

Глава 8

Биосинтез белка и нуклеиновых кислот (матричные биосинтезы)

Основные вопросы, рассматриваемые в настоящей главе.

- 8.1. Структура и биологическая роль нуклеотидов и нуклеиновых кислот
 - 8.1.1. Первичная структура нуклеиновых кислот.
 - 8.1.2. Вторичная структура ДНК
 - 8.1.3. Вторичная структура РНК
 - 8.1.4. Биологическая роль нуклеотидов и нуклеиновых кислот
- 8.2. Матричные биосинтезы.
 - 8.2.2. Биосинтез ДНК
 - Репликация
 - Репарация
 - Обратная транскрипция
 - 8.2.3. Биосинтез РНК – транскрипция
 - Синтез транскрипта
 - Созревание транскрипта
 - 8.2.4. Биосинтез белка – трансляция
 - Участие РНК в процессе биосинтеза белков
 - Этапы синтеза белка.
 - Активация аминокислот
 - Инициация белкового синтеза.
 - Элонгация полипептидной цепи.
 - Терминация синтеза
 - Посттрансляционная модификация.
 - Нарушение процессов трансляции.
 - Регуляция синтеза белка.

8.1. Структура и биологическая роль

НУКЛЕОТИДОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

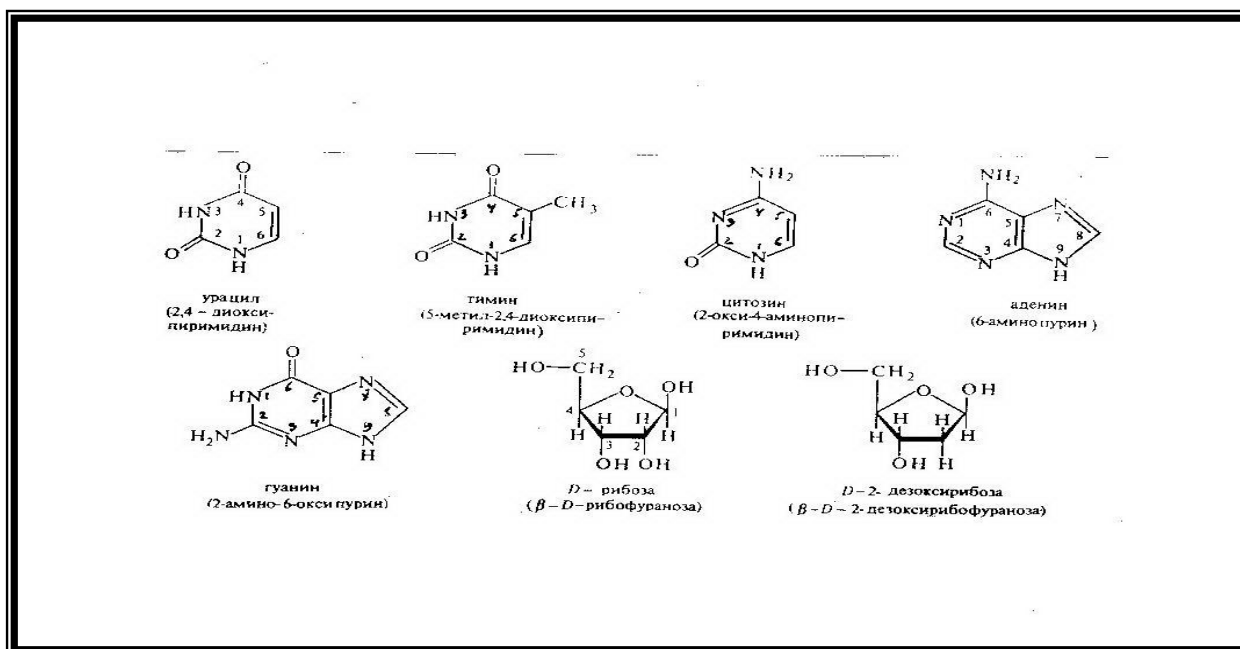
Нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) являются полинуклеотидами - полимерами, состоящими из мономеров – мононуклеотидов.

Нуклеиновые кислоты - высокомолекулярные соединения, молекулярная масса которых колеблется в пределах от 25 тыс. до 1 млн.

При полном гидролизе нуклеиновых кислот образуются три компонента:

- азотистое основание (пуриновое или пиримидиновое),
- пентоза (рибоза или дезоксирибоза),
- фосфорная кислота.

Строение азотистых оснований и пентоз представлено ниже:



Азотистые основания соединяются с углеводом N-гликозидной связью, устанавливаемой между первым углеродным атомом пентозы и первым атомом азота в пиримидиновом основании или девятым атомом азота в пуриновом ядре. При этом образуются нуклеозиды.

При взаимодействии нуклеозидов с фосфорной кислотой, которая присоединяется к 5-му углеродному атому пентозы сложноэфирной связью, образуются нуклеотиды (нуклеозидмонофосфаты).

В зависимости от структуры пентозы нуклеотиды делятся на два типа – рибонуклеотиды и дезоксирибонуклеотиды.

Нуклеозидмонофосфаты могут превращаться в нуклеозиддифосфаты и нуклеозидтрифосфаты.

Адениловые, гуаниловые и цитидиловые нуклеотиды входят в состав как ДНК, так и РНК, так как могут содержать в своем составе и рибозу, и

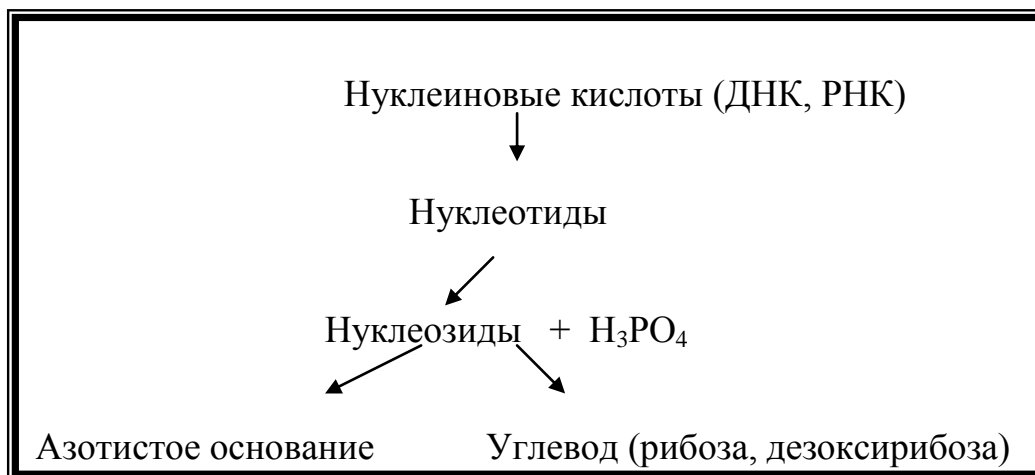


Рис. 1. Схема гидролиза нуклеиновых кислот.

дезоксирибозу. Тимидиловый нуклеотид является дезоксирибонуклеотидом и входит в состав только ДНК, а уридилловый - рибонуклеотидом и является структурным компонентом только РНК.

В составе нуклеиновых кислот отдельные нуклеотиды соединяются 3',5'-фосфодиэфирной связью, образованной фосфатным остатком предшествующего нуклеотида и 3-ей гидроксильной группой углеводного остатка последующего.

8.1.1. Первичная структура нуклеиновых кислот

Под первичной структурой нуклеиновых кислот понимают последовательность расположения нуклеотидов в полинуклеотидной цепи ДНК и РНК.

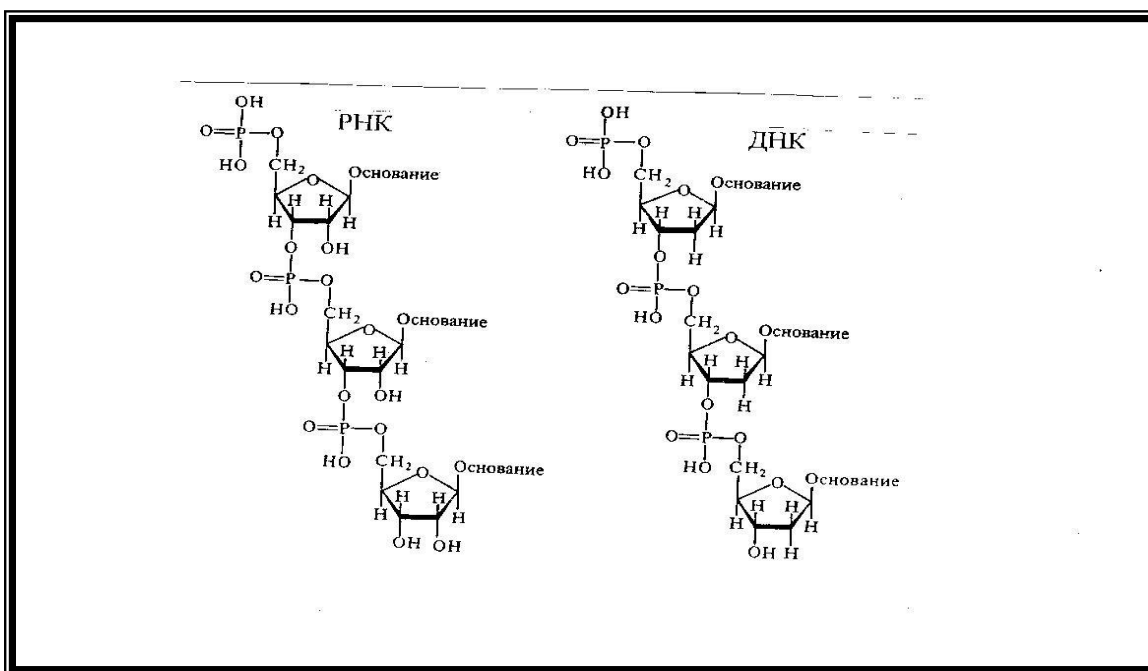


Рис. 2. Первичная структура нуклеиновых кислот

Первичная структура стабилизируется 3'5'-фосфодиэфирными связями. Поэтому в молекуле нуклеиновых кислот различают 2 конца: 5' - за счет свободной 5-фосфатной группы и 3' – конец а счет свободной 3-гидроксильной группы пентозы.

