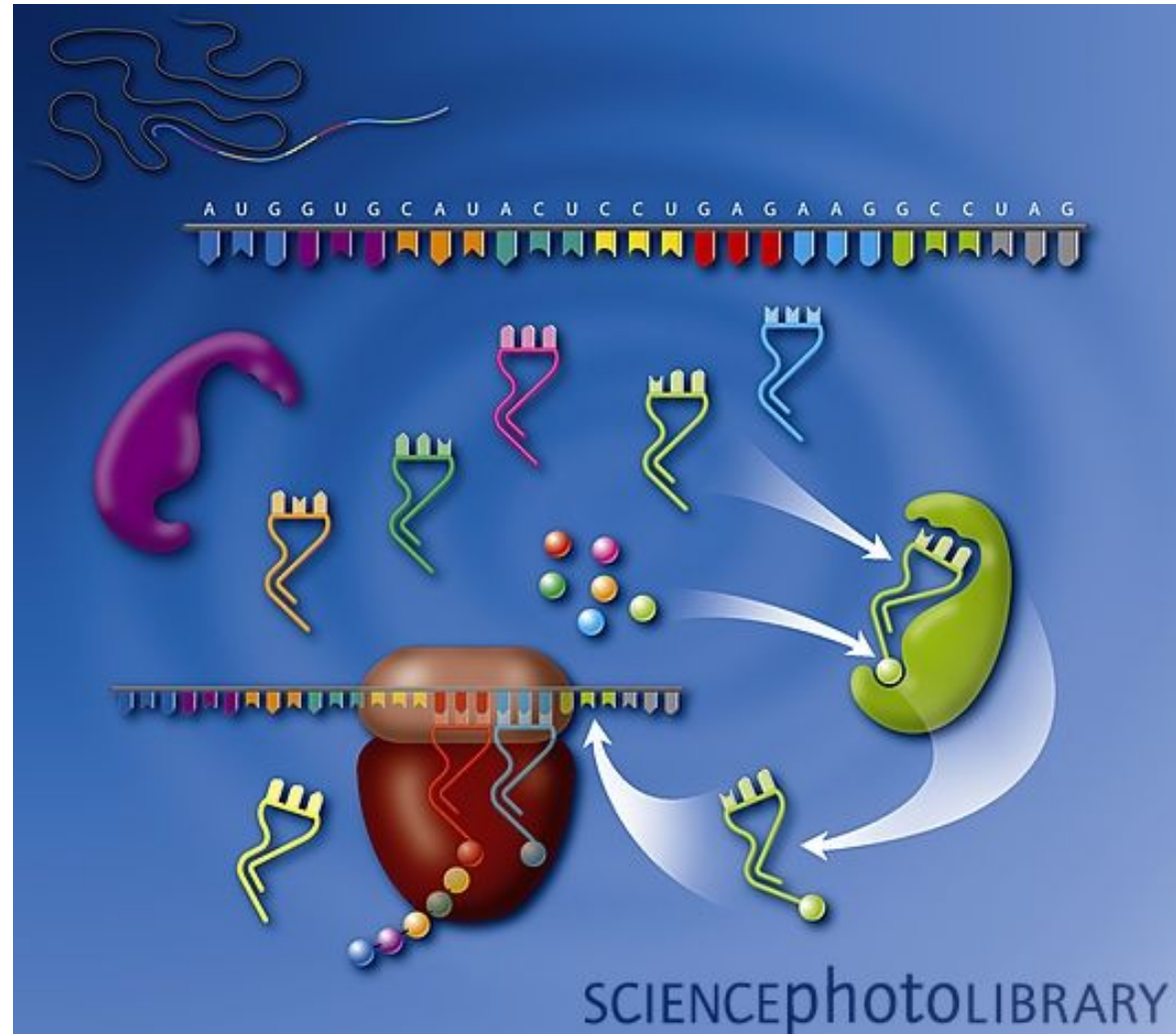
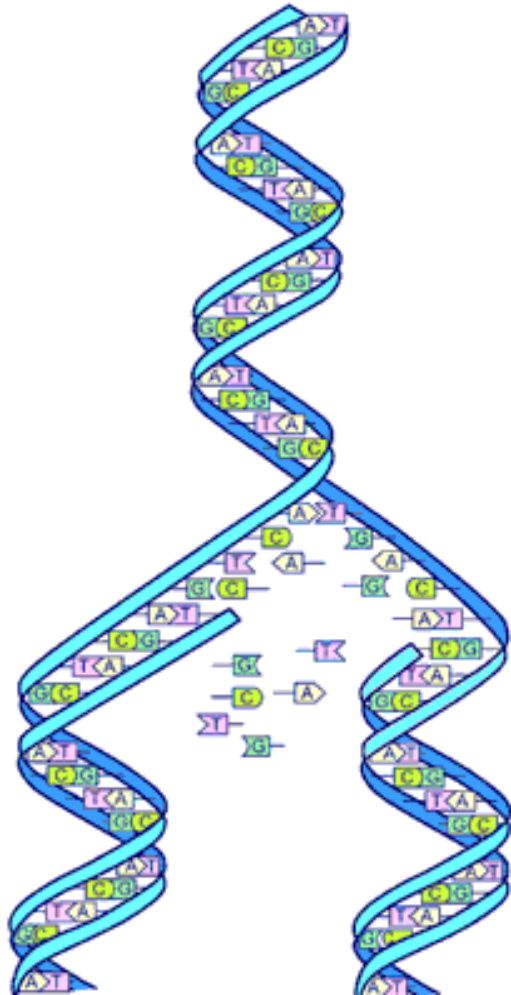
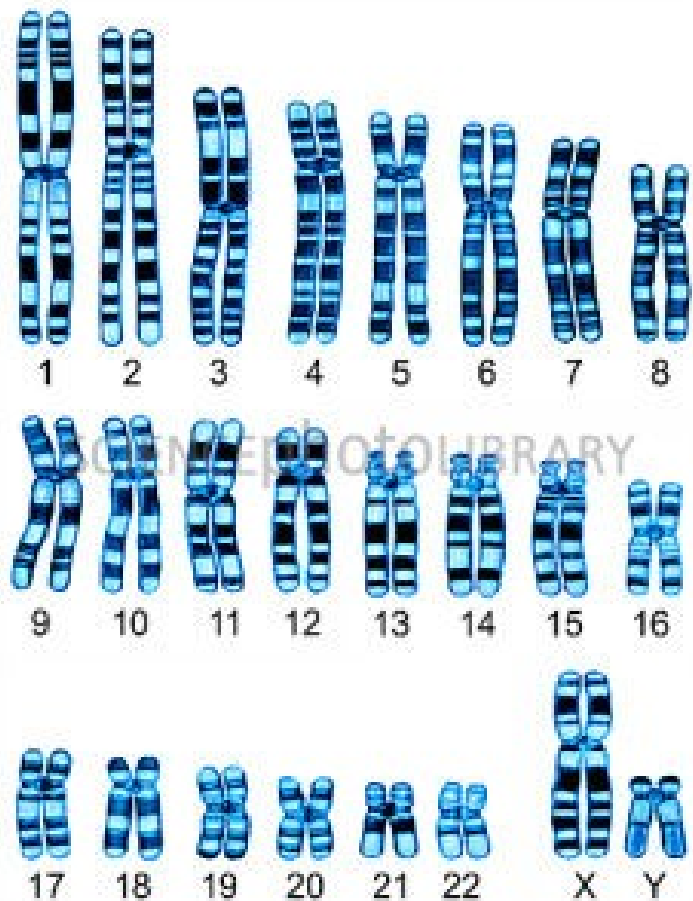


Лекція. Реплікація. Транскрипція. Трансляція.



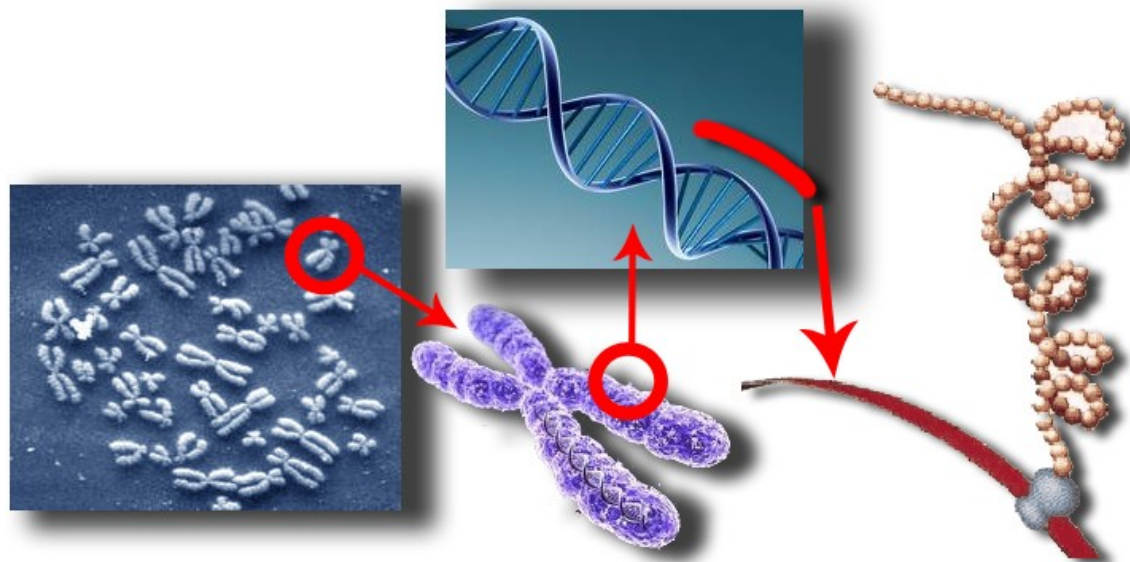


Геном людини

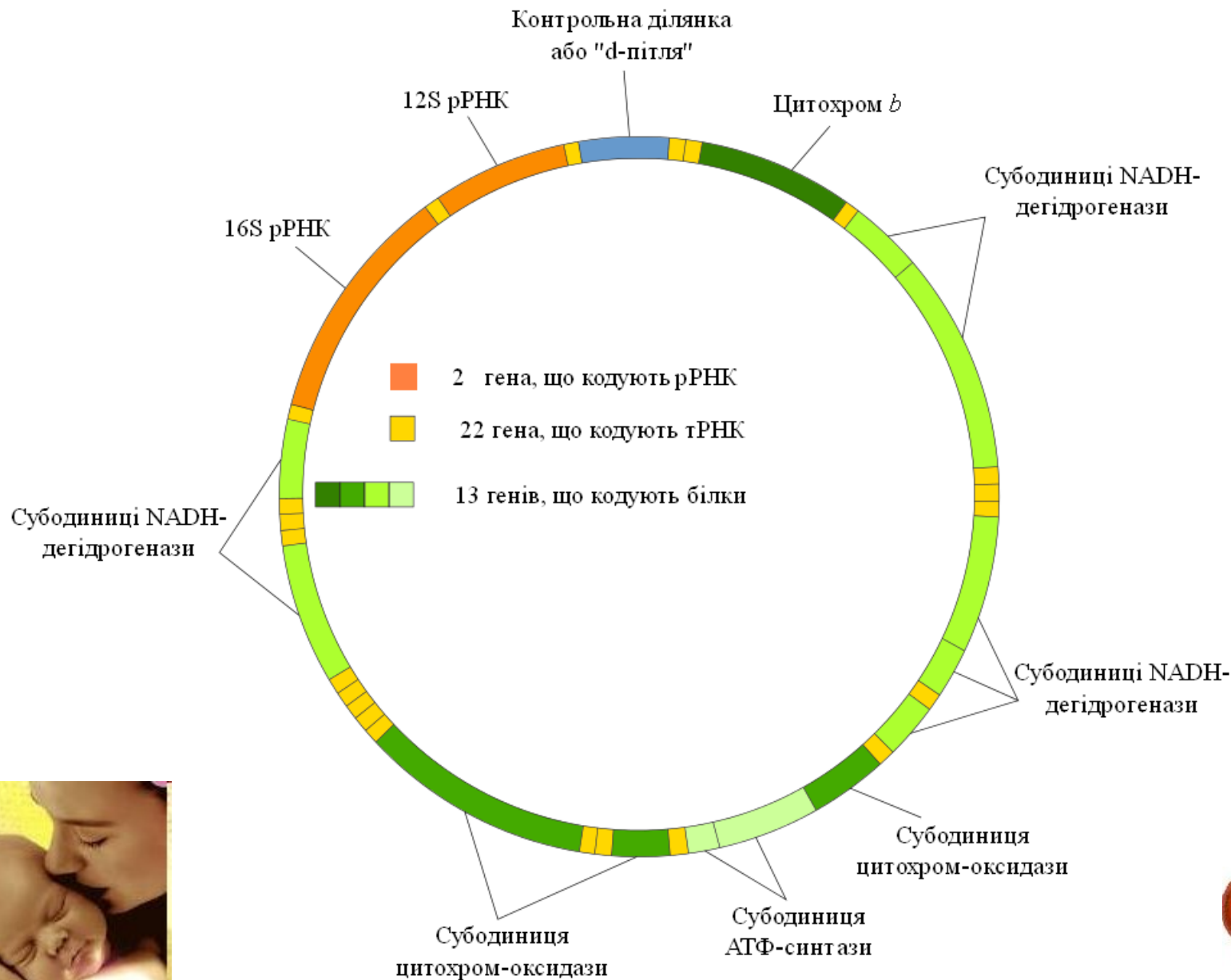
30 000 генів

23 пари хромосом

100-300 тис білків



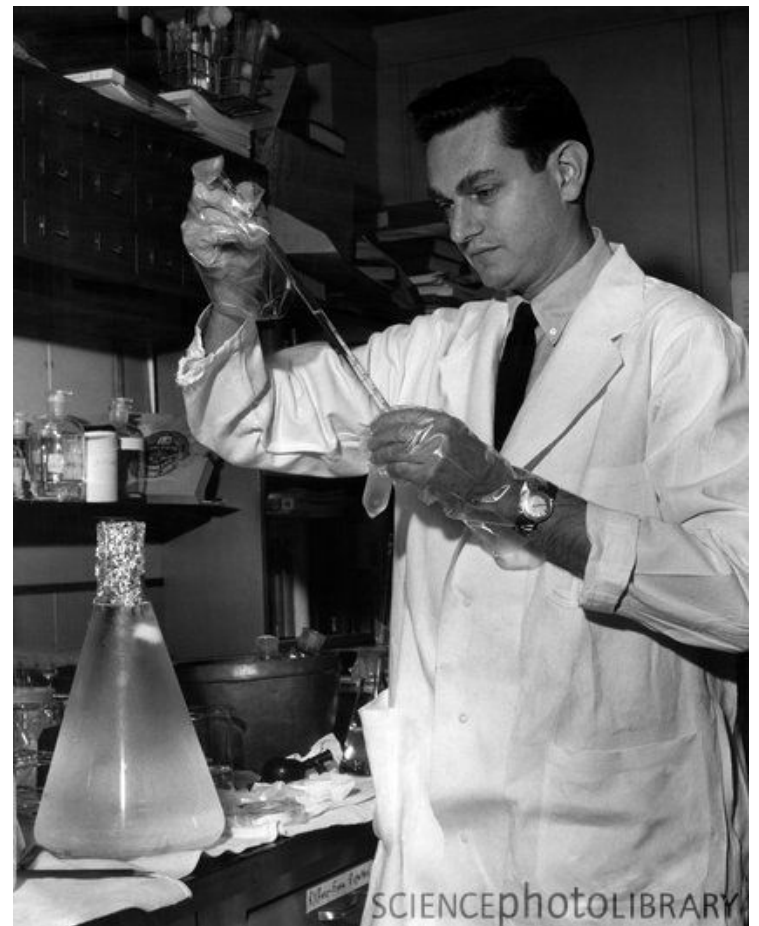
Генетична система мітохондрій – кільцева ДНК, 37 генів



Генетичний код - спосіб запису інформації про послідовність амінокислот в білках за допомогою нуклеотидів в ДНК або РНК.

