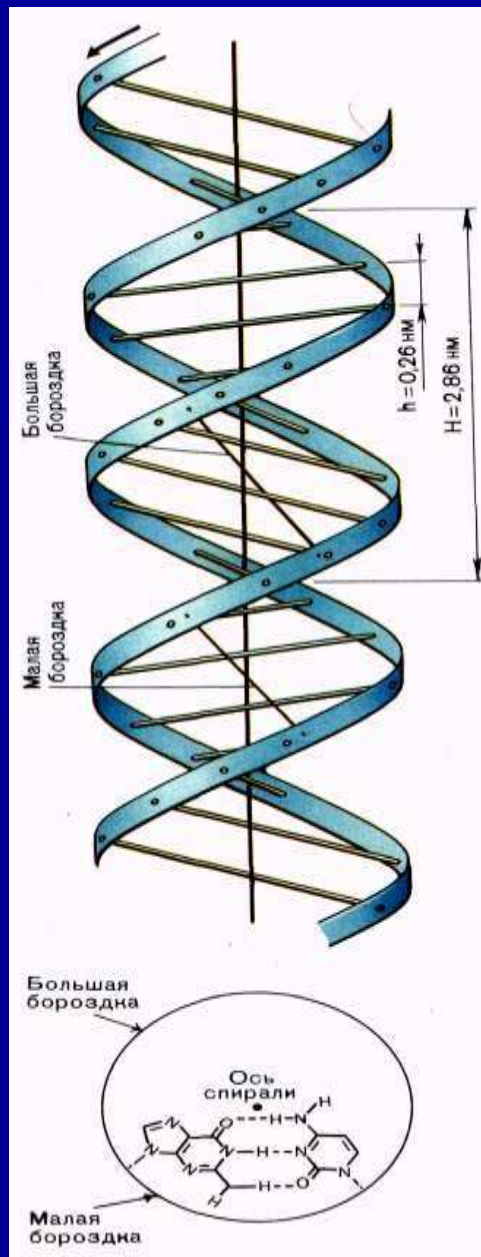
Форми ДНК:

- 1) **B-форма** в нормальних фізіологічних умовах є основним структурним типом (структура по моделі Уотсона-Кріка): діаметр спіралі - **2,2 - 2,4 нм**, відстань між азотистими основами уздовж осі спіралі - **0,34 нм** і вони повернені на 36° навколо осі спіралі, десять пар нуклеотидів утворюють один повний виток подвійної спіралі довжиною 3,4 нм, діаметр 20 нм;
- 2) **A-форма** - виявлена в обезвоженому середовищі (ширина ДНК 2 нм і один виток спіралі включає 11 пар нуклеотидів);
- 3) **C-форма** має менше основ на один виток (9 пар);
- 4) **Z-форма** - закручена вліво з 12 парами основ на **ВИТОК**.

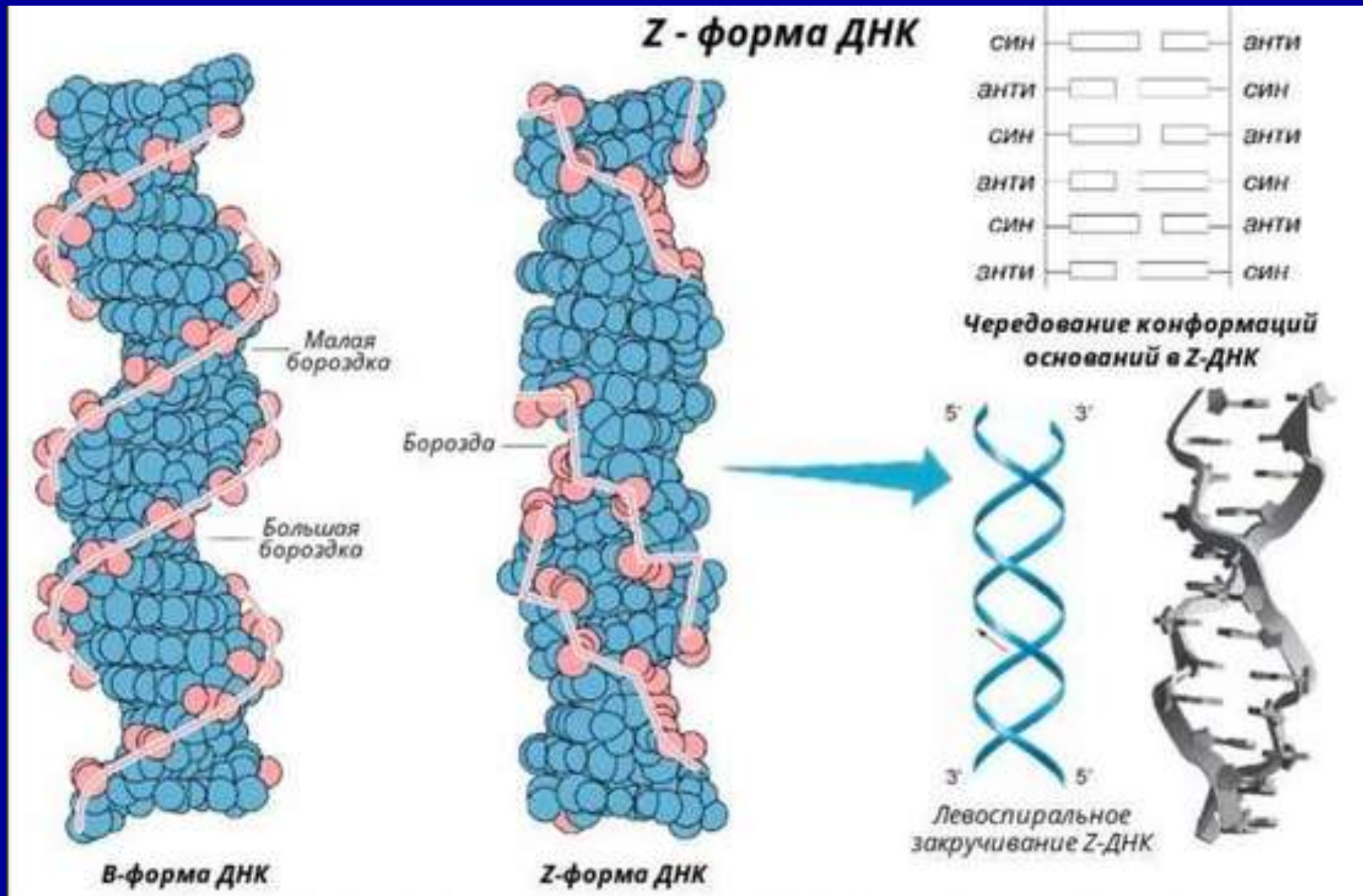
В-форма ДНК



А – форма ДНК



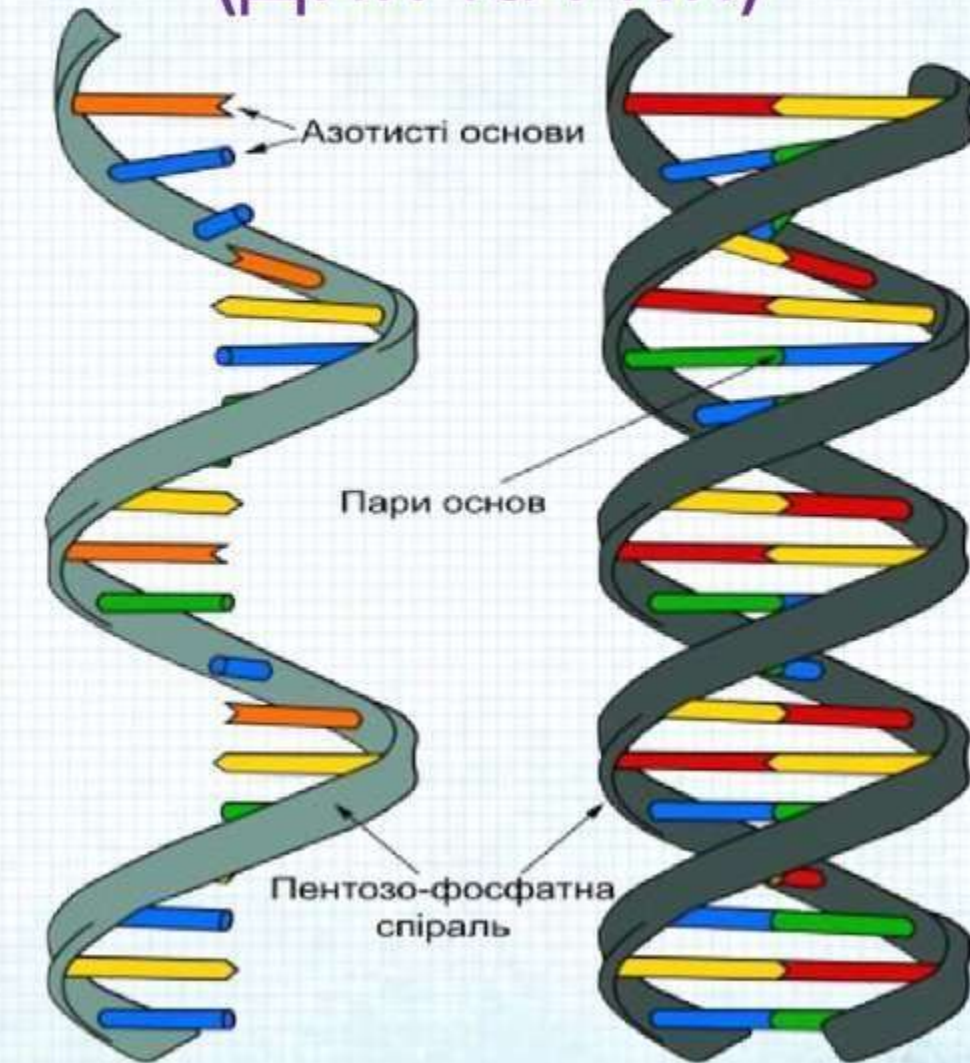
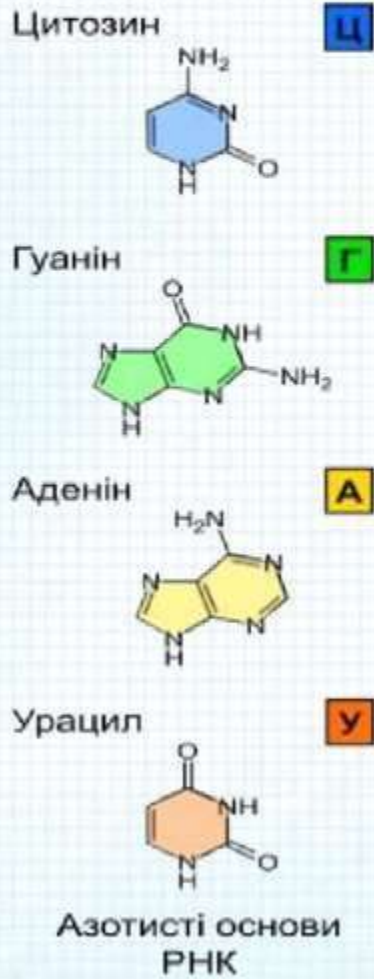
Z – форма ДНК



Властивості ДНК

- Здатність до реплікації;
- Здатність до реалізації генетичної інформації (транскрипція...);
- Здатність до мутацій та рекомбінацій;
- Здатність до самовідновлення (репарації).

Нуклеїнові кислоти (ДНК та РНК)



РНК
Рибонуклеїнова

ДНК
Дезоксирибонуклеїнова

Будова нуклеїнових кислот

Відмінності складу нуклеотидів ДНК та РНК

ДНК	нітрогеновмісна основа (А, Г, Ц, Т)	сахарид дезоксирибоза	залишок ортофосфатної кислоти
РНК	нітрогеновмісна основа (А, Г, Ц, У)	сахарид рибоза	залишок ортофосфатної кислоти

РНК

іРНК

РНК, відповідальна за перенесення інформації про первинну структуру білків від ДНК до місць синтезу білків

Складає 3-5% всієї РНК в клітині.

тРНК

РНК, функцією якої є транспортування амінокислот до місця синтезу білка і участь у нарощуванні поліпептидного ланцюга

Складає 15% всієї РНК в клітині.

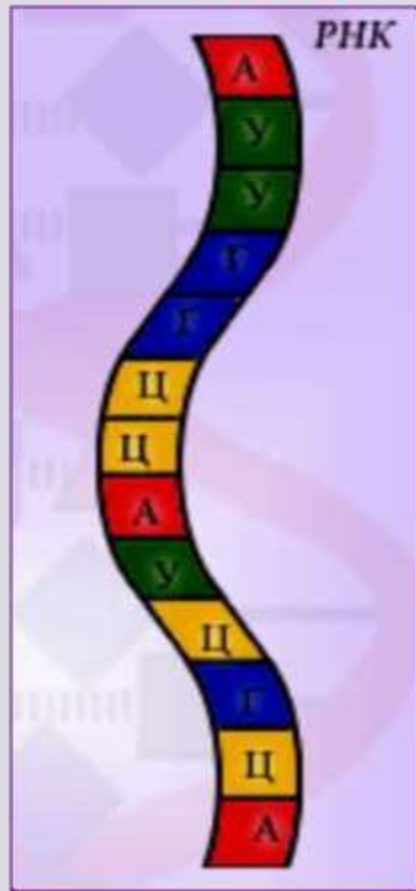
рРНК

Основна функція - здійснення процесу трансляції - зчитування інформації з іРНК амінокислотами в рибосомах.

