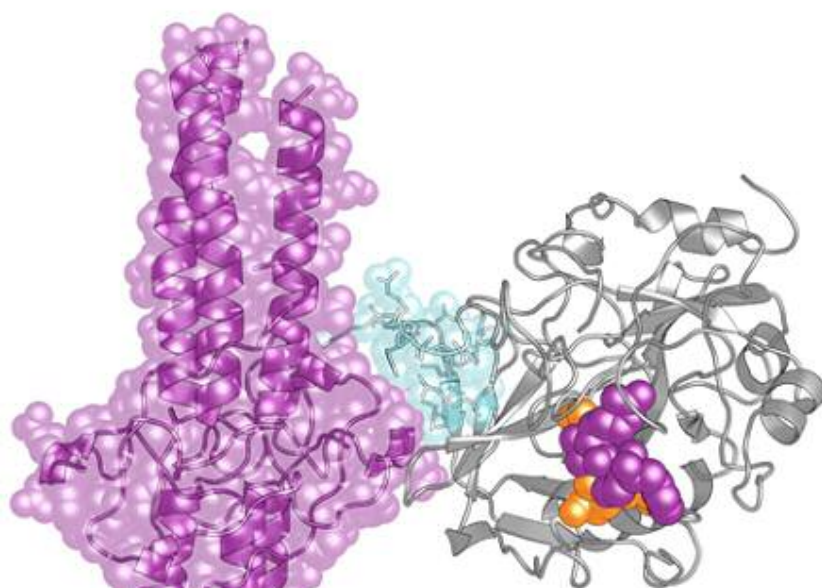


Л.М. Макаров



Практикум по биофизике

Санкт Петербург
2013

Содержание

Введение	2
Основные понятия	4
Лабораторный практикум	15
Задачи на правило комплементарности.....	Ошибка! Закладка не определена.
Справочные данные.....	19

Введение

Общее представление о наследственности, наследуемых признаках организма и передаваемых от поколения к поколению создается при изучении генной теории. В рамках генной теории не обсуждается, а постулируется ряд основных законов Природы, которые сравнительно недавно стали достоянием научного мира.

Устоявшееся представление о рождении живых форм материи из живых форм - прародителей, часто трансформируется в представление эволюционного развития, где ведущую роль отводят факторам внешней среды. Именно под их воздействием каждый вновь рождающийся организм сталкивается с необходимостью "принять окружающую среду такой как она есть", а, следовательно, адаптироваться под сложившиеся на данный момент условия существования. Именно подстройка под условия среды обитания является движущим стимулом эволюции. Так представлялась научная мысль много лет подряд. Со времен Ч. Дарвина эта концепция укреплялась и дополнялась новыми наблюдениями.

С момента открытия двойной спирали ДНК, а затем установления наличия хромосомного набора стало понятно, что развитие видов подчиняется некоторой Природной программе, которая контролирует развитие организма от момента рождения и до летального исхода. Наличие такой программы не удивило ученый мир, а лишь укрепило взгляды на совершенство Природных законов, и тех что действуют в живых организмах. Наличие природных законов построения функциональных подсистем организма, их развитие с учетом специфики жизнедеятельности, а также их способность адаптироваться под условия внешней среды, создало условия воспроизведения множества моделей живого организма. В рамках одной из таких моделей живой организм уподобляется современному компьютеру, это так что называется для убедительности позиционирования материала и простоты понимания существа вопроса.

Следуя этому представлению, весь период жизни организма разбит на несколько этапов, которые обслуживают определенные программные модули. Запуск модулей, их отключение и включение других наборов модулей контролирует Природный блок программ. В компьютерном понимании - это операционная система. Для каждого вида организмов существует своя операционная система. В целом, можно сказать по всему семейству живых организмов, таких систем много, но их отличия незначительны. Такой моно блок программ формируется при рождении организма и передается с небольшими вариациями от поколения к поколению.

Расширяя эти понятия, можно сказать, что блок программных модулей позиционируется большим текстовым материалом - книгой. Каждый раздел книги читается последовательно - в свое установленное время. Такое представление позволяет в некоторой степени оценить сложность процессов организации внутренних подсистем организма и их дифференциацию по рабочим признакам. Аналогичные процессы осуществляются при формировании различных по функциональным признакам био тканей, образующих кожный покров, мышцы, ткани внутренних полостей.

Естественно для работы сложной биологической системы требуется энергия, которая расходуется на поддержание внутренних процессов организма и работу, совершаемую против постоянно действующих факторов внешней среды. Для получения энергии используются специальные клеточные механизмы. Получая питание от внешних источников в виде аминокислот и белковых структур, организм формирует внутреннюю среду ресур-

сов, которые покрывают энергетические потребности и реализуются на воспроизведение новых клеточных структур, взамен отработавших. Такой процесс осуществляется постоянно и требует непрерывного контроля - сбора данных о состоянии всех подсистем организма, а затем выработки управляющих стимулов для запуска необходимых процедур синтеза клеточных структур или реакций на внешние факторы. Все эти контрольно - управляющие процедуры формируются на основе генных - программных модулей.

Сосредоточимся на простых понятиях:

- аминокислоты. По физическим свойствам аминокислоты резко отличаются от соответствующих кислот и оснований. Все они кристаллические вещества, лучше растворяются в воде, чем в органических растворителях, имеют достаточно высокие температуры плавления. Эти свойства отчетливо указывают на солеобразный характер этих соединений. Особенности физических и химических свойств аминокислот обусловлены их строением — присутствием одновременно двух противоположных по свойствам функциональных групп: кислотной и основной.

Аминокислоты обладают изоэлектрической точкой. Изоэлектрической точкой аминокислоты называют значение рН, при котором максимальная доля молекул аминокислоты обладает нулевым зарядом. При таком рН аминокислота *наименее подвижна* в электрическом поле, и данное свойство можно использовать для разделения аминокислот, а также белков и пептидов.