Ген - ділянка молекули ДНК, що несе цілісну інформацію про будову 1 молекули білка або РНК.

Маршал Ніренберг (1927-2010 р.) – в 1961 р. розшифрував генетичний код



Властивості генетичного коду:

1. Триплетність
2. Універсальність
3. Виродженість

64 кодони (4^3 комбінації нуклеотидів):

61 – змістовні (кодують амінокислоти)

AUG – ініціюючий кодон (**метіонін** - еукар., формілметіонін – прокар.)

3 - UAA, UAG, UGA - термінальні (нонсенс-кодони).

4. Специфічність
5. Односпрямованість ($5' \rightarrow 3'$).
6. Безперервність
7. Код не перекривається

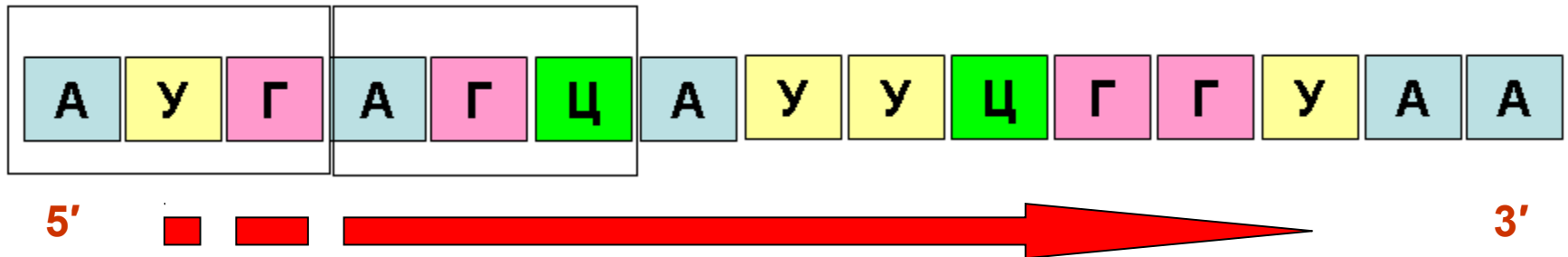
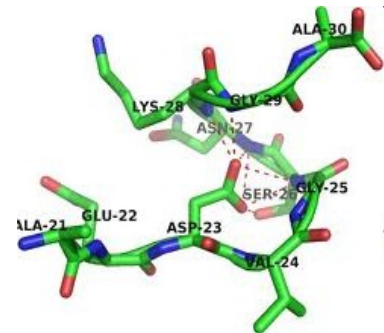
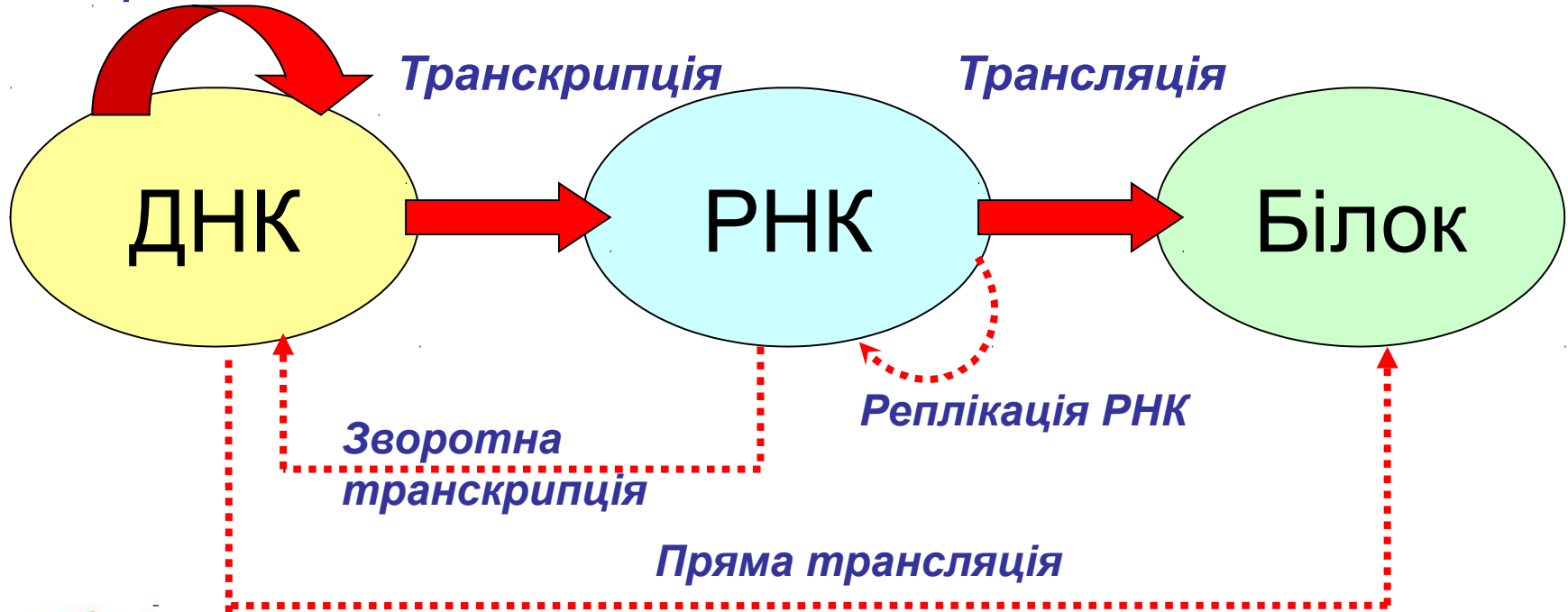


Таблица генетического кода

Нуклеотид					
1-й	2-й				3-й
	У	Ц	А	Г	
У	УУУ } Фенилаланин УУЦ } УУА } Лейцин УУГ }	УЦУ } УЦЦ } Серин УЦА } УЦГ }	УАУ } Тирозин УАЦ } УАА } стоп-кодона УАГ }	УГУ } Цистеин УГЦ } УГА } стоп-кодона УГГ } Триптофан	У Ц А Г
Ц	ЦУУ } ЦУЦ } Лейцин ЦУА } ЦУГ }	ЦЦУ } ЦЦЦ } Пролин ЦЦА } ЦЦГ }	ЦАУ } Гистидин ЦАЦ } ЦАА } Глутамин ЦАГ }	ЦГУ } ЦГЦ } Аргинин ЦГА } ЦГГ }	У Ц А Г
А	АУУ } АУЦ } Изолейцин АУА } АУГ } Метионин <i>старт-кодона</i>	АЦУ } АЦЦ } Треонин АЦА } АЦГ }	ААУ } ААЦ } Аспарагин ААА } ААГ } Лизин	АГУ } АГЦ } Серин АГА } АГГ } Аргинин	У Ц А Г
Г	ГУУ } ГУЦ } Валин ГУА } ГУГ }	ГЦУ } ГЦЦ } Аланин ГЦА } ГЦГ }	ГАУ } Аспарагиновая кислота ГАЦ } ГАА } Глутаминовая ГАГ } кислота	ГГУ } ГГЦ } Глицин ГГА } ГГГ }	У Ц А Г

Напрямок та механізм передачі генетичної інформації – центральна догма молекулярної біології

Реплікація



Реплікація - процес подвоєння ДНК.

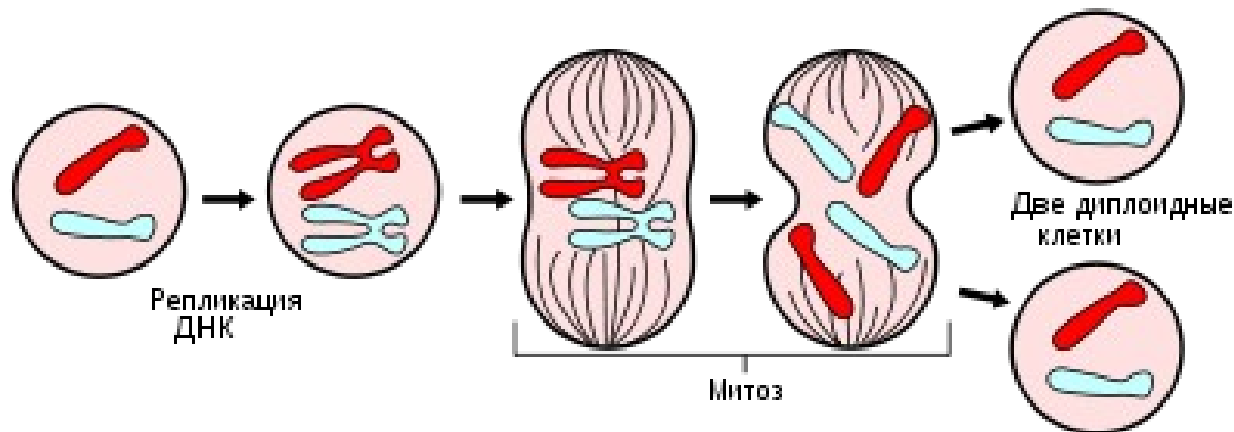
Синтез дочірньої ДНК на матриці ДНК за принципом комплементарності.

Транскрипція - синтез РНК на матриці ДНК за принципом комплементарності.

Трансляція – біосинтез білка у рибосомах (матричний синтез білка). Синтез поліпептидного ланцюга у рибосомах відповідно генетичного коду мРНК.

Реплікація - подвоєння ДНК

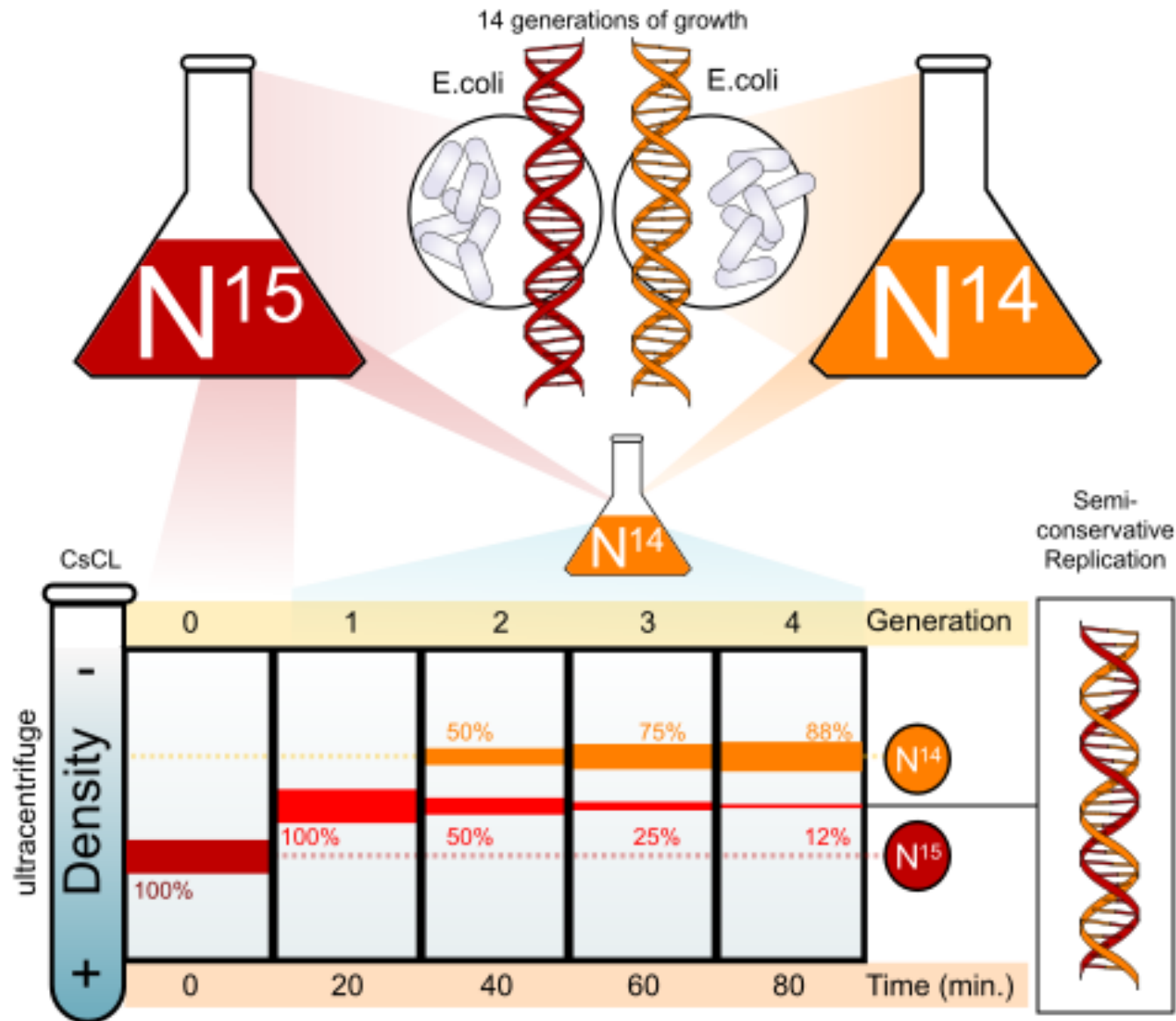
- ♥ Ядро, частково мітохондрії
- ♥ S-фаза клітинного циклу (підготовка до мітозу).
- ♥ Рівноцінний розподіл спадкової інформації під час мітозу.