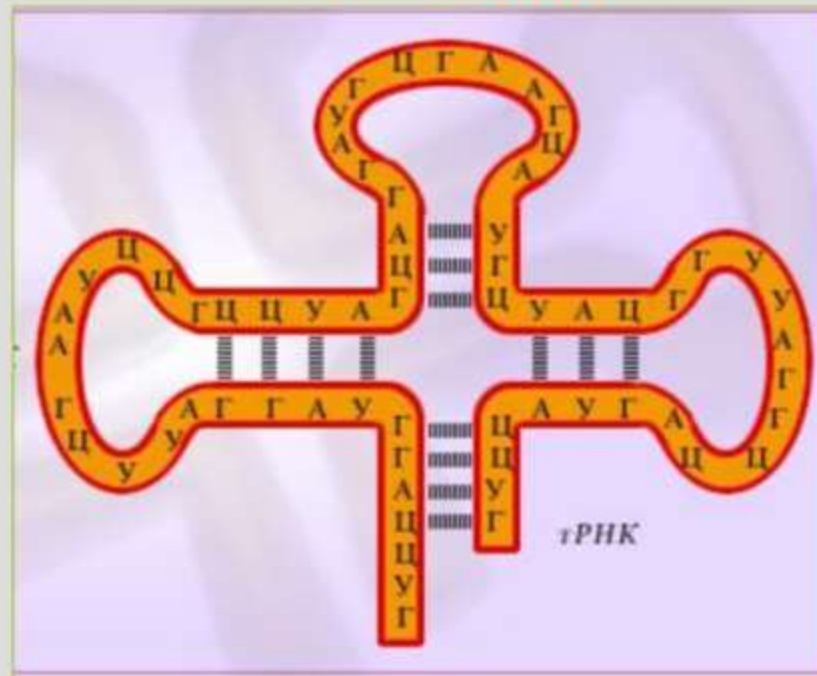
Складає 80% всієї РНК в клітині.

ВИДЫ РНК

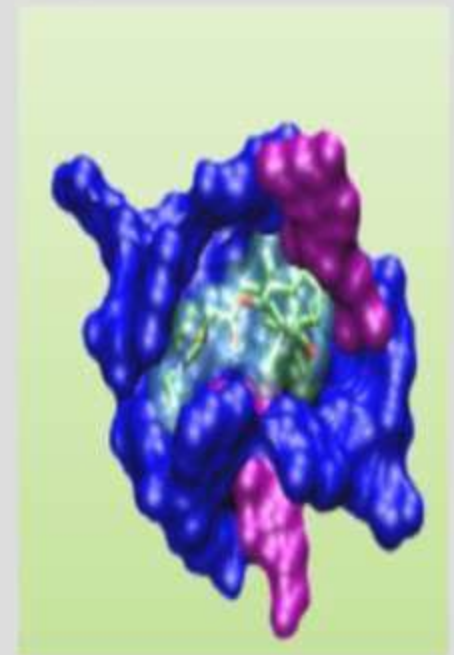
и - РНК



т - РНК



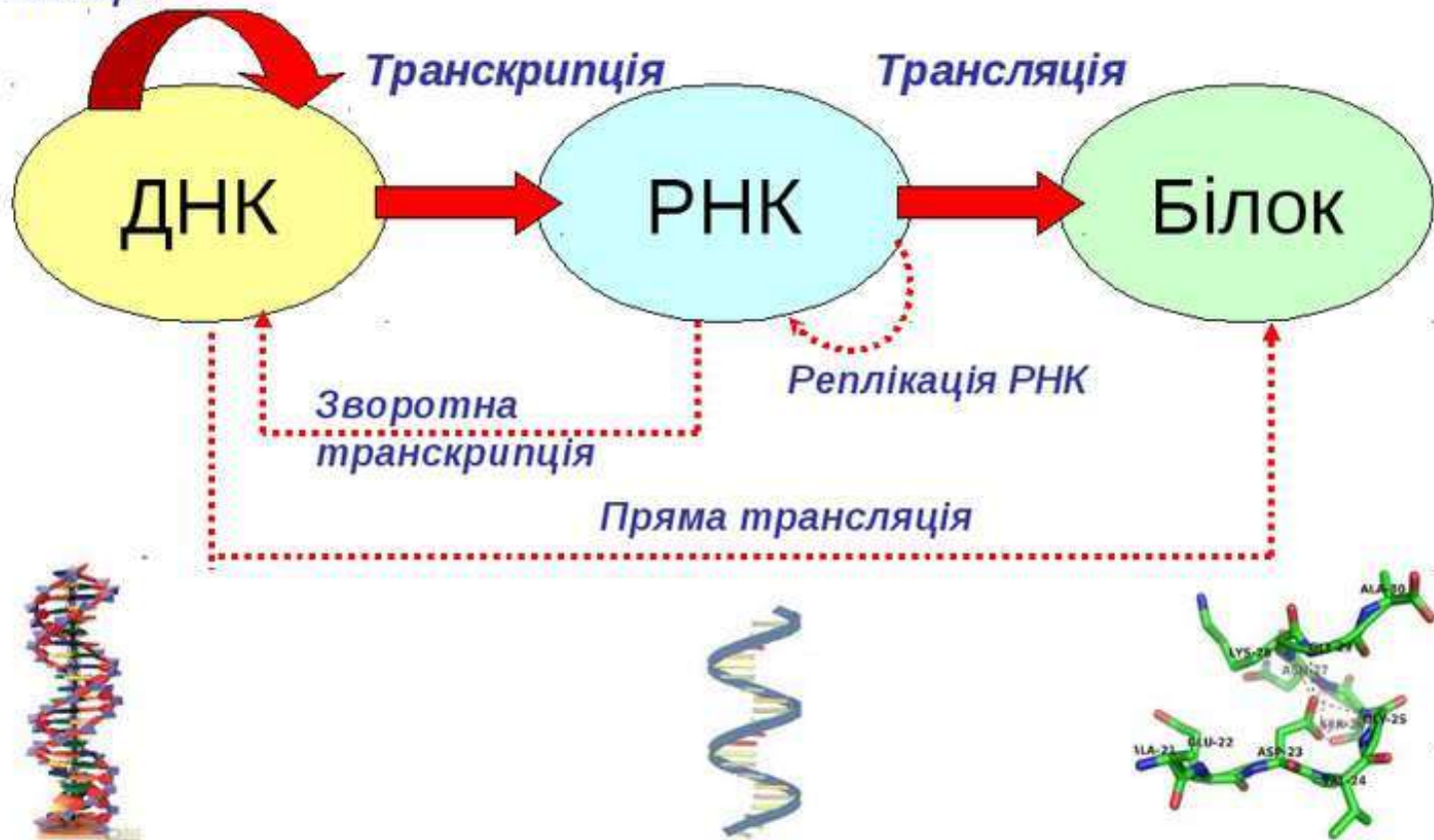
р - РНК



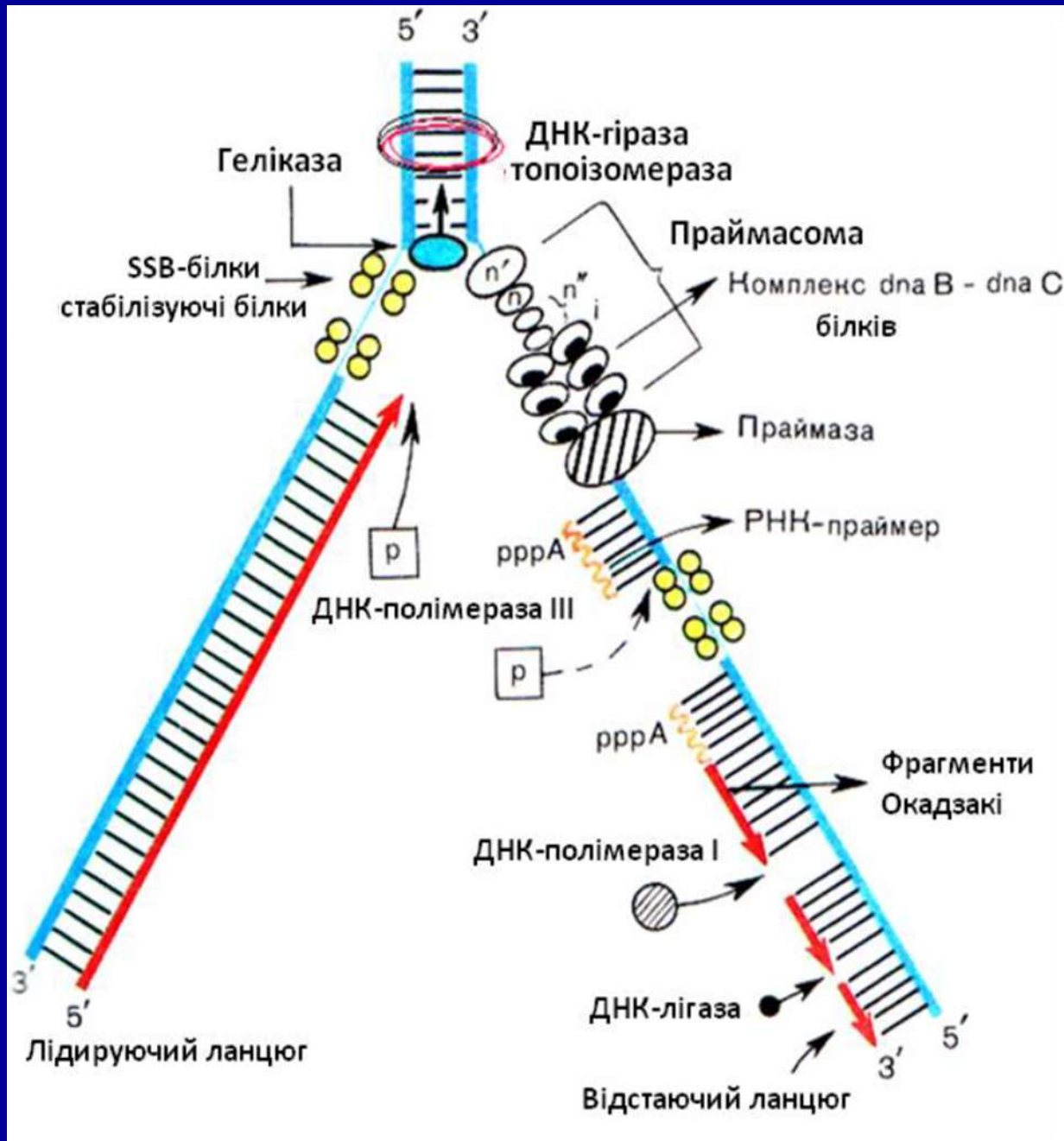
Потік генетичної інформації у клітині

Напрямок та механізм передачі генетичної інформації відображає **центральна догма молекулярної біології**

Реплікація



Реплікація ДНК (саморепродукція на молекулярному рівні) — складний біологічний процес реакції матричного синтезу, який забезпечує подвоєння молекули ДНК перед поділом клітини. Цей процес відбувається в ядрі клітини під час **S-періоду** інтерфази за **напівконсервативним механізмом** та за **принципом комплементарності**. Реплікація - ферментативний, енергозалежний процес.