- набор аминокислот - белковая структура, иначе говоря, белковое образование полипептид

Пептиды (греч. πειτος — питательный) — семейство веществ, молекулы которых построены из остатков α - аминокислот, соединенных в цепь пептидными (амидными) связями. Это природные или синтетические соединения, содержащие десятки, сотни или тысячаминомерных звеньев — аминокислот. Полипептиды состоят из сотен аминокислот, в противоположность олигопептидам, состоящим из небольшого числа аминокислот (не более 10-50), и простым пептидам (до 10).

Пептиды постоянно синтезируются во всех живых организмах для регулирования физиологических процессов. Свойства пептидов зависят, главным образом, от их первичной структуры — последовательности аминокислот.

Нуклеопротеиды — комплексы нуклеиновых кислот с белками.

- Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) — обеспечивает хранение, передачу из поколения в поколение и реализацию генетической программы развития и функционирования живых организмов. Основная роль ДНК в клетках — долговременное хранение информации о структуре РНК и белков.

Генетическая информация каждого человека сохраняется в 23 парах хромосом, которые очень отличаются размерами и формой. Этот набор хромосом хранится в клетке. Такой набор хромосом называют ГЕНОМОМ.

- чтобы создать определенный белок требуется информационный программный блок, который называют геном.

Ген это часть (линейный участок) большой цепочки ДНК, кодирующий определенный белок. Малейшее изменение структуры ДНК ведет к изменениям белка, что в свою очередь изменяет цепь биохимических реакций с его участием, определяющих тот или иной признак или серию признаков.

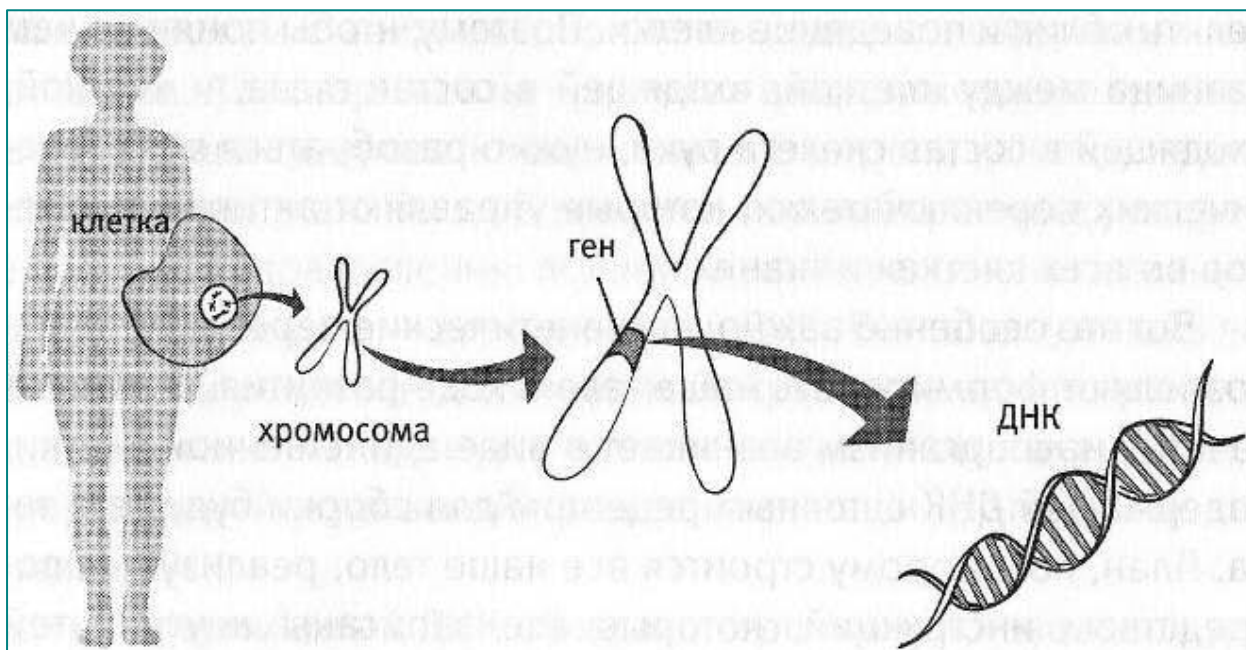


Рисунок 1 Схема позиционирования наследственной информации

Основные понятия

В общем представлении о информации построения отдельных структурных элементов организма выделяем понятия (смотри рисунок 1):

1. клетка, где имеется ядро
2. ядро, где имеются наборы из 23 пар хромосом
3. хромосома, которая представлена набором генов
4. отдельный ген - линейная часть цепочки ДНК. Ген - элемент ДНК
5. ДНК - как структура, позиционируется из двух нитей, скрученных в спираль

Важно понимать, что наше тело состоит из клеток сотен разных типов. Разнообразие клеток определяет строение и функции наших тканей и органов. Клетки, из которых состоят наши кости, нервы, кишечник и другие органы, выглядят и ведут себя совершенно по-разному. Несмотря на эти различия, у всех клеток нашего тела есть одно фундаментальное общее свойство: в них содержится совершенно одинаковая ДНК. Если в ДНК записана информация о том, как должны развиваться наше тело, его ткани и органы, почему же в таких разных клетках, как те, из которых состоят мышцы, нервы и кости, содержится одинаковая ДНК?

Ответ на этот вопрос состоит в том, что в разных клетках включены и работают разные фрагменты ДНК (гены). Клетка кожи отличается от нейрона (нервной клетки) тем, что в этих клетках работают разные гены. Когда ген включен, по записанному в нем рецепту синтезируется белок, который может определять облик и поведение клетки. Поэтому, чтобы понять, в чем разница между клеткой, входящей в состав глаза, и клеткой, входящей в состав скелета руки, нужно разобраться в тех генетических переключателях, которые управляют активностью генов во всех клетках и тканях.