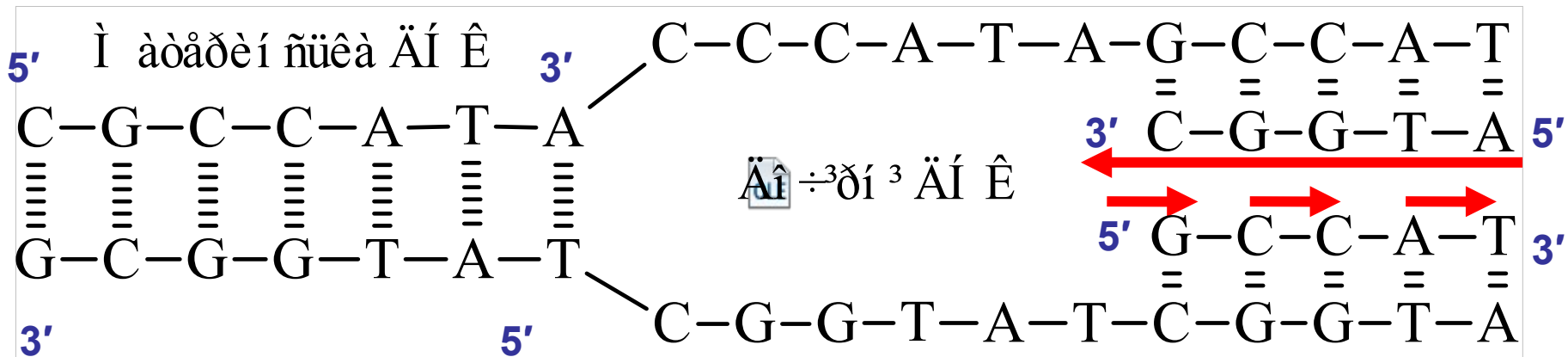


Процес реплікації є

1. **Матричним** - синтез нових ланцюгів ДНК йде на ДНК-матриці (висока точність!)
2. **Симетричним** – матрицями одночасно слугують обидва ланцюги материнської ДНК
3. **Напівконсервативним** - молекула дочірньої ДНК складається з 1 материнського та 1 нового ланцюгів
4. Принцип **комплементарності**
5. Напрямок реплікації – **5' → 3' (!!!)**
6. Реплікації піддається вся молекула ДНК.

Доказ напівконсервативного механізму реплікації - експеримент Мезельсона-Сталя (1957 р.)





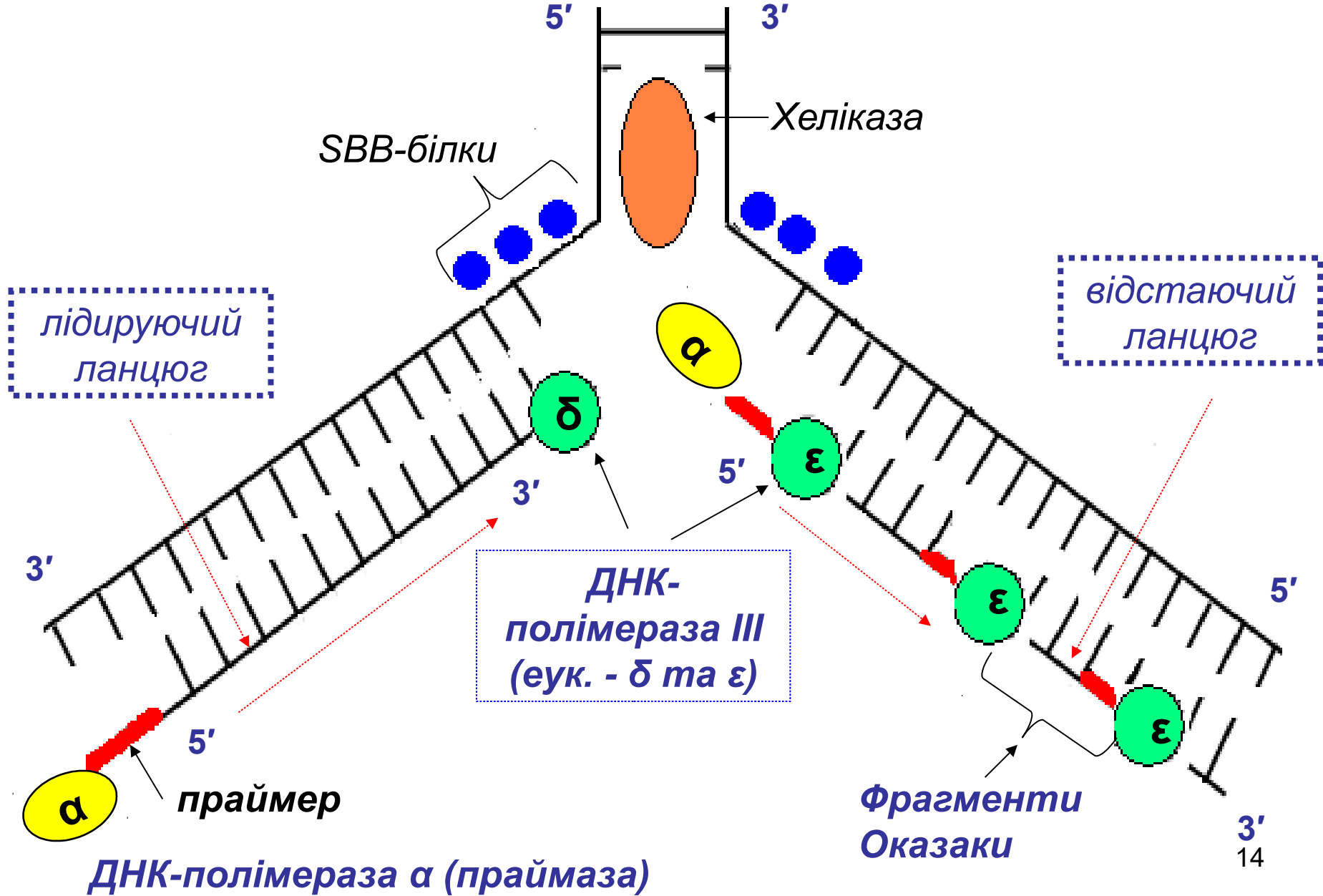
Лідируючий ланцюг – безперервний, синтезується на матриці «3'→5'»

Відстаючий ланцюг - синтезується фрагментами на матриці ланцюга «5'→3'»

Субстрати та фактори реплікації

1. ДНК-матриця
2. Будівельний матеріал та джерела енергії – дАТФ, дГТФ, дЦТФ, ТТФ
3. **Праймер** - РНК-затравка
4. Субстрати для праймера – АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ.
5. Ферменти
6. ДНК-зв'язуючі білки (SSB-білки)
7. Mg^{2+} , Zn^{2+}

Реплікативна вилка



Ферменти ініціації реплікації

Прокаріоти	Еукаріоти	Функція
ДНК-гіраза	Топоізомераза	Деспіралізує ДНК ☹ розриває 5'-3' фосфодиефірні зв'язки і вносить негативні витки
Хеліказа	Хеліказа	Розплітає ДНК – розриває водневі зв'язки між азотистими основами за участі АТФ
Праймаза	ДНК- полімераза α	Ініціює реплікацію: - розпізнавання точки реплікації - синтез праймера (8-10 рибонуклеотидів) - приєднання до праймеру ≈ 50 дезоксирибонуклеотидів

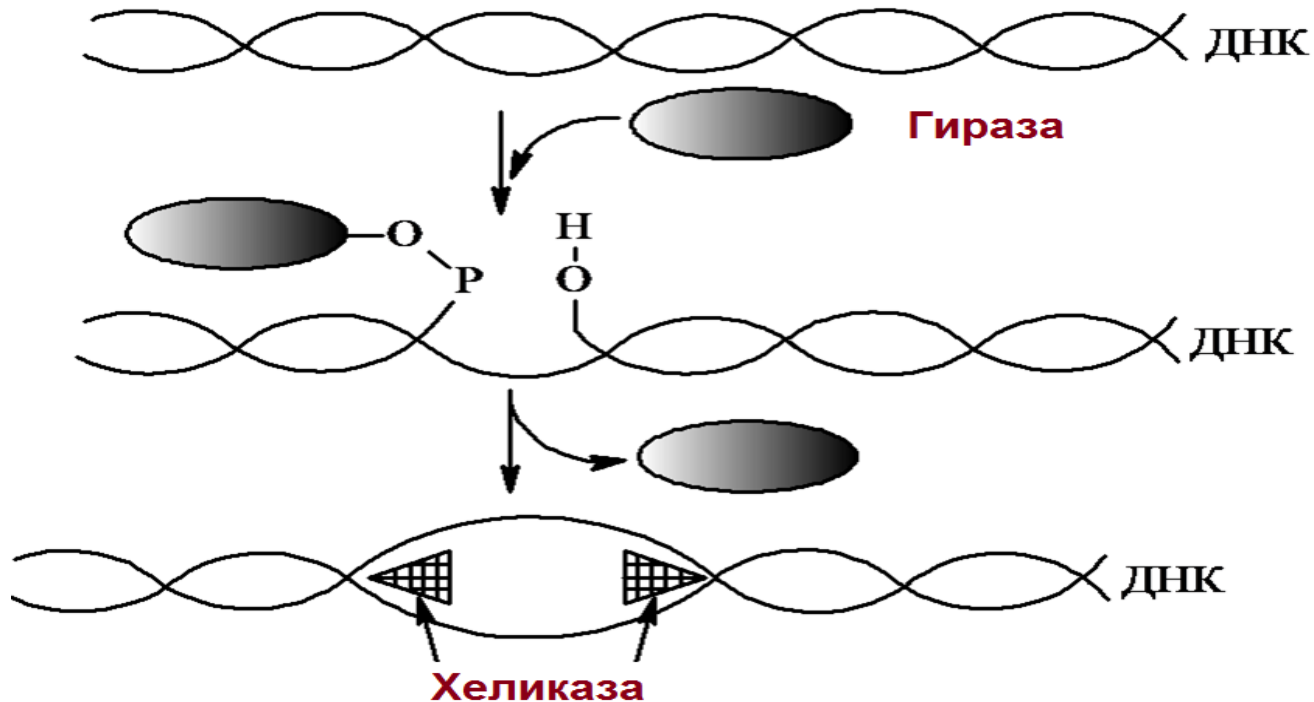
Прокаріоти	Еукаріоти	Функція
ДНК-полімераза III	ДНК-полімераза δ	Синтез лідируючого ланцюга (5'→3') <ul style="list-style-type: none"> • не починає синтез з “0” • суперточність копіювання • виправляє помилки: 3'→5' екзонуклеазна активність • АТФ-азна активність
	ДНК-полімераза ϵ	Синтез відстаючого ланцюга (фрагменти Оказаки ≈ 1500 нукл.)
ДНК-полімераза I	ДНК-полімераза β	Видалення праймерів, заповнення пустот дезокрисиронуклеотидами

Прокаріоти	Еукаріоти	Функція
ДНК-полімераза II	ДНК-полімераза ϵ, β	Репарація ДНК вирізають “помилки” – некомплементарні нуклеотиди
ДНК-лігаза	ДНК-лігаза	Зшивання фрагментів відстаючого ланцюга
-	ДНК-полімераза γ	Реплікація мітохондріальної ДНК

Етапи реплікації

1. Ініціація – утворення реплікативної вилки з напрямком руху **5'→3'**

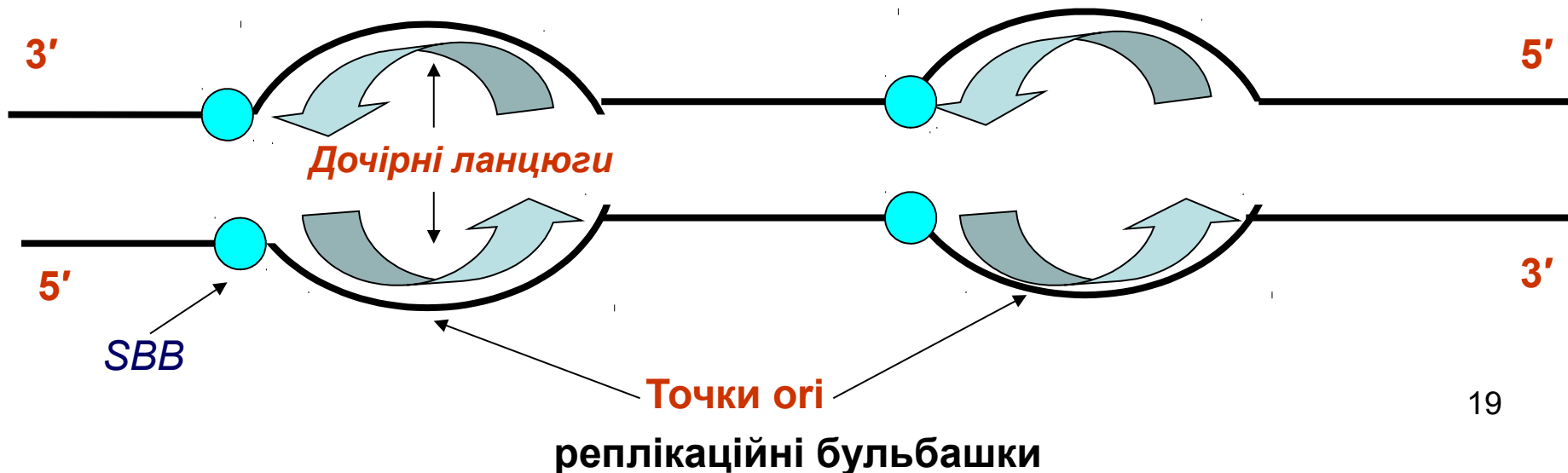
Деспіралізація, розплітання ДНК, синтез праймера



