



Экспрессия ДНК в бактериальных клетках.

(Генетический код и контроль работы гена)

Спецпрактикум по биохимической генетике - Лекция 5

Старший преподаватель: PhD, Сmekенов Изат Темиргалиевич

Кафедра молекулярной биологии и генетики



ЦЕЛЬ ЛЕКЦИИ

Изучить основные свойства генетического кода и механизмы регуляции экспрессии генов для понимания организации и работы генома.

Задачи

- ✓ Рассмотреть принципы триплетности и неперекрываемости генетического кода.
- ✓ Объяснить понятия вырожденности и однозначности в структуре генетического кода.
- ✓ Описать механизмы регуляции экспрессии генов и их роль в клеточной активности.
- ✓ Изучить универсальность генетического кода и его полярность, а также их значение для биологических систем.

Ключевые термины

генетический код, триплетность, регуляция экспрессии генов, вырожденность, однозначность, полярность, неперекрываемость, универсальность, компактность, хроматин, регуляторные элементы, инициаторный комплекс.

1) Генетический код

- Определяет соответствие между **триплетами нуклеотидов (кодонами)** и **аминокислотами**.
- **Триплетность**: каждая аминокислота кодируется последовательностью из трёх нуклеотидов.
- Характеристики генетического кода:
 - ✓ **Вырожденность**: несколько кодонов могут кодировать одну аминокислоту.
 - ✓ **Однозначность**: каждый кодон кодирует только одну аминокислоту.
 - ✓ **Полярность (направленность)**: считывание идет в направлении $5' \rightarrow 3'$.
 - ✓ **Неперекрываемость**: кодоны читаются без наложений.
 - ✓ **Универсальность**: почти все организмы используют один и тот же код.
 - ✓ **Компактность**: кодонная структура минимизирует вероятность ошибок.

2) Регуляция экспрессии генов

- Определяет, **когда и в каком количестве синтезируется белок**.
- Включает **регуляторные элементы** (промоторы, энхансеры, сайленсеры) и **инициаторный комплекс**, связывающийся с ДНК для старта транскрипции.
- Структура хроматина влияет на доступность ДНК для транскрипции: **гетерохроматин — конденсирован и транскрипционно неактивен, евхроматин — развернут и активен**.

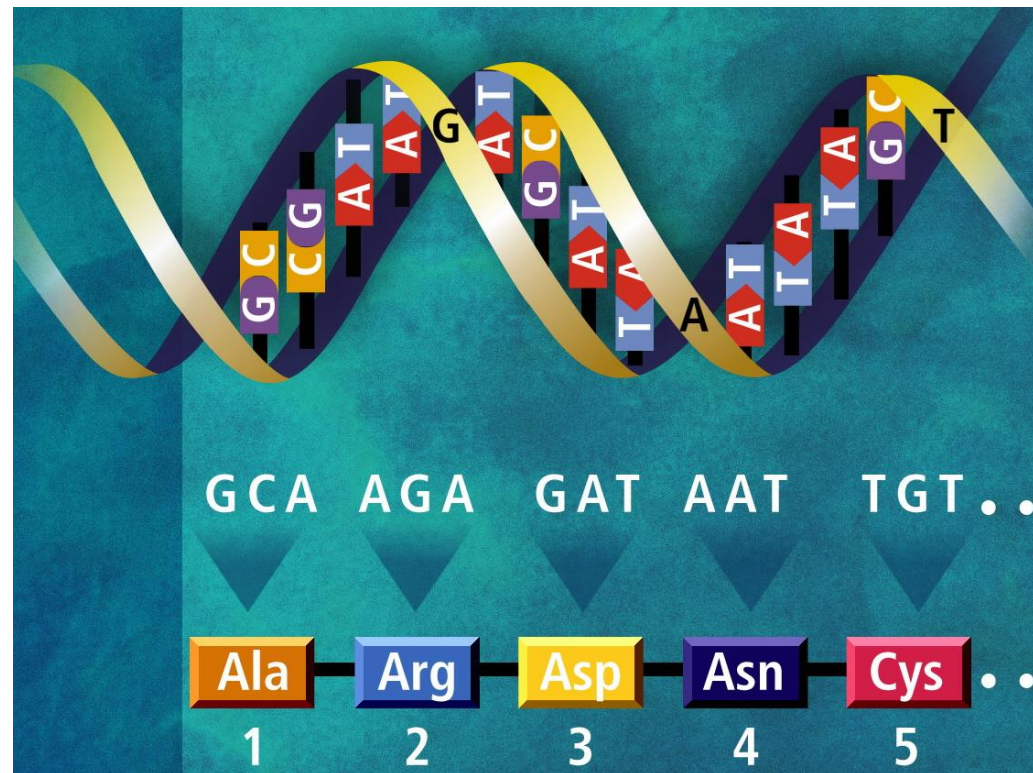


ОСНОВНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Что такое генетический код и какие основные свойства он имеет (вырожденность, однозначность, неперекрываемость, полярность, универсальность, компактность)?
2. Как триплетность кодонов обеспечивает синтез белка?
3. Какие элементы регулируют экспрессию генов на уровне транскрипции?
4. Как структура хроматина влияет на доступность генов для экспрессии?
5. Что такое инициаторный комплекс и как он участвует в старте транскрипции?
6. Как регуляторные элементы могут усиливать или подавлять экспрессию гена?
7. Почему вырожденность генетического кода важна для устойчивости белкового синтеза?

Генетический код

Генетический код — это система записи наследственной информации в молекулах нуклеиновых кислот, основанная на определённом чередовании последовательностей нуклеотидов в ДНК или РНК, образующих кодоны, соответствующие аминокислотам в белке.



Генетический код имеет несколько свойств:

1. Триплетность.
2. Вырожденность или избыточность.
3. Однозначность.
4. Полярность.
5. Неперекрываемость.
6. Компактность.
7. Универсальность.

Триплетность



- **Триплет** — наименьшая структурная единица генетического кода. Состоит она из трёх нуклеотидов.
- **Кодон** — наименьшая функциональная единица генетического кода.

Сколько нуклеотидов кодируют полипептид из 51 аминокислоты?

153

Какой триплет в молекуле иРНК соответствует кодовому триплету АТГ в молекуле ДНК?

УАЦ

Какой триплет ДНК матричной цепи соответствует кодону

АСА иРНК?

ТГТ

Вырожденность или избыточность

- Три нуклеотида из четырёх дают $4^3 = 64$ варианта, что с избытком перекрывает число имеющихся у живых организмах аминокислот

Н У К Л Е О Т И Д Ы					
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 } УАГ } стоп-кодон	УГУ } Цистеин УГЦ } УГА } стоп-кодон УГГ } Триптофан	У
Ц	ЦУУ } ЦУЦ } Лейцин ЦУА } ЦУГ }	ЦЦУ } ЦЦЦ } Пролин ЦЦА } ЦЦГ }	ЦАУ } Гистидин ЦАЦ } ЦАА } Глутамин ЦАГ }	ЦГУ } ЦГЦ } Аргинин ЦГА } ЦГГ }	Ц
А	АУУ } АУЦ } Изолейцин АУА } АУГ } Метионин СТАРТ-КОДОН	АЦУ } АЦЦ } Треонин АЦА } АЦГ }	ААУ } Аспарагин ААЦ } ААА } Лизин ААГ }	АГУ } Серин АГЦ } АГА } Аргинин АГГ }	А
Г	ГУУ } ГУЦ } Валин ГУА } ГУГ }	ГЦУ } ГЦЦ } Аланин ГЦА } ГЦГ }	ГАУ } Аспарагиновая кислота ГАЦ } ГАА } Глутаминовая кислота ГАГ }	ГГУ } ГГЦ } Глицин ГГА } ГГГ }	Г

Кодон **АУГ** (у бактерий иногда **ГУГ**)

64 вариантов триплетов только **61** являются кодонами и кодируют какую-либо аминокислоту, их называют **смысловые кодоны**.
Три триплета не кодируют.

Сокращения названий аминокислот

Ала — аланин
Арг — аргинин
Асп — аспарагин
Асп — аспарагиновая кислота
Вал — валин
Гис — гистидин
Гли — глицин

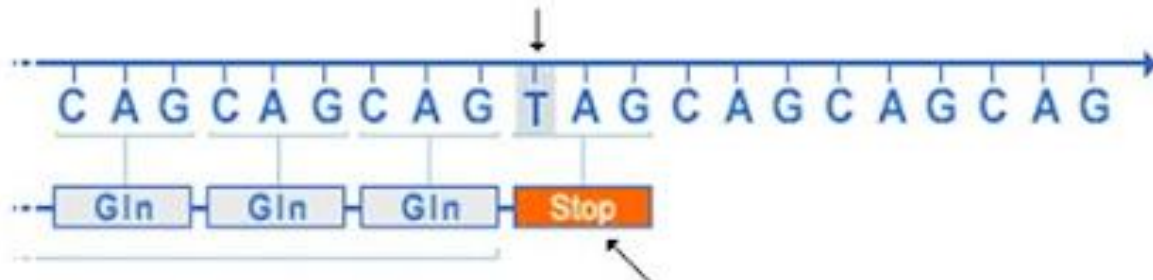
Глн — глутамин
Глу — глутаминовая кислота
Иле — изолейцин
Лей — лейцин
Лиз — лизин
Мет — метионин
Про — пролин

Сер — серин
Тир — тирозин
Тре — треонин
Три — триптофан
Фен — фенилаланин
Цис — цистеин

В результате мутации, которая связана с заменой в триплете одного нуклеотида на другой, из смыслового кодона может возникнуть бессмысленный кодон. Такой тип мутации называют **нонсенс-мутация**.