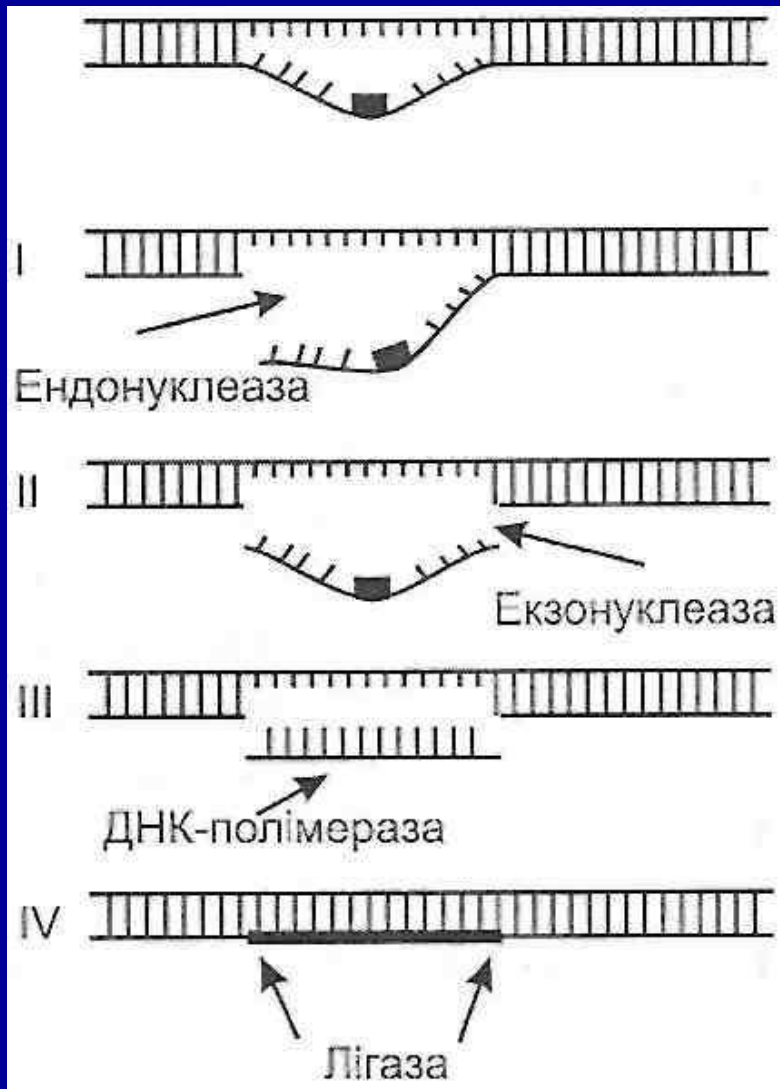
Реплікація ДНК

Репарація ДНК

(лат. reparatio - відновлення) - процес відновлення первинної структури ДНК після пошкодження її мутагенами.

- Самокорекція ДНК
- Репарація ДНК
 - дореплікативна,
 - реплікативна,
 - постреплікативна,
 - ❖ Ексцизійна,
 - ❖ Неексцизійна (фоторепарація),
 - ❖ рекомбінантна

Етапи ексцизійної репарації



1. Розпізнавання пошкодження ДНК ендонуклеазою.
2. Ексцизія (вирізання) ланцюга ДНК ферментом екзонуклеазою.
3. Ресинтез ДНК-полімеразою виправленої ділянки ланцюга.
4. Зшивання новосинтезованого фрагменту за допомогою ДНК-лігази.

Фоторепарація ДНК

Фоторепарація ДНК - це виправлення пошкоджень молекули ДНК за рахунок енергії світла.



Пігментна ксеродерма – генетичне захворювання, що розвивається під дією УФ-променів внаслідок успадкованої мутації гена, який кодує один із ферментів репарації ДНК.

Генетичний (біологічний) код -

система розташування пар нуклеотидів в молекулі ДНК, яка визначає послідовність амінокислот в молекулі білка.

Властивості генетичного коду

- 1. *Триплетність.*
- 2. *Специфічність.*
- 3. *Неперекривність.*
- 4. *Відсутність знаків в структурних генах.*
- 5. *Універсальність.*
- 6. *Виродженість.*
- 7. *Колінеарність.*
- 8. *Односпрямованість.*

Таблица генетического кода

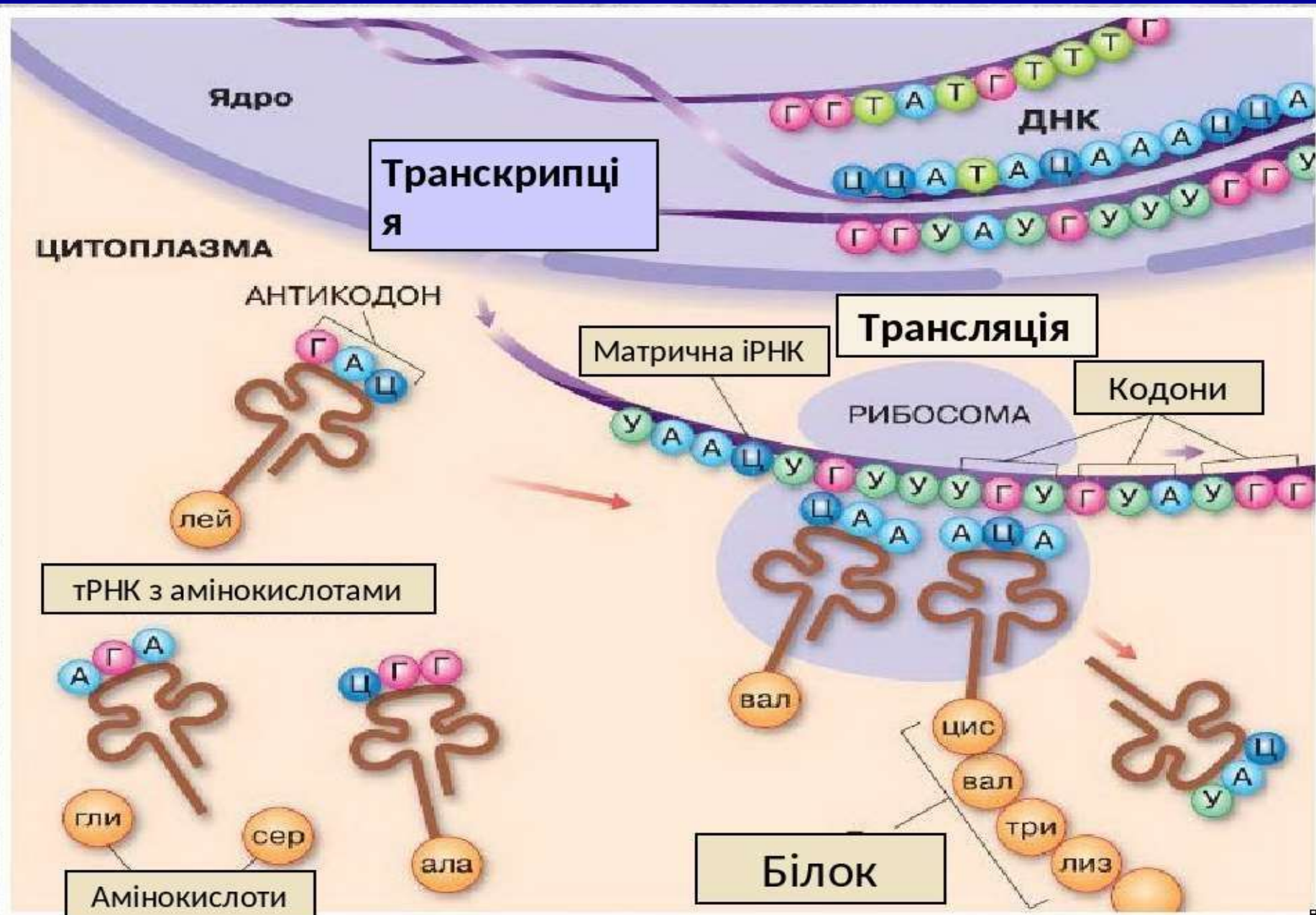
Первое основание	Второе основание				Третье основание
	<u>У(А)</u>	<u>Ц(Г)</u>	<u>А(Т)</u>	<u>Г(Ц)</u>	
<u>У(А)</u>	Фен Фен Лей Лей	Сер Сер Сер Сер	Тир Тир - -	<u>Цис</u> <u>Цис</u> - Три	У (А) <u>Ц (Г)</u> А (Т) Г (Ц)
<u>Ц(Г)</u>	Лей Лей Лей Лей	Про Про Про Про	Гис Гис <u>Глн</u> <u>Глн</u>	<u>Арг</u> <u>Арг</u> <u>Арг</u> <u>Арг</u>	У (А) <u>Ц (Г)</u> А (Т) Г (Ц)
<u>А(Т)</u>	<u>Иле</u> <u>Иле</u> <u>Иле</u> Мет	<u>Тре</u> <u>Тре</u> <u>Тре</u> <u>Тре</u>	Аси Аси Лиз Лиз	Сер Сер <u>Арг</u> <u>Арг</u>	У (А) <u>Ц (Г)</u> А (Т) Г (Ц)
<u>Г(Ц)</u>	Вал Вал Вал Вал	Ала Ала Ала Ала	<u>Асп</u> <u>Асп</u> <u>Глу</u> <u>Глу</u>	<u>Гли</u> <u>Гли</u> <u>Гли</u> <u>Гли</u>	У (А) <u>Ц (Г)</u> А (Т) Г (Ц)

Біосинтез білка -

це багатоступінчастий ферментативний процес, який здійснюється в клітинах живих організмів і забезпечує постійне оновлення білків органів і тканин.

Процес синтезу білка складається з чотирьох послідовних етапів: транскрипція, процесінг (посттранскрипційні процеси), трансляція, посттрансляційна модифікація (процесінг білку).

Біосинтез білка



Транскрипція

(від лат. transcription - переписування) - це складний біологічний процес реакції матричного синтезу, який забезпечує зчитування спадкової інформації з послідовності нуклеотидів ДНК на послідовність нуклеотидів РНК.