(стимулюють фактори росту)

«Точки ori» = оріджини (англ. *origin* – початок) = **сайти початку реплікації**, де формуються реплікативні вилки
(100-1000)

Багатоцентрова реплікація (від 100 до кількох тисяч точок) забезпечує подвоєння хромосом ссавців за 9 годин



2. Елонгація – подовження ланцюгів ДНК в напрямку 5'→3'

Лідируючий ланцюг:

- на матриці «3'→5'»
- 1 праймер
- ДНК-полімераза δ
- безперервний
- рух - у напрямку вилки реплікації

Відстаючий ланцюг :

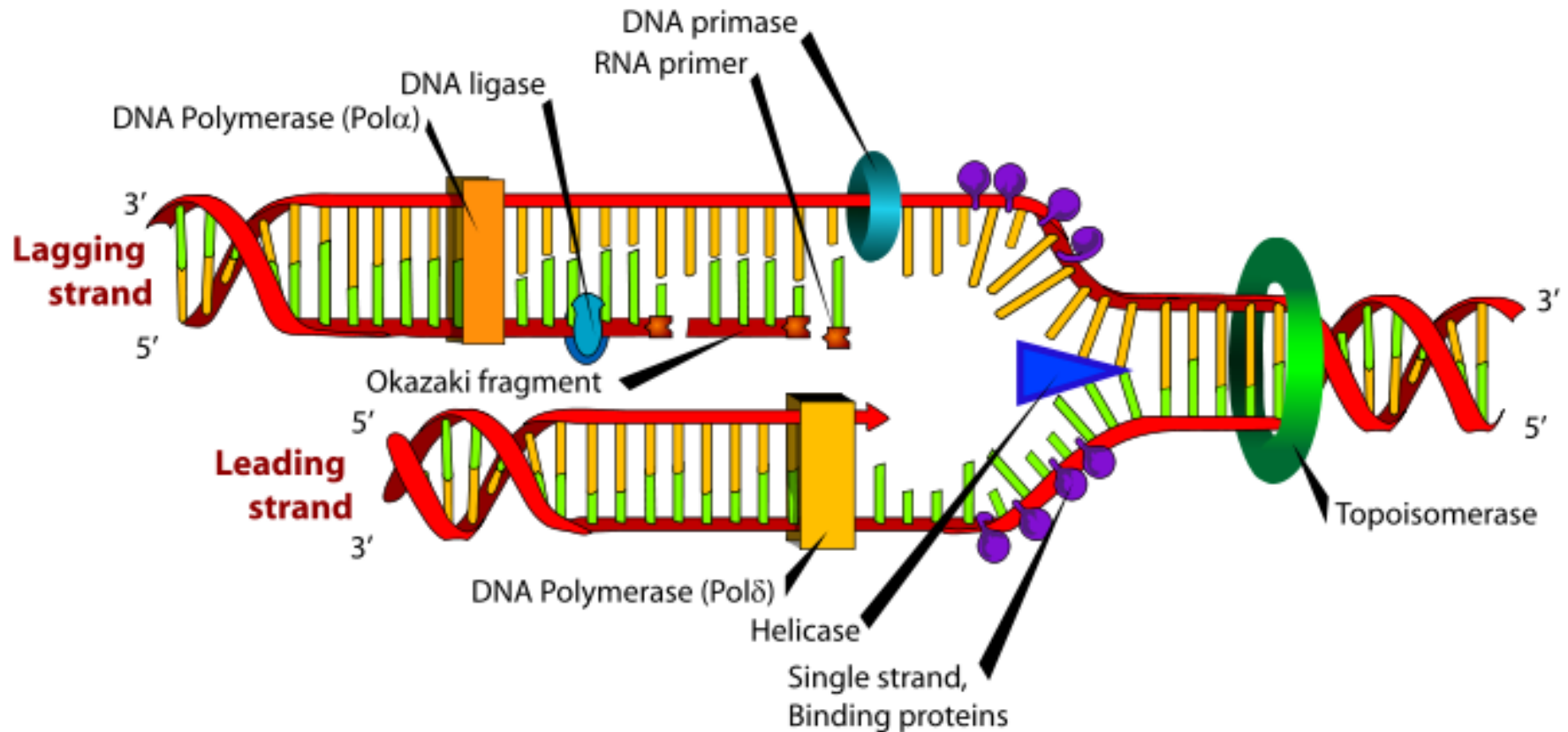
- на матриці «5'→3'»
- фрагменти Оказаки:
= праймер + 1-2 тис дНМФ
- ДНК-полімерази α та ϵ
- рух - протилежно вилці

500- 5 000 пар нуклеотидів /хв

ДНК-полімераза β - видаляє праймери та заповнює пустоти дезоксирибонуклеотидами⁰

3. Термінація –

- ☹️ зустріч 2-х вилок реплікації
- ☹️ зшивання відстаючого ланцюга
- ☹️ метилування ДНК
- ☹️ спіралізація та суперспіралізація ДНК



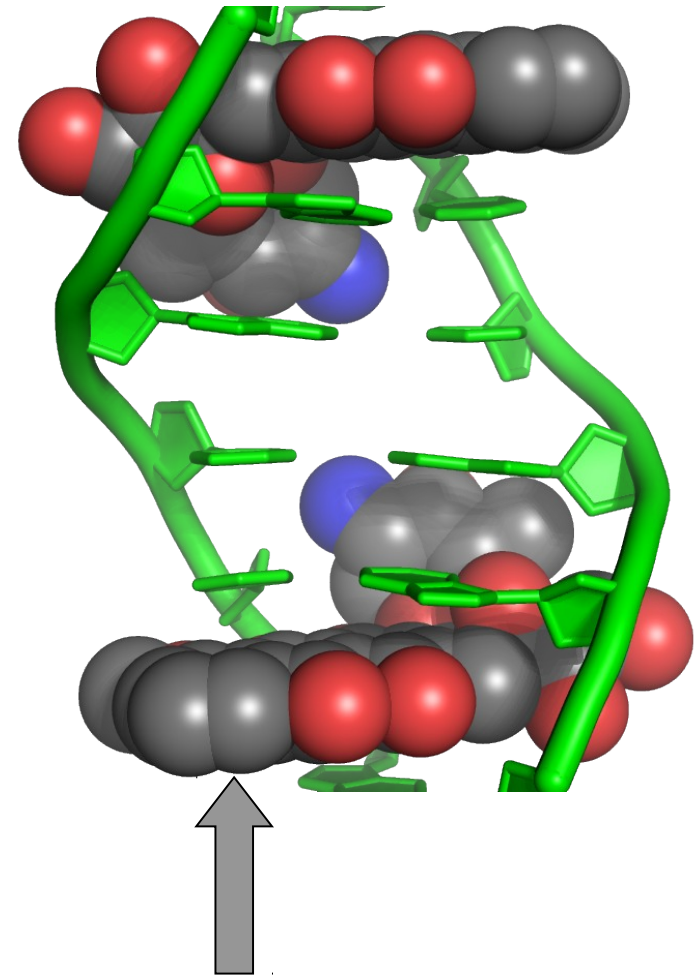
Інгібітори реплікації

1. Антибіотики

Афідиколін – інгібітор ДНК-полімераз α , δ , ϵ

Доксорубіцин, мітоміцини, актиноміцин D – інтеркалятори

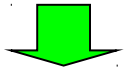
2. **Фторхінолони** – інгібітори ДНК-гірази прокариот !!!



Інтеркаляція між парами Г-Ц

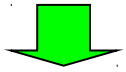
Феномен недореплікації ДНК

Видалення праймерів

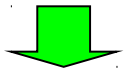


Недореплікованість матричних ланцюгів з 3'-кінця

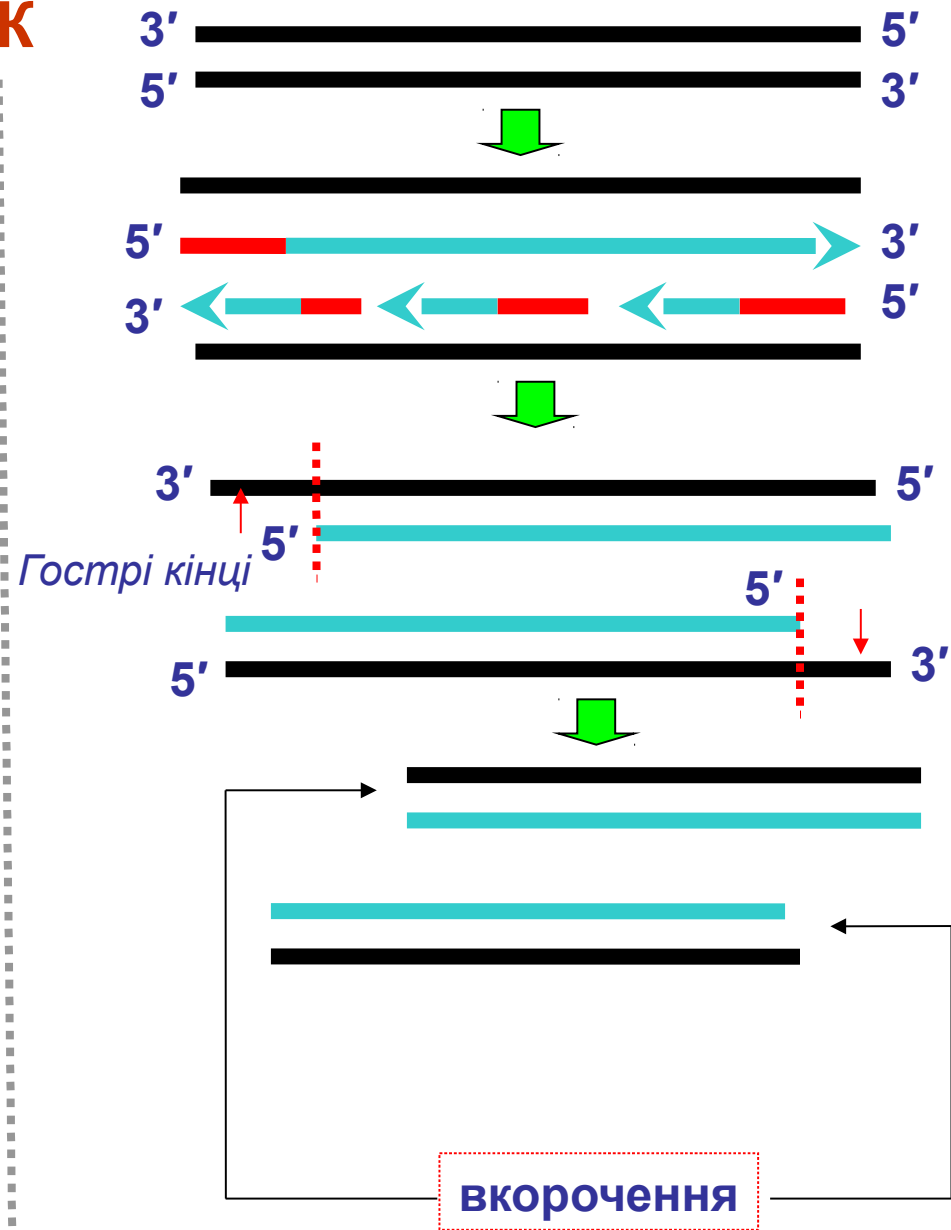
Дочірні ланцюги є коротшими за материнські з 5'-кінця



“Гострі кінці” зрізають екзонуклеази – “вирівнюють” молекули ДНК



При кожній реплікації відбувається вкорочення хромосом \approx на 50-60 нуклеотидів



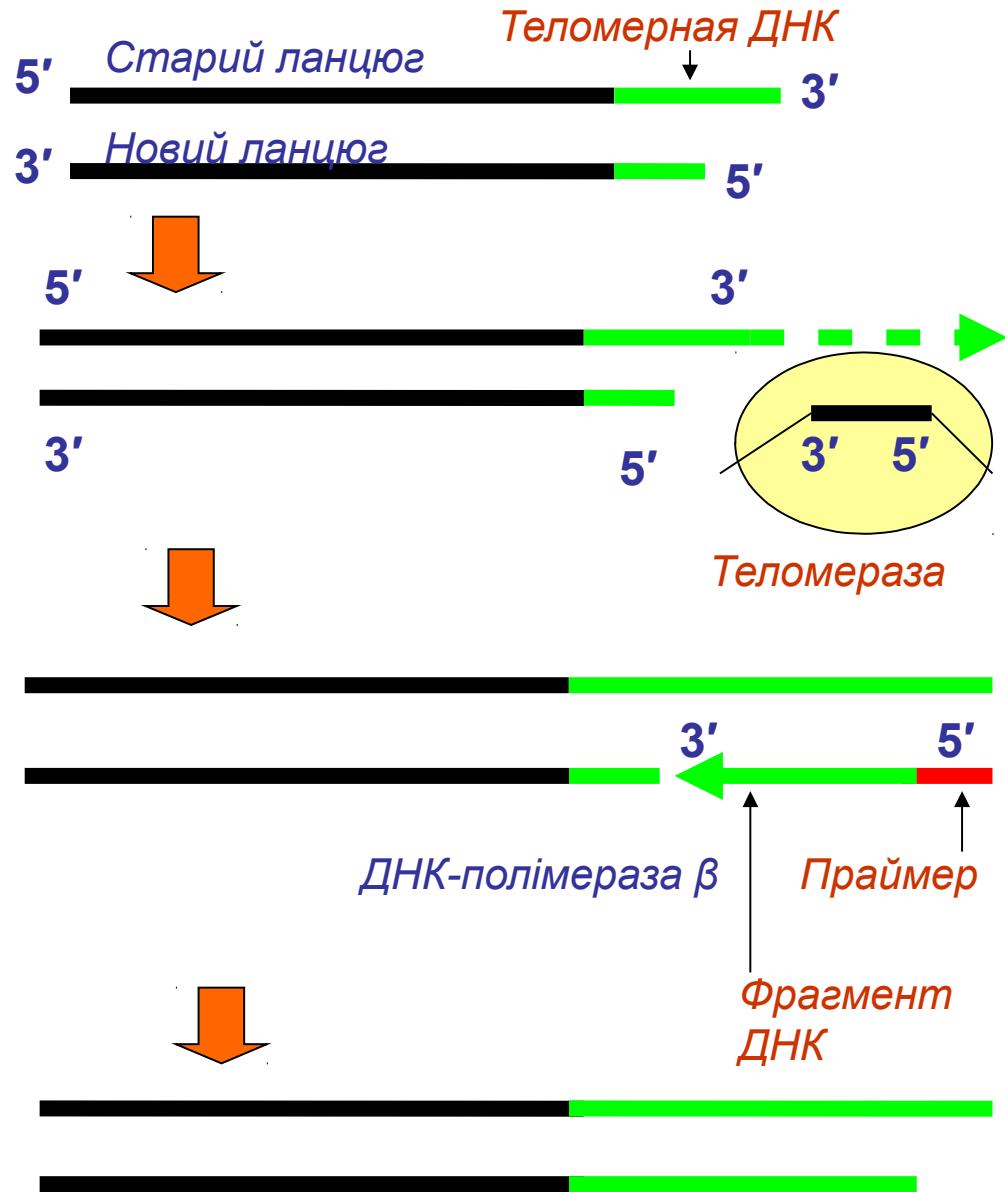
Теломери

гексануклеотидні
послідовності

[5' ГГТТАГ 3'], що не
містять генетичної
інформації

Теломераза –

- в активному центрі є РНК-матриця
- зворотна транскриптаза – синтез тДНК на матриці РНК



Теломеразна теорія

старіння: тривалість життя визначається швидкістю поділу соматичних клітин та довжиною теломер їх хромосом.



