

Урок 7. Наследственная информация

ДНК, матричные синтезы и регуляция экспрессии генов

Теория

Содержание урока

01. ДНК как носитель информации
02. Репликация: полуконсервативность и точность
03. Генетический код
04. Транскрипция у прокариот и эукариот
05. Процессинг РНК у эукариот
06. тРНК, аминоксил-тРНК-синтетазы и рибосома
07. Трансляция: инициация, элонгация, терминация
08. Центральная догма и исключения
09. Организация генома прокариот и эукариот
10. Регуляция экспрессии и лактозный оперон
11. Регуляция генов у эукариот
12. Мутации, репарация и последствия для белка
13. Методы чтения и анализа наследственной информации
14. Единый алгоритм матричных синтезов
15. Углубление: матрица, направление и комплементарность

01. ДНК как носитель информации

Наследственная информация записана порядком нуклеотидов ДНК. Каждый нуклеотид содержит дезоксирибозу, фосфат и одно из четырёх оснований: А, Т, Г или С. Две полинуклеотидные цепи антипараллельны: одна направлена 5'→3', другая 3'→5'. Основания обращены внутрь двойной спирали и образуют комплементарные пары А-Т и Г-С. Между А и Т две водородные связи, между Г и С — три; однако устойчивость молекулы определяется не только их числом, но и взаимодействием соседних оснований. Сахарофосфатный остов соединён прочными ковалентными фосфодиэфирными связями.

Комплементарность обеспечивает возможность матричного синтеза: последовательность одной цепи однозначно задаёт последовательность второй. Антипараллельность важна потому, что полимеразы присоединяют нуклеотид только к 3'-концу растущей цепи и синтезируют её 5'→3'. Ген — участок ДНК, продуктом которого является функциональная РНК; для белок-кодирующего гена эта РНК служит матрицей белка. В состав гена входят не только кодирующие участки, но и регуляторные последовательности, определяющие место, время и интенсивность транскрипции.

