
ЛЕКЦИЯ 2

ИЗ ЧЕГО СОСТОИТ ЖИЗНЬ?

1. Жизнь состоит из клеток

Вирусы в данном курсе будут важны только в качестве переносчика информации в клетку. Центральная догма молекулярной биологии была сформулирована в 1970 году (F.Crick) (см. рис. 2.1). Она говорит об основном направлении передачи информации в клетке: от ДНК (функция хранения информации) к РНК (которая переносит информацию до рибосомы) и далее к белку, который взаимодействует с другими молекулами для построения ДНК, РНК и белков.



Рис. 2.1: Направление передачи информации согласно центральной догме молекулярной биологии

Клеточные структуры обладают свойством иридженности. Это явление возникновения новых свойств у компонентов, работающих вместе (не только суммация исходных свойств, но и появление качественно новых признаков).

2. Понятие интронов и экзонов

С ДНК считывается первичная РНК, но это не та РНК, на матрице которой будет синтезироваться белок. В составе последовательности первичной РНК есть специальные



Конспект не проходил проф. редактуру, создан студентами и, возможно, содержит смысловые ошибки. Следите за обновлениями на lectoriy.mipt.ru.

участки, так называемые **интроны и экзоны**. Последние войдут в состав матричной РНК и с нее будет синтезироваться белок. Интронные участки удаляются, а экзоны склеиваются. Этот процесс называется **сплайсинг**. Существует альтернативный сплайсинг, при котором в готовую матричную РНК включаются различные комбинации экзонов из первичной РНК. Это позволяет управлять процессами развития.

Один из сотрудников НИИ ФХМ изучает альтернативный сплайсинг в клетках мозга и его влияние на онтогенез. После транскрипции и сплайсинга с мРНК транслируется белок и сразу или одновременно с синтезом происходит посттрансляционная модификация белка и дальнейшее его сворачивание во вторичную и третичную структуры.

3. Мир ДНК

Структура ДНК была открыта в 1952-1953гг. Watson и Crick. Последний был биологом и сторонником теории панспермии. Мы живем на во времена третьего поколения звезд. После Большого Взрыва образовались первые звезды из атомов водорода и гелия. Затем, 3-5 млрд. лет назад эти звезды взорвались и появились первые атомы углерода. Звезды второго поколения сжались, взорвались и конденсировались в звезды третьего поколения. Crick считал, что если существует ненулевая вероятность зарождения жизни на Земле, то есть такая же вероятность зарождения жизни в любом другом месте.

Watson изучал вращательные спектры молекул. Вместе они открыли спиральную структуру ДНК с шагом в 10-12 нуклеотидов.

4. Нуклеотиды

Нуклеотиды (на слайде 2.2 азотистые основания ДНК, прим. автора) образуют Уотсон-Криковские пары: аденин-тимин, гуанин-цитозин. Пуриновое и пиримидиновое основа-

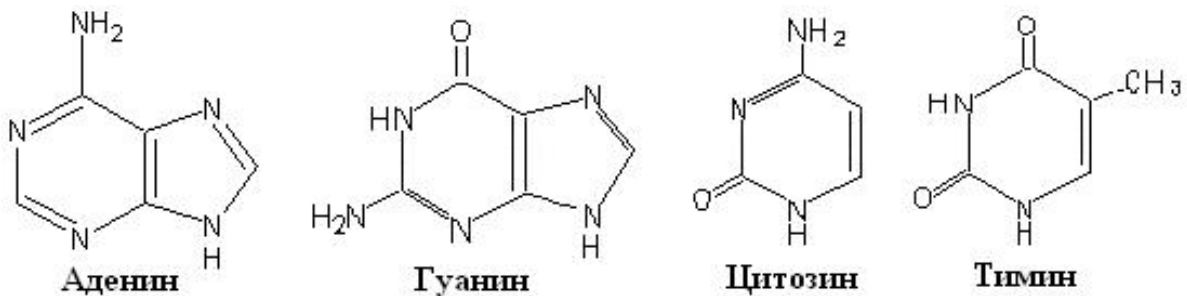


Рис. 2.2: Азотистые основания ДНК

ния связываются друг с другом за счет свободных валентностей. Сахарофосфатный остов — основа каждой из цепей ДНК, к нему присоединены азотистые основания, которые спариваются с основаниями в другой цепи и образуют двойную спираль ДНК. При этом тимин спаривается только с аденином, гуанин только с цитозином и, наоборот. Это суть свойства **комплементарности**.