Нарушение расположения одного нуклеотида



Возникает преждевременный стоп-кодон, что приводит к синтезу укороченного неполноценного белка

Однозначность

- Каждый триплет (кроме бессмысленных) кодирует только одну аминокислоту. Таким образом, в направлении кодон — аминокислота генетический код однозначен, в направлении аминокислота — кодон — неоднозначен (вырожденный).
- И в этом случае необходимость однозначности в генетическом коде очевидна. При другом варианте при трансляции одного и того же кодона в белковую цепочку встраивались бы разные аминокислоты и в итоге формировались бы белки с различной первичной структурой и разной функцией. Метаболизм клетки перешёл бы в режим работы «один ген — несколько полипептидов». Понятно, что в такой ситуации регулирующая функция генов была бы полностью утрачена.

Полярность

- Считывание информации с ДНК и с иРНК происходит только в одном направлении. Полярность имеет важное значение для определения структур высшего порядка (вторичной, третичной и т.д.).

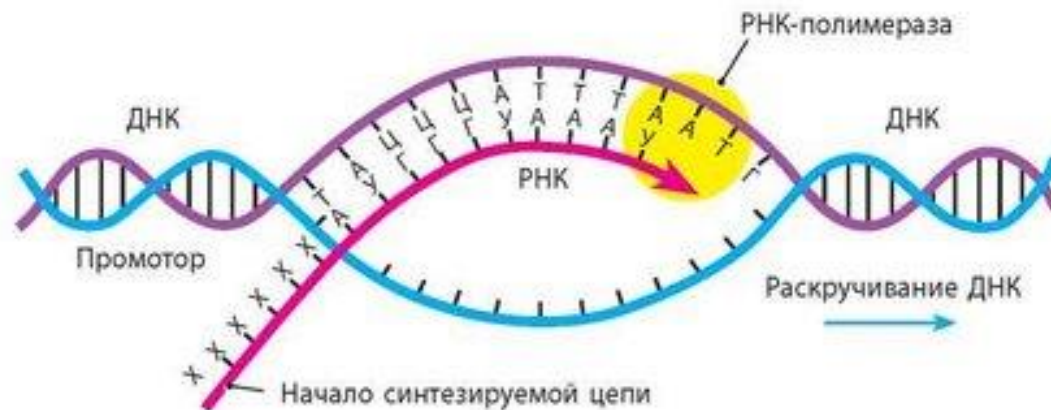


Рис. 22.2. Процесс транскрипции

Неперекрываемость

- Код может быть перекрывающимся и не перекрывающимся. У большинства организмов код не перекрывающийся. Перекрывающийся код найден у некоторых фагов.



Reading Frames

- A given sequence may encode a protein in any of the six reading frames

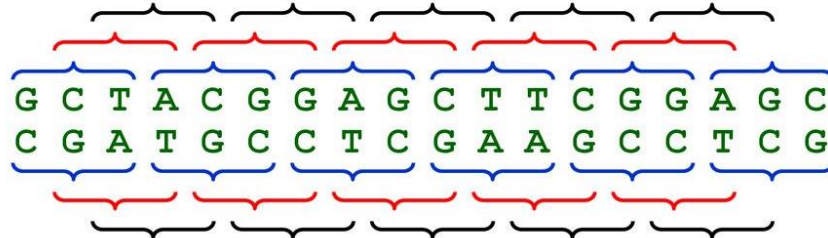
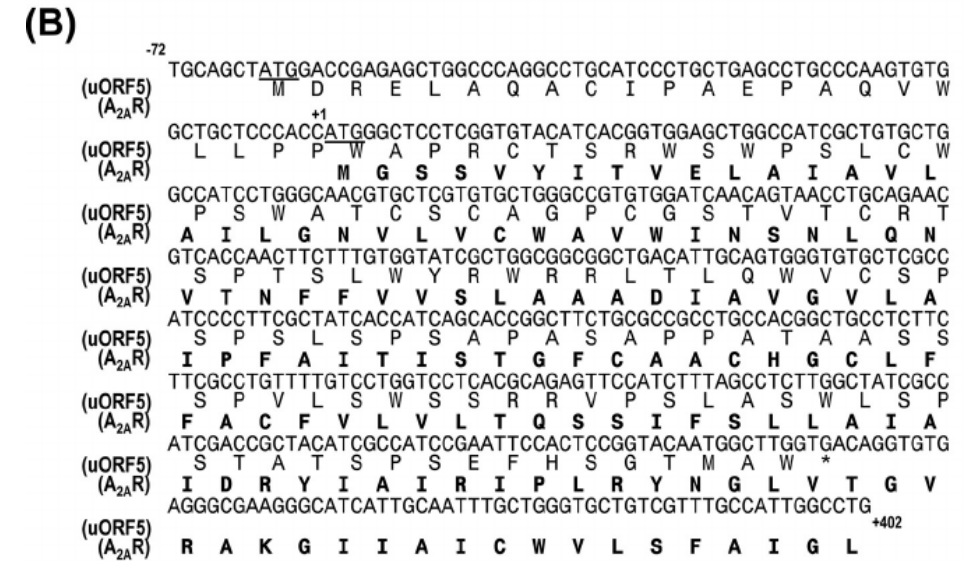
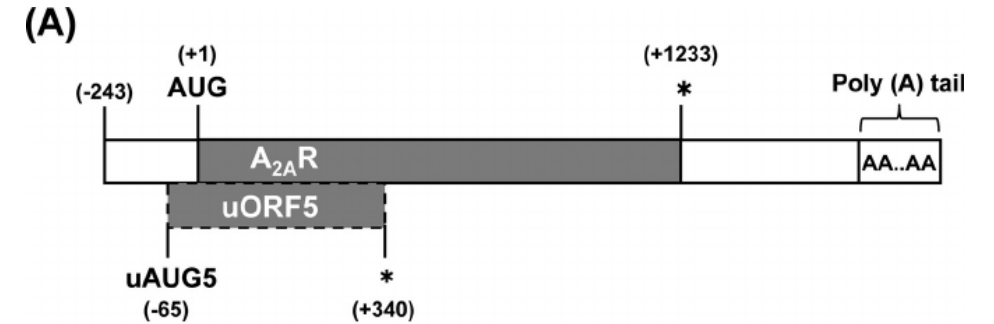


Table 1.1

General features of viral genomes sequenced

S. No.	Class	Sequenced genomes	Size (Nt)	Proteins
1	DsDNA	414	4697–335,593	6–240
2	SsDNA	230	1360–10,958	6–11
3	DsRNA	61	3090–29,174	2–13
4	SsRNA (+)	421	2343–31,357	1–11
5	SsRNA (–)	81	8910–25,142	5–6



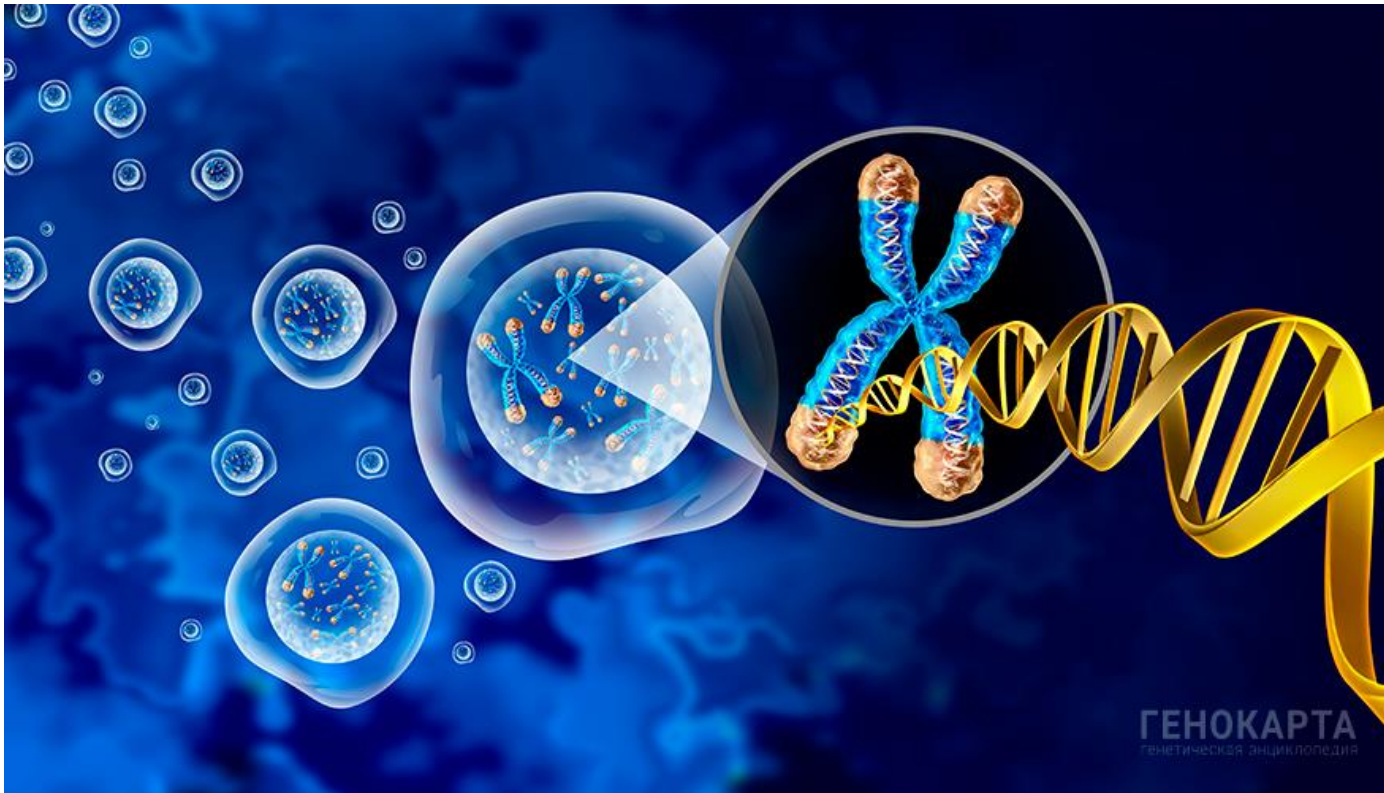
Компактность

- Между кодонами нет знаков препинания. Иными словами триплеты не отделены друг от друга, например, одним ничего не значащим нуклеотидом. Отсутствие в генетическом коде «знаков препинания» было доказано в экспериментах.