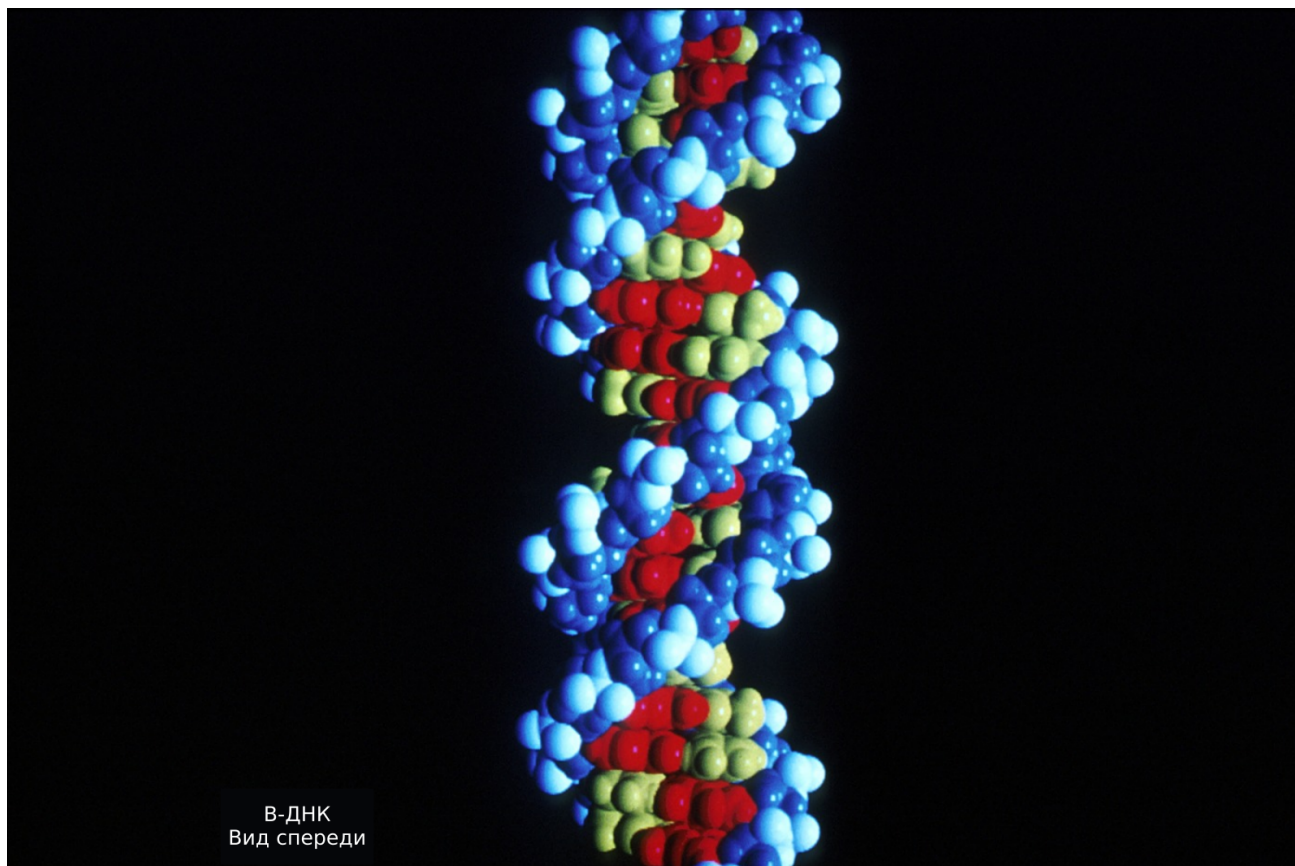


Рисунок 1. Пространственная модель двойной спирали ДНК. Две полинуклеотидные цепи антипараллельны; комплементарные основания направлены внутрь спирали. Модель показывает объёмную организацию молекулы. Из исходных материалов курса. Открыть изображение. Подписи переведены на русский язык.

02. Репликация: полуконсервативность и точность

Перед делением ДНК удваивается. Хеликаза разрывает водородные связи и раскрывает двойную спираль, топоизомераза снимает избыточное закручивание, одноцепочечные участки стабилизируют специальные белки. Праймаза синтезирует короткий РНК-праймер, от свободного 3'-конца которого ДНК-полимераза начинает удлинение. Каждая дочерняя молекула получает одну старую и одну новую цепь, поэтому репликация полуконсервативна. Эксперимент Мезельсона и Сталя с ^{15}N показал после одного поколения единственную гибридную полосу, а после двух — гибридную и лёгкую.

Из-за антипараллельности ведущая цепь синтезируется непрерывно по направлению движения вилки, а отстающая — короткими фрагментами Оказаки. После удаления РНК-праймеров промежутки заполняются ДНК, а ДНК-лигаза соединяет фрагменты фосфодиэфирными связями. У эукариот на каждой хромосоме одновременно работают многие точки начала репликации, иначе копирование длинной ДНК заняло бы слишком много времени. Теломераза достраивает концы линейных хромосом в клетках, где должна поддерживаться способность к многократным делениям.