На этом свойстве основывается способность клетки восстанавливать повреждения ДНК. Например, если в одной из цепей появляется дефектное основание, то оно заменяется на правильное, комплементарное основанию в другой цепи ДНК. При двунитевом



Для подготовки к экзаменам пользуйтесь учебной литературой. Об обнаруженных неточностях и замечаниях просьба писать на pulsar@phystech.edu

! Конспект не проходил проф. редактуру, создан студентами и, возможно, содержит смысловые ошибки. Следите за обновлениями на lectoriy.mipt.ru.

разрыве ДНК с «липкими концами» (см. рис. 2.3) работает фермент, который сшивает этот разрыв тоже на основе свойства комплементарности.



Рис. 2.3: «Липкие» концы

5. Структуры нуклеиновых кислот

Двойная спираль ДНК бывает право- и левозакрученная с различным числом нуклеотидов на шаг спирали. В некоторых участках цепь ДНК может стать **гиперспирализованной**. Например, работая с кольцевой молекулой ДНК бактерии, сталкиваются с различным уровнем спирализации на разных частях ее генома. В зависимости от количества витков на единицу ее длины процессы считывания информации могут идти лучше или хуже. Фермент **топоизомераза** раскручивает, расплетает гиперспирализованные участки для облегчения считывания информации при транскрипции.

Полиндромные последовательности в ДНК по правилам комплементарности могут залипать сами на себя, формируя кресты (англ. crucifix) (шпильки, прим. автора) (см. рис. 2.4). Для проведения исследования методом ЯМР (ядерно-магнитный резонанс)

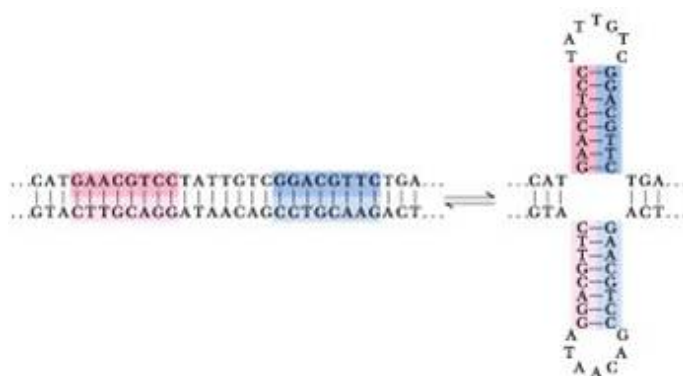


Рис. 2.4: Шпильки, образованные нуклеиновой кислотой

необходимо очень тщательно выделять интересующее вещество, иначе разобрать сигнал будет невозможно. Если происходит скручивание в месте полиндрома, то релаксация снимается (возможно, снимается гиперспирализация, прим. автора), места скручивания выпетливаются и происходит снятие напряжения.

Circe

Circe (цирки) — это особая структура РНК, содержащая полиндром, на которой сидит белок hrcA. Этот белок проявляет большее сродство к поломанным белкам, в их

! Для подготовки к экзаменам пользуйтесь учебной литературой. Об обнаруженных неточностях и замечаниях просьба писать на pulsar@phystech.edu



Конспект не проходил проф. редактуру, создан студентами и, возможно, содержит смысловые ошибки. Следите за обновлениями на lectoriy.mipt.ru.