За счет остатков фосфорной кислоты, которая при рН 7 находится в ионизированном состоянии, нуклеиновые кислоты имеют отрицательный заряд.

8.1.2. Вторичная структура ДНК

Под вторичной структурой нуклеиновых кислот понимают пространственную организацию полинуклеотидной цепи.

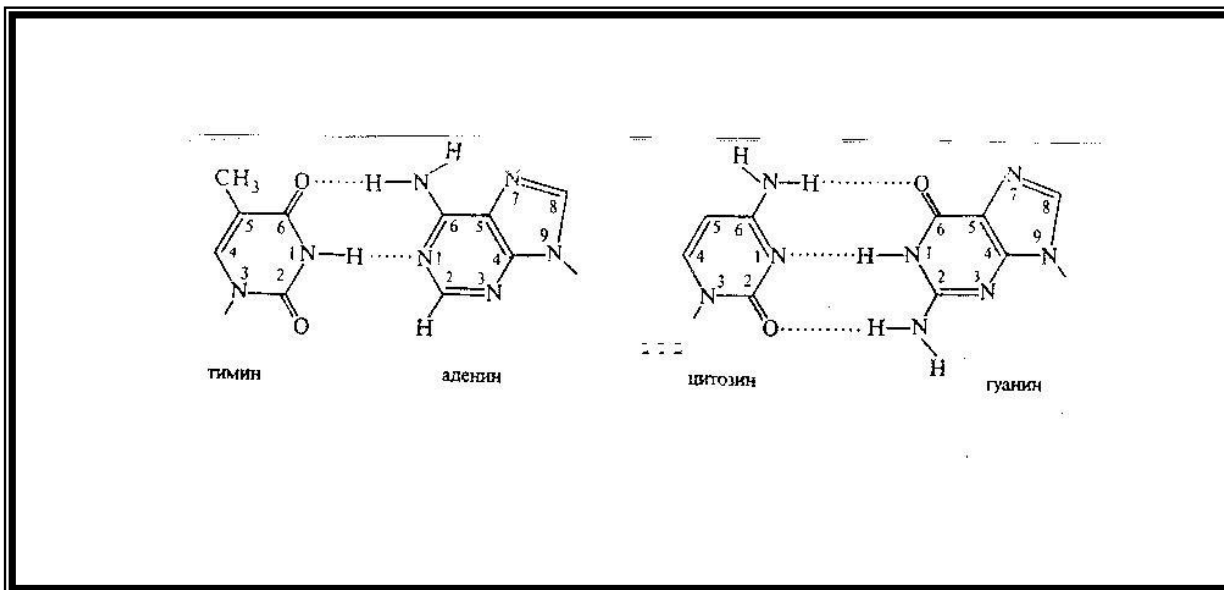
В 1949 году американский биохимик Эрвин Чаргафф установил закономерности количественного содержания азотистых оснований в структуре ДНК, названные в последующем правилами Чаргаффа:

- **число пуриновых оснований равно числу пиримидиновых оснований (аденин+гуанин=цитозин+тимин);**
- **количество аденина и цитозина равно количеству гуанина и тимина (аденин+цитозин=гуанин+тимин);**
- **количество аденина равно количеству тимина, а количество гуанина равно количеству цитозина (аденин=тимин и гуанин=цитозин).**

Исходя из правил Чаргаффа и результатов рентгеноструктурных исследований, американский биохимик Дж.Уотсон и английский физик Ф.Крик (1953) предложили модель строения ДНК. Ими было установлено, что:

1. Молекула ДНК является двойной спиралью, образованной двумя полинуклеотидными цепями, ориентированными антипараллельно и связанными друг с другом водородными связями.

2. Водородные связи между цепями образуются за счёт взаимодействия комплементарных азотистых оснований: аденилового нуклеотида одной цепи и тимидилового другой (пара А...Т), а также гуанилового нуклеотида одной цепи и цитидилового - другой (пара Г...Ц). Между аденином и тимином образуются две водородные связи, между гуанином и цитозином – три. В результате первичная структура одной полинуклеотидной цепи молекулы ДНК комплементарна первичной структуре другой цепи.



3. Пуриновые и пиримидиновые основания обращены внутрь спирали таким образом, что их плоскости перпендикулярны оси спирали и параллельны друг другу. Между основаниями возникают гидрофобные взаимодействия, вносящие в стабилизацию двойной спирали даже больший вклад, чем водородные связи между цепями. Остатки дезоксирибозы и фосфорной кислоты располагаются по периферии спирали.

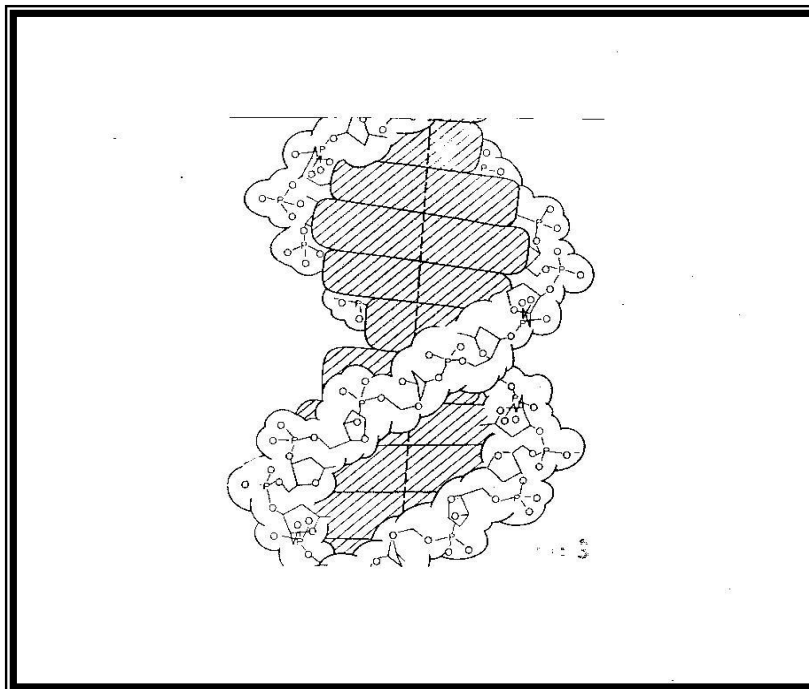


Рис.3. Модель фрагмента ДНК (двойная спираль)

8.1.3. Вторичная структура РНК

В клетке различают 3 вида РНК:

- рибосомальную (рРНК), на долю которой приходится около 80% РНК;
- транспортную (тРНК) (15%), имеющую в своем составе «минорные» азотистые основания (например, метилированные);
- матричную или информационную (мРНК) (2%).

Молекулы РНК в отличие от ДНК состоят из одной полинуклеотидной цепи, в которой имеются участки, комплементарные друг другу. При их взаимодействии образуются двойные спирали (шпильки), которые стабилизируются водородными связями за счет взаимодействия нуклеотидных пар А...У, Г...Ц. Спирализованные участки включают небольшое количество нуклеотидных пар (20-30) и чередуются с неспирализованными участками (рис.4).

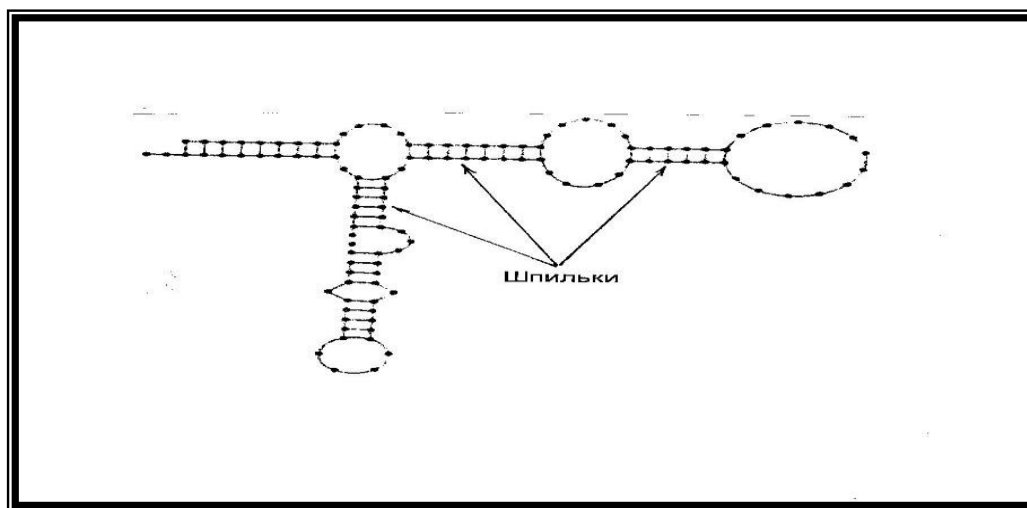


Рис.4. Вторичная структура рибосомальной РНК человека (схема).