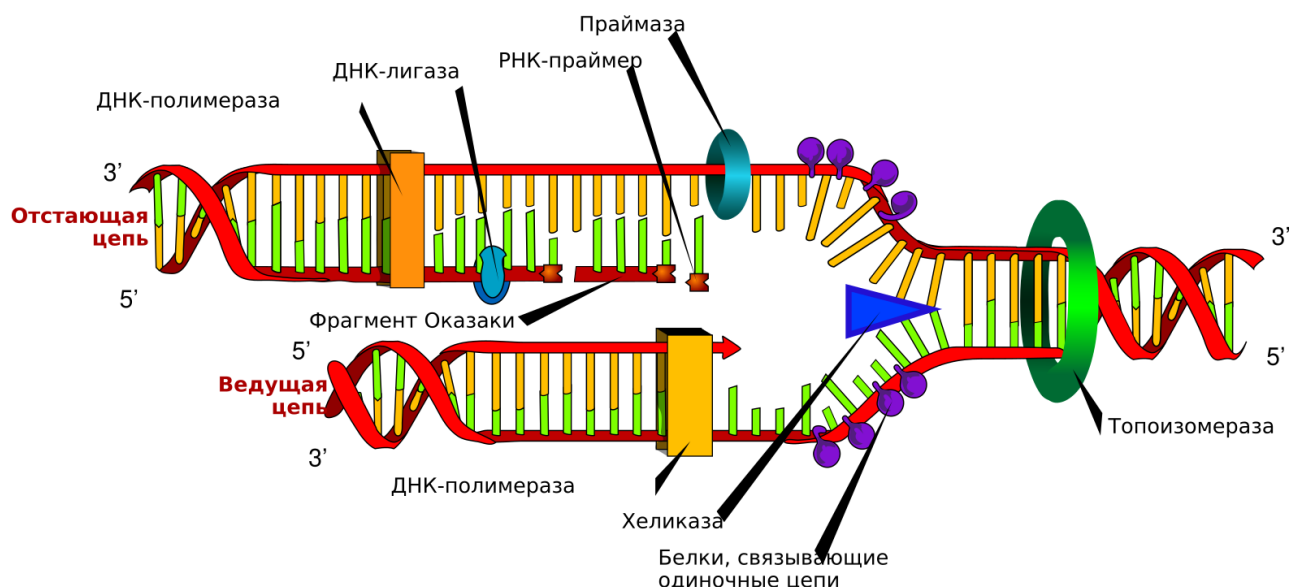


Рисунок 2. Репликационная вилка. ДНК-полимеразы удлиняют новую цепь в направлении 5' → 3'. Ведущая цепь синтезируется непрерывно, отстающая — фрагментами Оказаки; после удаления праймеров и заполнения промежутков лигаза соединяет фрагменты. Русские подписи адаптированы; полимеразы обозначены обобщённо. Mariana Ruiz Villarreal (LadyofHats). [Источник](#). Public domain. Открыть изображение.

03. Генетический код

Генетический код — соответствие между триплетами нуклеотидов мРНК и аминокислотами или сигналами окончания трансляции. Код триплетен: один кодон содержит три нуклеотида. Он однозначен: конкретный кодон задаёт только одну аминокислоту или стоп-сигнал. Код вырожден: одну аминокислоту могут задавать несколько кодонов. Кодоны считываются последовательно, без перекрытий и запятых, в одной рамке от старт-кодона. AUG обычно задаёт метионин и определяет начало рамки, UAA, UAG и UGA являются стоп-кодонами.

Почти универсальность кода — аргумент общего происхождения живых организмов, хотя существуют редкие варианты, например в митохондриях. Вырожденность чаще связана с третьей позицией кодона; поэтому замена третьего нуклеотида может быть синонимической. Но «избыточность» не означает двусмысленность: один кодон не кодирует две разные аминокислоты. Рамка считывания принципиальна: вставка или выпадение числа нуклеотидов, не кратного трём, изменяет все последующие кодоны.

Стандартный генетический код. Кодоны мРНК записаны 5'→3'. Во втором-пятом столбцах указано второе основание; первое и третье заданы слева. AUG — метионин и обычный стартовый кодон.

1-е и 3-е основания	U	C	A	G
U...U	UUU — Фен	UCU — Сер	UAU — Тир	UGU — Цис
U...C	UUC — Фен	UCC — Сер	UAC — Тир	UGC — Цис
U...A	UUA — Лей	UCA — Сер	UAA — Стоп	UGA — Стоп
U...G	UUG — Лей	UCG — Сер	UAG — Стоп	UGG — Три

1-е и 3-е основания	U	C	A	G
C...U	CUU — Лей	CCU — Про	CAU — Гис	CGU — Арг
C...C	CUC — Лей	CCC — Про	CAC — Гис	CGC — Арг
C...A	CUA — Лей	CCA — Про	CAA — Глн	CGA — Арг
C...G	CUG — Лей	CCG — Про	CAG — Глн	CGG — Арг
A...U	AUU — Иле	ACU — Тре	AAU — Асн	AGU — Сер
A...C	AUC — Иле	ACC — Тре	AAC — Асн	AGC — Сер
A...A	AUA — Иле	ACA — Тре	AAA — Лиз	AGA — Арг
A...G	AUG — Мет	ACG — Тре	AAG — Лиз	AGG — Арг
G...U	GUU — Вал	GCU — Ала	GAU — Асп	GGU — Гли
G...C	GUC — Вал	GCC — Ала	GAC — Асп	GGC — Гли
G...A	GUA — Вал	GCA — Ала	GAA — Глу	GGA — Гли
G...G	GUG — Вал	GCG — Ала	GAG — Глу	GGG — Гли

04. Транскрипция у прокариот и эукариот

Транскрипция — синтез РНК на матрице ДНК. РНК-полимераза узнаёт промотор, локально расплетает ДНК и использует только одну цепь гена как матричную. Она движется по матрице 3'→5', а РНК синтезирует 5'→3'. Рибонуклеотиды соединяются фосфодиэфирными связями по правилу комплементарности: А матрицы соответствует U в РНК, Т — А, G — C, C — G. После прохождения терминатора синтез прекращается, РНК отделяется, а цепи ДНК снова соединяются.