Транскрипція

Ініціація

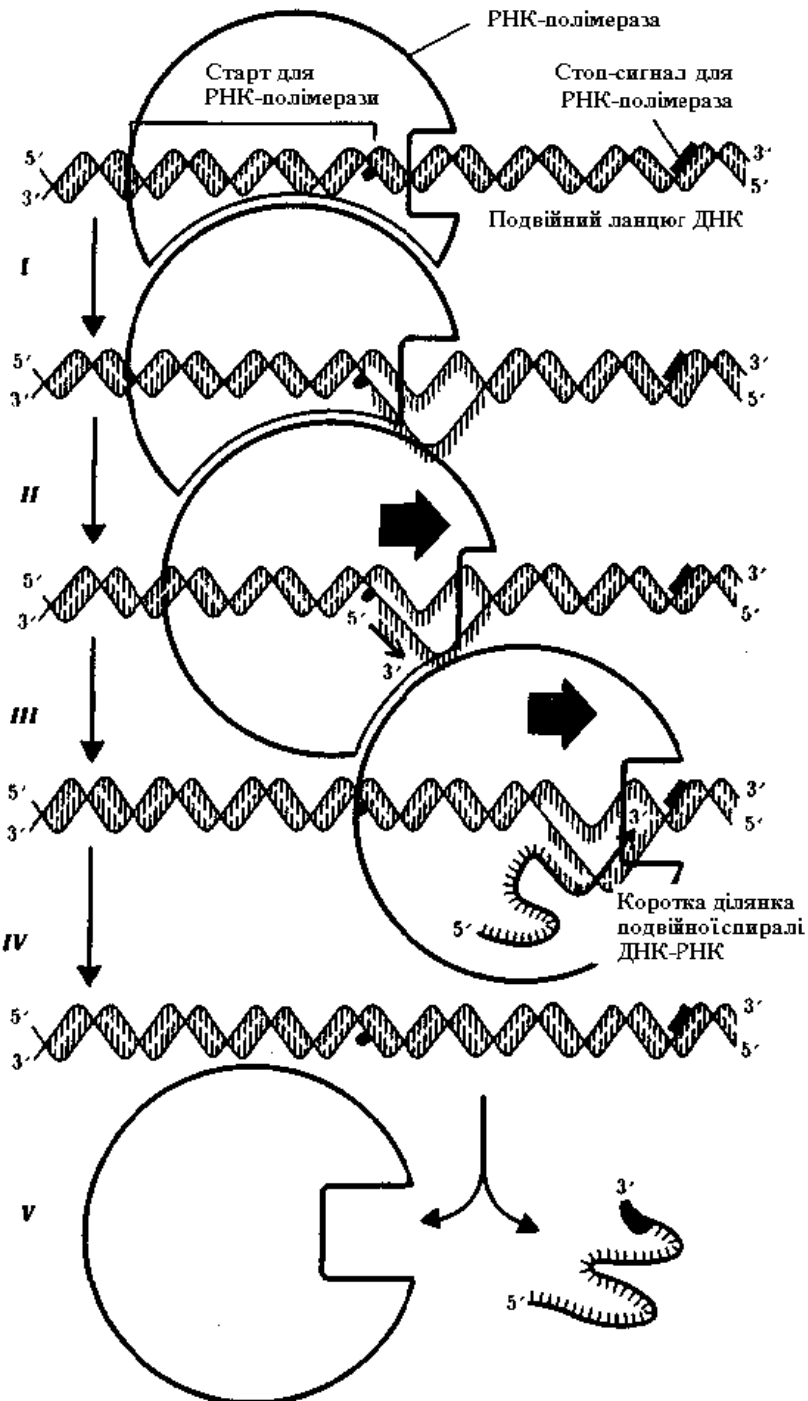


Елонгація



Термінація

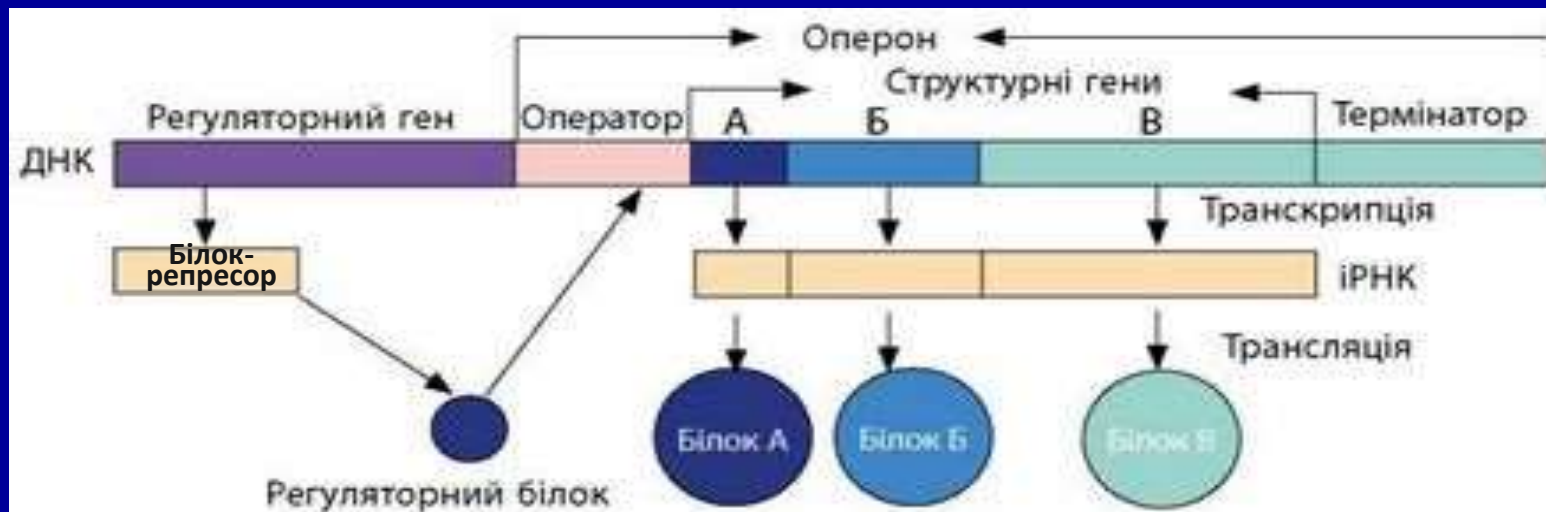
Транскрипція



Ген - функціональна одиниця генетичної інформації; ділянка молекули ДНК (у деяких вірусів РНК), яка містить інформацію про послідовність амінокислот молекули поліпептида (білка) або послідовність нуклеотидів у молекулі рибонуклеїнової кислоти (рРНК чи тРНК).

Будова гена прокариот

Структура оперону кишкової палички



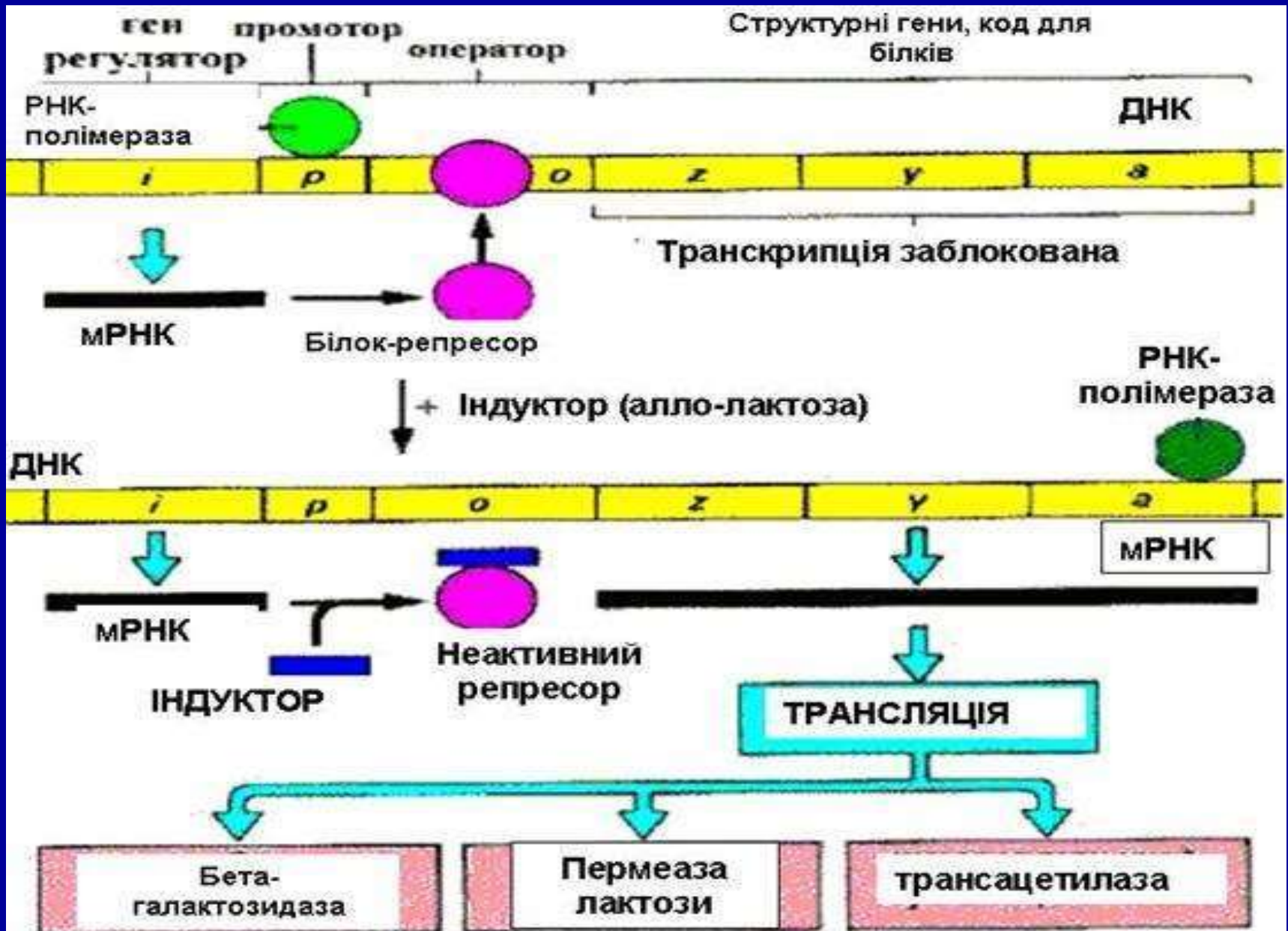
Промотор – некодуюча ділянка, сайт прикріплення ферменту РНК-полімерази та початку транскрипції.

Термінатор – некодуюча ділянка, сайт від'єднання ферменту РНК-полімерази та завершення транскрипції.

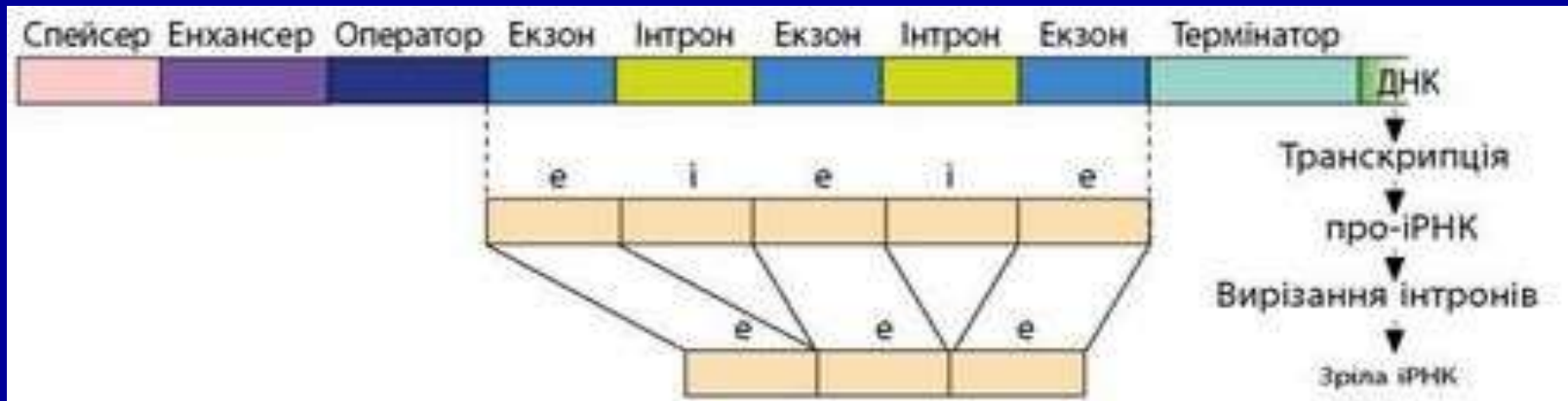
Оператор – сайт зв'язування з білком-репресором для регуляції експресії структурних генів.

Оперон – група структурних генів прокариот, що мають спільні промотор і термінатор та кодують білки одного метаболічного ряду.

Функціонування лактозного оперону



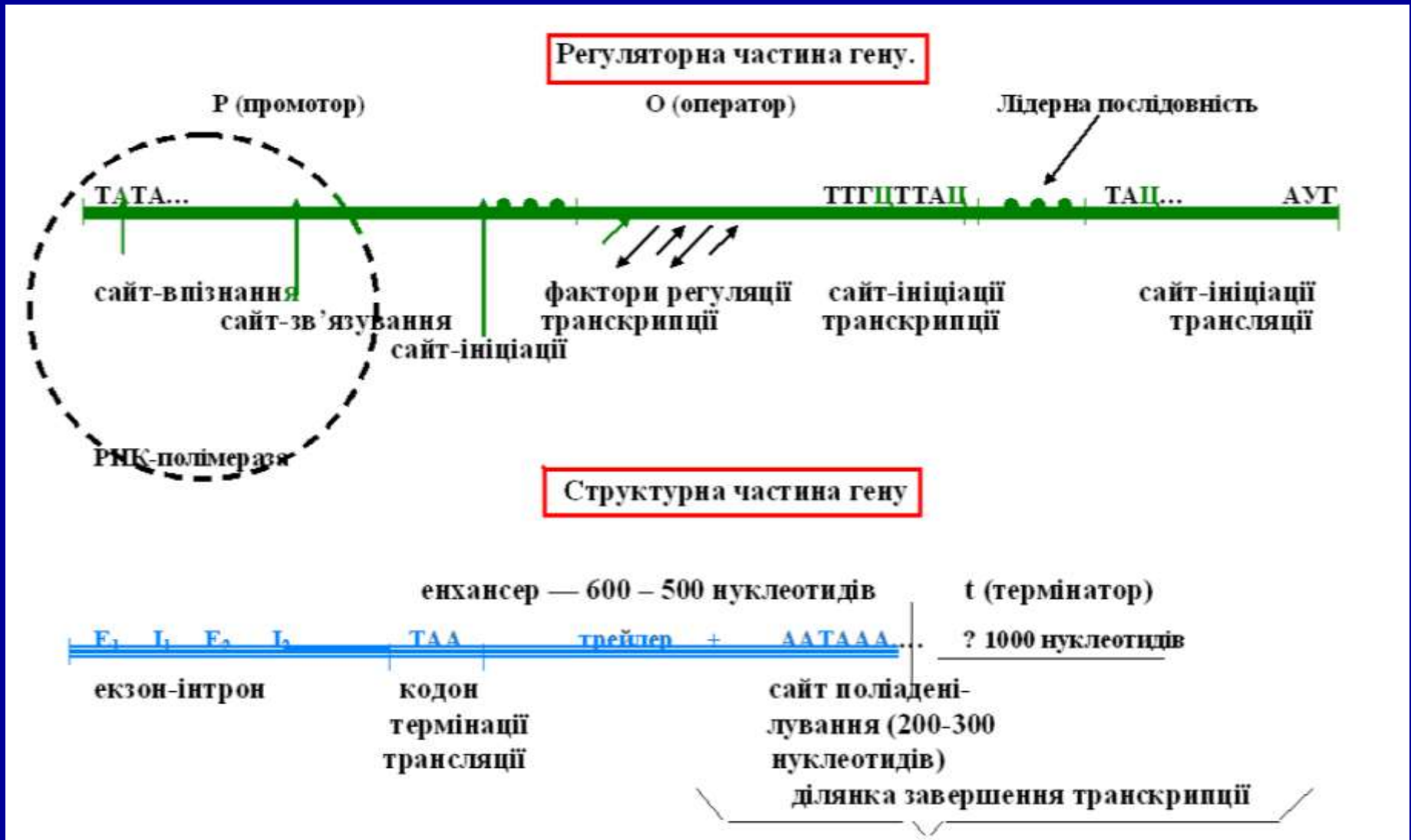
Відмінності організації гена еукаріот



- Гени еукаріотів мають складнішу будову
- Регуляторна та структурна ділянки можуть бути просторово роз'єднані.
- Структурна частина гена еукаріот містить кодуючі ділянки – **інтрони** та некодуючі – **екзони**.
- В генах або за їх межами знаходяться **енхансери** – ділянки ДНК, які прискорюють процес транскрипції.