Для нас представляет большое значение тот факт, что эти генетические переключатели и позволяют формировать наше тело в ходе развития. В момент зачатия наш организм возникает в виде единственной клетки, содержащей ДНК с полным рецептом для сборки будущего тела. План, по которому строится все наше тело, реализуется посредством инструкций, которые все записаны внутри этой единственной микроскопической клетки. Чтобы пройти путь от простой яйцеклетки до всего человека, состоящего из трил-

лионов специализированных клеток, выстроенных в правильном порядке, на строго определенных этапах развития должны включаться и выключаться целые батареи генов. Как симфония, которая получается из того, что множество отдельных инструментов исполняет разные ноты, человеческое тело формируется за счет работы множества генов, включаемых и выключаемых внутри каждой клетки в ходе нашего развития.

Наборы генов создают хромосому. У человека 23 парных хромосомы. Количество хромосом в любой клетке называется **кариотип**. Первичная структура белка, т.е. последовательность аминокислотных остатков, зашифрована в ДНК в виде последовательности азотистых оснований аденина (А), тимина (Т), гуанина (Г) и цитозина (Ц). Каждая аминокислота кодируется одной или несколькими последовательностями из трех нуклеотидов – триплетами. Другими словами здесь проявляется идея повышения надежности воспроизведения некоторых белковых структур, посредством дублирования информации создания одного и того же конечного продукта. Понимание этого факта позволяет только восхищаться природной прозорливостью, но при этом понимать всю сложность построения информационного процесса синтеза новых структур.

Известно, что ПЕРВАЯ хромосома содержит около 248 млн. пар оснований¹. Размер индивидуальных генов или целых геномов (С-значение) организмов часто выражается в спаренных основаниях, потому что эти гены и геномы соединяются в двух цепочную ДНК². В настоящее время считается, что на 1-й хромосоме находятся **4234** гена. В прошлом эта цифра составляла около 3500 генов.

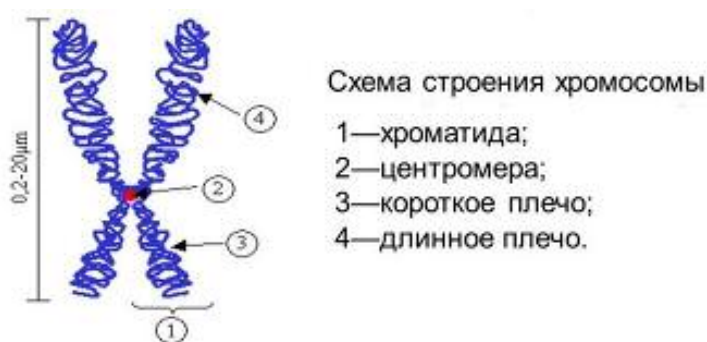
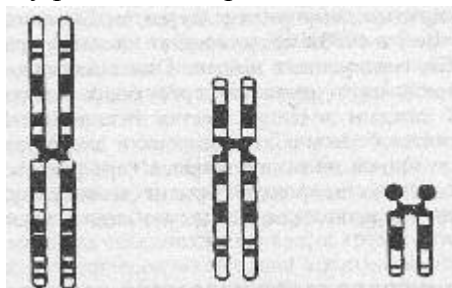


Рисунок 2 Схема строения хромосомы

Центромера, жизненно важная для связи хромосомных пар до клеточного деления, делит хромосомы на два плеча различной длины. Расположение центромеры варьируется у различных хромосом.

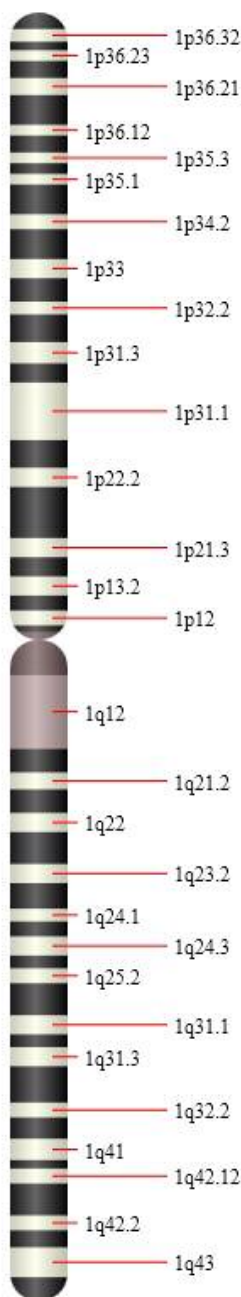


Согласно цитогенетической классификации ПЕРВАЯ хромосома относится к хромосомам группы А, что значит, что эта хромосома принадлежит к группе самых крупных хромосом человека и является метацентриком, то есть обладает плечами (р- и q-) примерно равной длины. Хромосома 1 обладает большим гетерохроматино-

¹ Спаренные основания — пара двух оснований нуклеотидов на комплементарных цепочках нуклеиновых кислот (противоположных ДНК или одинаковых РНК), соединённых с помощью водородных связей.

² Число пар оснований равно числу нуклеотидов в одном из цепочек (за исключением некодирующих регионов теломер, которые являются одно цепочными. В случае использования термина «спаренное основание» как единицы измерения название обычно сокращается до «bp» (от англ. *base pair*). Кроме того, существуют единицы kbp — тысяча пар оснований, Mbp — миллион пар оснований и т. д.

вым участком, который включает два центромерных бэнда 1p11 и 1q11, а также прицентромерный бэнд 1q12, вместе составляющих порядка 5 % длины ПЕРВОЙ хромосомы. Для хромосомы принято выделять фрагменты - бэнды, представленные для ПЕРВОЙ хромосомы на рис. ниже.



Обратимся к хромосомам человека. Они превращаются в прочные структуры лишь на короткое время, непосредственно перед делением. Именно на стадии митоза появляется шанс рассмотреть их достаточно подробно.

В обычных клетках в интерфазе хромосомы так плотно прилегают друг к другу, что даже при самом бережном обращении их материал так перемешивается, что не остается никаких шансов рассмотреть отдельные хромосомы, не говоря уже о каких-либо деталях. Однако использование современных технологий позволяет установить наличие разных хромосом и выделить отдельные локусы.