8.1.4. Биологическая роль нуклеотидов и нуклеиновых кислот

Нуклеотиды и их производные выполняют различные функции в организме, участвуя:

- в синтезе нуклеиновых кислот и коферментов (НАД, НАДФ, ФАД, CoASH);
- в трансформации энергии, освобождаемой при окислении веществ, в энергию, используемую в эндэргонических реакциях организма;
- в образовании фосфорных эфиров моносахаридов, глицерина, аминокислот и других соединений;

- в передаче гормональных сигналов внутрь клетки, являясь вторичными посредниками действия гормонов, нейромедиаторов и других регуляторов.

8.2. Матричные биосинтезы

Матричные биосинтезы – это синтезы с использованием матрицы, с помощью которой осуществляется образование информационных молекул ДНК (в роли матрицы выступают обе материнские цепи ДНК), РНК (в роли матрицы выступает одна из цепей ДНК) и белка.

8. 2. 1. Биосинтез ДНК

Условия: 1 Наличие ДНК-матрицы;

2. Наличие дезоксирибонуклеозидтрифосфатов: дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ;

3. Наличие ферментов: топоизомераз, хеликазы, ДНК-полимеразы I, II, III, РНК-полимеразы, ДНК-лигазы. В активном центре всех полимераз содержатся ионы цинка.

4. Наличие ДНК-связывающих белков. Комплекс этих белков с ферментами биосинтеза называется реплисомой.

5. Наличие затравочной молекулы – праймера.

6. Наличие ионов магния, который нейтрализует отрицательный заряд и повышает их реакционную способность.

Типы синтеза:

1.Репликация.

2.Репарация.

3.Обратная транскрипция.

8.2.1.1. РЕПЛИКАЦИЯ

Репликация – удвоение ДНК перед клеточным делением. Этот процесс происходит в S-фазу клеточного цикла. Каждая цепь молекулы ДНК служит матрицей для построения новой комплементарной ей цепи ДНК и, следовательно, новые молекулы ДНК содержат по одной родительской и одной дочерней цепи. Таким образом, синтез ДНК является **полуконсервативным**, т.е. молекулы ДНК обновляются наполовину. Синтез идет в направлении $5' \rightarrow 3'$. Обе цепи реплицируются одновременно, хотя имеют разное направление.

Этапы репликации: 1) инициация, 2) элонгация, 3) терминация.

Инициация. 1. Одновременно в нескольких точках хромосомы топоизомеразы, обладающие нуклеазной активностью, делают кратковременные разрывы 3',5'-фосфодиэфирных связей в одной из цепей ДНК и ковалентно присоединяются к 5-концу в точке разрыва (после образования репликативной вилки они зашивают эти разрывы и отделяются от ДНК).

2. Под влиянием хеликазы (helix- спираль) разрываются водородные связи между комплементарными азотистыми основаниями, и молекула ДНК раскручивается в этих участках с образованием **репликативной вилки**, в области которой обе цепи ДНК служат матрицей для синтеза новой молекулы ДНК. В расчете на одну хромосому формируется несколько тысяч репликативных вилок. Восстановлению водородных связей препятствуют ДНК-связывающие белки (ДСБ), удерживающие нити ДНК на некотором расстоянии друг от друга.

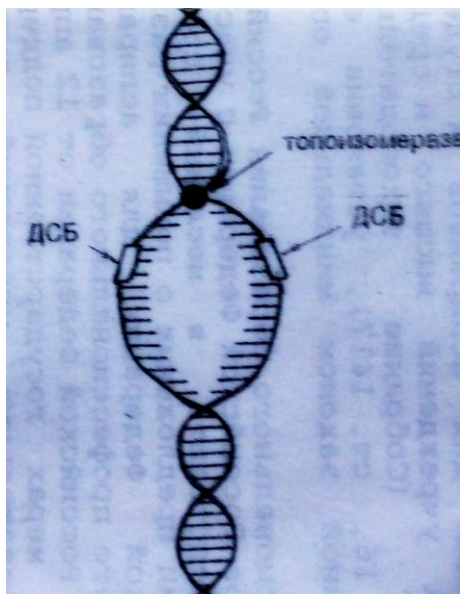


Рис. 5. Сформированная репликативная вилка

Элонгация

1. Элонгация начинается с образования праймера. На обеих цепях материнской ДНК в репликативной вилке синтезируется затравка - **праймер** - олигорибонуклеотид, содержащий около 10 нуклеотидов, со свободной гидроксильной группой у 3'-углеродного атома рибозы. Он синтезируется в направлении $5' \rightarrow 3'$ при участии специфической **РНК-полимеразы (праймазы)**, которая сначала последовательно присоединяет рибонуклеозидмонофосфаты к цепочке ДНК в соответствии с принципом комплементарности и лишь затем соединяет их между собой фосфодиэфирными связями. Смысл его образования заключается в том,

чтобы предоставить ДНК-полимеразе III свободный 3'-ОН - конец, необходимый для присоединения очередного нуклеотида.

Синтез праймера в репликативной вилке происходит одновременно на обеих цепях материнской ДНК, но так как её нити антипараллельны, образование праймера на разных цепях идет в противоположных направлениях (рис.6).

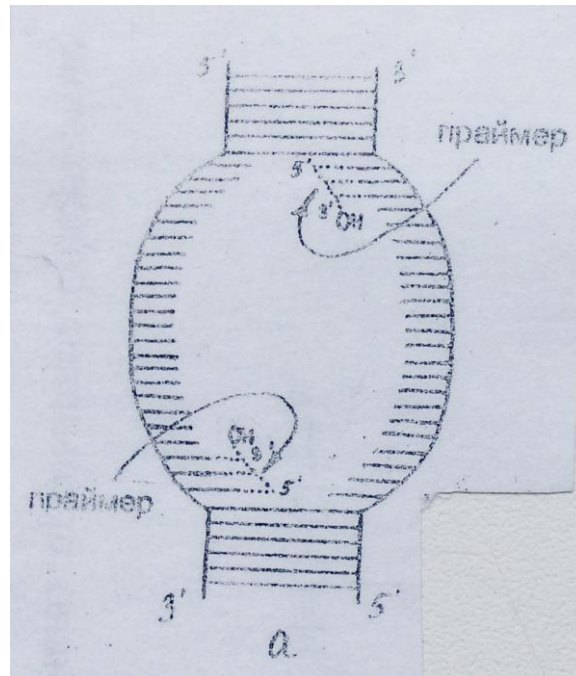


Рис 6. Образование праймера на раскрученных цепочках ДНК

2. ДНК-полимераза III связывается с матрицей в том месте, где находится свободный 3'- гидроксильный конец праймера. К участку связывания присоединяется дезоксирибонуклеозидтрифосфат с основанием, комплементарным соответствующему основанию матрицы. От него отщепляется пирофосфат, и за счет выделяющейся при этом энергии ДНК-полимераза III присоединяет его к праймеру, образуя 3', 5' – фосфодиэфирную связь. Затем ДНК-полимераза сдвигается на одно звено вдоль ДНК-матрицы и присоединяет следующий нуклеотид к предыдущему с образованием 3',5'-фосфодиэфирной связи. Водородные связи между комплементарными азотистыми основаниями устанавливаются спонтанно.

3. Так продолжается до тех пор, пока вся матрица в репликативной вилке не будет исчерпана; тогда под действием топоизомераз, хеликаз и ДСБ происходит перемещение репликативной вилки, т.е. раскручивание следующего фрагмента материнской ДНК. В результате в расширенной репликативной вилке окажется 3'-конец одной дочерней цепи ДНК и 5'-конец другой. Вследствие того, что ДНК-полимераза III может

синтезировать ДНК лишь в направлении $5' \rightarrow 3'$ и для её действия необходим свободный $3'$ -конец, непрерывно наращиваться при участии этого фермента дальше будет лишь одна цепь (ведущая).

4. Синтез другой (отстающей) цепи протекает в направлении, обратном движению репликативной вилки. Отсутствие свободного гидроксила в $3'$ -положении у этой цепи приводит к тому, что её синтез временно прерывается и обуславливает необходимость образования под действием РНК-полимеразы новой молекулы праймера, свободный $3'$ -гидроксил которого даст возможность ДНК-полимеразе III продолжить синтез дочерней цепи. Таким образом, отстающая цепь образуется не непрерывно, а прерывисто, отдельными фрагментами, названными **фрагментами Оказаки**, содержащими 100-200 нуклеотидов.