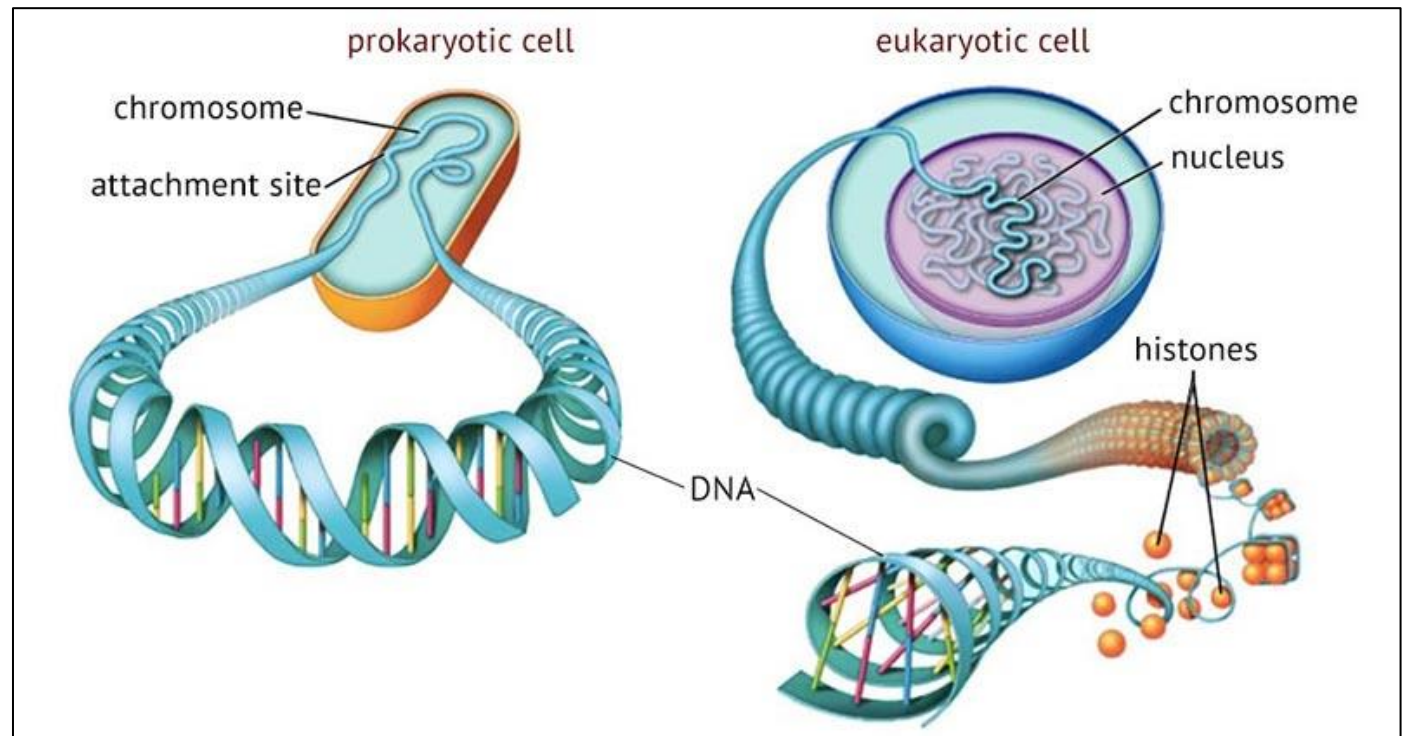
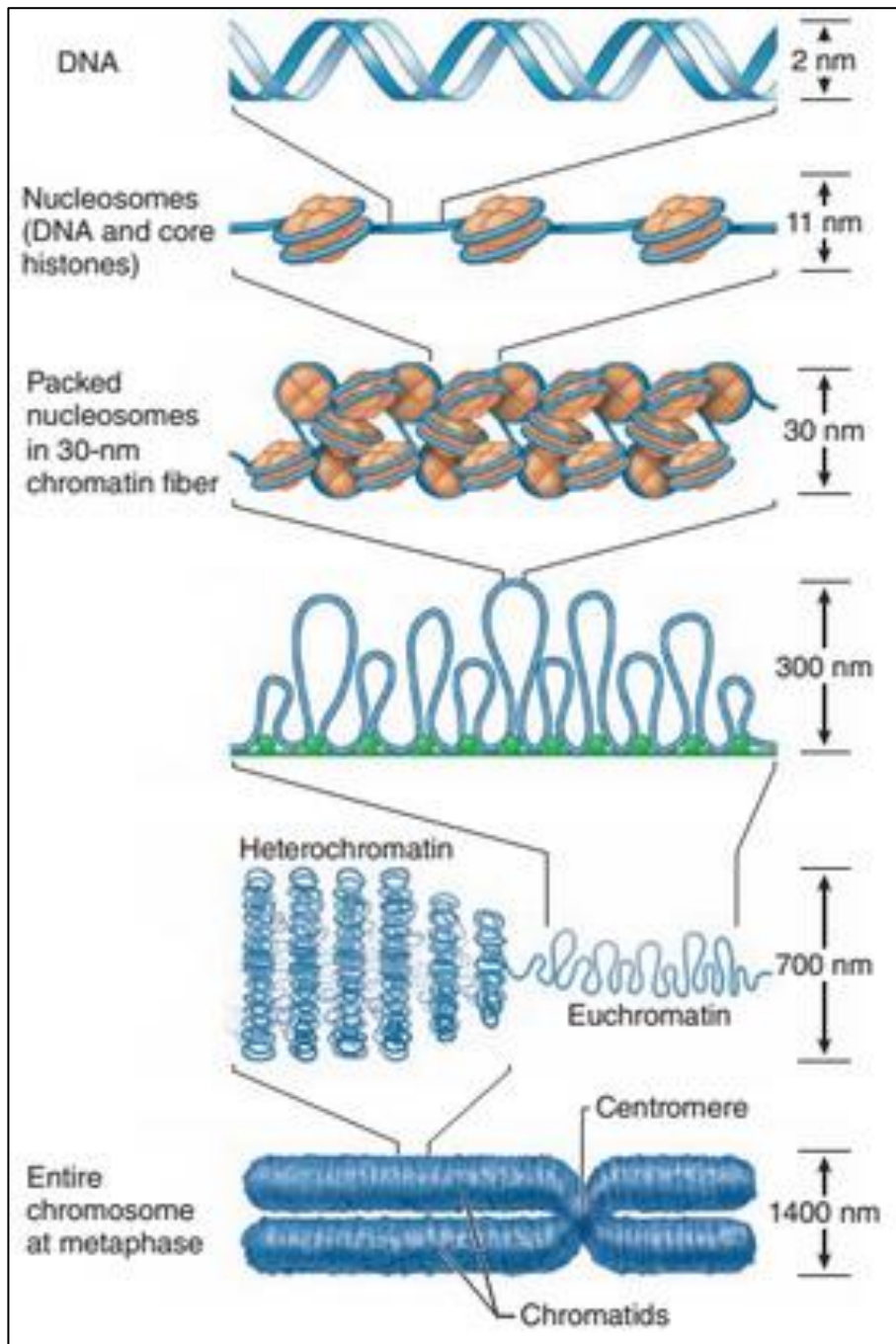
Универсальность

- Код един для всех организмов, живущих на Земле. Прямое доказательство универсальности генетического кода было получено при сравнении последовательностей ДНК с соответствующими белковыми последовательностями.