Локус в генетике означает местоположение определенного гена на генетической или цитологической карте хромосомы. Вариант последовательности ДНК в данном локусе называется аллелью. Упорядоченный перечень локусов для какого-либо генома **называется генетической картой**. Генное картирование — это определение локуса для специфического биологического признака.

Каждая хромосома занимает в ядре свою собственную территорию, не деля ее с другими хромосомами. Оказалось, что не только хромосомы, но и их плечи имеют собственные территории.

Учитывая, что основу хромосомы составляет невероятно длинная молекула ДНК, которая в свою очередь описывается как чередование пуриновых и пиримидиновых оснований (-ATGGTCACCTAGTTC-), мы привыкли воспринимать хромосому, с одной стороны, как отдельный элемент генома, с другой - как одномерную структуру. На этих представлениях строилась стратегия гибридизации для определения локализации конкретных генов сначала с

точностью до хромосомы, а затем до ее района на конкретной хромосоме.

Каждое плечо хромосомы разделяют на районы, нумеруемые по порядку от центромеры к теломере (концу хромосомы). Полосы внутри районов нумеруются от центромеры. Если локализация гена известна, то для ее обозначения используют индекс полосы. Например, локализация гена кодирующего эстеразу D обозначают - 13p14. Это означает - 4 полоса первого района короткого плеча 13 хромосомы. Локализация гена не всегда известна с точностью до полосы. Так, например, запись 13q означает локализацию гена в длинном плече 13 хромосомы.

Пример обозначения локуса³ на цитологической карте хромосомы: «6p21.3»

Компонент номенклатуры	Означает
6	Номер хромосомы.
p	Плечо хромосомы: p (от фр. <i>petit</i>) — короткое; q — длинное.
21.3	Область 2, бэнд 1, суб-бэнд 3. Бэнды видны после дифференциальной окраски хромосом и нумеруются, начиная с 1 от центромеры к теломере. Суб-бэнды и более мелкие сегменты определяются при дифференциальной окраске хромосом высокого разрешения.

Синтез новой клеточной структуры начинается с синтеза белка, как строительного материала. Синтезу белка предшествует перенос кода с ДНК на информационную РНК (иРНК). Это операция именуется как транскрипция. При транскрипции выполняется принцип дополнения, или комплементарности: А, Т, Г и Ц в ДНК соответствуют У (урацил), А, Ц и Г в иРНК. Непосредственно синтез белка, или трансляция, происходит на рибосоме: аминокислоты, подносимые к рибосоме своими транспортными РНК (тРНК), соединяются в полипептидную цепь белка соответственно триплетам оснований иРНК. Рибосомы в клетке - это фабрики нового строительного материала - белка.

Однозначная связь между последовательностями нуклеотидов в ДНК и аминокислот в полипептидной цепи белка позволяет по одной из них определить другую. Зная изменения в ДНК, можно сказать, как изменится первичная структура белка.

Извлекать ДНК из живых организмов удивительно просто — так просто, что вы можете делать это у себя на кухне. Возьмите немного ткани какого-либо растения или животного — горох, или кусок мяса, или куриную печеньку. Добавьте немного соли и воды и поместите все это в кухонный комбайн, чтобы размолоть в однородную массу. Затем добавьте немного средства для мытья посуды. Оно растворит окружающие клетки мембраны, оказавшиеся слишком маленькими, чтобы их размолот кухонный комбайн. После этого добавьте немного размягчителя для мяса. Он удалит некоторые белки, прикрепленные к молекулам ДНК. Теперь у вас получилось жидковатое мыльное пюре, в котором плавают ДНК. Добавьте к нему немного технического изопропилового спирта. У вас получится двухслойный коктейль: внизу мыльное пюре, сверху прозрачный спирт. ДНК охотно смешивается со спиртом, поэтому она выйдет из пюре в спирт. Если вы увидите, что в спирте появился округлый белый сгусток, значит, вы все сделали правильно. Этот сгусток и есть ДНК. Теперь с помощью этого белого вещества можно разобраться во многих фундаментальных связях между нами и остальными живыми существами. Чтобы сделать это, нужно сравнивать строение и функции ДНК разных видов, и на это занятие у нас уходит немало часов и долларов.

Создавая материал для изучения многогранной темы следует принимать во внимание необходимость регулярного повторения особенно важных понятий. В некотором смысле пересказ известных из предыдущего повествования понятий, но с другим акцентом существа рассматриваемого вопроса позволяет не только усвоить важные семантические кластеры, но и ввести новые элементы с понятийного поля обсуждаемой темы.

³ Каждая хромосома характеризуется специфическим комплексом полос - участков сосредоточения генного материала. Используя метод окрашивания (бэндинга) хромосом, выявляют комплекс поперечных меток (полос, бэндов) на хромосоме.

Действительно, генетический код, позиционируется как способ сохранения наследственной информации в виде последовательности нуклеотидов в молекулах нуклеиновых кислот. Полагаем, что некоторый маркер указывает какой участок ДНК следует использовать в синтезе. Затем происходит реализация генетического кода в клетке, которая осуществляется в два этапа:

1) синтез молекулы матричной, или информационной, РНК (соответственно мРНК, или иРНК) на соответствующем участке ДНК. При этом последовательность нуклеотидов ДНК "переписывается" в нуклеотидную последовательность мРНК (это операция носит название Транскрипция).

2) синтез белка при котором последовательность нуклеотидов мРНК переводится в соответствующую последовательность аминокислот (эта операция носит название Трансляция).

Важно понимать, что последовательность нуклеотидов, однозначно определяющая синтез той или иной аминокислоты, должна содержать не менее трех звеньев.