Разные гены могут использовать разные цепи одной молекулы ДНК; поэтому нельзя заранее называть одну физическую цепь всегда «смысловой». Кодирущая цепь конкретного гена имеет последовательность, совпадающую с РНК за исключением Т/У, а матричная комплементарна ей. У бактерий транскрипция происходит в цитоплазме и может быть сопряжена с трансляцией: рибосомы начинают читать мРНК ещё до окончания её синтеза. У эукариот транскрипция идёт в ядре, а зрелая мРНК должна пройти процессинг и выйти через ядерную пору.

05. Процессинг РНК у эукариот

Первичный транскрипт эукариотического белок-кодирующего гена — пре-мРНК — обычно содержит экзоны и интроны. На 5'-конец добавляется модифицированный гуанозиновый кэп, который защищает РНК, участвует в экспорте и распознавании рибосомой. 3'-конец расщепляется и получает поли(А)-хвост, повышающий стабильность и влияющий на эффективность трансляции. Сплайсосома распознаёт границы интронов, вырезает их в форме лассо и соединяет соседние экзоны. После процессинга зрелая мРНК покидает ядро.

Альтернативный сплайсинг позволяет соединять экзоны в разных сочетаниях и получать несколько вариантов мРНК и белка из одного гена. Это не меняет последовательность геномной ДНК. Ошибка в участке сплайсинга может привести к сохранению интрона, пропуску экзона или сдвигу рамки и поэтому быть не менее серьёзной, чем мутация в кодоне. Не все РНК проходят одинаковый процессинг: рРНК расщепляется и модифицируется в ядрышке, тРНК обрезается, модифицируется и получает концевую последовательность ССА.

Созревание пре-мРНК

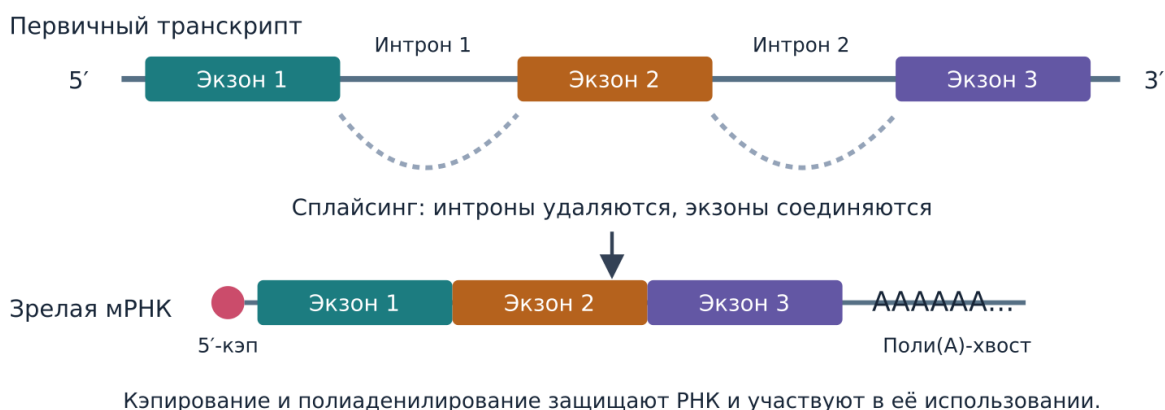


Рисунок 3. Созревание пре-мРНК эукариот. При сплайсинге интроны удаляются, а экзоны соединяются; к 5'-концу добавляется кэп, к 3'-концу большинства мРНК — поли(А)-хвост. Схема упрощена: процессы не обязательно происходят строго последовательно. Учебная схема курса. Открыть изображение.