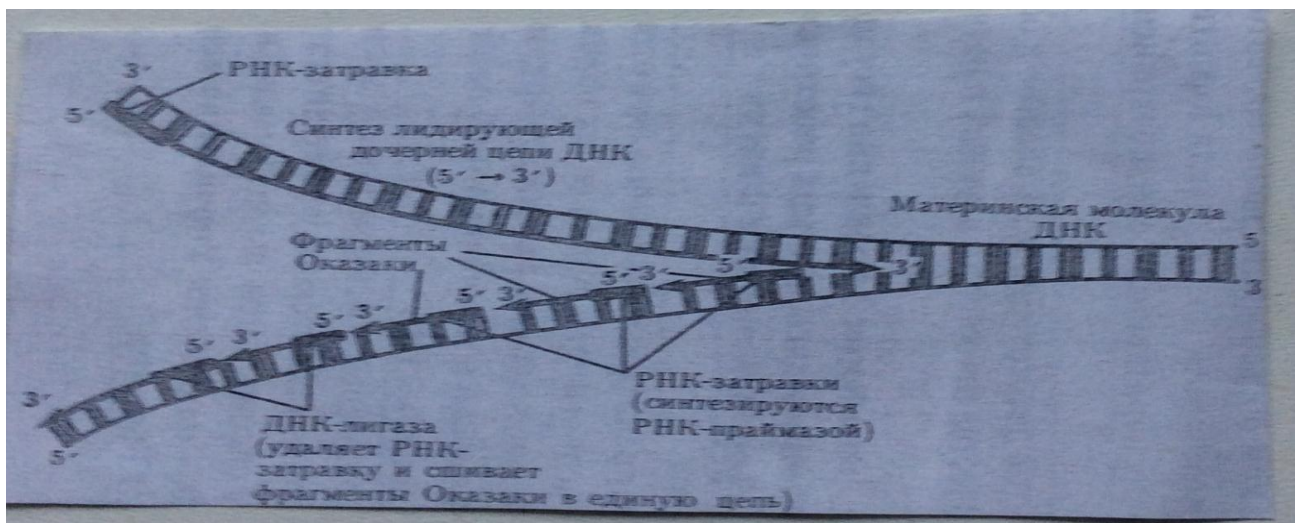


Рис. 7. Синтез двух дочерних цепей ДНК на материнской молекуле ДНК.

5. Как только синтез отстающей цепи дойдет до предыдущего праймера, ДНК-полимераза I его вырезает, постепенно удаляя от его $5'$ -конца по одному рибонуклеотиду. Образовавшаяся брешь (пустое место) между двумя фрагментами Оказаки застраивается дезоксирибонуклеотидами с помощью ДНК-полимеразы III, которая использует для этого $3'$ -конец только что синтезированного фрагмента Оказаки, а ДНК-лигаза «сшивает» этот фрагмент с предшествующим.

6. Затем вновь происходит перемещение репликативной вилки и продолжается синтез ведущей и отстающей цепей.

Терминация

Такая последовательность событий повторяется многократно до тех пор, пока не будет скопирована вся матрица – материнская ДНК. В результате образуются две дочерних двойных спирали, каждая из которых содержит одну материнскую и одну вновь синтезированную дочернюю цепь. Закручивание в спираль происходит спонтанно без участия специальных ферментов и затраты энергии.

Точность репликации ДНК очень велика – может возникнуть одна ошибка на 10^{10} трансферных реакций. В этом случае она исправляется за счет репарации.

8.2.2.2. РЕПАРАЦИЯ

Репарация – исправление ошибок синтеза и повреждений ДНК. Она интенсифицируется после рентгеновского, радиационного и ультрафиолетового облучения, действия химических мутагенов (например, азотистой кислоты и др.). Устранение нарушений несмотря на многообразие факторов, их вызывающих, происходит по единому принципу. Эндонуклеаза гидролизует фосфодиэфирную связь в участке повреждения цепи, ДНК-полимераза III присоединяет нуклеотиды, комплементарные нуклеотидам другой неповрежденной цепи, оттесняя при этом поврежденный фрагмент в сторону, затем экзонуклеаза удаляет его, а ДНК-лигаза «сшивает» вновь синтезированный участок ДНК с неповрежденным (рис. 8).

8.2.2.3. ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ

Обратная транскрипция – синтез ДНК на молекуле РНК - воспроизведение генетической информации онкогенных РНК-содержащих вирусов,

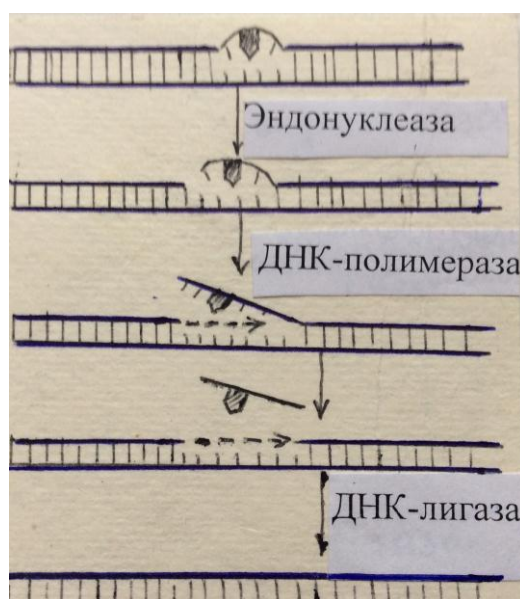


Рис.8.Механизм репарации ДНК

осуществляемое с участием **РНК-зависимой ДНК-полимеразы (обратной транскриптазы, ревертазы)**, которая обнаруживается также в лейкозных клетках, пролиферирующих и эмбриональных тканях. Процесс протекает в 3 этапа: I - на матрице вирусной РНК ревертаза синтезирует комплементарную цепь ДНК с образованием гибридной молекулы; II – вирусная РНК из комплекса гибридной молекулы разрушается под действием РНК-азы; III – на матрице цепи ДНК комплементарно синтезируются новые цепи ДНК. При попадании вируса в клетки хозяина

ревертаза синтезирует молекулу ДНК на матрице РНК-вируса, которая способна встраиваться в ДНК клетки хозяина. В результате в них образуется ДНК, содержащая гены, обуславливающие рак. Хотя они долгое время могут не транскрибироваться, однако под влиянием канцерогенов может начаться синтез продуктов, обуславливающих перерождение нормальных клеток в злокачественные.

На основании открытия обратной транскрипции основная схема передачи генетической информации в живой клетке может быть представлена в более полной форме: $\text{ДНК} \rightleftharpoons \text{РНК} \rightarrow \text{белок}$.

8. 2. 3. БИОСИНТЕЗ РНК - Т Р А Н С К Р И П Ц И Я

Транскрипция – процесс переписывания генетической информации, закодированной в виде определенной последовательности дезоксирибонуклеотидов ДНК, на молекулу РНК.

Условия:

1. ДНК-матрица. Матрицей является одна цепь ДНК, причем не вся целиком, а только те фрагменты, которые несут генетическую информацию о синтезе необходимых в клетке продуктов в данный момент.

2. Рибонуклеозидтрифосфаты (АТФ, ГТФ, УТФ, ЦТФ).

3. Фермент ДНК-зависимая РНК-полимераза. В ядрах эукариот обнаружены 3 специализированные РНК-полимеразы: РНК-полимераза I, синтезирующая пре-рРНК, РНК-полимераза II, ответственная за образование пре-мРНК, РНК-полимераза III, синтезирующая пре-тРНК.

ДНК-зависимая РНК-полимераза состоит из нескольких субъединиц, имеющих несколько центров связывания регуляторных факторов

4. Факторы инициации, элонгации и терминации.

5. Ионы магния.

Этапы транскрипции: 1) синтез первичного транскрипта (образование преРНК),

2) созревание транскрипта (процессинг) – посттранскрипционная модификация первичного транскрипта.

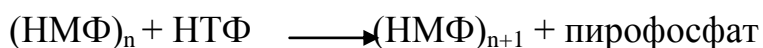
8.2.3.1. СИНТЕЗ ТРАНСКРИПТА

1. В отличие от синтеза ДНК синтез РНК является **ассиметричным** (протекает лишь на одной из цепей ДНК) и **консервативным** (так как матрица ДНК по окончании процесса возвращается в исходное состояние).

2. Синтез РНК протекает также, как и синтез ДНК, в направлении 5' → 3'.

3. Открытый участок ДНК, с которого начинается процесс транскрипции, называется **промотором**. С определенной последовательностью нуклеотидов промотора (ТАТА) связывается особый белковый фактор, получивший название **ТАТА фактора**, который облегчает взаимодействие промотора с РНК-полимеразой. РНК-полимераза присоединяется к промотору и с участием факторов инициации раскручивает примерно один виток двойной спирали ДНК. К этому участку подходят АТФ или ГТФ, которые присоединяются к соответствующему нуклеотиду матрицы ДНК водородными связями без отщепления пирофосфата.

4. Продвигаясь вдоль молекулы ДНК на один нуклеотид вперед в направлении 5' → 3', РНК-полимераза с участием факторов элонгации, облегчающих локальное расхождение нуклеотидных цепей, катализирует удлинение цепочки РНК. К открывающимся последовательно на матричной цепи ДНК дезоксирибонуклеотидам РНК-полимераза присоединяет водородными связями комплементарные им рибонуклеозидтрифосфаты (НТФ) и затем за счет энергии, выделившейся при отщеплении пирофосфата, катализирует образование между НМФ фосфодиэфирной связи.



где: $(НМФ)_n$ - синтезируемая молекула РНК, состоящая из n остатков нуклеозидмонофосфатов,

НТФ n-нуклеозидтрифосфат,

$(НМФ)_{n+1}$ - удлиненная на один остаток нуклеозидмонофосфата молекула РНК.

5. По мере продвижения РНК-полимеразы по цепи ДНК впереди неё происходит расхождение, а позади – восстановление двойной спирали. Скорость элонгации составляет 40-50 нуклеотидов в секунду.

6. Синтез прекращается, когда фермент доходит до определенной последовательности ДНК - терминирующего кодона (сайта терминации). С помощью РНК-полимеразы и фактора терминации происходит разрушение гибридного комплекса ДНК-РНК и новосинтезированная молекула мРНК отсоединяется от матрицы ДНК. Однако она не является функционально активной молекулой и подвергается созреванию.

7. Участок ДНК, ограниченный промотором и терминирующим кодоном, представляет единицу транскрипции – транскриптон. У эукариот в состав транскриптона входит, как правило, только один ген.