отсутствие он сидит на полиндромном участке и блокирует считывание информации, расположенной за ним. Полиндромная последовательность расположена перед последовательностью, кодирующей белок теплового шока, который «чинит» другие сломанные белки. При повышении температуры среды многие белки разрушаются и на них садится hscA, освобождая полиндромный участок и позволяя транслировать белок теплового шока. Образовавшийся белок «чинит» сломанные белки. Их концентрация в клетке падает, hscA слетает с них и снова садится на полиндромный участок, блокируя синтез белков теплового шока.

Аптамеры

Аптамеры — это небольшие молекулы нуклеиновых кислот, которые могут выполнять функцию высокоспецифичных рецепторов низкомолекулярных соединений. На основе аптамеров возникают рибопереклюватели (riboswitch) (см. рис. 2.5). Например, РНК связывается с аденином, образует трехмерную структуру и с нее уже не может считываться белок, эта РНК оказывается «выключенной».

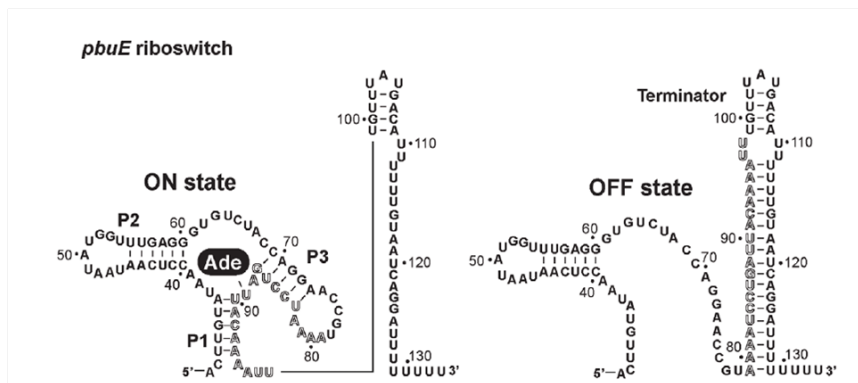


Рис. 2.5: Riboswitch

6. Малые РНК

Малые РНК — некодирующие РНК длиной в 21-22 нуклеотида, несущие функцию регуляции экспрессии генов. Малые РНК имеют разные названия, как то ми-РНК, си-РНК и пр. МикроРНК связывается со специфической последовательностью мРНК на нетранслируемом участке со стороны 3'-конца и ингибирует трансляцию или удаляет поли(A) участок.

На основе малых РНК изучено явление интерференции: малые РНК залипают на комплементарные участки мРНК (реже ДНК) и влияют на их активность за счет, например, защиты от дегградации, или ингибирования трансляции (см. лекцию №1, прим. автора).

АнтисенсРНК (антисмысловые РНК) кодируются обычно на комплементарной цепи. Для подготовки к зачету можно использовать следующий ресурс: <http://rfam.sanger.ac.uk/family/>.



Для подготовки к экзаменам пользуйтесь учебной литературой. Об обнаруженных неточностях и замечаниях просьба писать на pulsar@phystech.edu

7. Генетический код

Для синтеза белков на рибосомах необходимо 20 аминокислот (21, если считать селеноцистеин). Для начала синтеза белка нужен сигнал — **старт-кодон**. Он обычно расположен в **utr-участке (untranslated region)**, со стороны 5'-конца РНК. Другой utr-участок фланкирует ген со стороны 3'-конца. Старт-кодон (AUG) кодирует метионин, и именно с него начинается синтез белка.

У некоторых организмов стартовым кодоном является GUG, который кодирует аминокислоту валин. Но если он расположен первым в гене, то пептид будет начинаться все равно с метионина. Во всех же остальных случаях будет встраиваться валин.

Сайт связывания с рибосомой находится на utr. К нему присоединяются две субъединицы рибосомы и начинается синтез белка. Проблема в том, что у некоторых РНК нет сайта связывания, но они все равно транслируются.