06. тРНК, аминоксил-тРНК-синтетазы и рибосома

тРНК выполняет роль адаптера между языком нуклеотидов и аминокислот. В её структуре есть антикодон, комплементарный кодону мРНК, и 3'-конец ССА, к которому присоединяется аминокислота. Правильную аминокислоту выбирает не рибосома, а специфическая аминоксил-тРНК-синтетаза. Фермент узнаёт аминокислоту и соответствующие тРНК, затрачивает АТФ и создаёт высокоэнергетическую связь. Ошибка этого фермента опасна: рибосома проверяет соответствие кодон-антикодон, но не способна определить, какая аминокислота фактически прикреплена.

Рибосома состоит из малой и большой субъединиц, построенных из рРНК и белков. Малая субъединица декодирует мРНК, большая катализирует образование пептидной связи; каталитический центр содержит рРНК, поэтому рибосома — рибозим. В ней выделяют А-, Р- и Е-сайты: новая аминоксил-тРНК входит в А-сайт, тРНК с растущей цепью находится в Р-сайте, освобождённая выходит через Е-сайт.

07. Трансляция: инициация, элонгация, терминация

При инициации малая субъединица рибосомы связывается с мРНК, стартовая тРНК с метионином распознаёт AUG, затем присоединяется большая субъединица. Во время элонгации очередная аминоксил-тРНК входит в А-сайт. Пептидилтрансферазный центр переносит растущую цепь с тРНК Р-сайта на аминокислоту в А-сайте. Затем рибосома смещается на один кодон: новая пептидил-тРНК переходит в Р-сайт, пустая — в Е-сайт и выходит. Полипептид растёт от N-конца к С-концу.

Когда в А-сайт попадает стоп-кодон, соответствующей тРНК нет. Его распознаёт белковый фактор терминации, который вызывает гидролиз связи между полипептидом и тРНК. Комплекс распадается, а полипептид сворачивается, может расщепляться, фосфорилироваться, гликозилироваться или направляться в органоид. Белки для секреции и мембран часто начинают синтезироваться в цитозоле, но сигнальная последовательность переводит рибосому на шероховатую ЭПС.

Трансляция: удлинение полипептида

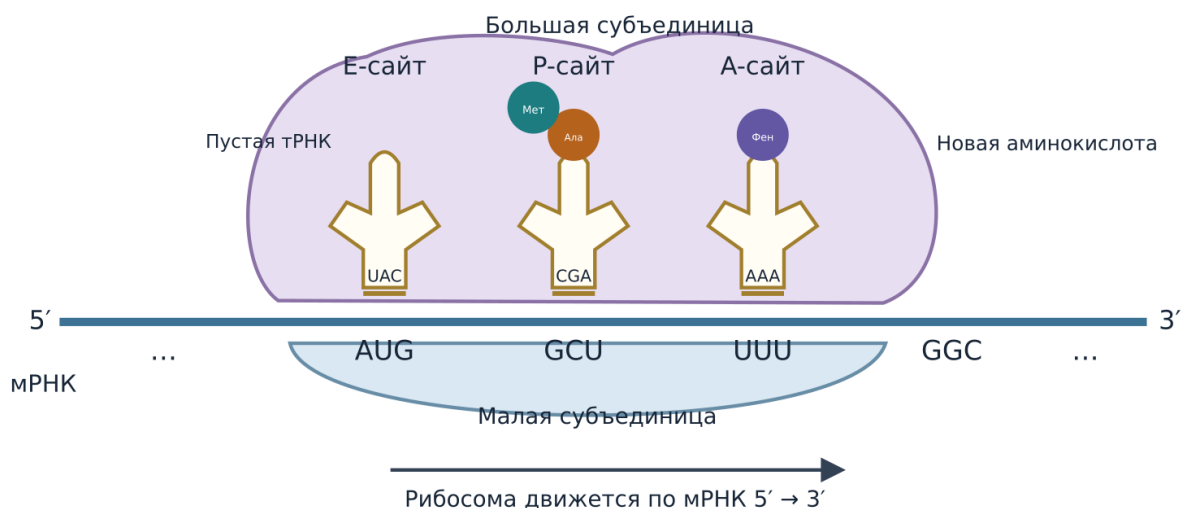


Рисунок 4. Элонгация на рибосоме. В Р-сайте находится тРНК с растущей цепью, в А-сайт поступает следующая аминоацил-тРНК, через Е-сайт выходит освобождённая тРНК. Антикодоны показаны слева направо 3' → 5', кодоны мРНК — 5' → 3'. На рисунке Мет — метионин, Ала — аланин, Фен — фенилаланин. Учебная схема курса. Открыть изображение. Подписи переведены на русский язык.