8.3.2. СОЗРЕВАНИЕ ТРАНСКРИПТА

8.3.2.1. Модификация матричной РНК

Созревание транскрипта (**процессинг**) – превращение пре-мРНК в функционально активные молекулы. Оно включает:

1. Удаление из первичного транскрипта лишних нуклеотидных последовательностей - интронов.

Ген эукариот является мозаичной структурой, содержащей наряду с кодирующими (экзонами) также не несущие генетической информации последовательности нуклеотидов (интроны). Эти участки часто оказываются длиннее экзонов; на их долю может приходиться от 900 до 20000 нуклеотидных пар.

Процесс вырезания интронов протекает при участии малых ядерных РНК (мяРНК), соединенных с белком – так называемых **сплайсосом**. Нуклеотидная последовательность мяРНК комплементарна последовательности нуклеотидов на концах каждого из интронов. Между ними и мяРНК, чья длина намного меньше длины интрона, образуются водородные связи, благодаря чему фрагмент первичного транскрипта, не несущий генетической информации, вытесняется, образуя петлю. мяРНК катализирует реакцию расщепления 3'5'-фосфодиэфирных связей на границе экзона и интрона, интрон удаляется, а концы экзонов сшиваются. Такое удаление интронов из мРНК и сшивание экзонов называется **сплайсингом**. Он приводит к тому, что зрелая мРНК становится в 4 раза короче первичного транскрипта.

2. Модификацию мРНК – на 3'-конце первичного транскрипта формируется полиадениловый сегмент (ААА), состоящий из 100-200 остатков АМФ, а на 5'-«кэп» («шапочка») - 7-метилгуанозин. Наличие полиА-последовательности на 3-конце облегчает выход мРНК из ядра и замедляет её гидролиз в цитоплазме. Кэпирование обеспечивает инициацию синтеза белка и необходимо для удлинения времени жизни мРНК, защищая её от действия экзонуклеаз в цитоплазме.

Процесс созревания транскрипта мРНК схематично представлен на рис. 9.

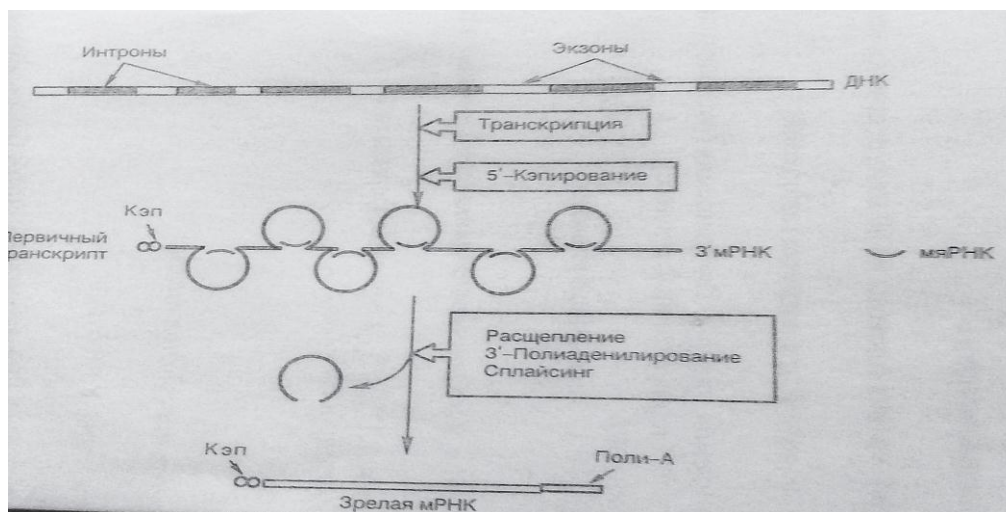


Рис.9. Образование мРНК

В результате процессинга мРНК становится функционально активной и с помощью специальных белков-переносчиков проходит по каналам в ядерной мембране, пропускающим в цитоплазму только зрелые молекулы РНК.

Процессинг тРНК и рРНК.

Рибосомальные и транспортные РНК образуются принципиально так же, как и мРНК. Их синтез определяется последовательностью нуклеотидов ДНК и осуществляется с помощью РНК-полимеразы I (рРНК) или РНК-полимеразы III (тРНК). Посттранскрипционная модификация первичных транскриптов тРНК происходит, во-первых, при участии РНК-аз, последовательно отрезающих по одному нуклеотиду с 3' – конца до достижения триплета ЦЦА и, во-вторых, путем сплайсинга - удаления всего одного интрона, содержащегося в структуре тРНК, что приводит к формированию антикодона.

Процессинг рРНК приводит к формированию компонентов рибосом, включающих около 7000 нуклеотидов и разрушению остальной части транскрипта (около 6000 нуклеотидов) в ядре.

8.2.4.БИОСИНТЕЗ БЕЛКА –ТРАНСЛЯЦИЯ

Трансляция – перевод генетической информации, закодированной в виде полинуклеотидной последовательности матричной РНК, в аминокислотную последовательность белковой молекулы.

8.2.4.1.Участие РНК в процессе синтеза белков.

В синтезе белковой молекулы принимают участие 3 вида РНК: матричные (информационные), рибосомальные и транспортные.

Матричная (информационная, мРНК) переносит генетический код - транскрибированную в виде кодонов (определенной последовательности триплетов нуклеотидов) информацию, в которой зашифрована аминокислотная последовательность белков, из ядра клетки к рибосомам.

Генетический код обладает **рядом особенностей**:

1. Универсальность: «кодовые слова» для каждой аминокислоты одинаковы у всех организмов от вируса до человека.
2. Однонаправленность, линейность – кодоны мРНК «читаются» последовательно с фиксированной стартовой точки.
3. Неперекрываемость: один и тот же нуклеотид не может одновременно входить в два соседние кодона (ААГЦАГЦЦАУУЦ).
4. Непрерывность: в последовательности нуклеотидов отсутствуют такие, которые не входят ни в один кодон: ААГ Ц АГЦ Ц АУУ.
5. Вырожденность (избыточность): одной аминокислоте может соответствовать более одного кодона (за исключением метионина и триптофана, которые кодируются только одним кодоном). Всего существует 64 кодона (4^3), из них 3 «немых» или «нонсенс» кодона, которые не кодируют аминокислот, т.е. генетическую информацию переносит 61 кодон, а аминокислот - 20, следовательно, одна аминокислота может кодироваться несколькими кодонами.

Рибосомальная РНК (рРНК) поддерживает определенную структуру рибосом, обеспечивает правильную ориентацию мРНК и адекватное течение процесса трансляции. Рибосомы – субклеточные частицы с коэффициентом седиментации 80S (коэффициент седиментации Сведберга отражает скорость осаждения рибосом при

ультрацентрифугировании и зависит от массы, размеров и плотности этих частиц). Состоят из малой (40S) и большой (60S) субъединиц, для ассоциации которых необходимы ионы магния.

Транспортная РНК (тРНК) выполняет две функции: **транспортную** т.е. осуществляет транспорт активированных аминокислот к месту синтеза белка и **адапторную**, т.е. определяет место аминокислоты в первичной структуре строящегося белка.

В ходе процессинга тРНК происходит удаление с помощью нуклеаз концевых нуклеотидных последовательностей; метилирование, дезаминирование, восстановление ряда оснований и присоединение к 3'-концу тринуклеотидной последовательности – ЦЦА. В результате тРНК приобретает специфическую трехмерную конформацию, похожую на лист клевера.

Все тРНК имеют 4 ветви, основными из которых являются две: **антикодоновая**, содержащая антикодон – триплет нуклеотидов, комплементарный соответствующему триплету (кодону) мРНК, кодирующему определенную аминокислоту, и **акцепторная**, содержащая на 3' - конце триплет ЦЦА, к остатку рибозы аденилового нуклеотида которого присоединяется аминокислота (рис.10).

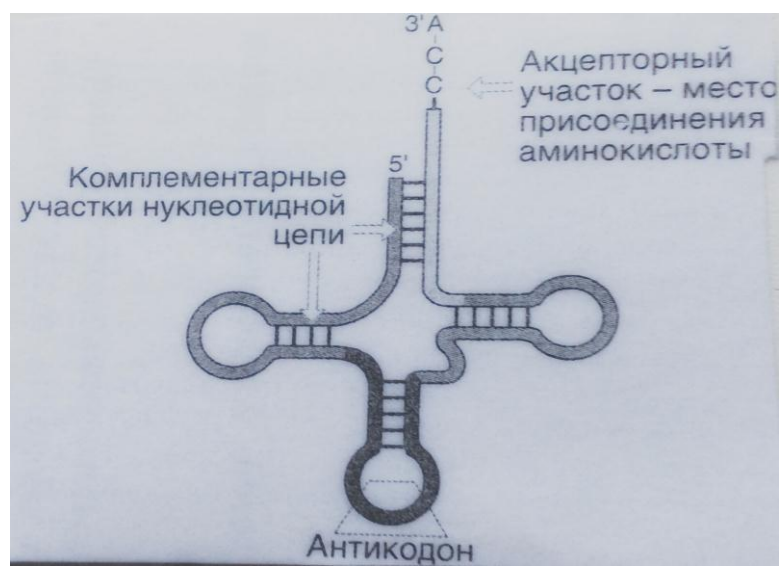


Рис. 10 Строение типичной молекулы тРНК

8.2.4.2. Этапы синтеза белка

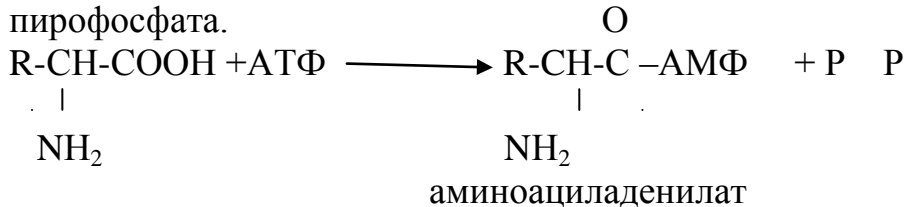
Процесс трансляции протекает в 5 основных этапов: активация аминокислот, инициация, элонгация и терминация синтеза, посттрансляционная модификация.