Висока активність теломерази

– в клітинах, що розмножуються: епідерміс, ендометрій, лімфоцити, пухлини.

У нервових та м'язових клітинах – найменша довжина теломер,

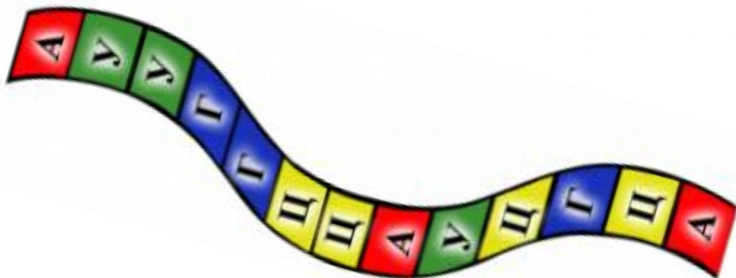
Статеві клітини – “безсмертні”



Транскрипція – синтез РНК на матриці ДНК

- ♥ Ядро, проходить багаторазово, незалежно від клітинного циклу
- ♥ синтез всіх видів РНК

мРНК (іРНК) – матриця для синтезу білка
тРНК, рРНК, мяРНК



Процес транскрипції є

1. Матричним - РНК на ДНК-матриці
2. Асиметричним – матрицею слугує лише 1 ланцюг ДНК.

Кодуючий (змістовний) ланцюг - той, з якого зчитується генетична інформація.

Некодуючий ланцюг - матриця для РНК.

3. Принцип комплементарності – порядок включення рибонуклеотидів в РНК

4. Напрямок – **5' → 3'**

5. Відбувається у певних ділянках ДНК – **транскриптонах**.

Субстрати та фактори транскрипції

1. ДНК-матриця, АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ
2. ДНК-залежна РНК-полімераза
3. Білкові фактори (ТАТА-фактор та ін.)
4. іона РНК; Mg^{2+} , Zn^{2+} .

Прокаріоти – єдина РНК-полімераза

Еукаріоти – 3 види РНК-полімераз:

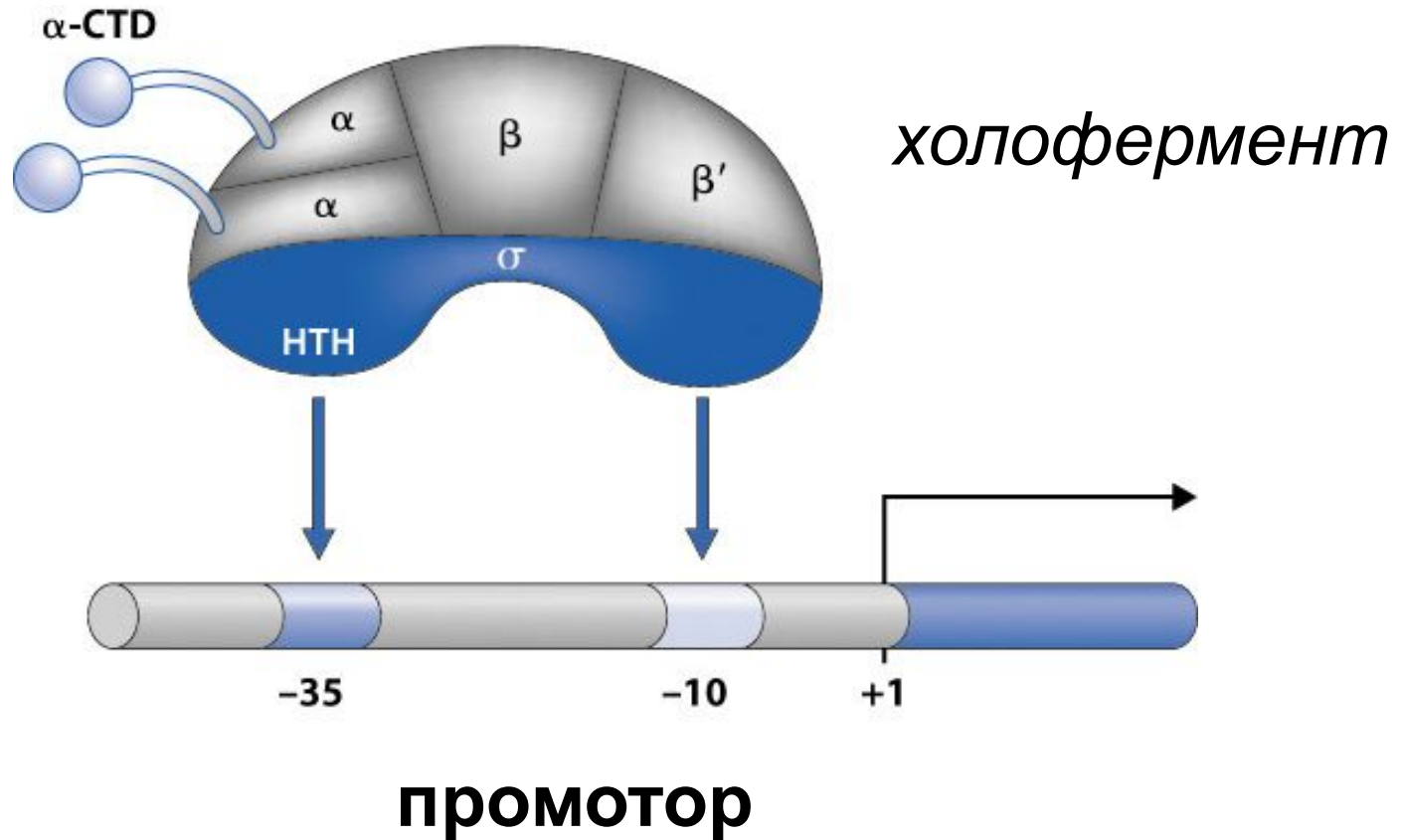
I – для пре-рРНК

II - для пре-мРНК

III - для пре-тРНК

РНК-полімераза:

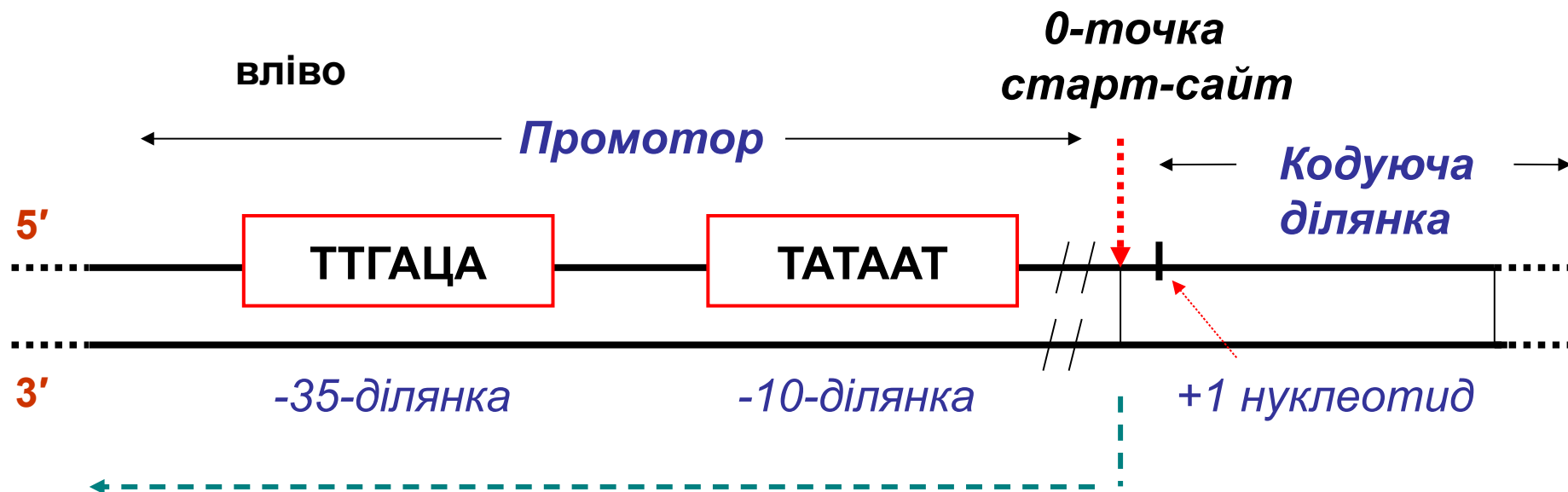
- Core-фермент ($2\alpha, \beta, \beta'$) – полімераза
- σ -фактор - ініціює транскрипцію, зв'язується з промотором.



Промотори – сайти ДНК (≈ 40 нуклеотидів), в яких РНК-полімераза зв'язується з ДНК-матрицею. Містять **сигнали початку транскрипції**

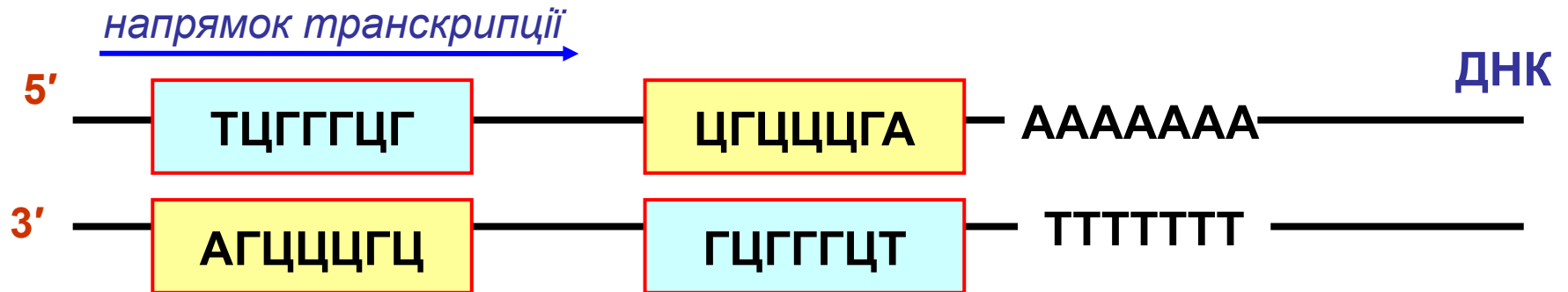
“-35-послідовність” - зв'язує σ -фактор

“-10-послідовність” - бокс Прибнова (**ТАТА-бокс**)



Сигнали термінації транскрипції:

- **паліндроми** – нуклеотидні послідовності, що однаково читаються у прямому та зворотному напрямку
- полі-АТ пари



Літературні
паліндроми

«МАДАМ»
«Madam, I am Adam»