Ген еукаріот

Будова гена еукаріот (ген β -ланцюга гемоглобіну)

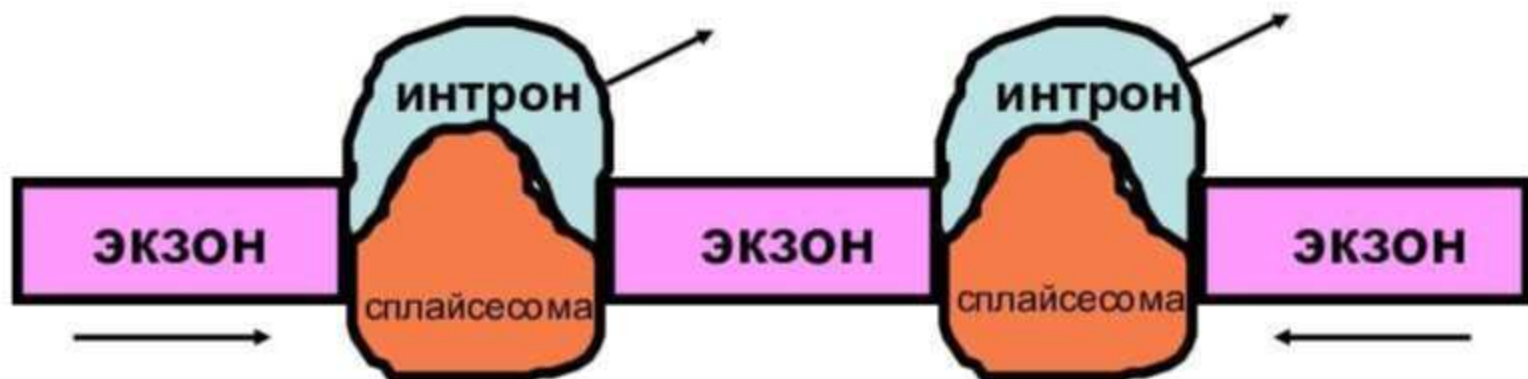


Процесинг

Процесинг (посттранскрипційна модифікація іРНК) – це дозрівання новосинтезованої молекули іРНК (пре-іРНК, первинного транскрипту) до її функціонально активної форми (зрілої іРНК), що полягає у вирізанні інтронів та зшиванні екзонів.

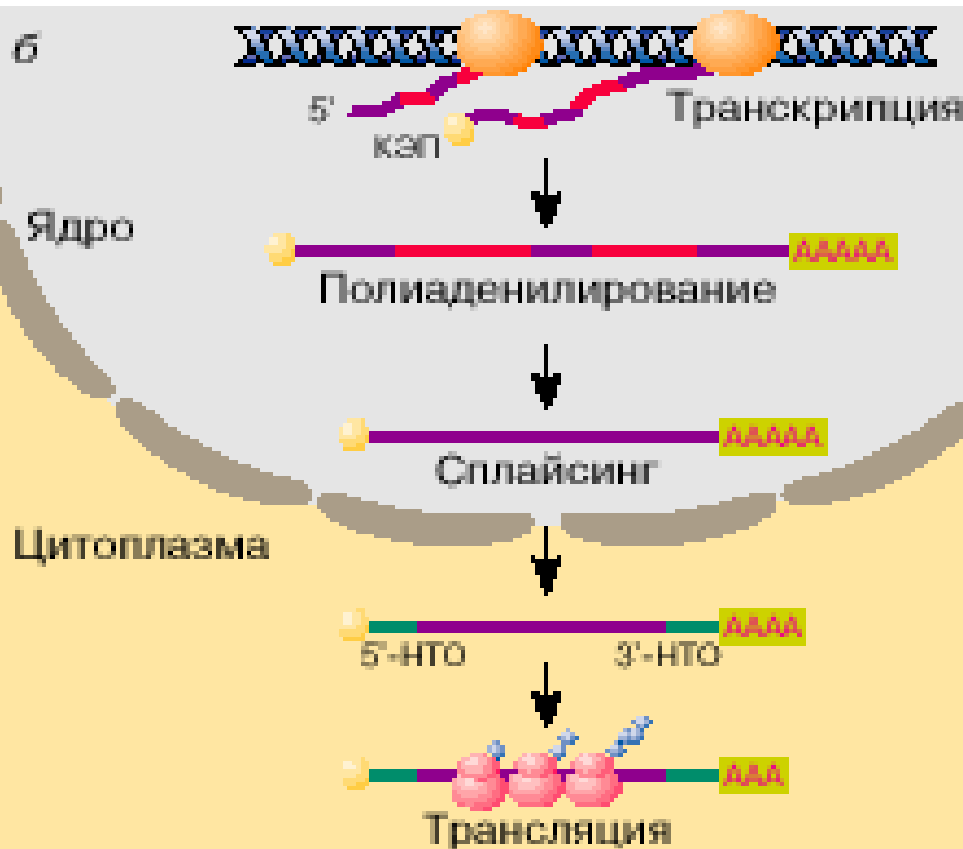
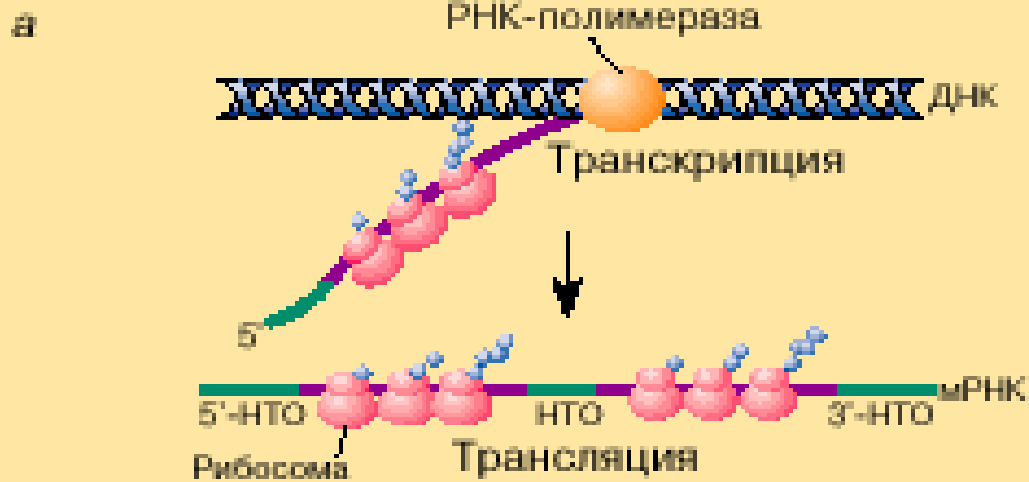
Процессинг РНК

Молекула пре-мРНК



Зрелая молекула мРНК

Процесинг РНК

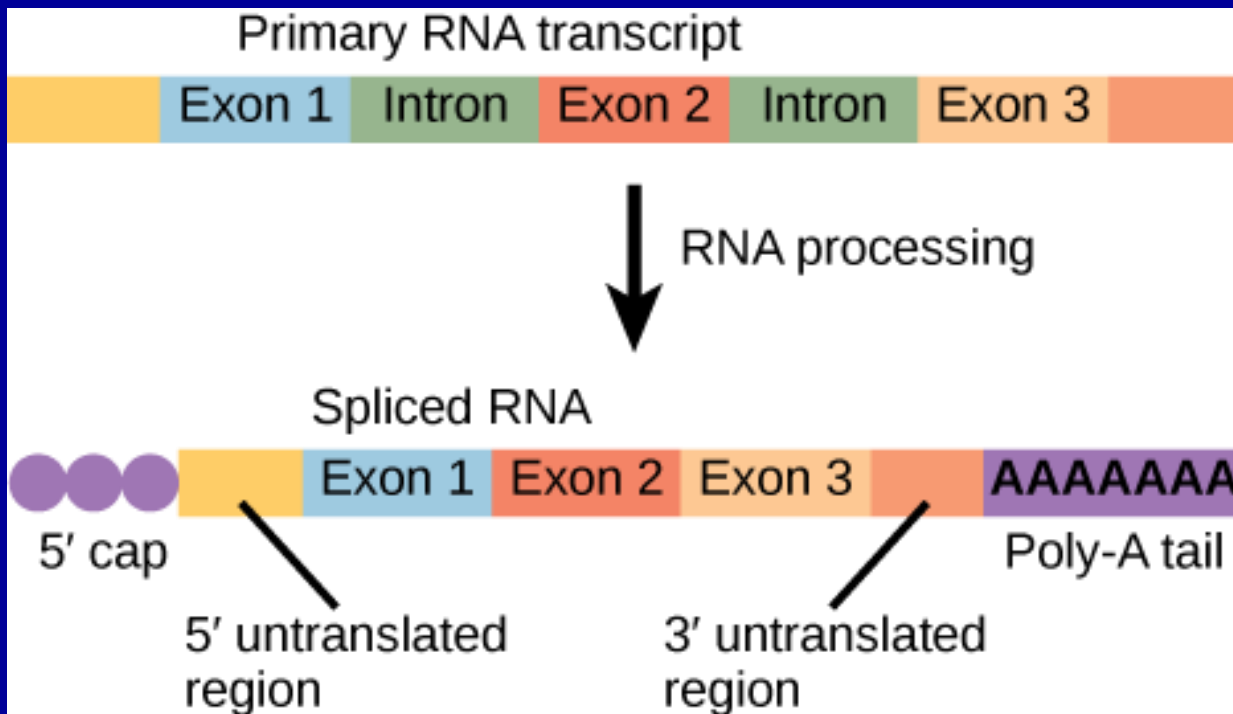


Процесинг:

№ з/п	Назва етапу транскрипції	Суть етапу
1.	Кепування	Приєднання до 5* кінця РНК кепу -одного чи декількох модифікованих нуклеотидів. Наявність кепу має значення для початку трансляції
2.	Сплайсінг	З синтезованої РНК (пре-мРНК) вилучаються інтрони, а екзони з'єднуються разом. В результаті утворюється зріла мРНК, яка транспортується з ядра до цитоплазми.
3.	Поліаденілування	приєднання 200-300 залишків аденілової кислоти.
4.	Альтернативний сплайсінг	механізм виникнення варіацій при сплайсингу РНК за рахунок різного поєднання екзонів. Збільшує різноманітність білків, що синтезуються клітиною.
4.	Редагування	зміна нуклеотидів в структурі мРНК, є механізмом посттранскрипційних змін РНК. Збільшує різноманіття білків, які кодуються в ДНК

Альтернативний сплайсинг

- це варіативне поєднання екзонів одного гена з утворенням різних зрілих іРНК;
- результатом є збільшення у клітині різноманітності білків, що синтезуються з одного гена.

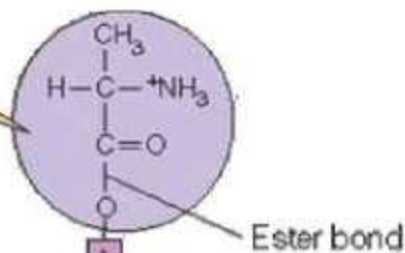


Трансляція -

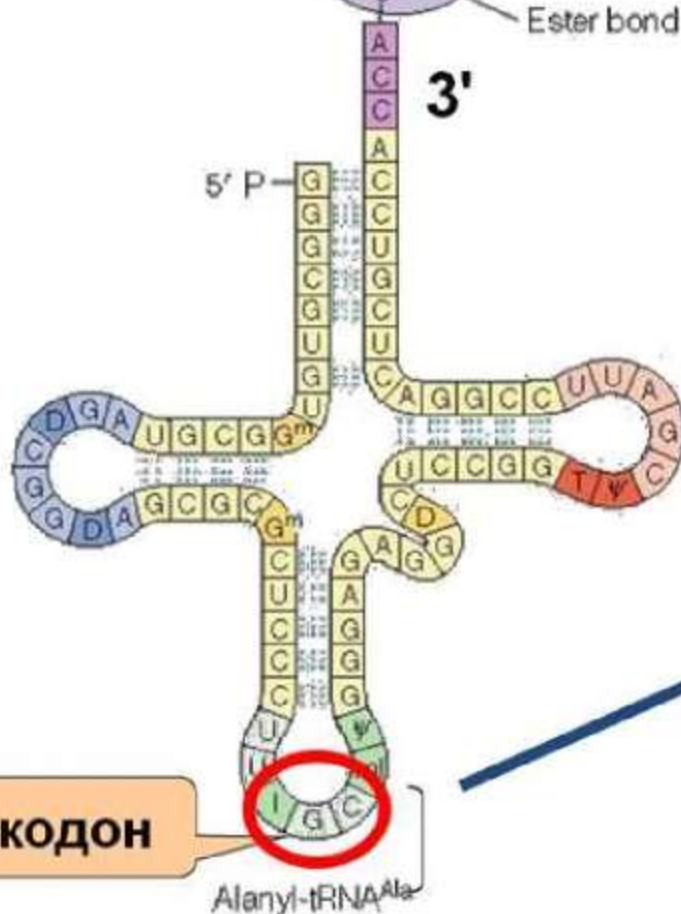
складний біологічний процес реакції матричного синтезу, який забезпечує передачу спадкової інформації з послідовності нуклеотидів іРНК на послідовність амінокислот поліпептиду. Трансляція -- ферментативний, енергозалежний процес, який в еукаріотичній клітині відбувається в цитоплазмі на рибосомах.