Геном эукариот

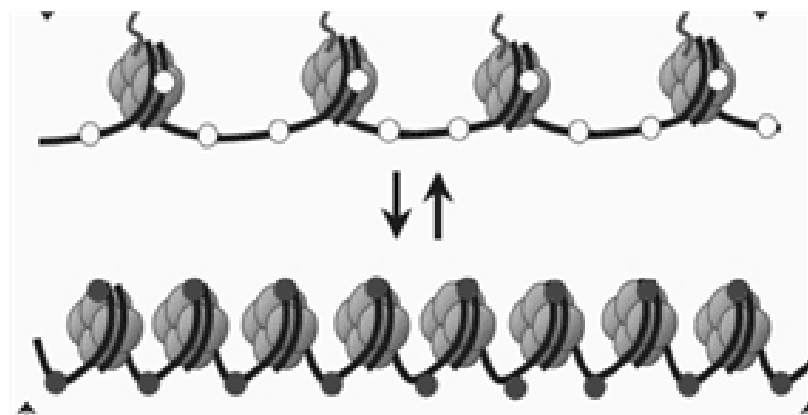


Геном эукариот устроен намного сложнее, чем у прокариот. Генетический аппарат эукариотической клетки обособлен в виде клеточного ядра, внутри которого располагаются основные носители наследственности — хромосомы. Количество хромосом видоспецифично и колеблется от двух (лошадиная аскарида) до тысячи (низшие растения).



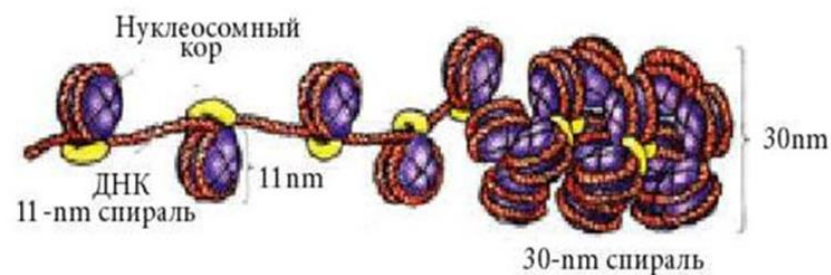
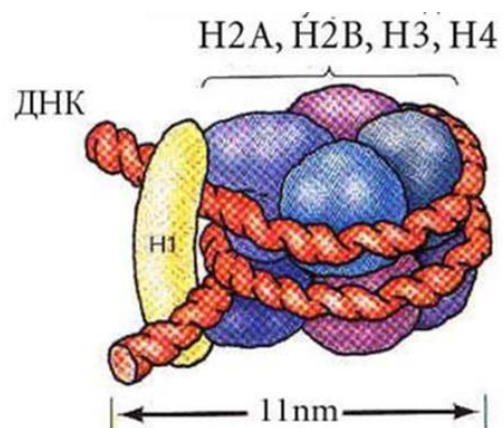
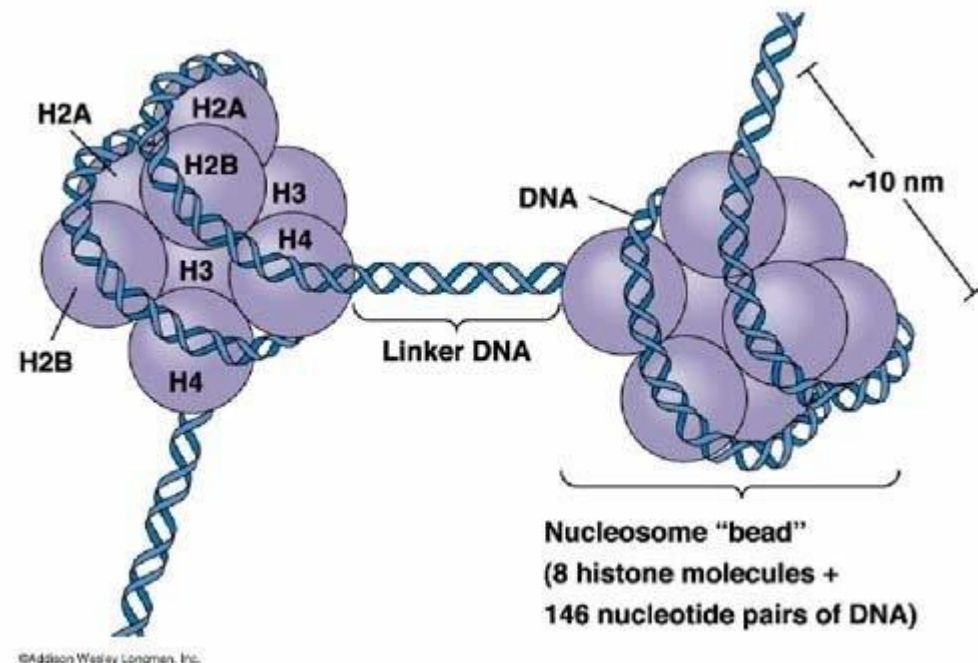


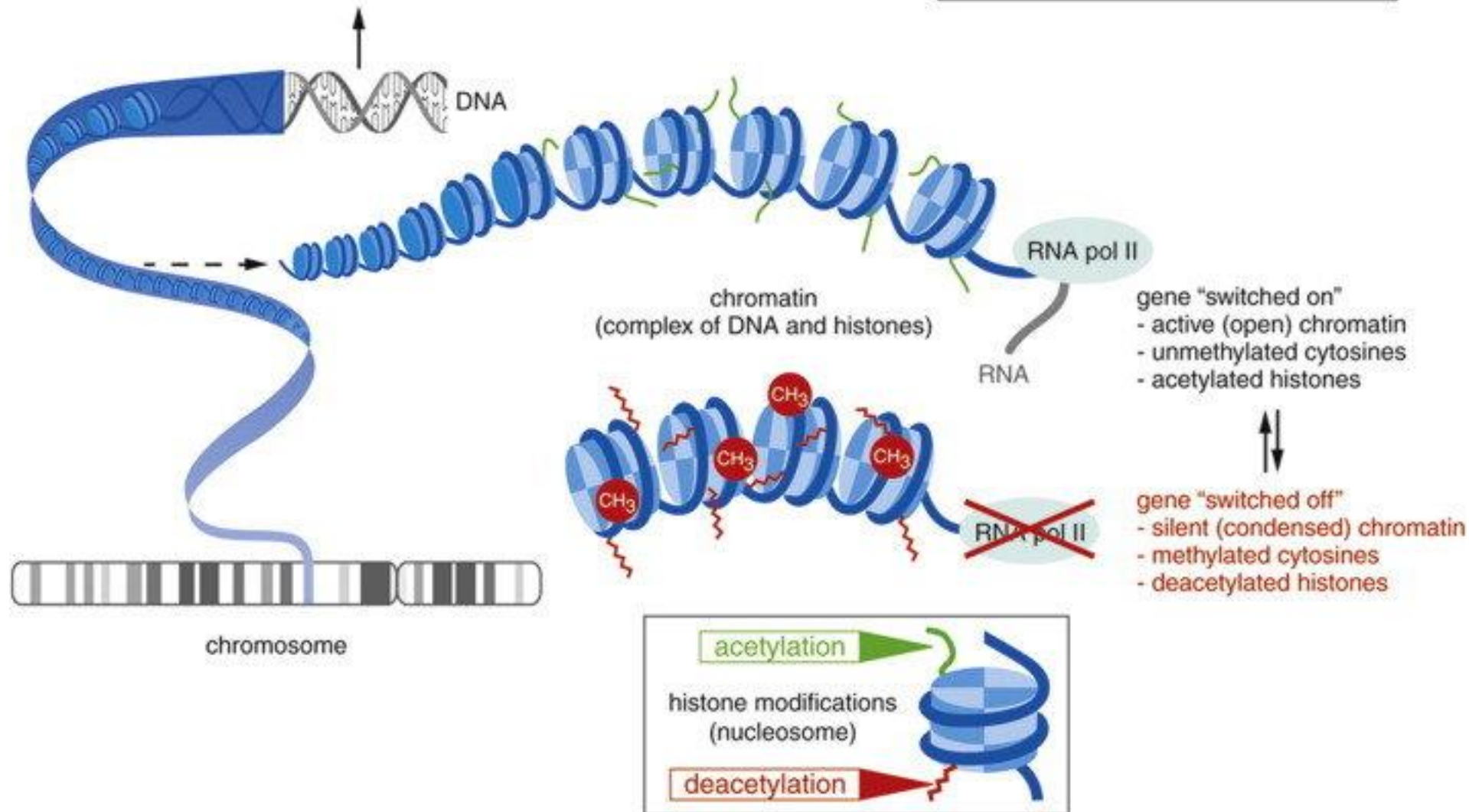
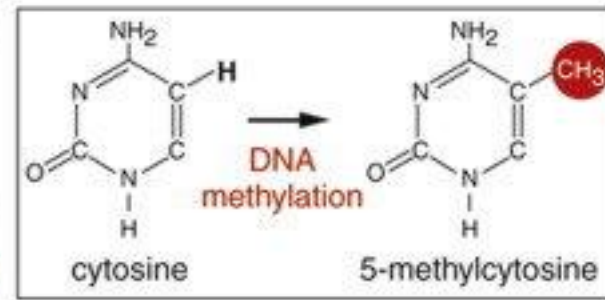
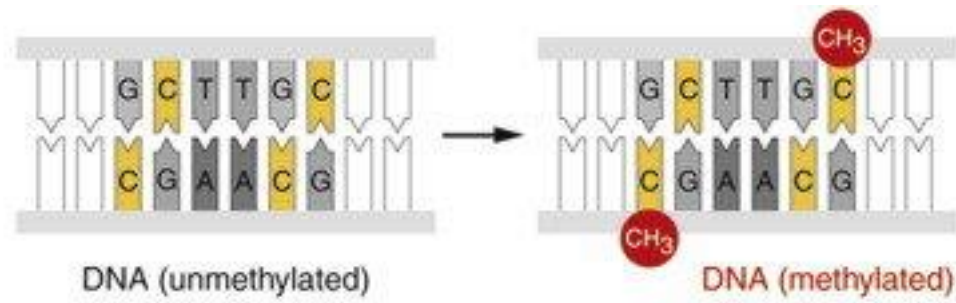
нуклеосома