Транскриптон (оперон) – ділянка між промотором і сайтом термінації



Етапи синтезу РНК

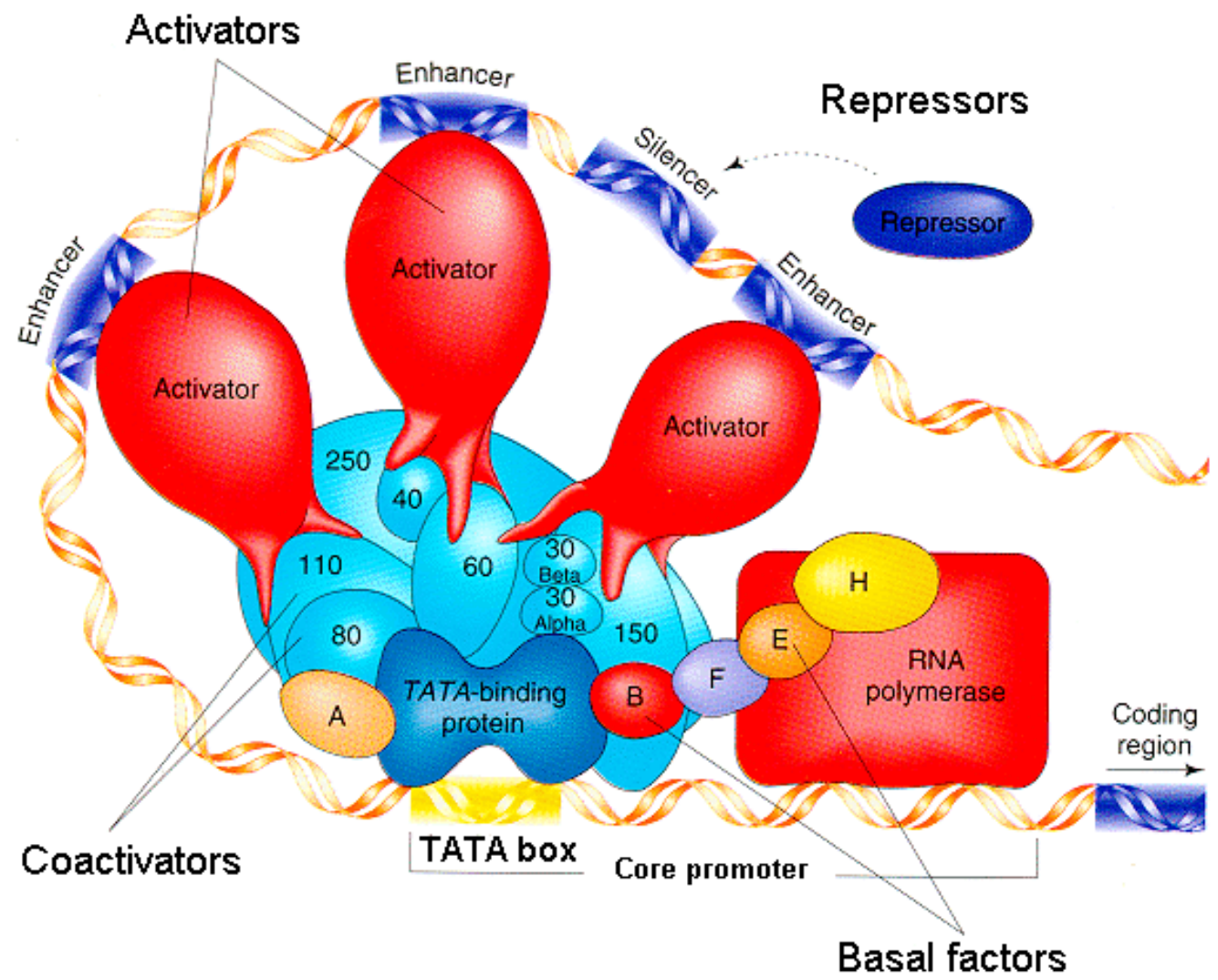
1. Ініціація транскрипції

- ☹️ σ -фактор зв'язується з промотором
- ☹️ ТАТА-фактор - з ТАТА-боксом і розплітає ДНК
- ☹️ РНК-полімераза включає в ланцюг з 5'-кінця **перший (пуриновий) нуклеотид**

Сильні промотори - 1 ініціація за 1 сек

Слабкі промотори -1 ініціація за 10 хв.

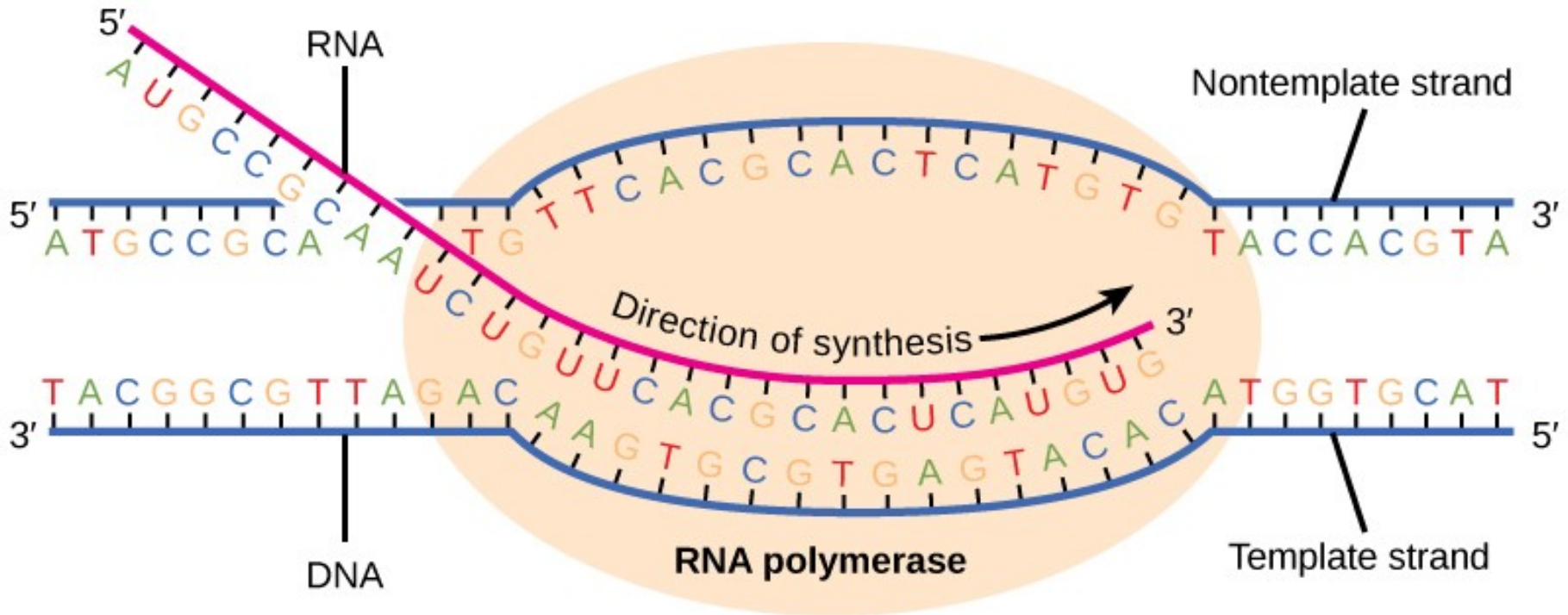
Ініціація транскрипції та РНК полімераза II



2. Елонгація

☹ утворення ДНК-РНК-гібриду (5' → 3')

швидкість ≈ 80 нуклеотидів за секунду, помилки – 1 на 10¹⁰



3. Термінація

☹️ транскрипція **паліндромів з** утворенням “шпильки”

☹️ (+) фактори термінації (ρ-фактор)

☹️ (-) пре-РНК



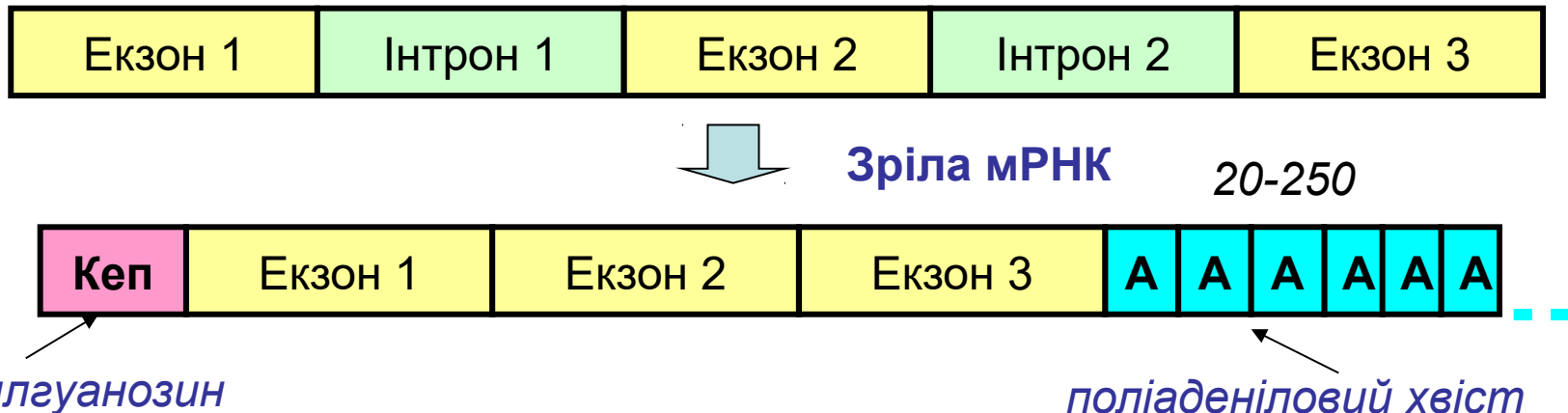
Процесінг – “дозрівання” пре-РНК

Посттранскрипційна
модифікація пре-РНК

Процесінг пре- мРНК:

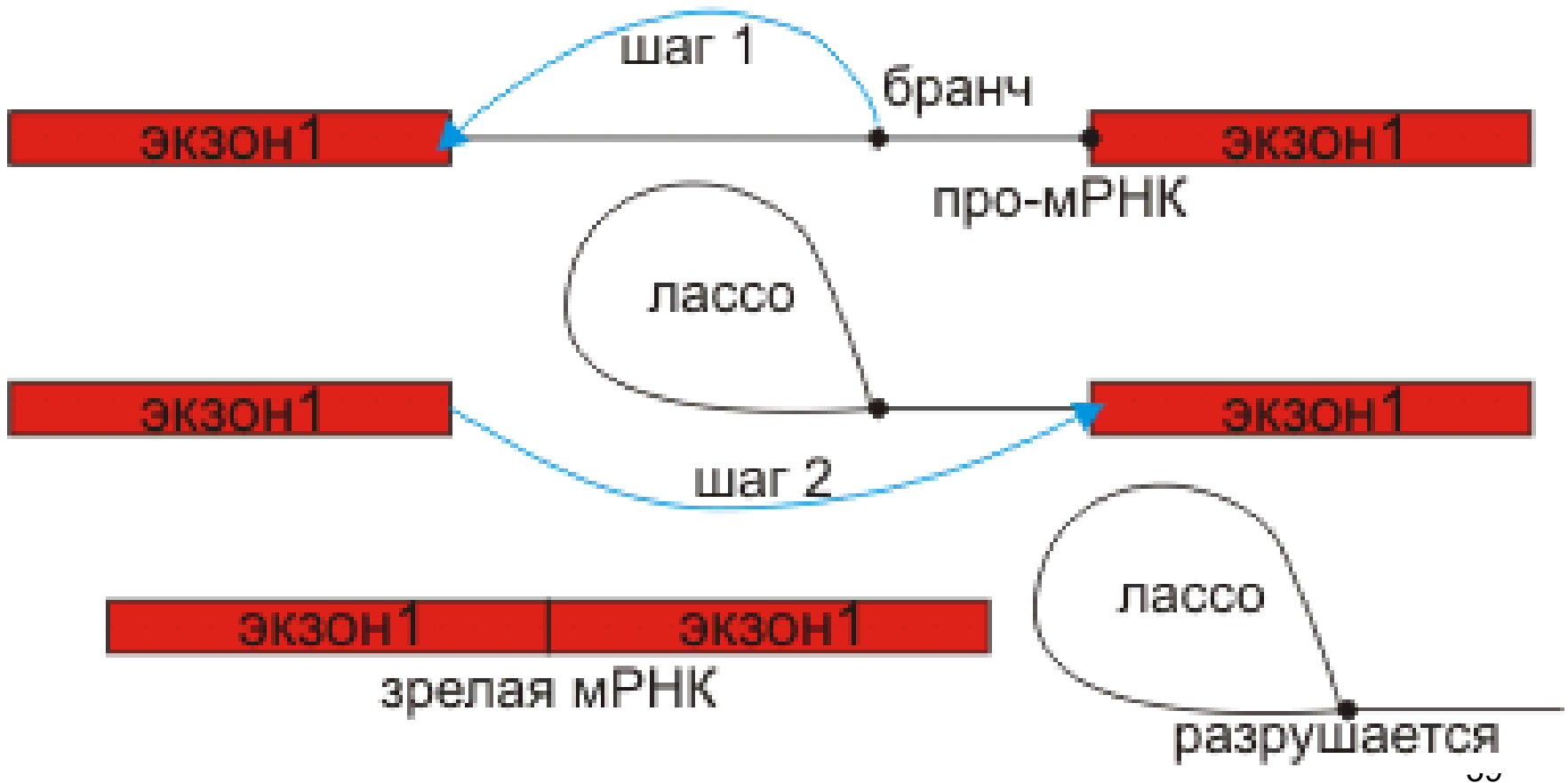
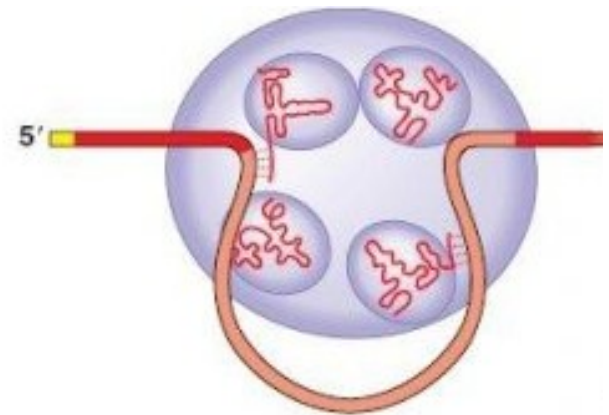
- Сплайсинг – видалення інтронів, зшивання і екзонів
- Кепування, поліаденілування

Гетерогенна ядерна РНК (пре-мРНК)