Транспортні РНК

Аміно-кислота



Один кінець впізнає **КОДОН** в м-РНК, інший – несе амінокислоту.



Антикодон

т-РНК 3' 5'

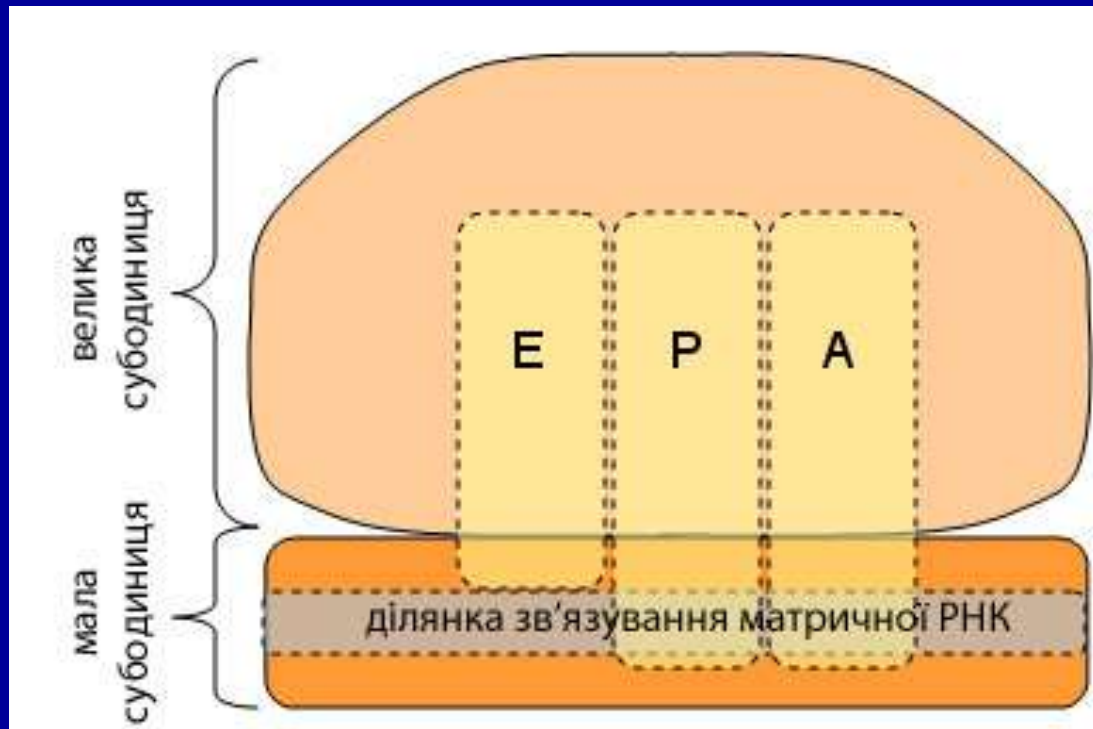
Г Ц У

Ц Г А

м-РНК 5' 3'

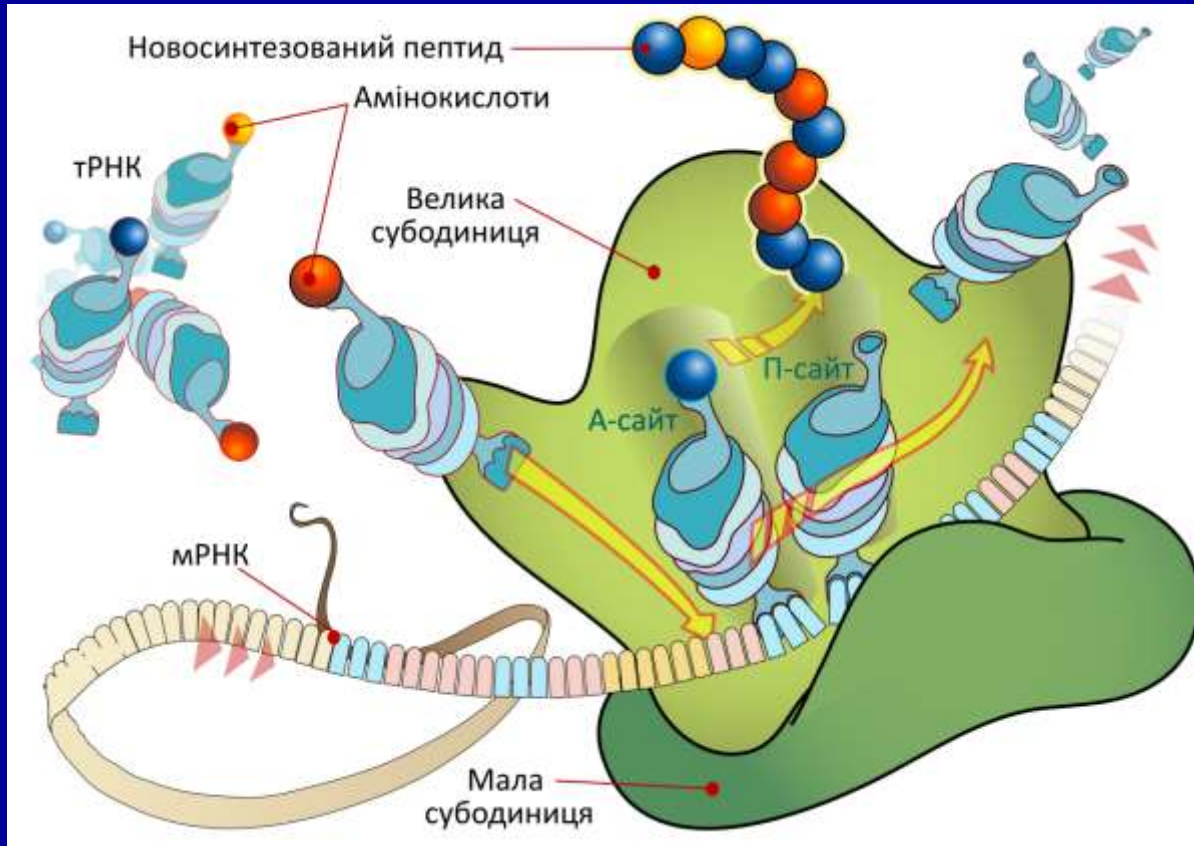
Кодон

Рибосоми



- А – аміноацил-тРНК-зв'язуюча ділянка,
- Р – пептидил-тРНК-зв'язуюча ділянка,
- Е – ділянка виходу тРНК (від англ. *exit*).