Генетический код непрерывен, вырожден (одна аминокислота кодируется несколькими кодонами), однозначен (исключение составляет включение метионина вместо валина в начале пептидной цепи в рибосоме), триплетен (64 варианта комбинаций кодонов из четырех азотистых оснований) (см. рис. 2.6). Для терминации трансляции существуют

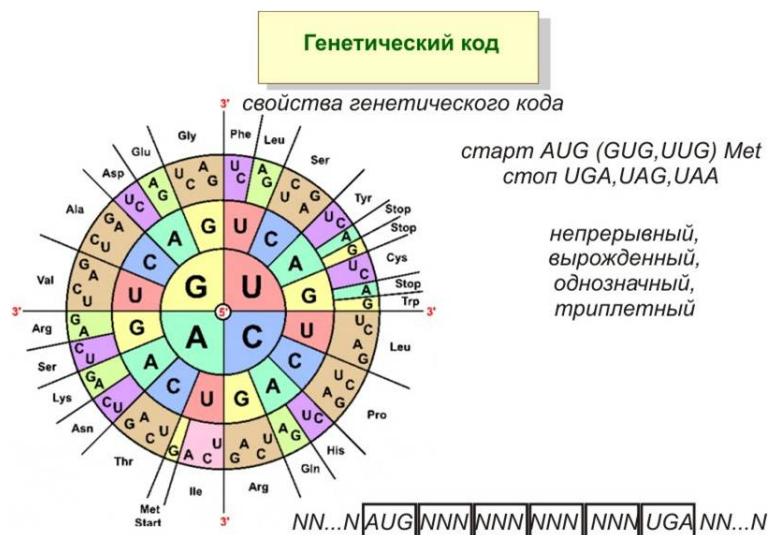


Рис. 2.6: Генетический код

также и стоп-кодона. Обычно это UGA, UAG, UAA.

У разных организмов есть различные вариации генетического кода (у одних триплет кодирует одну аминокислоту, у других тот же самый триплет — другую). Это связано со структурой **тРНК (транспортная РНК)**, или, как ее еще называют, фрагмента Кленова (ошибка, фрагмент Кленова — это кусок ДНК-полимеразы). Каждой аминокислоте соответствует своя тРНК.

Точка старта транскрипции на ДНК определяется экспериментально. Известно, что для одного и того же гена есть некоторое количество РНК с началом в определенной точке и ненулевое значение количества РНК с началом в рядом лежащих точках. Возможно, это имеет свою функциональную роль.

Транспортные РНК отличаются не только переносимой ими аминокислотой, но и последовательностью нуклеотидов. Правда не сильно. Для некоторых кодонов нет своей



Конспект не проходил проф. редактуру, создан студентами и, возможно, содержит смысловые ошибки. Следите за обновлениями на lectoriy.mipt.ru.

тРНК (UGA, UAG, UAA). Эти кодоны терминируют синтез белка.

Скорость синтеза белка в рибосоме достигает 10 Гц. Это очень высокая скорость, если учесть то, что реакция происходит в клетке, где плавают множество других молекул. Кроме того, в растворе также есть много различных тРНК. Все они проходят «примерку» к кодону матричной РНК и для того, чтобы достичь скорости в 10 Гц, необходим мощный приток тРНК. Если некоторое время не находится подходящая по антикодону тРНК, рибосома «виснет» (ribosome stalling), синтез заканчивается и весь комплекс из субъединиц рибосомы, мРНК и факторов транскрипции диссоциирует в цитоплазме.

У ряда бактерий, которые уменьшены в размерах, например, Mollicutes, происходит компактизация генома. Если в средней клетке бактерии 3 млн. нуклеотидов и 3 тыс. генов, то у мелких бактерий 1 млн. нуклеотидов и 1 тыс. генов. Часть генов при компактизации эти бактерии выкинули из генома. Интересно, что среди этих генов есть один, кодирующий тРНК, которая отвечает за перенос триптофана. Генетический код Mollicutes нормальный, но один из кодонов триптофана становится стоп-кодоном. Потом им пришлось заменить все кодоны триптофана, которые относились к этой тРНК, на другие кодоны триптофана, которые у них есть.