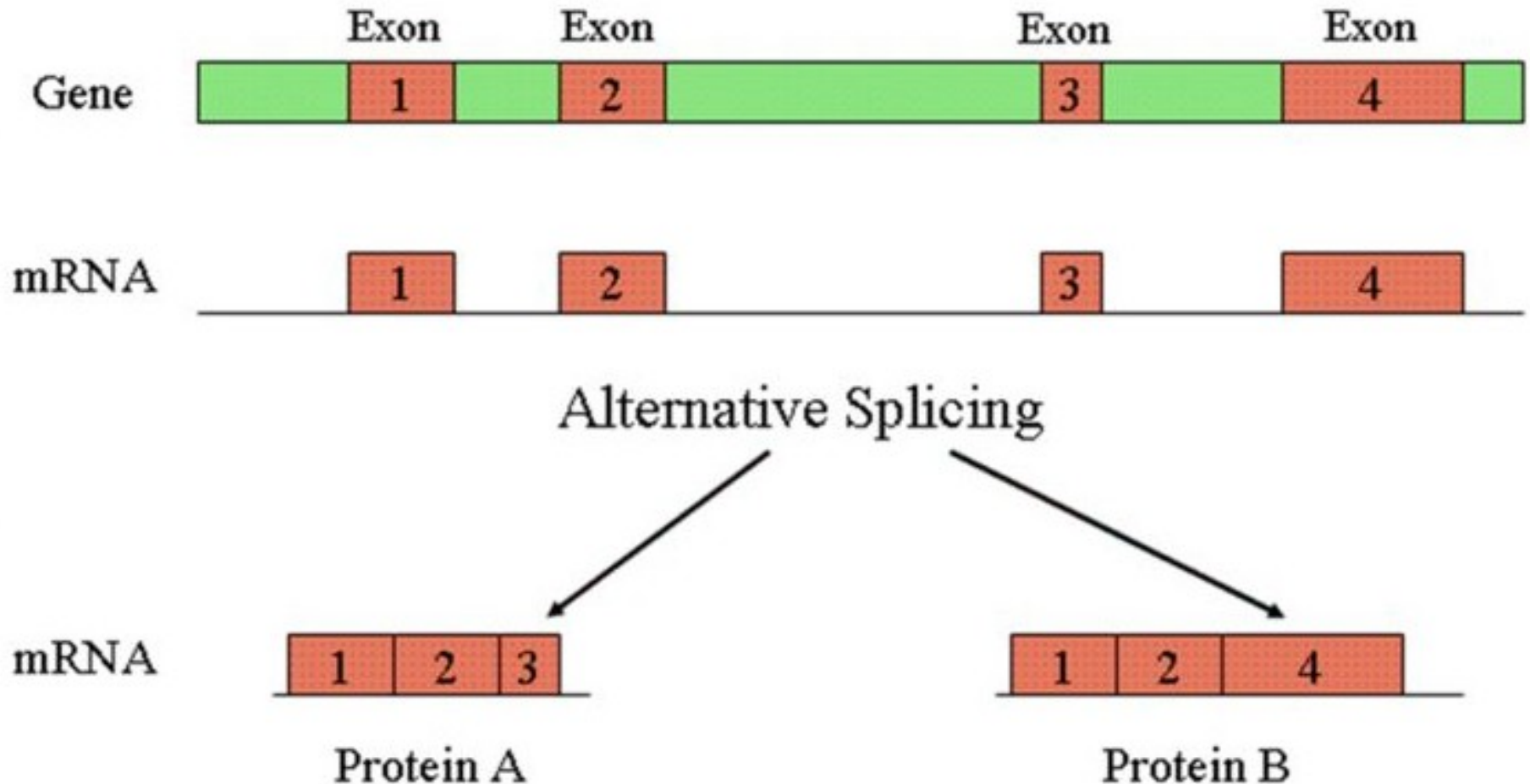


Процесінг пре-тРНК та пре-рРНК : сплайсинг, метилування, хімічну модифікацію

Сплайсосома – комплекс мРНК та білків



Альтернативний сплайсинг



Інгібітори транскрипції



1. **α -Аманітин** – інгібітор РНК-полімерази II
2. **Рифампіцин, рифаміцин** - інгібітор РНК-полімерази *мікобактерій tbc*
3. **Актиноміцин Д**
4. **Вінкрістин, вінбластин** (алкалоїди) - інгібують процесінг пре-РНК

Трансляція - біосинтез білка у рибосомах

Фактори

- Рибосоми
- 20 α -L-амінокислот
- тРНК (не менше 20)
- мРНК (іРНК) - матриця
- Ферменти:
 - Аміноацил-тРНК-синтетази (кодази)
 - Пептидилтрансфераза
 - Пептидилтранслоказа (фактор елонгации EF2)
- Білкові фактори ініціації, елонгації, термінації (рилізінг-фактори)
- АТФ, ГТФ
- Mg^{2+}

Рибосома

(рРНК, білки, поліаміни, Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+})

1 мол. рРНК,
31 мол. білка

Мала субодиниця
40S – еукаріоти
(30S – прокаріоти)

2 мол. рРНК,
41 мол. білка

Велика субодиниця
60S – еукаріоти
(50S – прокаріоти)

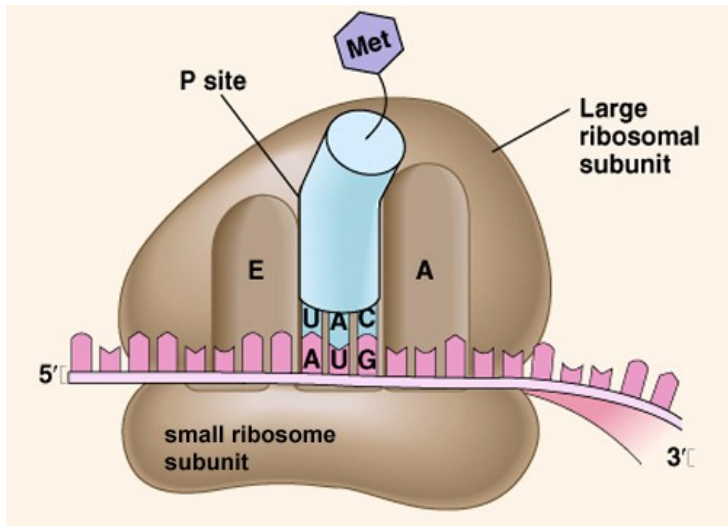
Пептидильна
ділянка (Р-сайт)

Аміноацильна
ділянка (А-сайт)

Дисоційований стан – неактивний

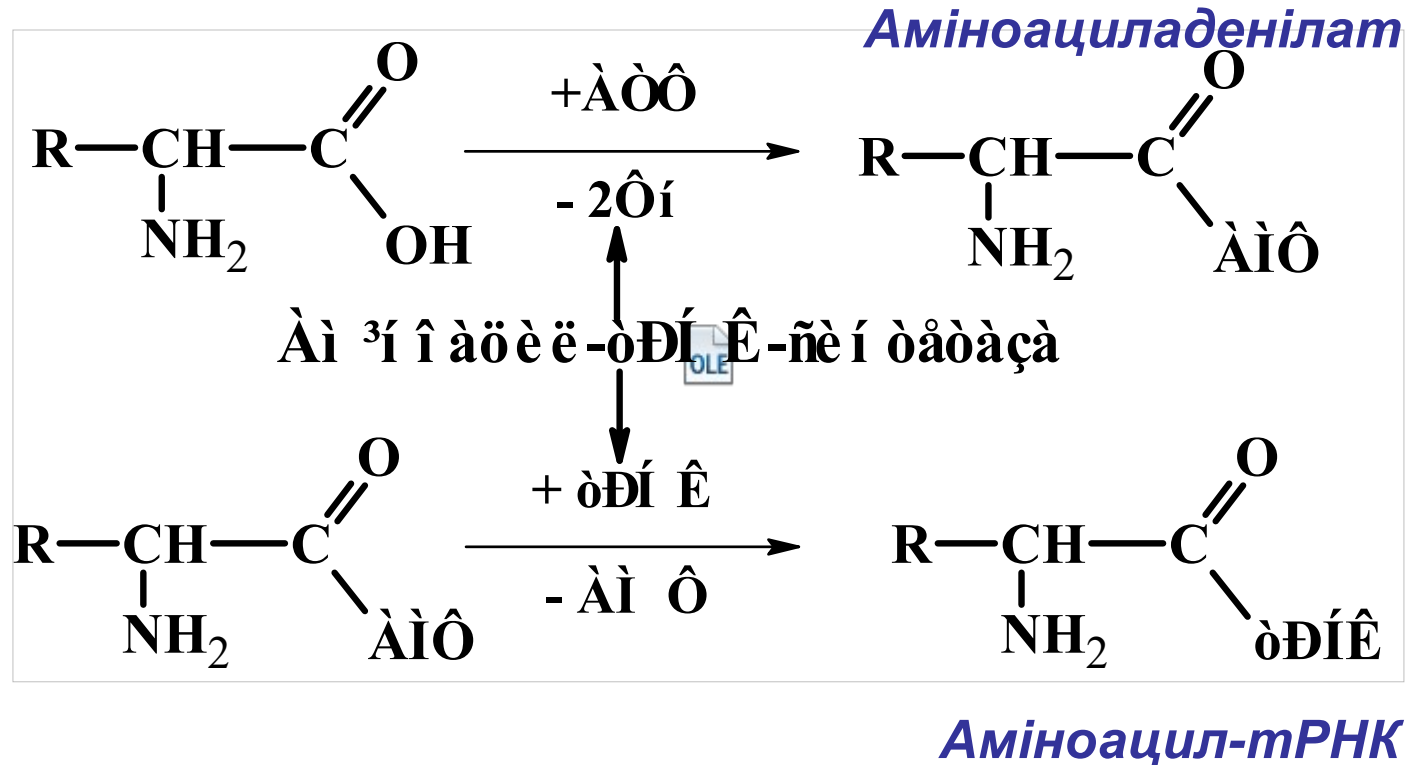
Асоційований стан – активний

Полісоми – 5-6 рибосом, нанизаних на мРНК



Етапи синтезу білка

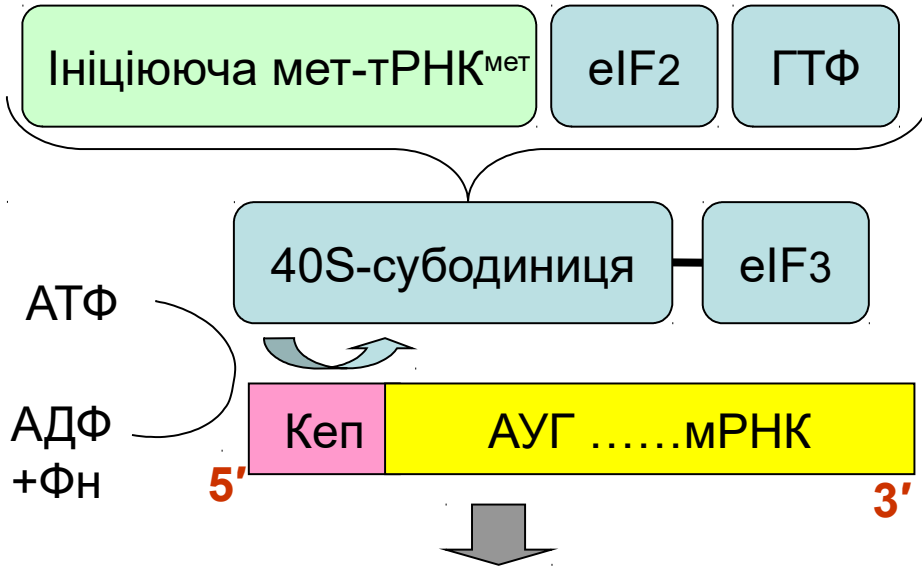
I. Активація амінокислот (проходить в цитоплазмі).



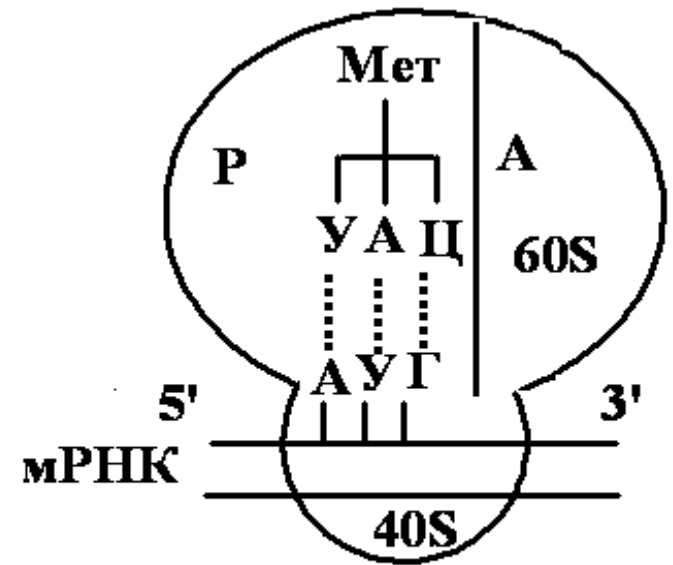
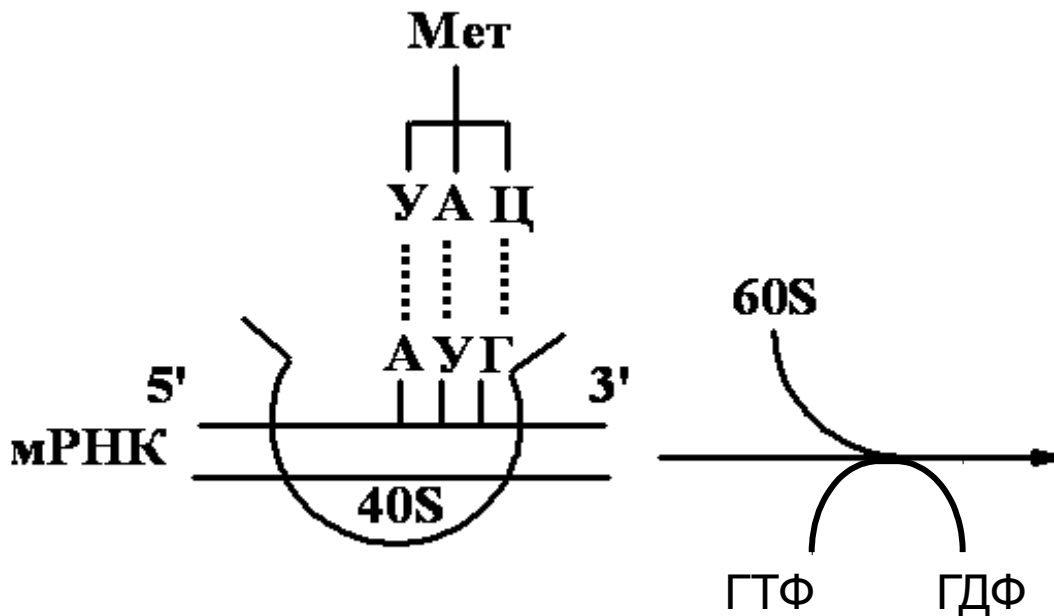
II. Власне трансляція (проходить в рибосомі).

Етапи: ініціація, елонгація, термінація.