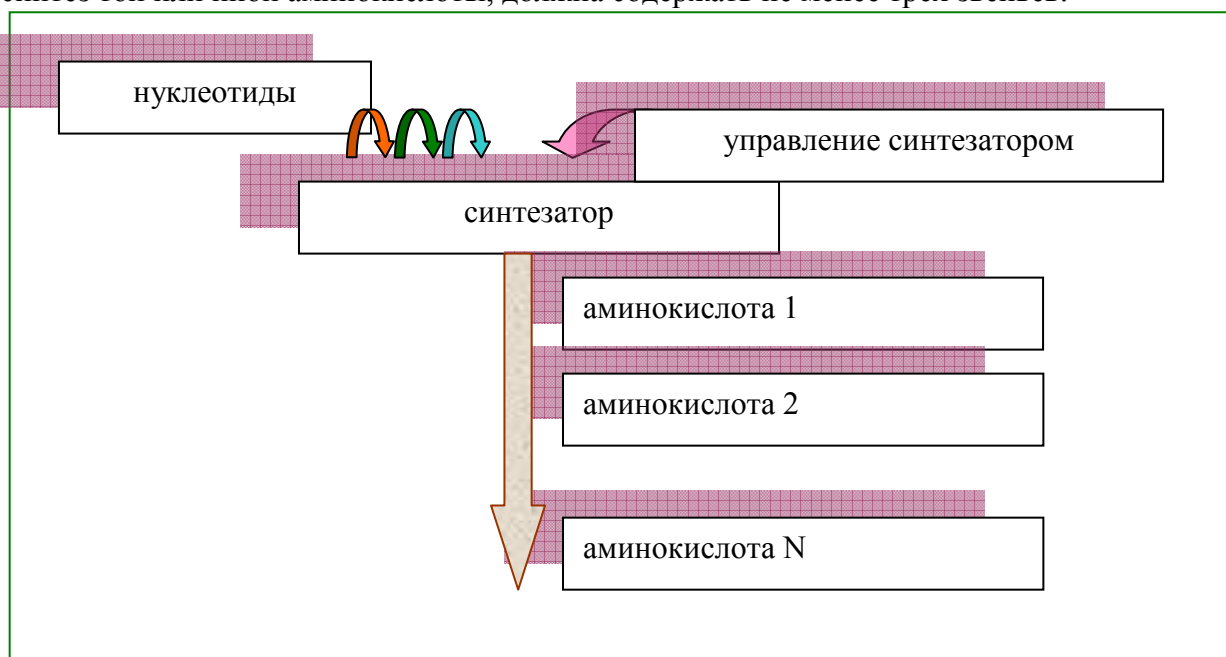


Рисунок 4 Схема формирования аминокислот

Транскрипция. Носителем генетической информации является ДНК, расположенная в клеточном ядре. Сам же синтез белка происходит в цитоплазме клетки на рибосомах. Из ядра в цитоплазму информация о структуре белка поступает в виде информационной РНК (иРНК). Для того чтобы синтезировать иРНК, участок двуцепочечной ДНК раскручивается, а затем на одной из цепочек ДНК по принципу комплементарности синтезируется молекула иРНК. Это происходит следующим образом: против, например, Г молекулы ДНК становится Ц молекулы РНК, против А молекулы ДНК — У молекулы РНК (вспомните, что вместо тимина РНК несет урацил, или У), против Т молекулы ДНК — А молекулы РНК и против Ц молекулы ДНК — Г молекулы РНК. Таким образом, формируется цепочка иРНК, представляющая собой точную копию второй (нематричной) цепочки ДНК (только вместо тимина включен урацил). Так информация о последовательности аминокислот в белке переводится с «языка ДНК» на «язык РНК». Этот процесс получил название транскрипции.

Транскрипция происходит от лат. transcriptio, букв.— переписывание. Эта процедура характеризует биосинтез молекул РНК, на соответствующих участках ДНК. Это первый этап реализации генетической информации в живых клетках. Осуществляется специ-

альным "стартовым" ферментом ДНК. Фермент «узнает» знак начала транскрипции. Определяет промотор (стартовый участок ДНК), присоединяется к нему, расплетает двойную спираль ДНК и копирует, начиная с этого места, одну из ее цепей, перемещаясь вдоль ДНК и последовательно присоединяя мономерные звенья (нуклеотиды) к образующейся РНК в соответствии с принципом комплементарности.

По мере движения РНК-полимеразы растущая цепь РНК отходит от матрицы и двойная спираль ДНК позади фермента восстанавливается. Когда РНК-полимераза достигает конца копируемого участка (терминатора), РНК отделяется от матрицы. Установлено на практике, что число копий разных участков ДНК может меняться в ходе развития организма. Другими словами в разные периоды жизни организма с одного и того же участка ДНК требуется создать разное количество копий.

Для высокоэффективной инициации (начала) часто требуется присоединение к промотору белков позитивного контроля (например, белка-активатора катаболизма). Показано, что у прокариот в регуляции на этапе инициации могут участвовать белки-репрессоры, связывающие близкие к точке начала транскрипции участки — операторы. Некоторые знаки конца транскрипции (терминаторы) узнаются самой РНК-полимеразой, в узнавании другие участвует особый терминирующий белок. В регуляции транскрипции на этапе терминации участвуют белки-антитерминаторы и компоненты аппарата белкового синтеза. У эукариот существуют самостоятельные РНК-полимеразы для синтеза рибосомальных, информационных и транспортных РНК. Единицы транскрипции, называемые скриптонами или оперонами, у прокариот включают в себя, как правило, несколько функционально связанных генов, у эукариот они всегда или почти всегда моногенны. У онкологических вирусов возможен перенос информации с РНК на ДНК (обратная транскрипция) с помощью фермента обратной транскриптазы (ревертазы).

Выяснив общую схему построения копии ДНК, посредством "включения РНК", рассмотрим этот же процесс актуализируя роль РНК, которая выполняется в двух направлениях: информационном и транспортном. Транскрипция начинается на ДНК и поддерживает биосинтез молекул рибонуклеиновых кислот (РНК). Для синтеза РНК используется одна, так называемая смысловая цепь из двуцепочечной молекулы ДНК. Матричный синтез РНК (т.е. синтез с использованием матрицы, шаблона, в данном случае – ДНК) осуществляет фермент РНК-полимераза.