8.2.4.2.1. Активация аминокислот.

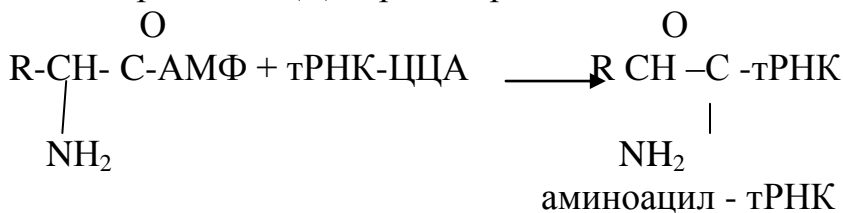
1. Активация аминокислот протекает с участием аминоацил-тРНК-синтетаз. Они обладают индивидуальной специфичностью по отношению к

аминокислотам и групповой – к тРНК. В активном центре этих ферментов имеется 4 участка, предназначенные для связывания определенной аминокислоты, транспортной РНК, АТФ и воды (необходимой для участия в гидролитическом отщеплении неправильных аминокислотаденилатов).

2. Аминоацил-тРНК-синтетаза образует с участием ионов магния ферментсубстратный комплекс с аминокислотой и АТФ, которые взаимодействуют друг с другом с образованием аминокислотаденилата и пирофосфата.



3. Аminoacyladenylate, будучи еще связанным с ферментом, взаимодействует с остатком рибозы аденилового нуклеотида, входящего в состав триплета ЦЦА транспортной РНК.



При этом образуется аминокислот-тРНК, который покидает активный центр аминокислот-тРНК-синтетазы (рис.12).



Рис. 12. Инициация белкового синтеза

8.2.4.2.3.Элонгация полипептидной цепи

1. В аминокислотный центр иницирующего комплекса с помощью фактора элонгации EF-1 и энергии гидролиза ГТФ поступает аминокислот-тРНК, антикодон которой комплементарен находящемуся там кодону мРНК. В результате оба центра рибосомы оказываются занятыми: в

пептидильном находится метионил-тРНК, а в аминоацильном - тРНК с присоединенной к ней второй аминокислотой (АК₂).

2. Между карбоксильной группой метионина и аминогруппой АК₂ за счет пептидилтрансферазной активности рРНК большой субъединицы рибосомы образуется пептидная связь. В результате метионин отщепляется от своей тРНК и оказывается в аминоацильном центре в составе дипептидил-тРНК.

3. После этого рибосома с участием транслоказы и энергии ГТФ перемещается вдоль матричной РНК на один кодон. В результате дипептидил-тРНК, которая не меняет своего положения относительно мРНК, оказывается в пептидильном центре, а в аминоацильном центре рибосомы открывается следующий кодон. При этом освободившаяся от метионина тРНК поступает в цитозоль, где может вновь соединиться со следующей молекулой метионина.

4. В соответствии с открывшимся кодоном мРНК в аминоацильный центр с помощью EF-1 и энергии ГТФ поступает следующий аминоацил-тРНК с АК₃. Пептидилтрансфераза катализирует перенос дипептида с дипептидил-тРНК в аминоацильный центр и образование пептидной связи между этим пептидом и АК₃.

5. Рибосома с участием транслоказы и энергии ГТФ вновь перемещается на следующий кодон вперед по направлению к 3'-концу мРНК. Таким образом, трипептидил-тРНК располагается в пептидильном центре, а аминоацильный центр с открывшимся в нем следующим кодоном мРНК вновь оказывается свободным. При этом тРНК, доставившая АК₂ оказывается вне рибосомы, отсоединяется от мРНК и поступает в цитозоль.

6. Такая последовательность повторяется многократно до тех пор, пока не откроется «немой» кодон (рис. 13).

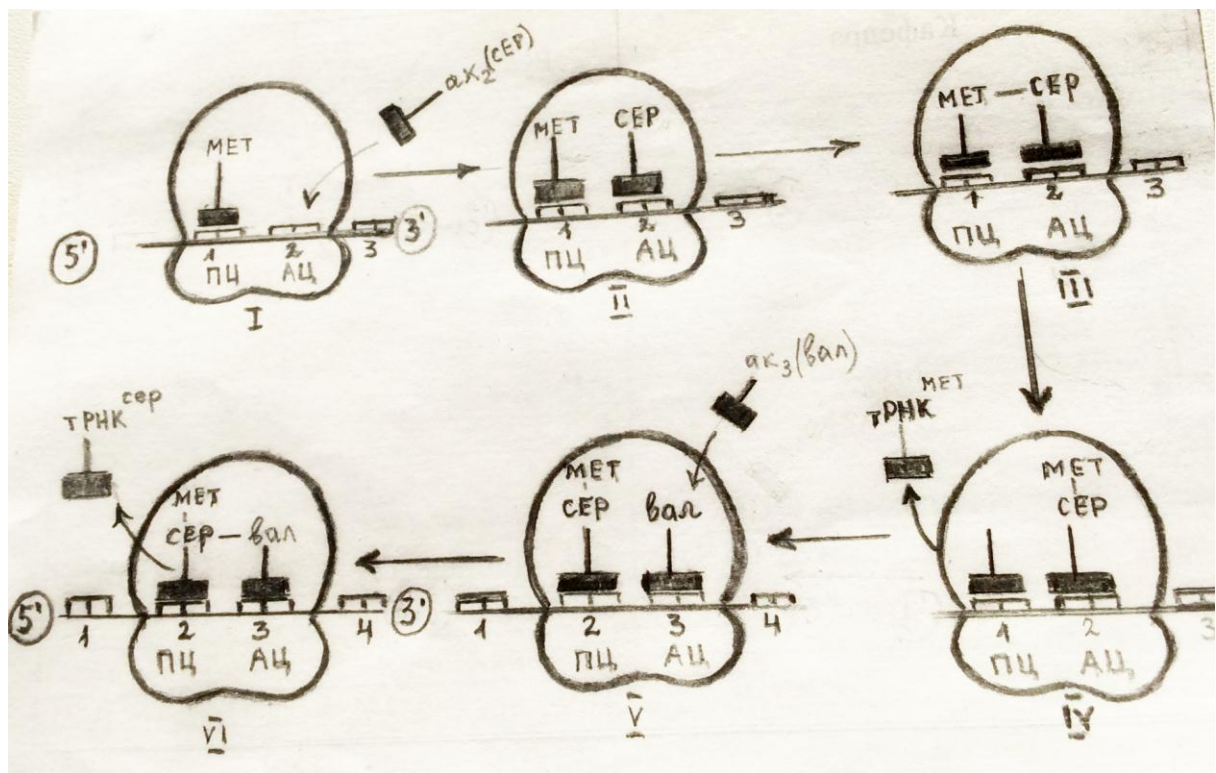


Рис.13. Элонгация полипептидной цепи.

8.2.4.2.4.Терминация синтеза полипептидной цепи

Как только в аминоконце откроется немой (нонсенс) кодон (УАГ, УАА или УГА), не комплементарный ни одному из антикодонов тРНК, в него проникают 2 белковых фактора терминации (RF 1,2,3- releasing factors) и ГТФ. За счет энергии ГТФ происходит гидролитическое отщепление от пептидил-тРНК полипептидной цепи и поступление её в цитозоль. Освободившаяся тРНК выходит из пептидильного центра, и рибосома диссоциирует на исходные субъединицы.

В процессе трансляции может одновременно участвовать много рибосом. Они располагаются на мРНК с интервалом около 100 нуклеотидов, образуя комплекс – полирибосому.

8.2.4.2.5. Посттрансляционная модификация

Образовавшиеся полипептидные цепи подвергаются структурным изменениям, либо будучи еще связанными с рибосомами, либо после завершения синтеза:

- поступающая в цитозоль с рибосомы полипептидная цепь самопроизвольно приобретает конформацию α -спирали или β -структуры;
- в эндоплазматическом ретикулуме формируется пространственная структура (фолдинг), в осуществлении которого принимают участие особые белки – шапероны, обеспечивающие правильную укладку полипептидной цепи - образуются олигомерные структуры;

- к полипептидной цепи присоединяются простетические группы;
- в процессе формирования третичной структуры полипептидная цепь так же, как и радикалы образующих её аминокислот, может подвергаться различной ковалентной модификации: фосфорилированию, йодированию, гидроксिलированию, карбоксилированию, метилированию, гликозилированию и др.;
- образуются дисульфидные связи между остатками цистеина, участвующие в образовании третичной структуры;
- с N-конца полипептидной цепи в ряде белков удаляется небольшой фрагмент – происходит ограниченный протеолиз. Он характерен для ферментов желудочно-кишечного тракта, некоторых гормонов (например, инсулина и др.).