08. Центральная догма и исключения

Основной поток информации в клетке можно представить как ДНК → РНК → белок. ДНК реплицируется, на её матрице транскрибируется РНК, а последовательность мРНК транслируется в белок. Белок влияет на признак через каталитическую, структурную, рецепторную или регуляторную функцию. Эта схема не означает, что один ген всегда задаёт один видимый признак: один белок может участвовать во многих процессах, один признак зависит от многих генов и среды, а часть генов образует функциональные РНК, которые вообще не переводятся.

Обратная транскриптаза синтезирует ДНК на матрице РНК у ретровирусов и ретротранспозонов. РНК-зависимые РНК-полимеразы копируют РНК у многих вирусов. Эти потоки расширяют схему, но не показывают перенос последовательностной информации от белка обратно к нуклеиновой кислоте. Эпигенетические метки меняют активность генов без изменения последовательности ДНК и могут сохраняться при делении клеток.

09. Организация генома прокариот и эукариот

У бактерий основной геном обычно представлен кольцевой молекулой ДНК в нуклеоиде; часто присутствуют плазмиды. Гены функционально связанных белков могут объединяться в оперон и транскрибироваться в одну полицистронную мРНК. Геном компактен, доля некодирующих последовательностей относительно мала, транскрипция и трансляция пространственно не разделены. У эукариот линейные хромосомы находятся в ядре, ДНК связана с гистонами, большинство мРНК моноцистронные, гены содержат интроны и удалённые регуляторные элементы.

Нуклеосома состоит из участка ДНК, обёрнутого вокруг октамера гистонов. Степень упаковки регулирует доступ белков транскрипции. Эухроматин обычно менее конденсирован и доступнее, гетерохроматин плотнее и часто транскрипционно неактивен. Ацетилирование хвостов гистонов нередко ослабляет взаимодействие с ДНК и связано с активацией, а метилирование ДНК промоторов часто подавляет транскрипцию, хотя эффект конкретной метки зависит от контекста.

10. Регуляция экспрессии и лактозный оперон

Лактозный оперон *E. coli* содержит структурные гены *lacZ*, *lacY* и *lacA*, общий промотор и оператор. Без лактозы активный репрессор связывается с оператором и мешает РНК-полимеразе, поэтому транскрипция почти выключена. При наличии лактозы её производное аллолактоза связывает репрессор, изменяет его форму и освобождает оператор. Это отрицательная индуцируемая регуляция: субстрат включает синтез белков, необходимых для его использования.

Максимальная экспрессия возникает, когда лактоза есть, а глюкозы мало. Низкая глюкоза повышает сАМР; комплекс сАМР–CAP связывается около промотора и помогает РНК-полимеразе. Если глюкозы много, сАМР мало и даже при снятом репрессоре транскрипция остаётся умеренной. Такая логика позволяет бактерии сначала использовать энергетически выгодную глюкозу и не тратить ресурсы на ненужные ферменты.

11. Регуляция генов у эукариот

Эукариотический ген регулируется на нескольких уровнях. Активаторы и репрессоры связываются с промотором, энхансерами и сайленсерами; петля ДНК сближает удалённый элемент с комплексом транскрипции. Ремоделирующие комплексы перемещают нуклеосомы, модификации гистонов и метилирование ДНК меняют доступность. После транскрипции выбор сайта сплайсинга, полиаденилирования и редактирование РНК создают разные транскрипты. Стабильность мРНК, микроРНК, скорость инициации трансляции и разрушение белка дополнительно определяют количество продукта.

Один и тот же ген может включаться в разных тканях разными энхансерами. Мутация тканеспецифичного энхансера нарушит признак только там, где этот элемент используется, тогда как разрушение кодирующей области затронет все ткани, нуждающиеся в белке. МикроРНК в составе комплекса RISC комплементарно связывается с мРНК и вызывает её разрушение или торможение трансляции. Убиквитин маркирует многие белки для протеасомы, поэтому одинаковый уровень мРНК не гарантирует одинаковый уровень белка.