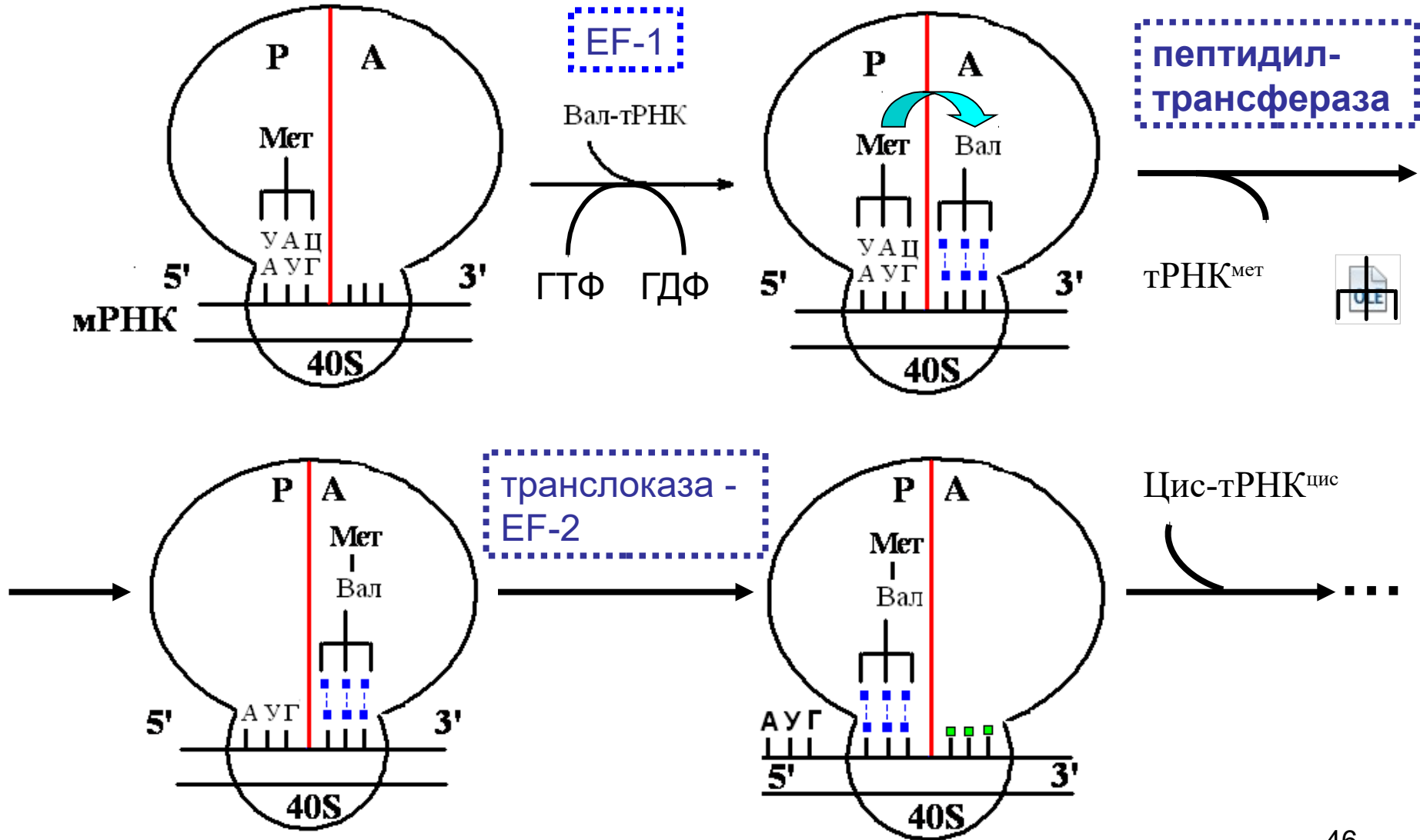
1. Ініціація трансляції → утворення ініціюючого комплексу



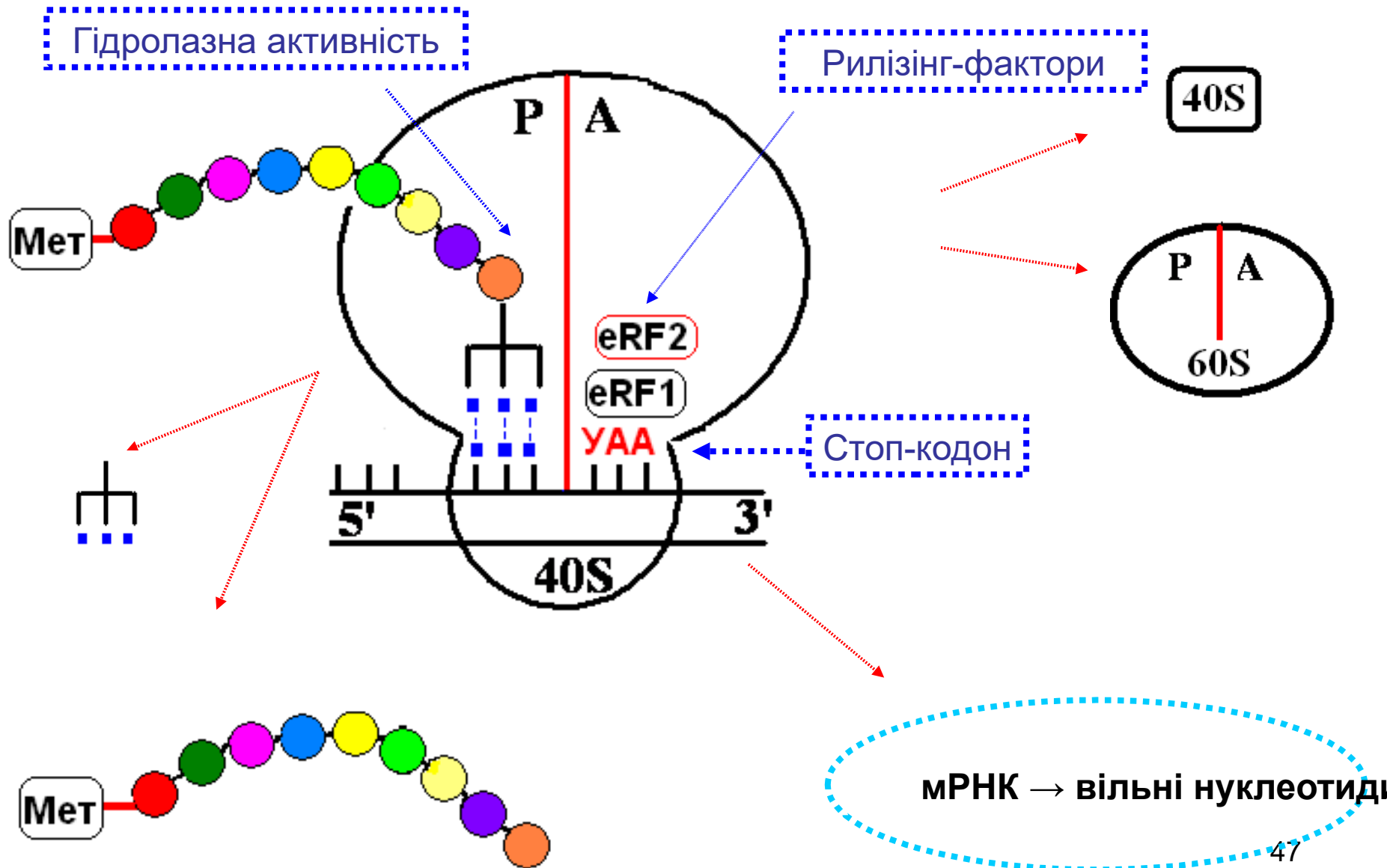
**Ініціююча
амінокислота
– метіонін**



2. Елонгація – утворення пептидних зв'язків, ріст поліпептиду з N-кінця, просування рибосоми по іРНК (5' → 3')




3. Термінація (стоп-кодони: УАА, УГА, УАГ)




Посттрансляційна модифікація

1. Хімічна модифікація

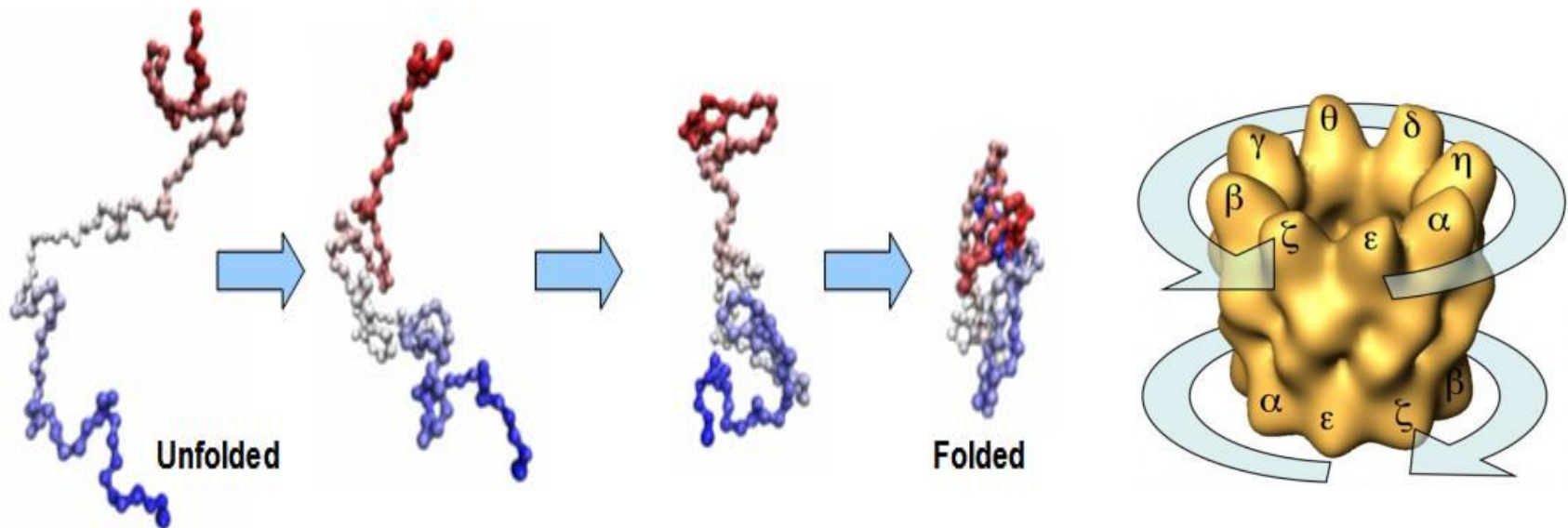
 видалення ініціюючої АК – метіоніну

 метилування, карбоксилювання, гідроксилювання та ін.

 приєднання небілкових лігандів (металів, кофакторів та ін.)

2. Частковий протеоліз

Фолдінг – утворення третинної структури білка (згортання поліпептиду)



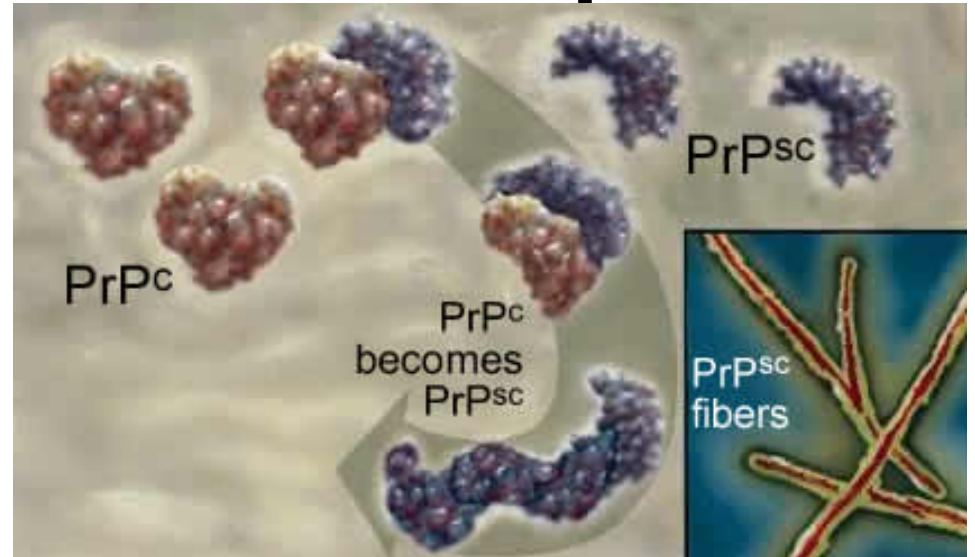
Молекулярні шаперони (chaperones) або білки теплового шоку (HSP) забезпечують фолдінг

Пріони - антишаперони

**Фатальне сімейне
безсоння**

Хвороба Куру
аборигенів Нової Гвінеї.
"trembling with fear "

**Хвороба
Кройтцфельдта-Якоба**
«коров'ячий сказ»
(губчаста
енцефалопатія)



Інгібітори трансляції:

1. Антибіотики

<p>Зв'язують 50S Інгібітори елонгації - блокують пептидилтрансферазну реакцію і транслокацію.</p>	<p>макроліди (еритроміцин, азітроміцин); левоміцетин, лінкоміцин.</p>
<p>Зв'язують 30S Інгібітори ініціації трансляції</p>	<p>тетрацикліни, аміноглікозиди (стрептоміцин, гентаміцин).</p>

2. Інтерферони – інгібітори ініціації трансляції:

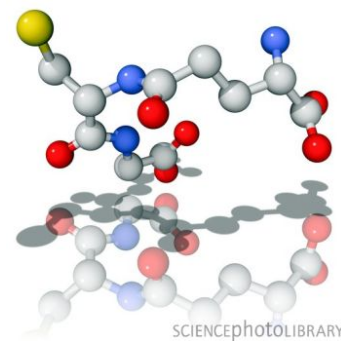
- фосфорилування **eIF-2** → противірусна та протипухлинна дія

3. Дифтерійний токсин – інгібітор елонгації

- АДФ-рибозилування фактору елонгації → інгібування транслотації



Нематричний синтез поліпептидів (без мРНК та рибосом)



- 1. Синтез з АК за участі мультиферментних комплексів: глутатіон, рилізінг-фактори гіпоталамусу.**
- 2. Нарізання білків-попередників на окремі пептиди за участі протеаз:**
 - **синтез ендорфінів**
 - **синтез кінінів (брадикінін)**