Трансляція



Ініціація

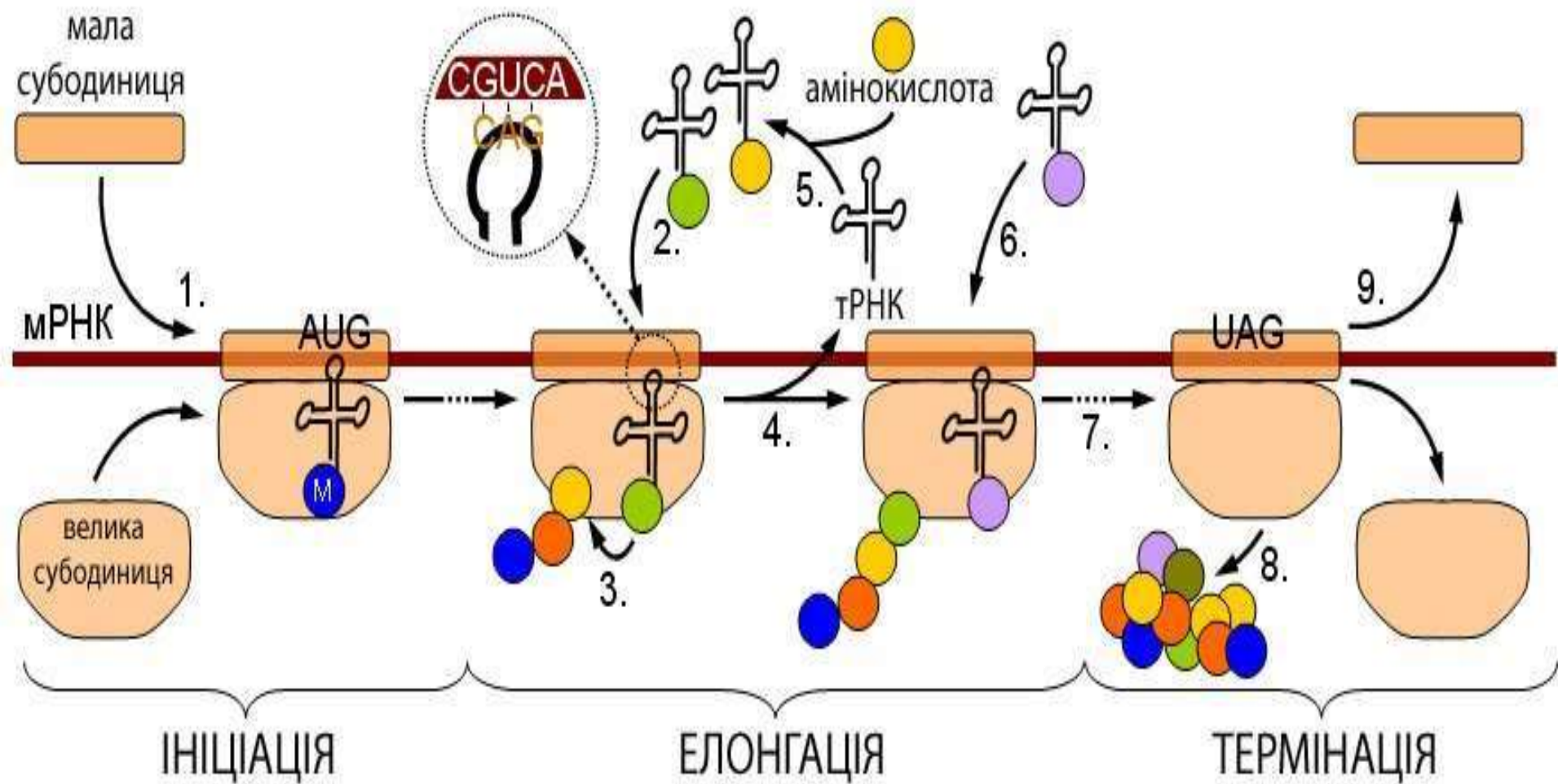


Елонгація

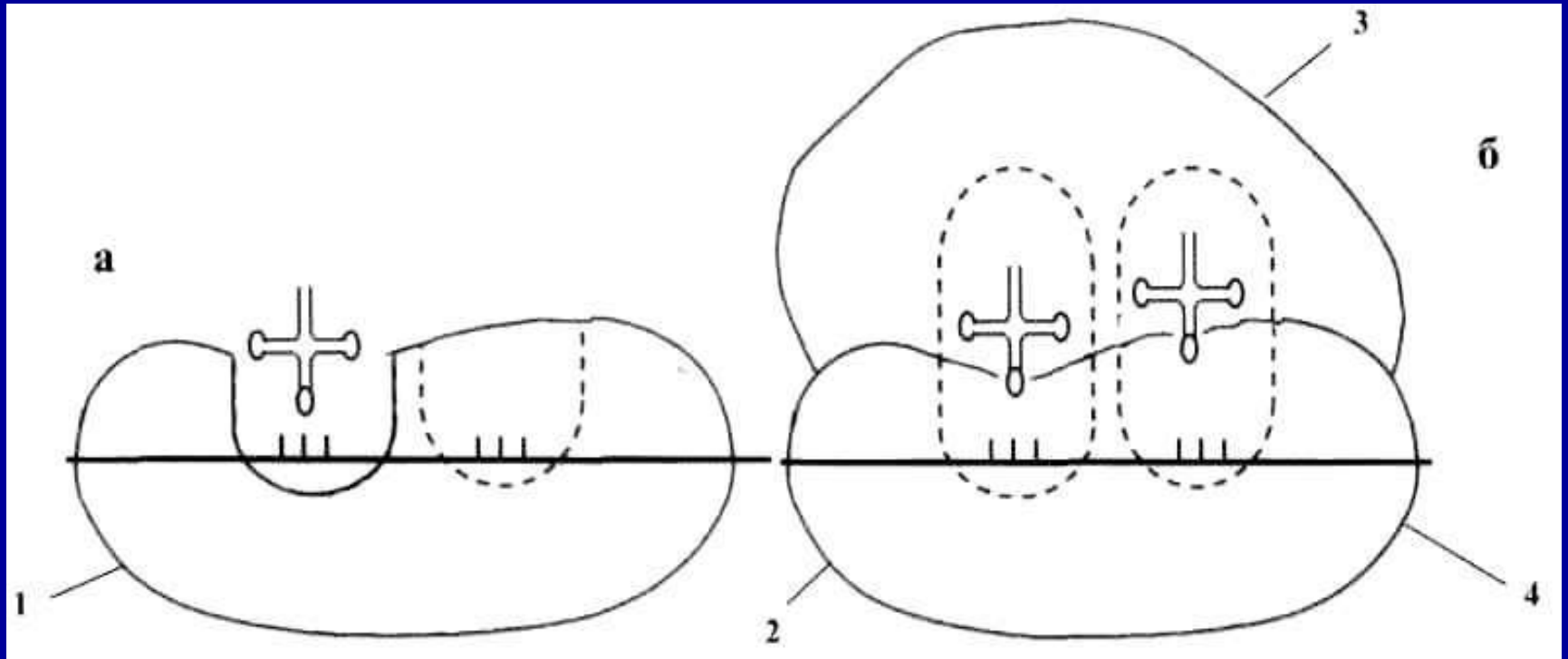


Термінація

Трансляція



Ініціація: Активація рибосом

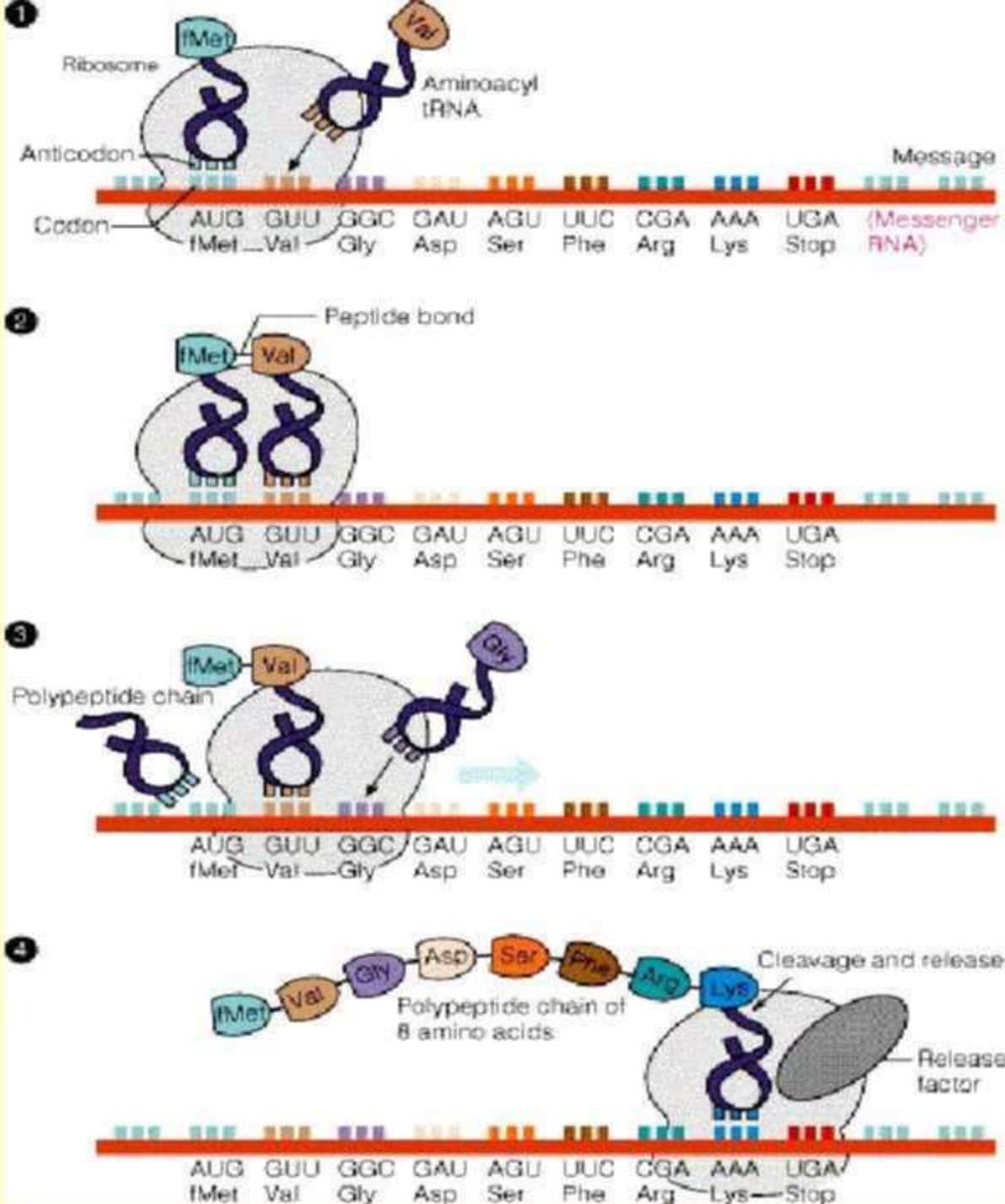


Елонгація

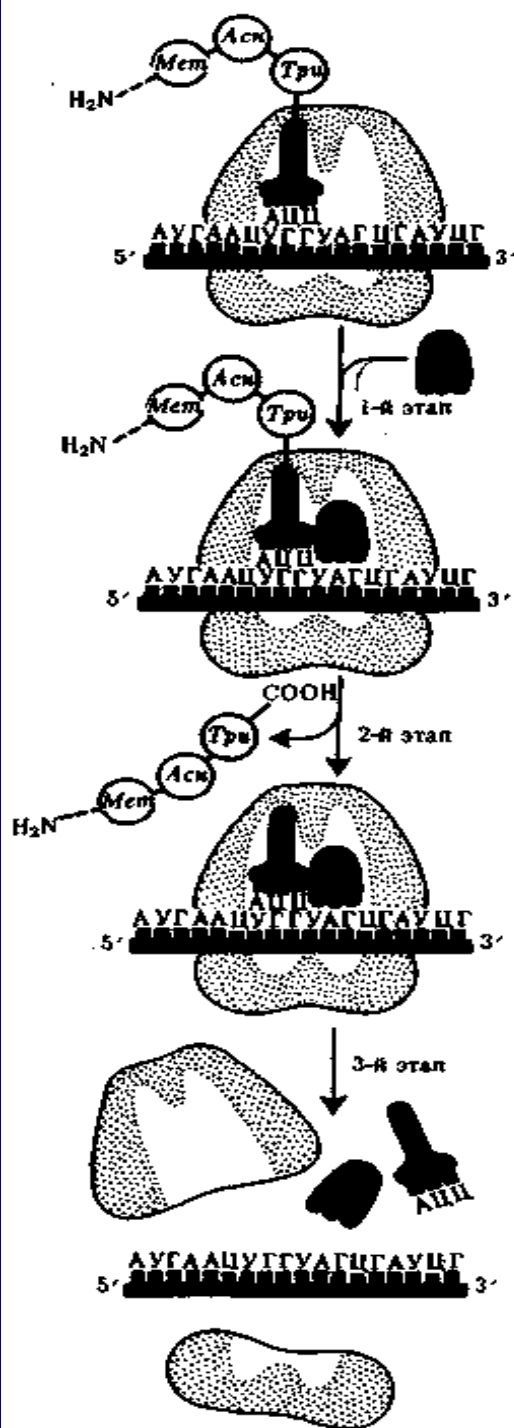
1) Наступна аміноацил-тРНК приєднується до А-центру

2) Між метіоніном і АК в А-центрі утворюється пептидний зв'язок (фермент- пептидил-трансфераза). Залишок метіоніну переноситься на аміногрупу другої АК

3) Транслокація – переміщення рибосоми на один кодон.
Метіонілова т-РНК звільняється з П-центру. Дипептидил-тРНК переходить з А-центру в П-центр.

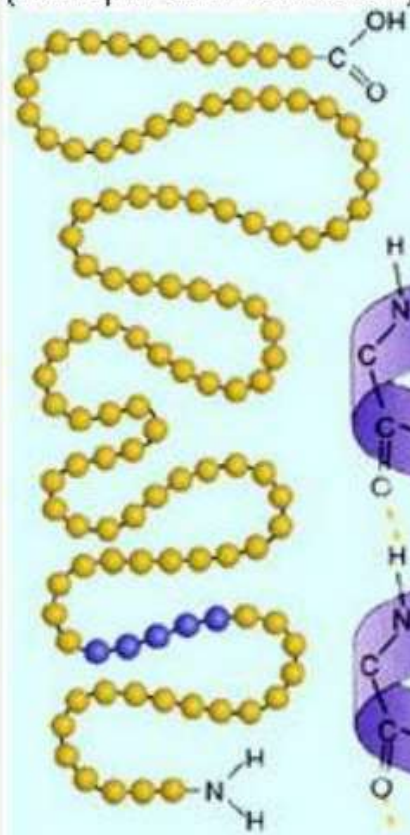


Термінація трансляції

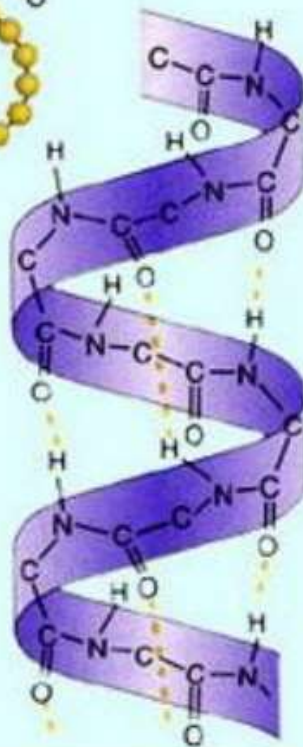


Посттрансляційна модифікація білків – сукупність процесів, що забезпечують хімічну видозміну білка після його синтезу.

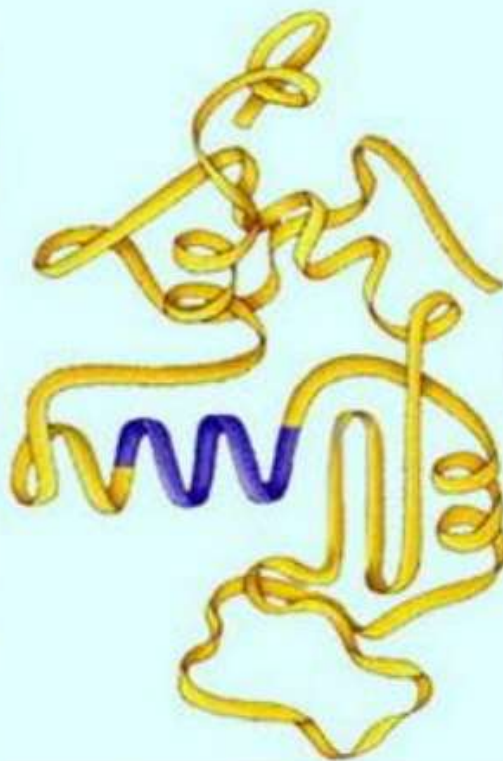
Первинна структура
(ланцюг амінокислот)



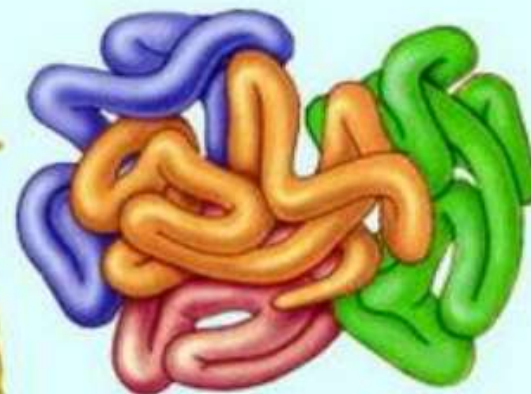
Вторинна структура
(α -спіраль)