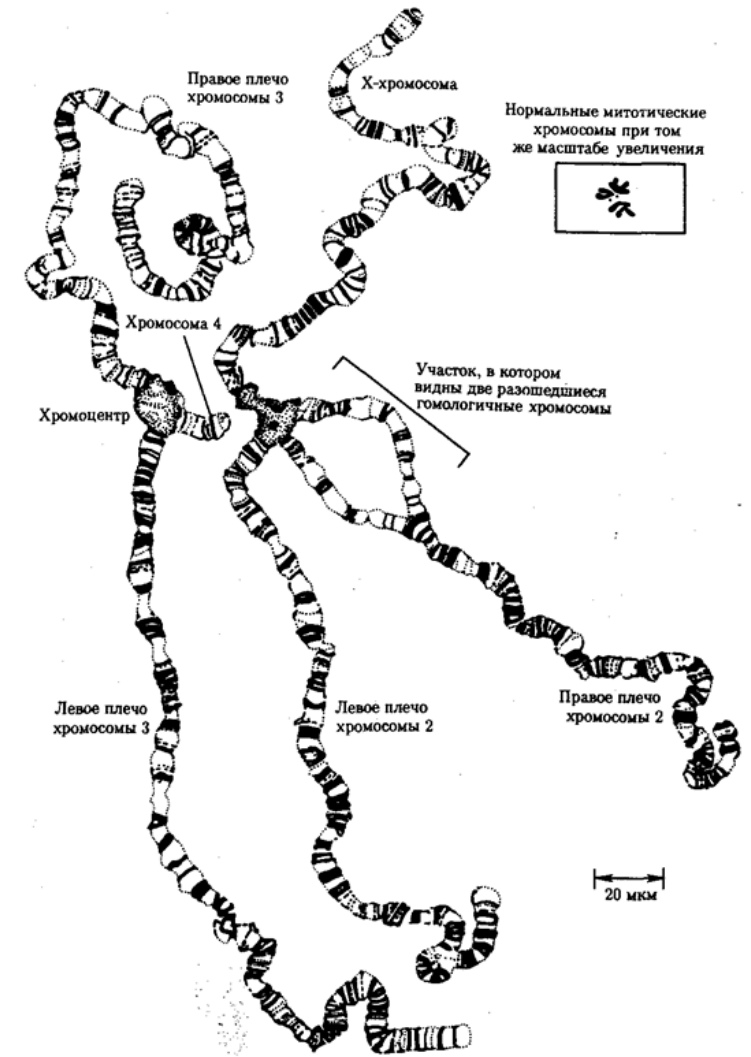
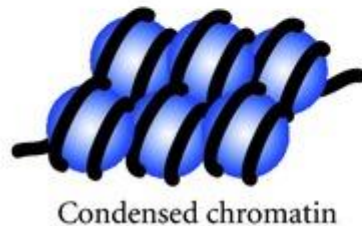
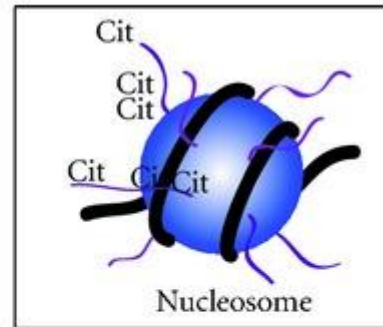
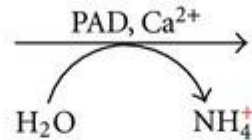
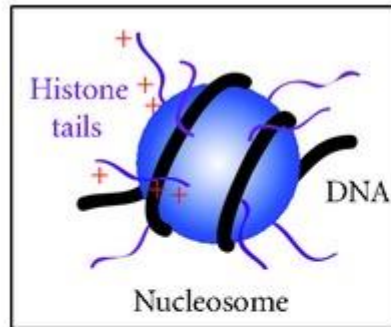
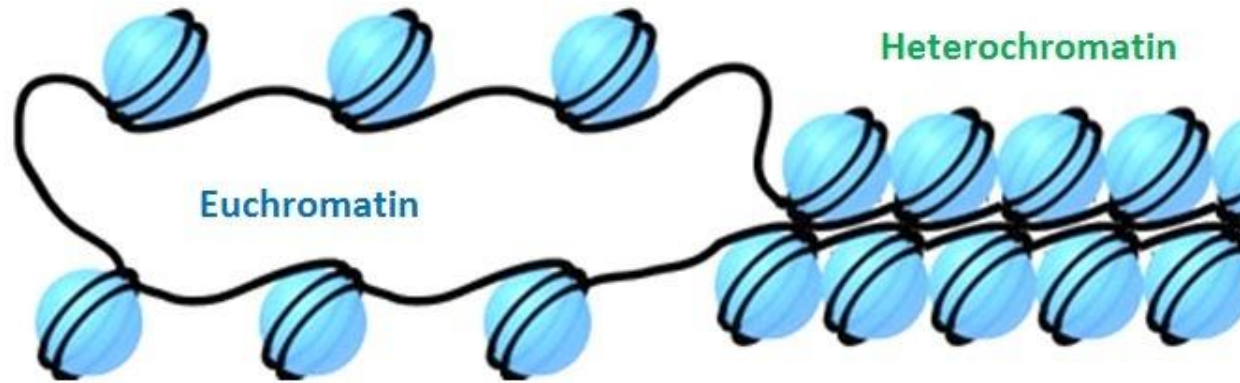
ДНК деметилирована, гистоны ацетилированы, транскрипция возможна

ДНК метилирована, гистоны деацетилированы, транскрипция невозможна (черные точки – метилцитозин)

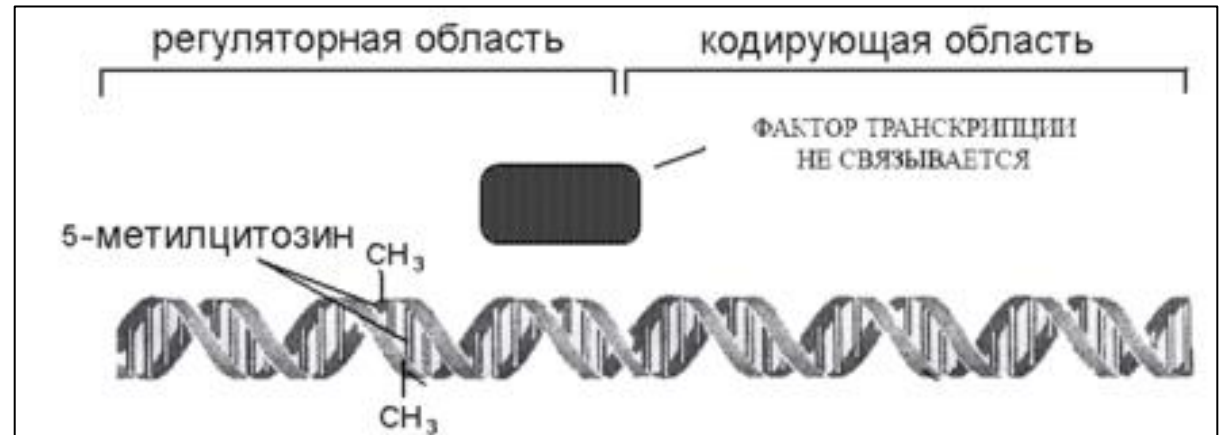
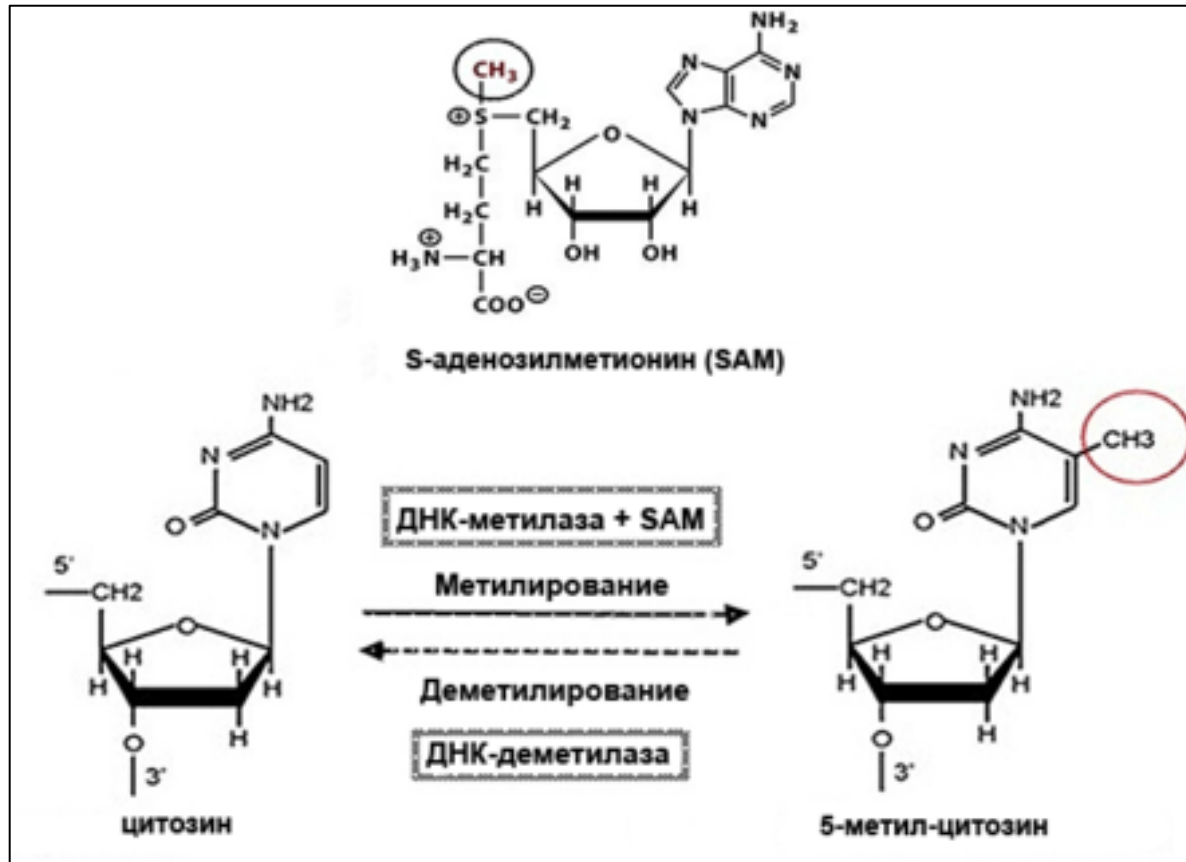