8. Митохондрии

Митохондрии — это бактерии, поселившиеся в других клетках (согласно теории симбиогенеза, прим. автора), и осуществляющие процесс клеточного дыхания. Они похожи генетическим кодом на Mollicutes, которые также являются внутриклеточными симбионтами. У митохондрий тоже отсутствует тРНК, переносящая триптофан.

Митохондрии так сильно ассимилировались в большие клетки, что для их функционирования необходимы некоторые белки из клетки-хозяина (некоторые митохондриальные гены перекочевали из самой митохондрии в ядро, в основном поэтому им нужны белки из клетки-хозяина, прим. автора). Без получения белков извне митохондрии живут недолго и плохо делятся.

9. Семитская теория

Ребенок от отца получает только ядерную ДНК, а от матери ядерную и митохондриальную. Это связано с тем, что в яйцеклетке содержится все необходимое для зародыша, в том числе и митохондрии. Таким образом, вся митохондриальная ДНК наследуется только по материнской линии. Используя это, можно отслеживать расселение людей по материкам. Например, было установлено, что заселение территории России происходило с запада на восток. Вообще говоря, с митохондриальной ДНК легче всего работать: она меньше, ее легче выделить и секвенировать.

Исследования расселения людей проводились и по ядерным генам, например, по Y-хромосоме. При этом траектория ее распространения среди населения была сильно изогнутой с общим трендом движения на запад. Исторически это связано с завоеваниями (Чингисхан и пр.).



Для подготовки к экзаменам пользуйтесь учебной литературой. Об обнаруженных неточностях и замечаниях просьба писать на pulsar@phystech.edu

10. Рибосома

Рибосома состоит из малой и большой субъединиц. В эукариотической клетке первая содержит 16S рРНК и 21 белок, вторая — 23S рРНК, 5S рРНК и 30 белков. Буква «S» происходит от слова **седиментация** (происходит от имени Сведберг, прим. автора). Седиментация — это экспериментальный метод разделения органелл (макромолекул) по массам. Чем больше масса, тем больше коэффициент седиментации (коэффициент седиментации также зависит от пространственной организации молекулы, прим. автора).

Рибосомы определяют переход из простого мира нуклеиновых кислот в сложный белковый мир. Существует теория РНК-мира, согласно которой в далеком прошлом РНК одновременно обладали и функцией хранения информации и ферментативной активностью. Затем появились сложные РНК, которые могли синтезировать другие молекулы — белки. Некоторые белки вместе с этими РНК сформировали рибосому и т. д.

Рибосомальные РНК, взаимодействуя с рибосомальными белками изменяют свои свойства. Насколько сильны и важны эти взаимодействия пока не ясно, но так как это след РНК-мира, они играют ненулевую роль в жизни клетки. Эти взаимодействия удобнее всего изучать на примере рибосомы, потому что РНК и белки там сильно связаны. В противном случае, если попытаться выделить комплекс, связанный слабыми взаимодействиями, то неизбежны потери каких-то компонентов.

11. Инициация трансляции

Матричная РНК имеет следующие участки: иницирующий кодон, за которым следует последовательность Шайн-Дальгарно, 3'- и 5'- нетранслируемые регионы (utr), перед иницирующим кодоном есть кодон, куда прицепляется иницирующий фактор.

У бактерий есть особая структура ДНК — оперон — это участок ДНК, где гены расположены друг за другом и образуют одну РНК для удобства синтеза тех белков, которые в клетке должны быть в эквимоллярных соотношениях. На конце каждого гена оперона есть стоп-кодон и рибосома «зависает», но вместо того, чтобы вылететь, РНК протаскивается через рибосому до следующего гена.