12. Мутации, репарация и последствия для белка

Замена нуклеотида бывает синонимической, миссенс или нонсенс; вставка и делеция могут сохранять рамку, если их длина кратна трём, или сдвигать её. Мутации промотора меняют количество РНК, участков сплайсинга — состав зрелого транскрипта, стоп-сигнала — длину белка. Последствие зависит от положения: замена в активном центре, трансмембранном домене или сигнале адресации обычно серьёзнее, чем на гибкой поверхности. Консервативная аминокислотная замена сохраняет заряд и размер и иногда мало влияет на структуру.

ДНК постоянно повреждается ультрафиолетом, активными формами кислорода и химическими агентами. Фотореактивация у многих организмов прямо исправляет пиримидиновые димеры; эксцизионная репарация вырезает повреждённый участок и достраивает его; mismatch-репарация исправляет ошибки после репликации; двуцепочечные разрывы восстанавливаются гомологичной рекомбинацией или соединением концов. Ошибка становится стабильной мутацией, если повреждение скопировано и не исправлено.

13. Методы чтения и анализа наследственной информации

Полимеразная цепная реакция многократно копирует выбранный участок ДНК. Каждый цикл включает денатурацию цепей, отжиг двух праймеров и удлинение термостабильной полимеразой. Праймеры задают границы ампликона и должны быть комплементарны противоположным цепям. Контроль без матрицы выявляет загрязнение, положительный контроль подтверждает работоспособность смеси. ПЦР показывает наличие и размер фрагмента, но без дополнительных методов не всегда сообщает его точную последовательность.

Гель-электрофорез разделяет фрагменты нуклеиновых кислот по длине: отрицательно заряженная ДНК движется к положительному электроду, короткие фрагменты проходят через поры быстрее. Секвенирование определяет порядок нуклеотидов, а анализ РНК показывает активные транскрипты. Для сравнения экспрессии нормируют сигнал на количество материала и стабильные контрольные гены; иначе различие может отражать просто разное число клеток.