Этот фермент «узнает» на ДНК стартовый участок (участок начала транскрипции), присоединяется к нему, расплетает двойную цепь ДНК и начинает синтез одноцепочечной РНК. К смысловой цепи ДНК подходят нуклеотиды, присоединяются к ней по принципу соответствия (комплементарности), а затем передвигающийся по ДНК фермент сшивает их в полинуклеотидную цепь РНК. Скорость роста цепи РНК у кишечной палочки составляет 40—45 нуклеотидов в секунду. Окончание транскрипции кодируется специальным участком ДНК.

Подобно другим матричным процессам – репликации и трансляции, транскрипция включает три стадии – начало синтеза (инициация), наращивание цепи (элонгация) и окончание синтеза (терминация).

Важно помнить, что после отделения от матрицы РНК поступает из клеточного ядра в цитоплазму клетки. Информационная РНК (и-РНК), прежде чем присоединиться к рибосоме, а это "фабрика по изготовлению белков" и в свою очередь стать матрицей для биосинтеза белка (трансляции), подвергается ряду преобразований. Таким образом происходит операция переписывания. Именно поэтому на латинском языке это термин обозначает процедуру «транскрипцию» – переписывание генетической информации, заключенной в последовательности нуклеотидов ДНК, в последовательность нуклеотидов и-РНК. Следует помнить, что во всех организмах при транскрипции ДНК образуются РНК всех классов – информационные, рибосомальные и транспортные.

Созданная структура - последовательность аминокислот, идентифицируется как белок, обладающий уникальными свойствами. Такая последовательность состоит из трех

нуклеотидов, названных кодоном или триплетом. **Кодон** (*кодирующий тринуклеотид*⁴) — единица генетического кода кодирующего включение одной аминокислоты. Последовательность кодонов в гене определяет последовательность аминокислот в структуре белка, кодируемого этим геном. Наряду с этим существует **терминаторный кодон** (кодирующий тринуклеотид) — единица генетического кода, кодирующая прекращение (терминацию) синтеза полиполипептидной цепи (трансляцию) белка. Терминаторные кодоны также называются **стоп-кодонами**.

Все синтезируемые в процессе трансляции белки построены из остатков 20 аминокислот (так называемых кодируемых).

Для запоминания однобуквенного обозначения протеиногенных аминокислот используется мнемоническое правило (последний столбец).

Таблица 1 Перечень важнейших аминокислот

№	Название			Написание	Сокращение
1.	Аланин	Ala	A	Alanine	Ала
2.	Аргинин	Arg	R	aRginine	Арг
3.	Аспарагин	Asn	N	asparagiNe	Асн
4.	Аспарагиновая кислота	Asp	D	asparDic acid	Асп
5.	Валин	Val	V	Valine	Вал
6.	Гистидин	His	H	Histidine	Гис
7.	Глицин	Gly	G	Glycine	Гли
8.	Глутамин	Gln	Q	Q-tamine	Глн
9.	Глутаминовая кислота	Glu	E	gluEtamic acid	Глу
10.	Изолейцин	Ile	I	Isoleucine	Иле
11.	Лейцин	Leu	L	Leucine	Лей
12.	Лизин	Lys	K	before L	Лиз
13.	Метионин	Met	M	Methionine	Мет
14.	Пролин	Pro	P	Proline	Про
15.	Серин	Ser	S	Serine	Сер
16.	Тирозин	Tyr	Y	tYrosine	Тир
17.	Треонин	Thr	T	Threonine	Тре
18.	Триптофан	Trp	W	tWo rings	Три
19.	Фенилаланин	Phe	F	Fenylalanine	Фен
20.	Цистеин	Cys	C	Cysteine	Цис

Поскольку молекулы нуклеиновых кислот, на которых происходит синтез мРНК или белка состоят из остатков только четырех разных нуклеотидов, кодонов, отличающихся между собой, может быть всего 64 разных набора.

Какой именно кодон ответствен за включение той или иной аминокислоты, можно определить по таблице 2, в которой буквы А, Г, У, Ц обозначают основания, входящие в нуклеотиды (соответственно *аденин, гуанин, урацил и цитозин*): в вертикальном ряду слева - в первый нуклеотид кодона, в горизонтальном ряду сверху - во второй, в верти-

⁴ Нуклеотиды являются сложными эфирами

кальном ряду справа - в третий. Трехбуквенные сочетания, например, фен, сер, лей, - сокращенные названия аминокислот. Прочерки в таблице означают, что три кодона - УАА, УАГ и УГА в нормальных условиях не кодируют какие-либо аминокислоты. Такие кодоны называют "бессмысленными", или нонсенс-кодонами. Они являются "сигналами" остановки синтеза полипептидной цепи.

В таблице 2 представлены не все аминокислоты, встречающиеся в белках. В ней нет гидроксипролина и гидроксизина, содержащихся в коллагене; фосфосерина - компонента всех фосфопротеидов; иодпроизводных тирозина, содержащихся в тиреоглобулине; цистина, который часто встречается в белках, и некоторых других аминокислот. Все они - производные других аминокислот, которые кодируются мРНК. Они образуются в результате модификации белков, происходящей после трансляции.

Генетический код специфичен: это означает, что каждый кодон кодирует только одну аминокислоту. Имеется исключение из этого правила. Лишь два кодона, кодирующие валин (ГУГ) и метионин (АУГ), способны выполнять дополнительные функции. Если они находятся в начале считываемой области мРНК, к ним присоединяется транспортная РНК (тРНК), несущая формилметионин, который всегда находится в начале строящейся полипептидной цепи, а по завершении синтеза отщепляется целиком или отщепляет формильный остаток, превращаясь в остаток метионина. Таким образом, кодоны ГУГ и АУГ-инициаторы синтеза полипептидной цепи. Если же они не стоят первыми, то не отличаются по функциям от других кодонов.