- Конденсация и деконденсация хроматина. Это наиболее универсальный метод регуляции транскрипции. Когда нужно экспрессировать определенные гены, хроматин в этом месте деконденсируется.

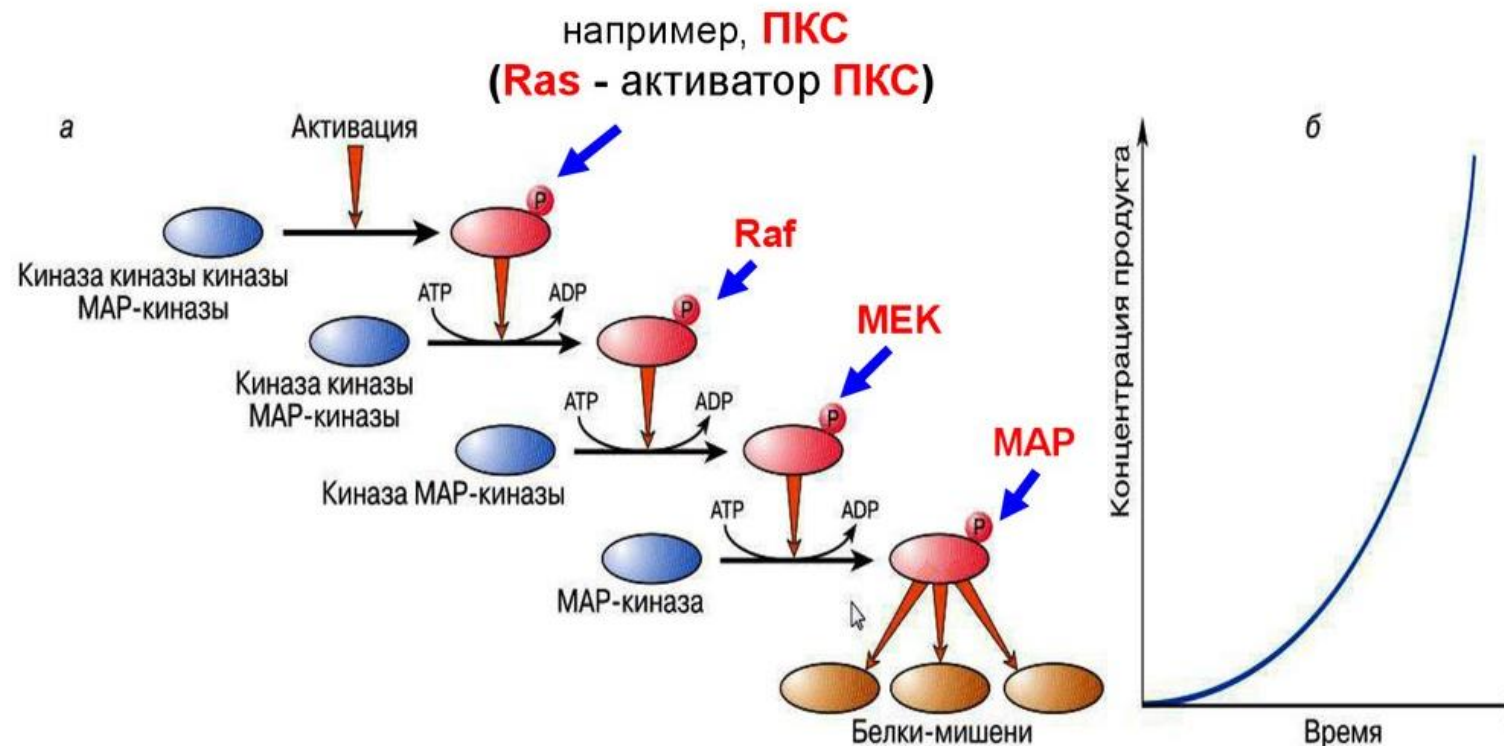


- Метилирование и деметилирование ДНК. Метилирование ДНК происходит в регуляторных областях гена. Метилируется цитозин в последовательности ЦГ, после чего ген инактивируется. При деметилировании активность гена восстанавливается. Процесс регулируется ферментом метилтрансферазой.

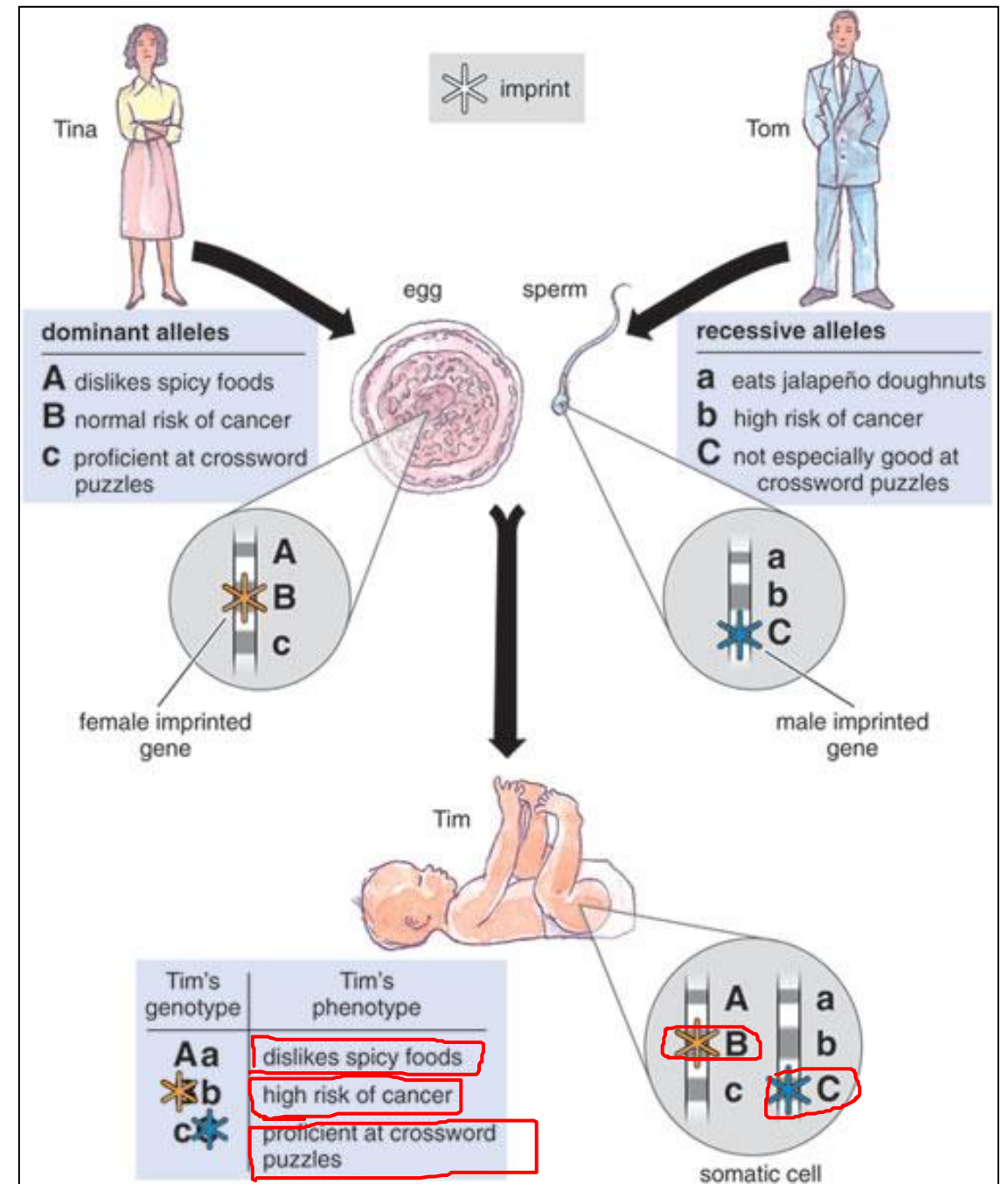
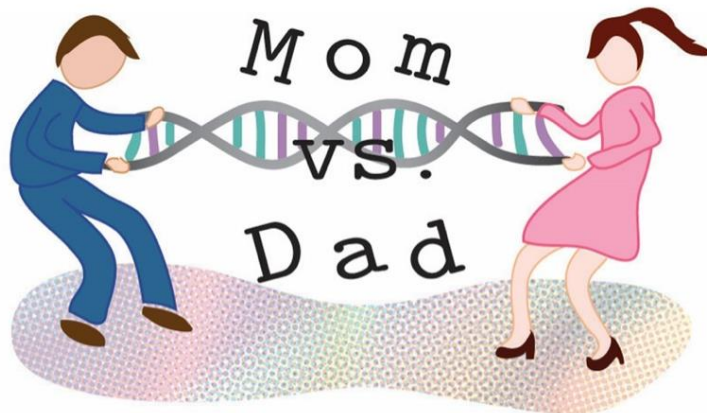


- Гормональная регуляция. При гормональной регуляции гены активируются в ответ на внешний химический сигнал (поступление в клетку определенного гормона). Этот гормон запускает те гены, которые имеют специфические последовательности нуклеотидов в регуляторных областях.