Между генами на разных цепях ДНК может быть «перехлест». Возможно, бывают такие случаи, когда на одной цепи ДНК в одну сторону закодировано что-то одно, а в другую на той же цепи — что-то другое. Но чаще бывает просто, расположенный на двух цепях ДНК «перехлест». Для удобства аннотирования, считают, что на обратной цепи нет осмысленных сигналов. Чаще всего расстояние между генами равно нулю, но есть и положительные и отрицательные значения расстояний.



Конспект не проходил проф. редактуру, создан студентами и, возможно, содержит смысловые ошибки. Следите за обновлениями на lectoriy.mipt.ru.

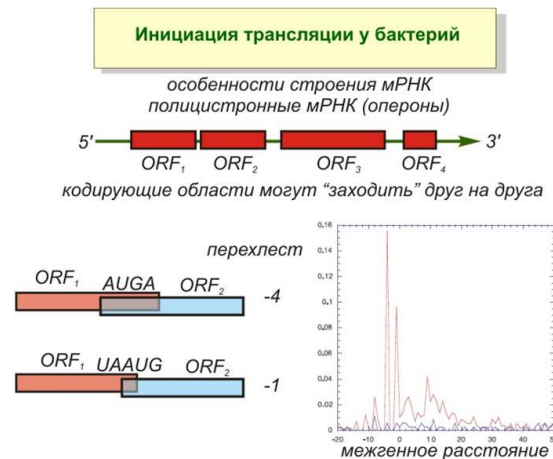


Рис. 2.7: Инициация трансляции

12. Белки

Белки — это полимеры, мономерами которых являются аминокислоты. Аминокислот, входящих в состав белков, насчитывают 20.

Измерив большое количество белок-белковых взаимодействий, можно обнаружить, что взаимодействия возникают не только между частями одного белкового комплекса, но и между теми белками, которые друг к другу отношения не имеют. Например, взаимодействие белков гликолиза и белков транскрипции. Это так называемые, **неканонические комплексы**.

Лектор и его команда ученых пытались объяснить зачем нужны эти неканонические взаимодействия. На схеме 2.8 стрелками помечены измеренные белок-белковые взаимодействия между белками гликолиза, белковыми шаперонами, рибосомами, белками транскрипции, ферментами ДНК.

Далее посчитали сколько молекул белка находится в одной клетке. Объект их изучения очень мелкий, диаметром около 700 нм, и без двойной клеточной стенки. Полученный объем очень мал, то есть, свободного места в клетке почти нет, и представление, что все метаболиты в клетке плавают от одного пункта к другому получается неверно. Клеточный метаболизм работает по принципу конвейера, все участники химических превращений расположены близко друг к другу. Так как имеют место быть тепловые флуктуации (а изменения в расположении ведет к изменению функционирования), весь конвейер надо закрепить за что-то неподвижное, за клеточную стенку и ДНК. Это предположение, которое сейчас пытаются доказать.

Интроны и экзоны Объектом изучения транскрипции РНК была эукариотическая клетка с периодом личинки жизненном цикле. Выяснилось, что при споруляции в РНК находилось очень много интронных участков. То есть, синтезировалась преимущественно длинная РНК с несколькими генами (по типу оперона). Это экономически выгодно. По мере роста клетки, интронов становится меньше, все РНК уменьшаются в длине.

РНК-мир Это теория, описывающая возможный эволюционный путь от простой жизни к сложной. Сначала были рибазимы — РНК с ферментативной активностью. Далее рибазимы усложнялись, в своем составе они уже содержали пептиды. До рибосомы было еще далеко, поэтому пептиды синтезировались другими путями, возможно, они



Для подготовки к экзаменам пользуйтесь учебной литературой. Об обнаруженных неточностях и замечаниях просьба писать на pulsar@phystech.edu

! Конспект не проходил проф. редактуру, создан студентами и, возможно, содержит смысловые ошибки. Следите за обновлениями на lectoriy.mipt.ru.