Таблица 2 Кодирование аминокислот в кодоне
Кодирование аминокислоты в иРНК⁵

	У	Ц	А	Г	
У	Фен Фен Лей Лей	Сер Сер Сер Сер	Тир Тир - -	Цис Цис - Трп	У Ц А Г
Ц	Лей Лей Лей Лей	Про Про Про Про	Гис Гис Глн Глн	Арг Арг Арг Арг	У Ц А Г
А	Иле Иле Иле Мет	Тре Тре Тре Тре	Асп Асп Лиз Лиз	Сер Сер Арг Арг	У Ц А Г
Г	Вал Вал Вал Вал	Ала Ала Ала Ала	Асп Асп Глу Глу	Гли Гли Гли Гли	У Ц А Г

Определенной последовательности нуклеотидов в ДНК и РНК соответствует определенная последовательность аминокислот в полипептидных цепях белков. Код принято записывать с помощью заглавных букв русского или латинского алфавита. Каждый нуклеотид обозначается буквой, с которой начинается название входящего в состав его молекулы азотистого основания: А (А) – аденин, Г (G) – гуанин, Ц (С) – цитозин, Т (Т) – тимин; в РНК вместо тимина урацил – У (U). Каждую аминокислоту кодирует комбинация из трех нуклеотидов – триплет, или кодон.

⁵ Рассматривая структуру таблицы 2 отмечаем, что любой кодон (УЦАГ), обладает разной структурой - расстановкой аминокислот. Всего, в теоретическом отношении, принято выделять 64 состояния кодона. Это хорошо видно в структуре таблицы 2.

Кратко путь переноса генетической информации обобщен в т. н. центральной догме молекулярной биологии: ДНК переход к РНК синтез белка. Благодаря процессу транскрипции в клетке осуществляется передача информации от ДНК к белку: ДНК - и-РНК - белок. Генетическая информация, содержащаяся в ДНК и в и-РНК, заключена в последовательности расположения нуклеотидов в молекулах (рис. 5).

Каким же образом происходит перевод информации с "языка" нуклеотидов на "язык" аминокислот? Такой перевод осуществляется с помощью генетического кода. Код, или шифр, - это система символов для перевода одной формы информации в другую. Генетический код - это система записи информации о последовательности расположения аминокислот в белках с помощью последовательности расположения нуклеотидов в информационной РНК. Насколько важна именно последовательность расположения одних и тех же элементов (**четыре нуклеотидов в РНК**) для понимания и сохранения смысла информации, можно убедиться на простом примере: переставив буквы в слове код, мы получим слово с иным значением - док. Какими же свойствами обладает генетический код?

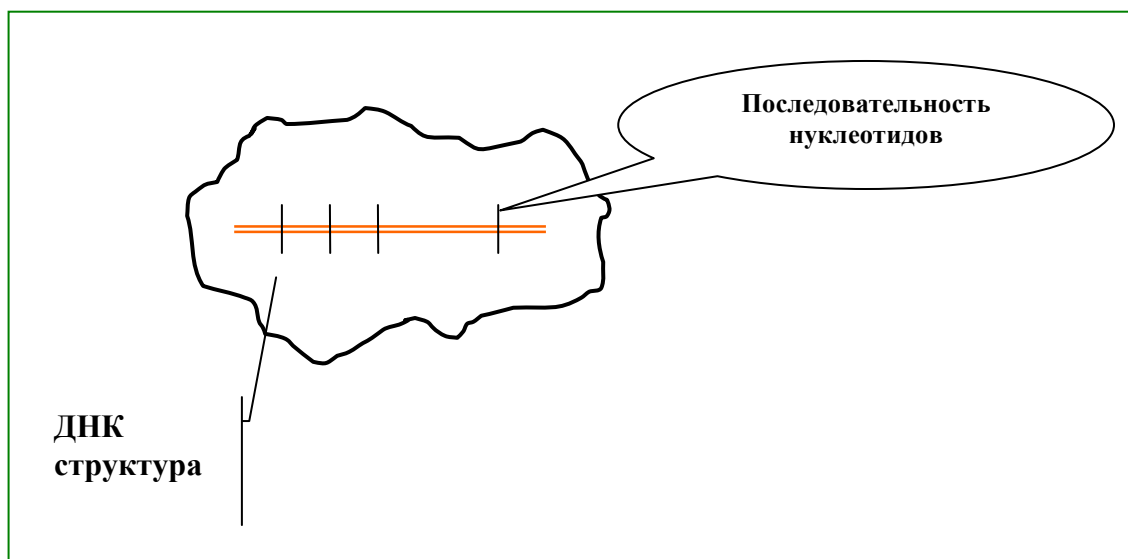


Рисунок 5. Схема "позиционирования информации" на ДНК

Формально можно указать на следующие очевидные свойства:

1. Код триплетен. В состав РНК входят 4 нуклеотида: А, Г, Ц, У. Если бы мы пытались обозначить одну аминокислоту одним нуклеотидом, то 16 из 20 аминокислот остались бы не зашифрованы. Двухбуквенный код позволил бы зашифровать 16 аминокислот (из четырех нуклеотидов можно составить 16 различных комбинаций, в каждой из которых имеется два нуклеотида). Природа **создала трехбуквенный, или триплетный**, код. Это означает, что каждая из 20 аминокислот зашифрована последовательностью трех нуклеотидов, называемых триплетом или кодоном. Из 4 нуклеотидов можно создать 64 различные комбинации по 3 нуклеотида в каждой ($4 \cdot 4 \cdot 4 = 64$). Этого с избытком хватает для кодирования 20 аминокислот и, казалось бы, 44 кодона являются лишними. Однако это не так.
2. Код вырожден. Это означает, что каждая аминокислота шифруется более чем одним кодоном (от двух до шести). Исключение составляют аминокислоты метионин и триптофан, каждая из которых кодируется только одним триплетом. Это видно из таблицы 3 генетического кода.