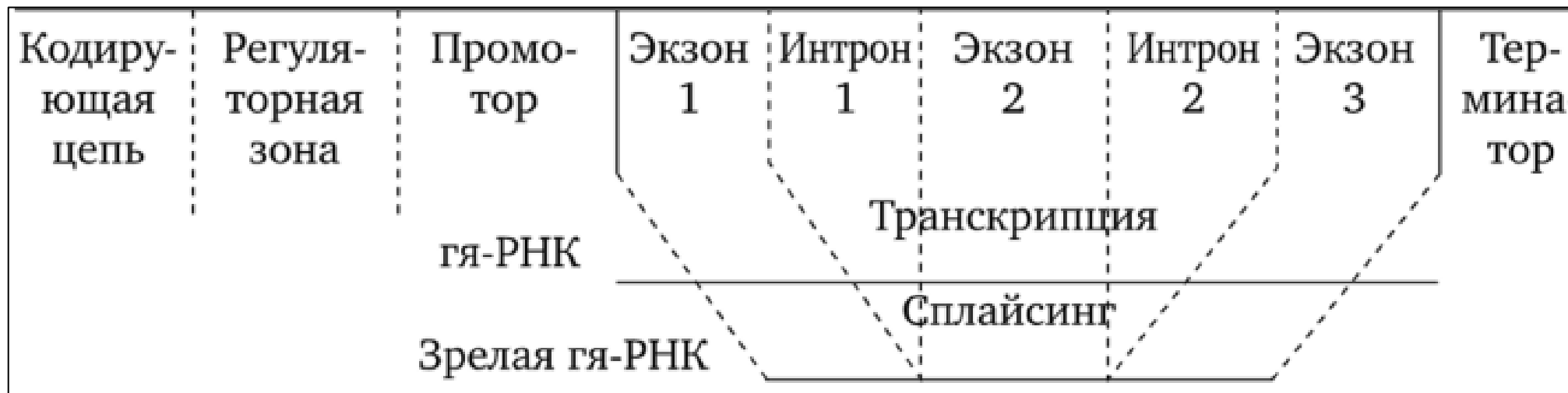
ПРИНЦИП УСИЛЕНИЯ РЕГУЛЯТОРНОГО СИГНАЛА В КАСКАДЕ ПРОТЕИНКИНАЗ



- Геномный импринтинг. Это малоизученный способ регуляции экспрессии генов у эукариот. Он возможен только у диплоидных организмов и выражается в том, что активность генов зависит, от какого из родителей они были получены. Выключение генов осуществляется путем метилирования ДНК.

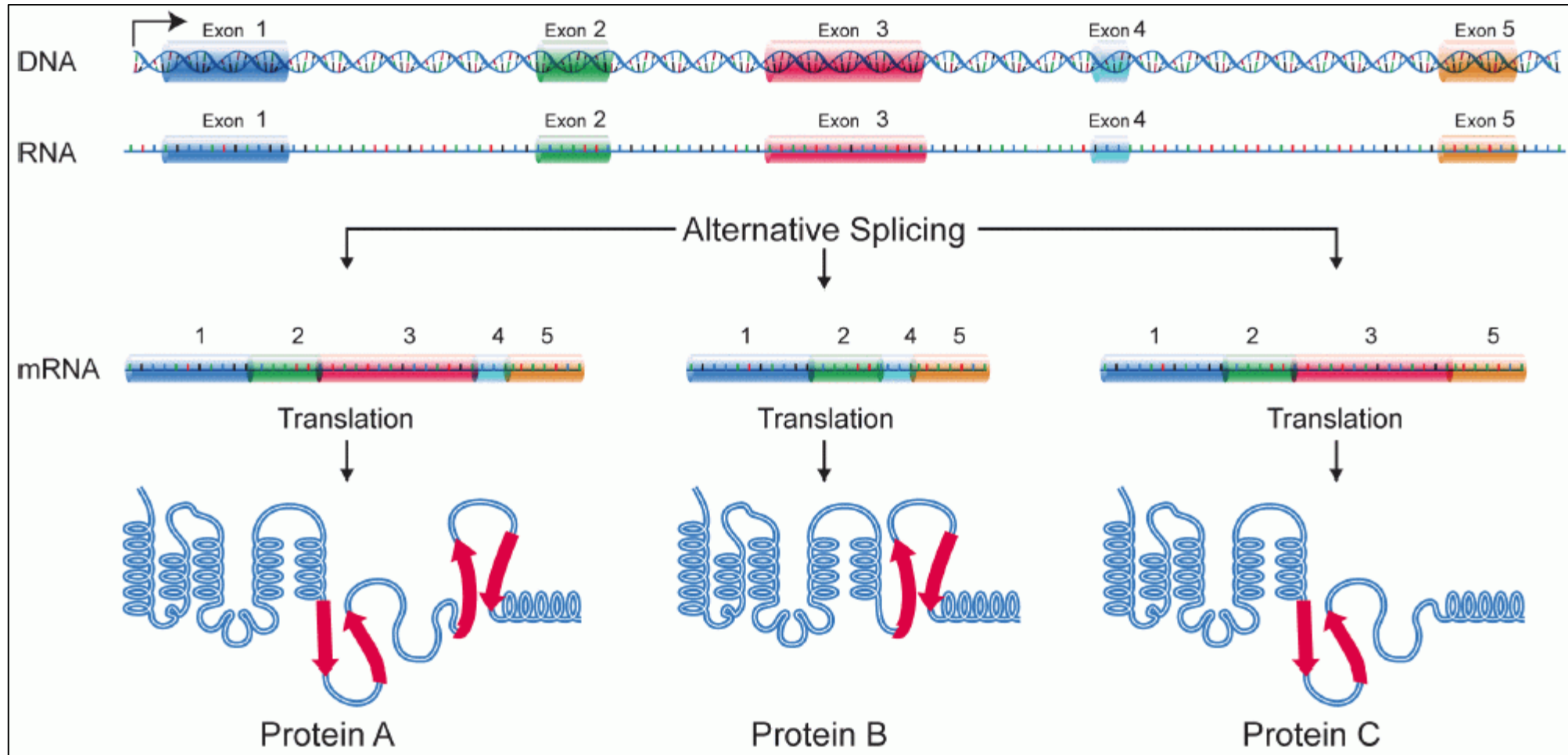


- У эукариот большинство структурных генов состоит из нескольких дискретных кодирующих областей (экзонов), разделенных некодирующими областями (интронами). По завершении транскрипции эукариотического структурного гена интроны вырезаются из первичного продукта транскрипции с помощью ферментов, а экзоны сшиваются друг с другом «торец в торец» (сплайсинг) с образованием функциональной мРНК
- Обычно длина экзонов составляет от 150 до 200 нуклеотидов, а длина интронов варьирует от 40 до 10 000 нуклеотидов.