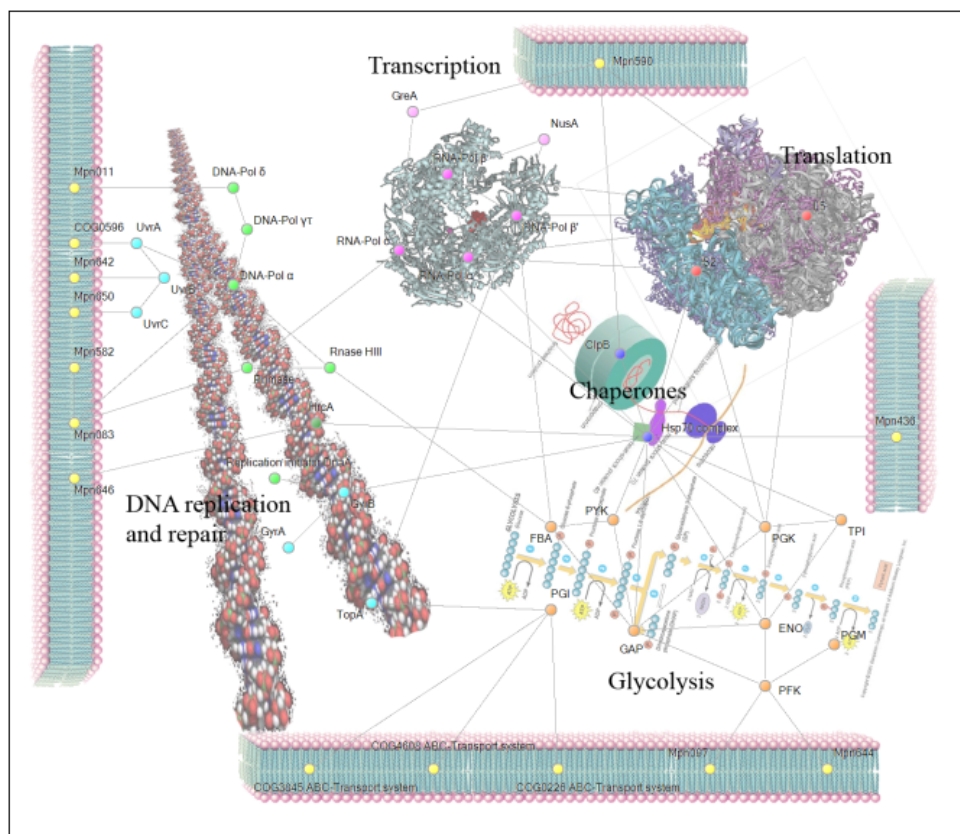


Рис. 2.8: Взаимодействие в клетке различных белков

содержали другие аминокислоты. Затем из рибазима и полипептида появляется РНП-энзим, от которого происходят белковые ферменты и сложные ферменты из нескольких белков и РНК (например, рибосома).

В 2009 было показано, что несмотря на большое количество генов, кодирующих белки, есть большое количество не транслирующихся малых РНК и примерно 7% антисмысловой РНК. Все некодирующие РНК играют какую-то роль. То же показано на *Helicobacter* с помощью современных методов секвенирования: из всей ДНК в клетке меньше половины отвечает за те РНК, которые кодируют белковую информацию.

Лекарств, которые были созданы с помощью новейших технологий ЯМР и 3-D моделирования — ноль. Все лекарства были созданы методом проб и ошибок. Доза пеницилина, которая была эффективна раньше и сейчас, отличается на 2-3 порядка. Мощные антибиотики проникли везде, в том числе и в нашу пищу. С этим фактом связано повышение процента поражения раком прямой кишки.

! Для подготовки к экзаменам пользуйтесь учебной литературой. Об обнаруженных неточностях и замечаниях просьба писать на pulsar@phystech.edu