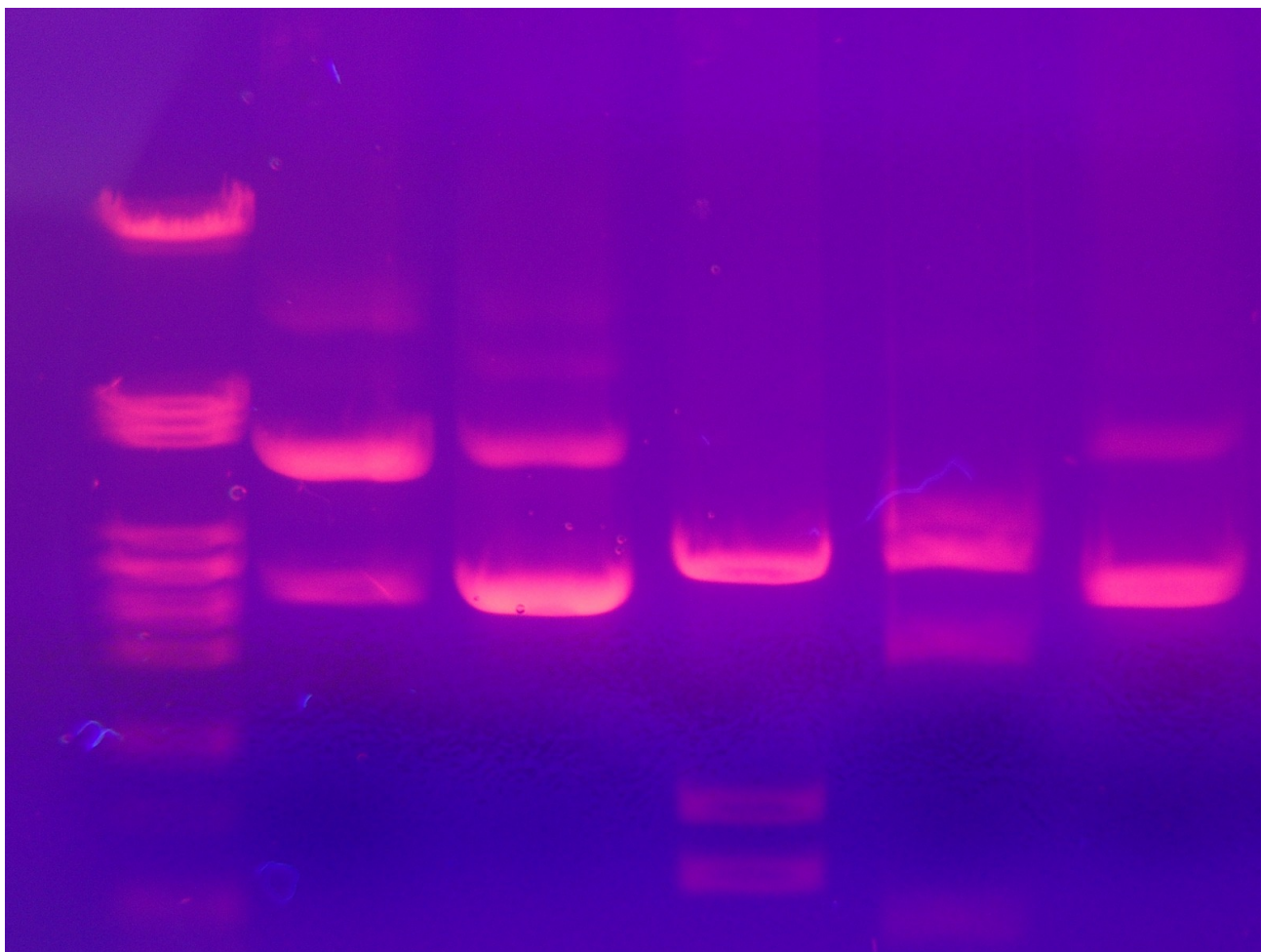


Рисунок 5. Электрофорез нуклеиновых кислот в геле: отдельные дорожки содержат фрагменты разной длины. При прочих равных более короткие фрагменты движутся быстрее. Длину исследуемых фрагментов оценивают по сравнению с маркером. Mnolf. [Источник. CC BY-SA 3.0.](#) Открыть изображение.

14. Единый алгоритм матричных синтезов

Репликация, транскрипция и трансляция используют матрицу, комплементарность и направленность, но их нельзя смешивать. Репликация копирует весь геном перед делением, использует дезоксирибонуклеотиды, праймер и ДНК-полимеразу и создаёт ДНК. Транскрипция выбирает отдельные гены, использует рибонуклеотиды и РНК-полимеразу и создаёт РНК. Трансляция использует мРНК, тРНК, рибосому и аминокислоты; комплементарность действует между кодоном и антикодоном, а продуктом является полипептид.

Направления дают универсальную проверку. Нуклеиновые кислоты синтезируются $5' \rightarrow 3'$, потому что новый мономер присоединяется к $3'$ -ОН. Полимераза читает матрицу $3' \rightarrow 5'$. Рибосома движется по мРНК $5' \rightarrow 3'$, а белок растёт от N-конца к C-концу. Если схема показывает обратное, это либо ошибка, либо должна быть явно названа другая цепь/ориентация.

Процесс	Матрица	Продукт и направление
Репликация	ДНК, чтение $3' \rightarrow 5'$	ДНК, синтез $5' \rightarrow 3'$
Транскрипция	ДНК, чтение $3' \rightarrow 5'$	РНК, синтез $5' \rightarrow 3'$
Трансляция	мРНК, чтение $5' \rightarrow 3'$	Полипептид, рост N→C

15. Углубление: матрица, направление и комплементарность

В задачах нужно сначала подписать концы цепей. ДНК-полимераза и РНК-полимераза синтезируют новую цепь только в направлении $5' \rightarrow 3'$, считывая матрицу $3' \rightarrow 5'$. Кодировочная цепь ДНК совпадает с мРНК по последовательности, если заменить Т на U; матричная цепь ей комплементарна и антипараллельна. Ошибка в выборе цепи меняет весь ответ, поэтому направление следует фиксировать до использования таблицы генетического кода.

При оценке мутации различают изменение количества продукта и изменение его свойства. Делеция промотора уменьшает транскрипцию, мутация сайта сплайсинга меняет зрелую мРНК, а миссенс-мутация может оставить количество белка нормальным, но изменить активный центр. Этот порядок рассуждения помогает не смешивать уровни регуляции.

[Пройти тест по этому уроку: 60 заданий с ответами](#)

[Все материалы курса «Биология ЕГЭ»](#)

Следующий урок: [Урок 8. Митоз, мейоз и гаметогенез](#)