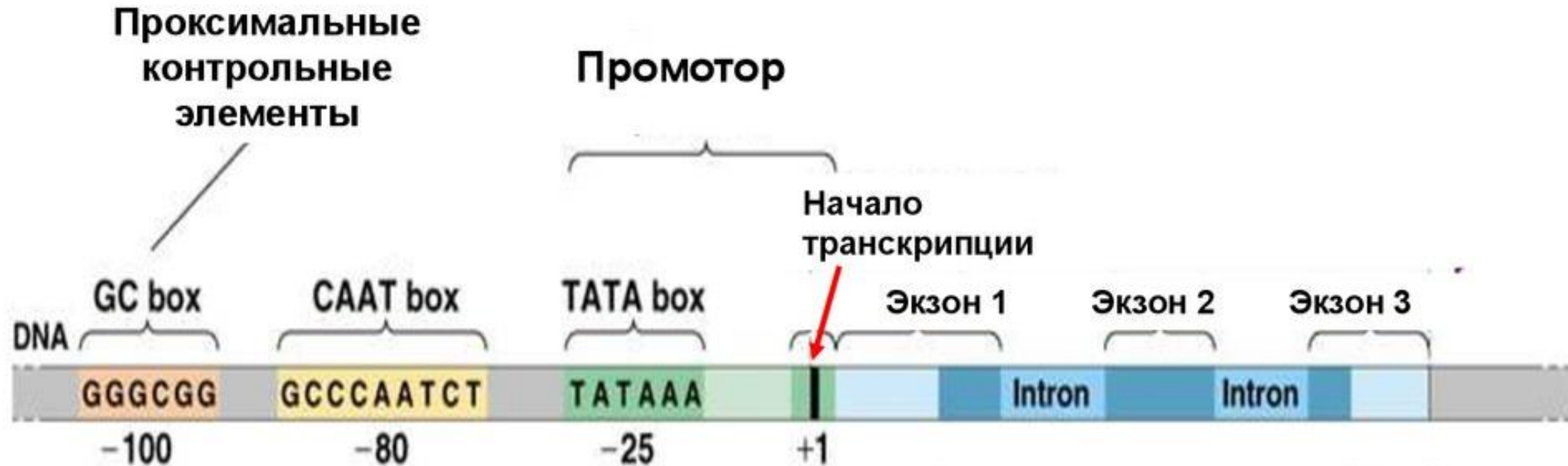


Регуляция стабильности иРНК. У эукариот существует регуляция и на уровне трансляции, когда готовые иРНК не «допускаются» к рибосомам или разрушаются. Другие же иРНК могут дополнительно стабилизироваться для многократного использования.

Благодаря альтернативному сплайсингу в разных тканях могут образовываться разные продукты одного и того же структурного гена

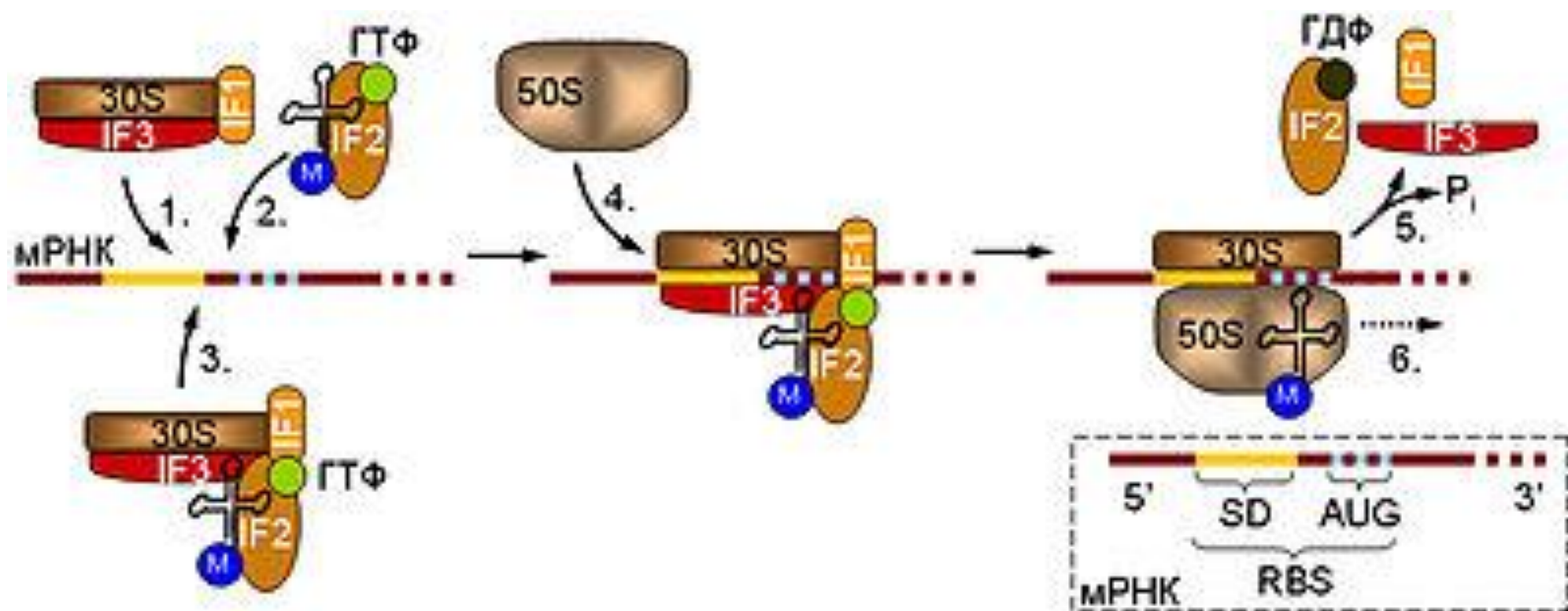


Несмотря на индивидуальность набора регуляторных элементов у структурных генов эукариот, каждый из них имеет промоторный участок (ТАТА-бокс, или бокс Хогнесса) из восьми нуклеотидов, включающий последовательность ТАТА; последовательность ССААТ (САТ-бокс); участок из повторяющихся динуклеотидов GC (GC-бокс). Эти элементы находятся на расстоянии 25, 75 и 90 п.н. от сайта инициации соответственно.

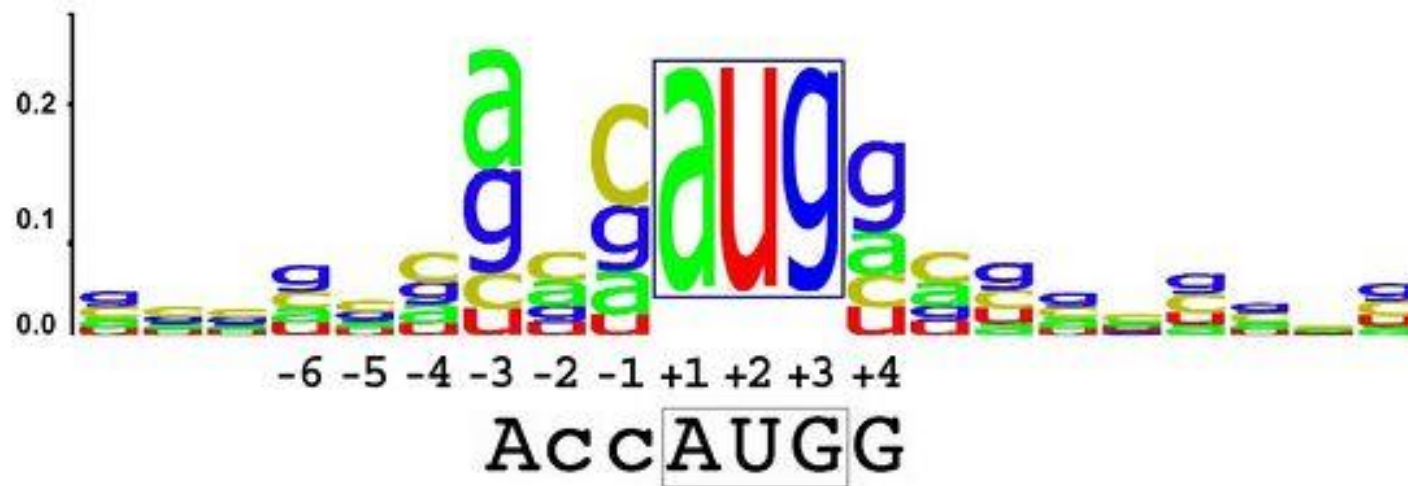


- В отличие от прокариот у эукариот опероны в большинстве своем отсутствуют, т. е. каждый эукариотический структурный ген имеет свой собственный набор регуляторных элементов. Существенную роль в регуляции транскрипции у эукариот, помимо опосредованной взаимодействием между ДНК и белками, играют также белок-белковые взаимодействия.

- У эукариот трансляция инициируется связыванием специфической «нагруженной» инициаторной тРНК (Met-тРНК^{Met}) и факторов инициации с малой рибосомной субъединицей. Затем мРНК присоединяется своим 5'-концом к комплексу тРНК—малая рибосомная субъединица, и комплекс продвигается по мРНК до старт-кодона (AUG). Далее антикодон UAC инициаторной Met-тРНК^{Met} спаривается с кодоном AUG мРНК. К комплексу присоединяется большая рибосомная субъединица, и образуется инициаторный комплекс.



- **Консенсусная последовательность Козак** (англ. Kozak consensus sequence) — последовательность нуклеотидов в составе мРНК эукариот (а также соответствующая последовательность в их генах), окружающая старт-кодон и важная для инициации трансляции. Описана американским биохимиком и молекулярным биологом Мэрилин Козак в 1986 году.



ЛИТЕРАТУРА

1. Щелкунов С.Н. «Генетическая инженерия», Учебно-справочное пособие. 3-е изд. Новосибирск: СУИ, 2008 – 514 с
2. Жимулев И.Ф. «Общая и молекулярная генетика» учебное пособие. Новосибирск: СУИ, 2007.
3. Sambrook J., Russell D.W. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd edition), Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001, NY.
4. Маниатис Т., Фрих Э., Сэмбрук Д. Молекулярное клонирование. – М.: Мир, 1984.
5. Alberts B. et al. Molecular Biology of the Cell. 6th edition. Garland Science, 2014.
6. Glick B.R., Pasternak J.J., Patten C.L. Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA. 5th edition. ASM Press, 2010.
7. Lodish H., Berk A., Zipursky S.L. Molecular Cell Biology. 9th edition. W.H. Freeman, 2021.
8. Brown T.A. Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction. 7th edition. Wiley-Blackwell, 2016.
9. Green M.R., Sambrook J. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 4th edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012.