8.2.4.3. Нарушение процесса трансляции

Практически любой этап процесса синтеза ДНК, РНК или белка может быть нарушен ингибиторами матричных синтезов, используемыми в медицине для лечения инфекционных заболеваний и опухолевых процессов. Среди них центральное место принадлежит антибиотикам. Антибиотики могут взаимодействовать с ДНК, подавляя процессы репликации и транскрипции и оказывая таким образом противоопухолевое действие. Они могут также блокировать синтез РНК или белка бактериальными рибосомами, не влияя на рибосомы эукариотических клеток, обладая в этом случае антибактериальным действием. Так:

- **актиномицин Д** способен встраиваться между двумя соседними парами Г-Ц в молекуле ДНК, что приводит к денатурации матрицы, нарушению репликации, а следовательно и транскрипции. Однако это соединение очень токсично и не применимо в клинике, а используется лишь в научно-исследовательской работе.
- **рифамицин** - ингибирует инициацию синтеза РНК. Он по своей структуре похож на АТФ или ГТФ, является конкурентным ингибитором РНК-полимеразы, что приводит к прекращению трансляции и вызывает гибель клетки;
- **тетрациклины**, которые ингибирует связывание очередной aa-тРНК в АЦ рибосомы;
- **левомицетин**, который ингибирует активность пептидилтрансферазы;

- **эритромицин**, который ингибирует Транслокацию;
- **пурамицин** – связывается с пептидил-тРНК и тормозит элонгацию.

Защиту организма от вирусных инфекций также обеспечивают **интерфероны**. Это гликопротеины, которые синтезируются в клетках эукариот в ответ на заражение вирусами. Связываясь с рецепторами на мембранах зараженных клеток они стимулируют синтез рибонуклеазы, расщепляющей мРНК вирусов, препятствуя распространению вирусных генов в клетках эукариот, стимулируют синтез протеинкиназ, фосфорилирующих и тем самым инактивирующих фактор инициации трансляции eIF2. В результате синтез белков в инфицированных клетках прекращается, Клетки погибают, но вместе с ними останавливается размножение вирусов и начинается выздоровление. Таким образом организм жертвуя небольшим количеством клеток, защищает себя от болезни.

8.2.4.4. Регуляция синтеза белка

Синтез белка регулируется таким образом, что в каждый данный момент времени в клетке образуется ровно столько белков, сколько ей необходимо для оптимального осуществления метаболических процессов. Наиболее детально механизм регулирования синтеза белка изучен у прокариот, для объяснения которого двумя французскими учеными Франсуа **Жакобом** и Жаком **Мано** была предложена гипотеза оперона.

Оперон – совокупность функционально связанных между собой структурных генов (кодирующих аминокислотную последовательность белков одного и того же метаболического пути), регуляторного гена, промотора и оператора, регулирующих их транскрипцию.

Ген-регулятор кодирует нуклеотидную последовательность мРНК, участвующей в синтезе **белка- репрессора**. Этот белок имеет два активных центра: один из них комплементарен оператору и, связываясь с ним, выключает транскрипцию структурных генов. Второй активный центр комплементарен белку индуктору, который присоединяясь к белку репрессору, изменяет его конформацию и делает невозможным взаимодействие последнего с оператором, а следовательно, и блокаду транскрипции структурных генов.

Промотор – фрагмент ДНК (38-40 нуклеотидов), являющийся комплементарным РНК-полимеразе; служит местом её присоединения к цепочке ДНК, обуславливая таким образом, начало транскрипции

Оператор – фрагмент ДНК (около 28 нуклеотидов) комплементарен белку-репрессору. Связывание оператора с белком репрессором не дает возможности РНК-полимеразе начать транскрипцию структурных генов.

Если оперон регулируется по механизму индукции (например, лактозный ген, Лас- оперон), то в отсутствие лактозы (индуктора) белок-репрессор связан с оператором. Поскольку участки оперона и промотора перекрываются, присоединение репрессора к оператору препятствует связыванию РНК-полимеразы с промотором и транскрипции структурных генов не происходит. При появлении в среде индуктора он присоединяется к белку-репрессору, изменяет его конформацию и снижает сродство к оператору. РНК-полимераза связывается с промотором и транскрибирует структурные гены (рис. 14)

При регуляции оперона по механизму репрессии (например, гистидиновый и триптофановый опероны) белок-репрессор не имеет сродства к оператору. Когда к нему присоединяется корепрессор (гистидин или триптофан), комплекс белок репрессор-корепрессор изменяет конформацию, приобретает сродство к оператору, связывается с ним и прекращает транскрипцию. Таким образом происходит репрессия синтеза ферментов конечным продуктом последовательных реакций – ретроингибирование (рис. 15).