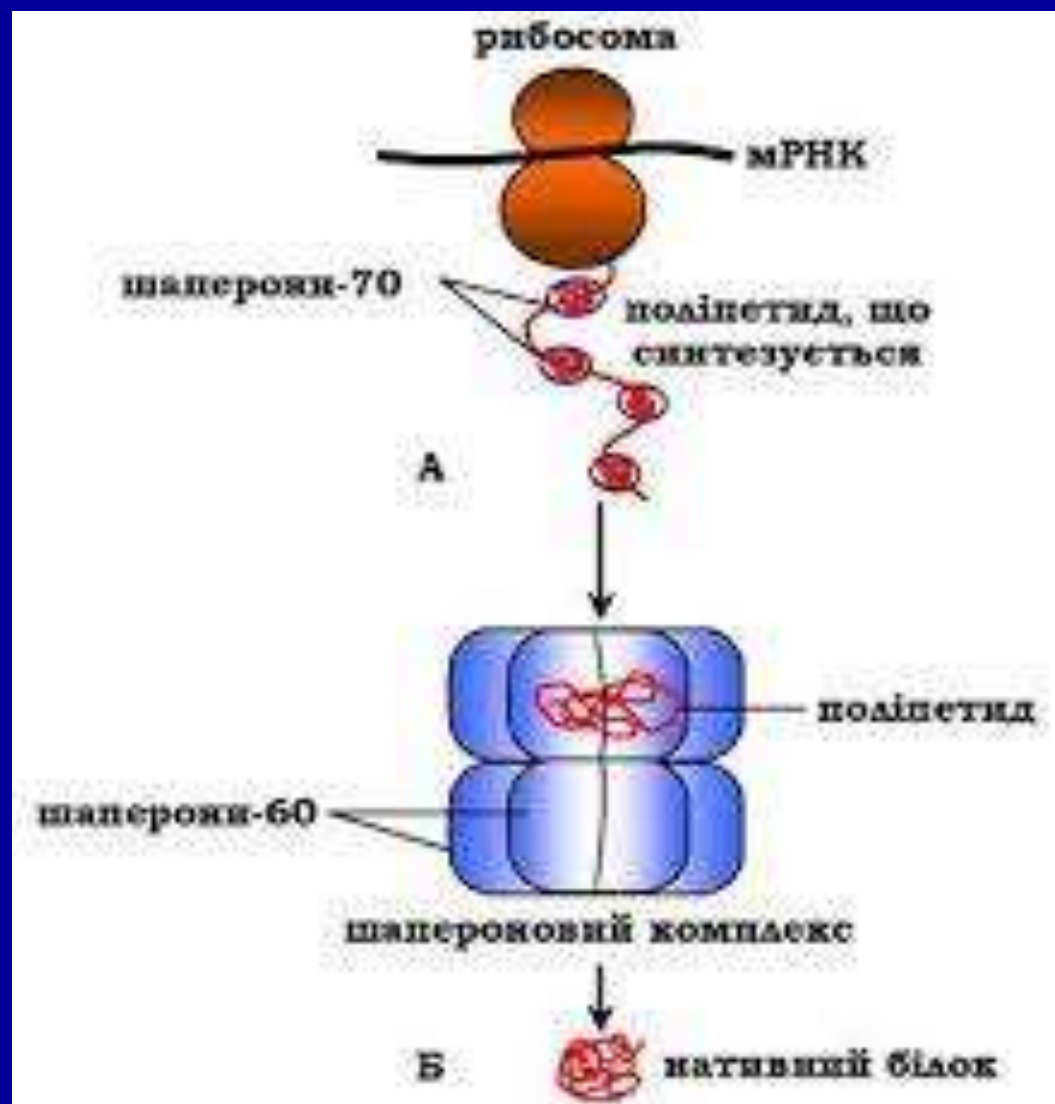
Третинна структура



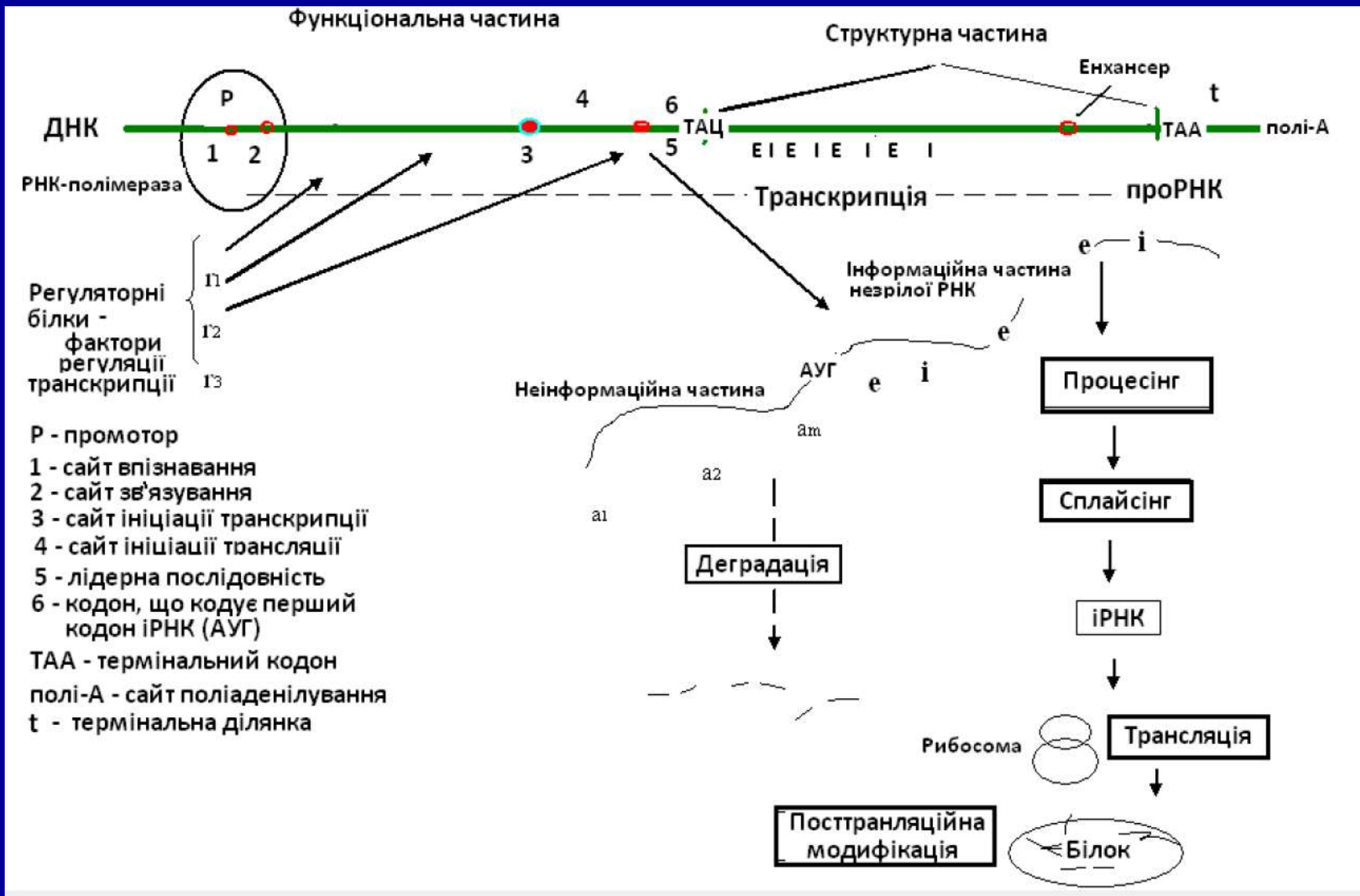
Четвертинна структура
(клубок білків)



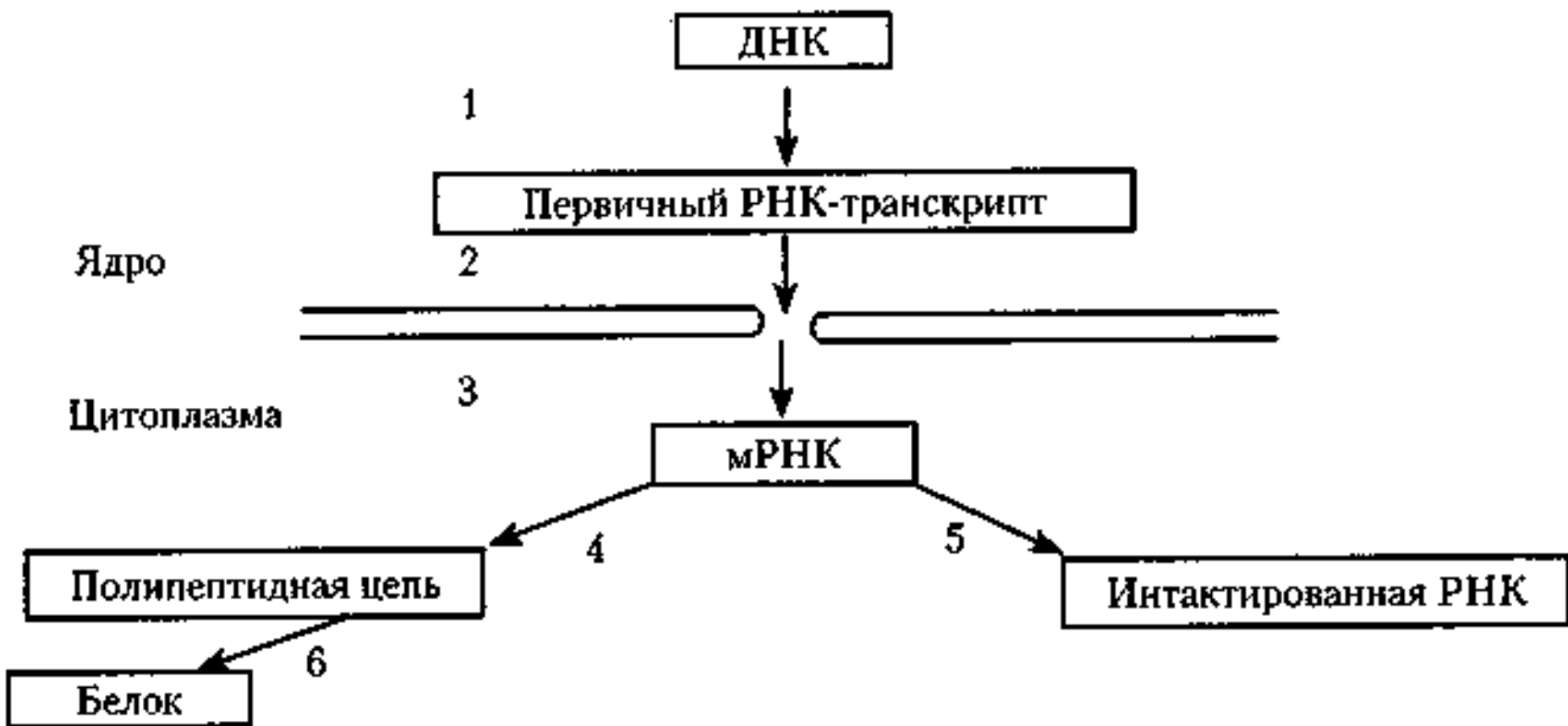
Фолдинг білків



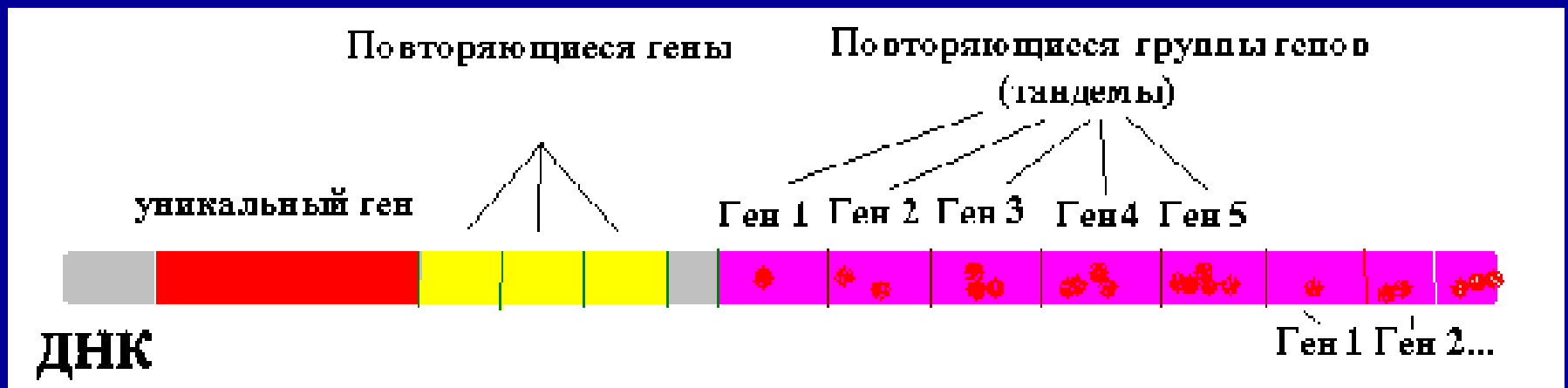
Регуляція експресії гена еукаріот



Контроль экспресії генів у еукаріот



Організація генома



Особливості геномів прокариот та еукаріот

Ознака	Прокариоти	Еукаріоти
Місце розташування більшості генів геному	Бактеріальна хромосома (нуклеоїд) — велика кільцева молекула ДНК	Хромосоми, що розташовані в ядрі клітини
Інші місця розміщення генів	Плазміди — невеликі кільцеві молекули ДНК	Невеликі кільцеві молекули ДНК у пластидах і мітохондріях
Наявність некодуючих ділянок усередині генів	Відсутні	Присутні у вигляді інтронів
Наявність некодуючих ділянок ДНК поза генами	Присутні в невеликій кількості й мають маленький розмір	Присутні у великій кількості. Складають більшу частину геному
Наявність оперонів	Є	Відсутні