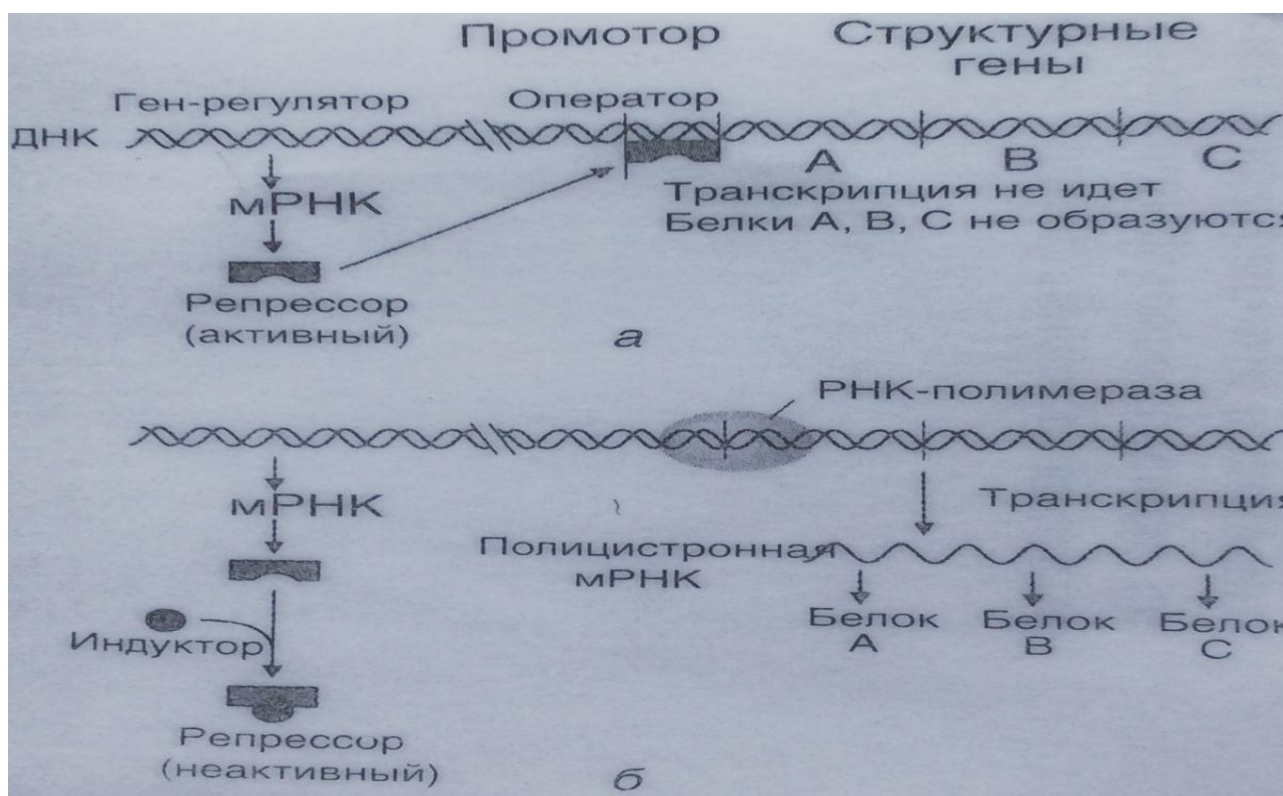


Рис. 14. Оперон, регулируемый по механизму индукции

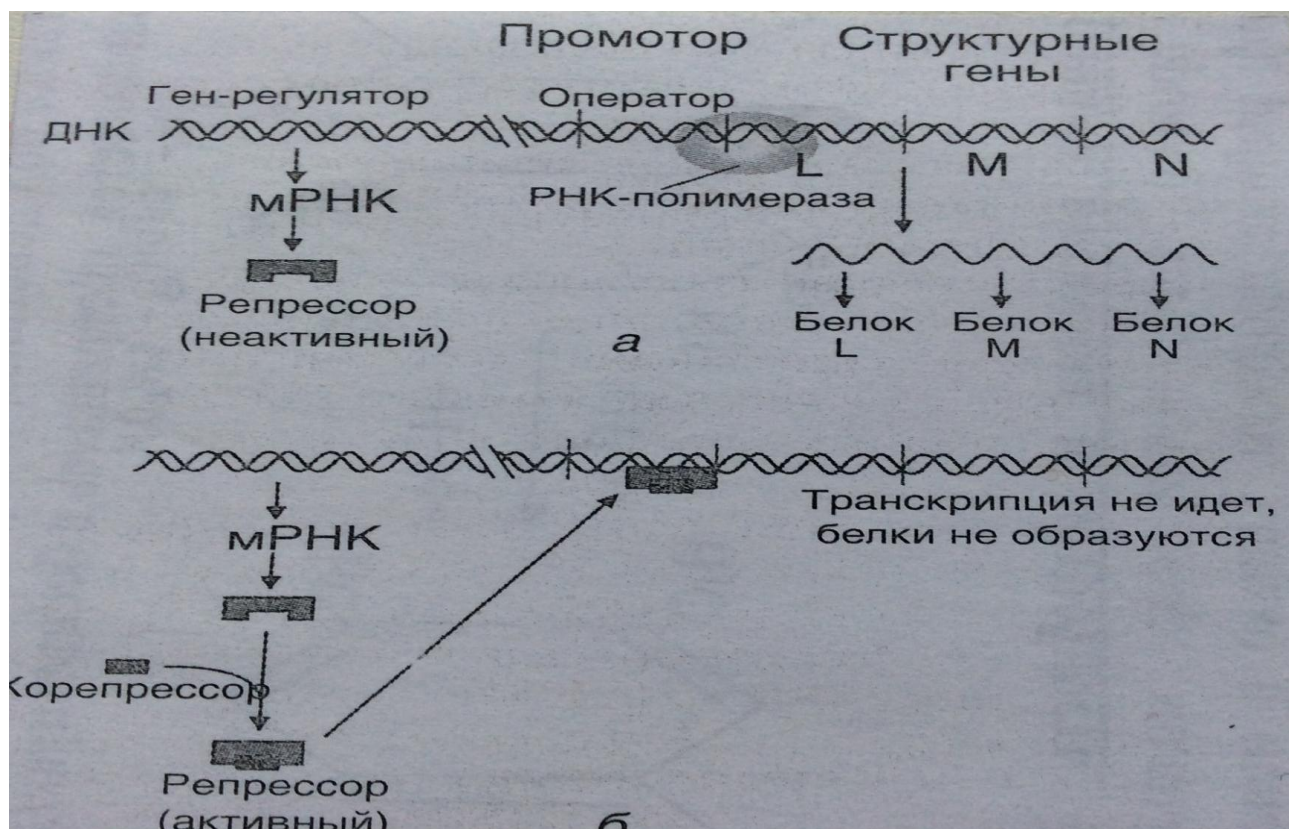


Рис. 15. Оперон, регулируемый по механизму репрессии

Контрольные вопросы

Из предложенных ответов выберите один правильный.

1. Транскрипция

- а) всегда начинается с кодона АУГ
- б) требует наличия праймера
- в) протекает по типу образования ферментов Оказаки
- г) требует локального расхождения двойной спирали
- д) протекает перед клеточным делением.

2. Иницирующий кодон

- а) включает нуклеотидную последовательность ЦЦА
- б) входит в состав «кэпа»
- в) связывается с метионил-тРНК
- г) формирует пептидильный центр
- д) связывается с пептидилтрансферазой

3. В ходе репарации ДНК участвуют

- а) ДНК-полимераза, эндонуклеаза, ДНК-лигаза
- б) праймаза, ДНК-полимераза, ревертаза
- в) ДНК-полимераза, хеликаза, топоизомераза

- г) ДНК-полимераза, РНК-полимераза, ДНК-лигаза
- д) ДНК-полимераза, хеликаза, ревертаза.

4. Промотор

- а) участок, комплементарный праймеру
- б) включает нуклеотидную последовательность ЦЦА
- в) участок начала транскрипции
- г) входит в состав терминирующего кодона
- д) участвует в образовании аминоксил-тРНК.

5. Молекула РНК

- а) состоит из двух полинуклеотидных цепей
- б) имеет одинаковое строение 5' и 3' –концов
- в) не имеет спирализованных участков
- г) построена из рибонуклеозидмонофосфатных остатков
- д) синтезируется в ход репликации.

6. Формирование вторичной структуры ДНК происходит за счет:

- а) водородных связей
- б) ионных связей
- в) дисульфидных связей
- г) сложноэфирных связей
- д) ковалентных связей

7. Матрицей в репликации является:

- а) ДНК
- б) мРНК
- в) тРНК
- г) рРНК
- д) пре- мРНК

8. Матрицей в синтезе белка является

- а) ДНК
- б) мРНК
- в) тРНК
- г) рРНК
- д) пре мРНК

9. Рибосомы состоят только из:

- а) белков
- б) РНК
- в) РНК и белков
- г) ДНК и белков
- д) нуклеосом

10. На рибосоме тРНК связывается с:

- а) мРНК
- б) ДНК
- в) АТФ
- г) аминоацил-тРНК-синтетазой
- д) факторами терминации

11. Элонгация полипептидной цепи

- а) осуществляется за счет энергии АТФ
- б) протекает с участием пептидилтрансферазы и энергии ГТФ
- в) протекает за счет 3'-конца молекулы аминоацил - т РНК
- г) завершается образованием функционально активного белка
- д) начинается с присоединения ТАТА-фактора.

12. Вторичная структура ДНК стабилизирована водородными связями между:

- а) А и Т
- б) А и У
- в) А и Г
- г) Ц и У
- д) У и Г

13. Репликация

- а) протекает в фазу покоя
- б) предполагает образование репликативной вилки
- в) начинается с промотора
- г) требует наличия ТАТА-фактора
- д) завершается образованием РНК

14. Транскрипция

- а) является полуконсервативным синтезом
- б) всегда начинается с кодона АУГ
- в) протекает перед клеточным делением
- г) завершается с участием немого кодона
- д) протекает с участием ТАТА-фактора

15. В ходе транскрипции образуются:

- а) ДНК
- б) мРНК
- в) тРНК
- в) ТАТА-фактор
- д) аминоацил- т РНК- синтетаза.

16. Антибиотик актиномицин нарушает синтез белка у бактерий вследствие:

- а) встраивается между двумя соседними парами Г-Ц в молекуле ДНК
- б) ингибирует инициацию синтеза РНК
- в) ингибирует связывание очередной аа-тРНК в аминоацильный центр

рибосомы

- г) ингибирует активность пептидилтрансферазы
- д) тормозит транслокацию

17. ДНК-полимераза III

- а) присоединяет дезоксирибонуклеотиды к 3'-концу праймера
- б) присоединяет дезоксирибонуклеотиды к 5'-концу праймера
- в) разрывает водородные связи между комплементарными основаниями
- г) разрывает 3',5'-фосфодиэфирные связи
- д) участвует в процессе транскрипции

18. В образовании репликативной вилки участвуют:

- а) топоизомераза, хеликаза, ДСБ-белки
- б) топоизомераза, ДНК-полимераза III, ДСБ-белки
- в) хеликаза, ревертаза, ДСБ-белки
- г) топоизомераза, ДНК-полимераза I, ДСБ-белки
- д) ДНК-полимераза I, ДНК-полимераза-III, ДСБ-белки

19. Синтез «отстающей» цепи ДНК при репликации протекает:

- а) непрерывно, но с малой скоростью
- б) начинается с 5'-конца праймера
- в) прерывисто с образованием фрагментов Оказаки
- г) при участии ДНК-полимеразы III и хеликазы
- д) при участии ДНК-полимеразы III и ревертазы

20. Фрагменты Оказаки:

- а) участвуют в транскрипции
- б) участвуют в образовании ведущей цепи ДНК
- в) участвуют в образовании отстающей цепи ДНК
- г) образуются в процессе репарации ДНК
- д) образуются под действием топоизомеразы

21. Синтез РНК является:

- а) ассиметричным, консервативным
- б) симметричным, консервативным
- в) ассиметричным, полуконсервативным,
- г) симметричным, полуконсервативным
- д) ассиметричным, вырожденным

21. Созревание транскрипта включает:

- а) образование вторичной структуры РНК
- б) образование 3', 5' - фосфодиэфирных связей
- в) отделение РНК от молекулы ДНК
- г) сплайсинг, образование «кэп»
- д) образование на 5'-конце полинуклеотида ААА

22. ТАТА-фактор:

- а) соединение белка с ТАТА-последовательностью нуклеотидов ДНК
- б) участвует в отделении РНК от ДНК
- в) входит в состав РНК-полимеразы
- г) входит в состав ДНК-полимеразы III
- д) является частью интронов в молекуле ДНК

23. Иницирующий комплекс состоит из

- а) малой и большой субъединиц рибосомы, мРНК и метионил-тРНК
- б) малой субъединицы рибосомы, пептидильного и аминокцильного центра
- в) малой и большой субъединиц рибосомы, аминокцил тРНК-синтетазы
- г) малой субъединицы рибосомы и мРНК
- д) малой субъединицы рибосомы и метионил-тРНК

24. Пептидильный и аминокцильный центры формируются на:

- а) антикодоне
- б) малой субъединице рибосомы
- в) большой субъединице рибосомы,
- г) поверхности мРНК
- д) контактирующих поверхностях субъединиц рибосомы

25. В элонгации полипептидной цепи принимают участие:

- а) аминокцил-тРНК синтетаза, ТАТА-фактор
- б) пептидилтрансфераза, факторы элонгации
- в) транслоказа, ТАТА-фактор
- г) факторы элонгации, фрагменты Оказаки
- д) энергия гидролиза АТФ, транслоказа

26. Регуляция оперона по механизму индукции осуществляется путем:

- а) присоединения репрессора к оператору
- б) присоединения корепрессора к репрессору
- в) присоединения индуктора к оператору
- г) связывания репрессора индуктором
- д) взаимодействия индуктора с РНК-полимеразой

27. Ген-регулятор

- а) стимулирует синтез белка-репрессора.
- б) включает транскрипцию структурных генов
- в) стимулирует связывание корепрессора с репрессором
- г) регулирует связывание индуктора с промотором
- д) регулирует активность РНК-полимеразы

28. Антибиотик левомецетин нарушает синтез белка у бактерии вследствие:

- а) ингибирования РНК-полимеразы
- б) ингибирования пептидилтрансферазы
- в) ингибирования транслокации

- г) нарушения инициации трансляции
- д) активации рибонуклеазы

Эталоны

ответов:

1г,2в,3а,4в,5г,6а,7а,8б,9в,10а,11б,12а,13б,14д,15г,16а,17а,18а,19в,20в,21г,22а,23а,24а,25а,26г,27а.28б.