Как известно, в состав ДНК могут входить четыре азотистых основания: аденин (А), гуанин (Г), тимин (Т) и цитозин (Ц). Число сочетаний из 4 по 3 составляет $4^3 = 64$, т. е. ДНК может кодировать 64 аминокислоты. Однако всего кодируется только 20 аминокислот, Оказалось, что многим аминокислотам

соответствует не один, а несколько кодонов. Предполагается, что такое свойство генетического кода — вырожденность — повышает надежность хранения и передачи генетической информации при делении клеток. Например, аминокислоте аланину соответствуют 4 кодона — ЦГА, ЦГГ, ЦГТ и ЦГЦ. Получается, что случайная ошибка в третьем нуклеотиде кодона не сможет привести к изменениям в структуре белка — все равно это будет кодон аланина.

3. Код однозначен. Каждый кодон шифрует только одну аминокислоту.

4. Между генами имеются "знаки препинания". Для этого случая уместно говорить о модели ДНК, как тексте. В печатном тексте в конце каждой фразы стоит точка. Несколько связанных по смыслу фраз составляют абзац. На языке генетической информации таким абзацем являются оперон и комплементарная ему и-РНК. Каждый ген в опероне кодирует одну полипептидную цепочку - фразу. Так как в ряде случаев по матрице и-РНК последовательно создается несколько разных полипептидных цепей, они должны быть отделены друг от друга.

Для этого в генетическом коде существуют **три специальные триплета** - УАА, УАГ, УГА, каждый из которых обозначает прекращение синтеза одной полипептидной цепи. Таким образом, эти триплеты выполняют функцию знаков препинания. Они находятся в конце каждого гена.

СЛЕДУЕТ ПОМНИТЬ - внутри гена нет "знаков препинания".

Поскольку генетический код подобен разговорному, или иначе говоря, письменному языку, разберем это свойство на примере такой составленной из триплетов фразы:

ЭЛЬ ПИЛ СОК ТАМ ГДЕ ЖИЛ

Безусловно фраза надуманная. В ней не следует искать глубокий смысл. Ясно, что некто по имени эль пил сок. Смысл написанного понятен, несмотря на отсутствие "знаков препинания". Если же мы уберем в первом слове одну букву (один нуклеотид в гене), но читать будем также тройками букв, то получится бессмыслица:

ЭЛН ИЛС ОКТ АМГ ДЕЖ ИЛ

Усилим этот эффект и уберем в начальной фразе все первые буквы слов:

ЛЬИ ЛОК АМД ЕЖЛ

Внимательно читаем получившуюся фразу. Очевидно, полное разрушение первоначальной конструкции. Нарушение смысла возникает и при выпадении одного или двух нуклеотидов из гена. Белок, который будет считываться с такого испорченного гена, не будет иметь ничего общего с тем белком, который кодировался нормальным геном.

6. Код универсален. Генетический код един для всех живущих на Земле существ. У бактерий и грибов, пшеницы и хлопка, рыб и червей, лягушки и человека одни и те же триплеты кодируют одни и те же аминокислоты.

Каждой аминокислоте белка соответствует последовательность из трех расположенных друг за другом нуклеотидов ДНК — триплет, или кодон. К настоящему времени составлена карта генетического кода, т. е. известно, какие триплеты в ДНК соответствуют той или иной из 20 аминокислот, входящих в состав белков (табл. 3).

Почти все живое на Земле использует один и тот же "словарь" перевода троек (кодонов) генетических букв (нуклеотидов) в аминокислоты, определяющие первичную линейную структуру белка. Это так называемый канонический код, где 64 кодонам соответствует 20 аминокислот - различные аминокислоты кодируются от одной до шести комбинаций. В коде есть три стоповых кодона - завершающих синтез цепочки аминокислот. Начало последовательности обычно кодируется стартовыми (параллельно их основной функции кодирования аминокислот) кодонами АТГ, СТГ и GTG, у некоторых организмов также АТТ.

Все слова (кодона) состоят из групп по три нуклеотида четырех типов:

аденин А, цитозин С, гуанин G, тимин Т - для ДНК.

В молекулах РНК заменой нуклеотида тимин Т служит нуклеотид урацил U.

Таблица 3 Соответствие аминокислот кодону

	Аминокислота	Английское название	Обозначение	Кодоны
1.	Аланин	Alanine	Ala	GCA, GCC, GCG, GCT
2.	Аргинин	Arginine	Arg	CGA, CGC, CGG, CGT, AGG, AGA
3.	Аспарагин	Asparagine	Asn	AAT, AAC
4.	Аспарагиновая кислота	Aspartic Acid	Asp	GAT, GAC
5.	Валин	Valine	Val	GTA, GTC, GTG, GTT
6.	Гистидин	Histidine	His	CAT, CAC
7.	Глицин	Glycine	Gly	GGA, GGC, GGG, GGT
8.	Глютамин	Glutamine	Gln	CAA, CAG
9.	Глютаминовая кислота	Glutamic Acid	Glu	GAA, GAG
10.	Изолейцин	Isoleucine	Ile	ATT, ATC, ATA
11.	Лейцин	Lysine	Leu	CTA, CTC, CTG, CTT, TTG, TTA
12.	Лизин	Leucine	Lys	AAA, AAG
13.	Метионин	Methionine	Met	ATG
14.	Пролин	Proline	Pro	CCA, CCC, CCG, CCT
15.	Серин	Serine	Ser	TCA, TCC, TCG, TCT, AGT, AGC
16.	Тирозин	Tyrosine	Tyr	TAT, TAC
17.	Треонин	Threonine	Thr	ACA, ACC, ACG, ACT
18.	Триптофан	Thryptophan	Trp	TGG
19.	Фенилаланин	Phenylalanine	Phe	TTT, TTC
20.	Цистеин	Cysteine	Cys	TGT, TGC
	<i>стоповый кодон</i>		<i>Ter</i>	TAA, TAG, TGA

Существуют, однако группы организмов и отдельных ситуаций, имеющих отдельные отклонения от приведенной таблицы. При этом в отклоняющихся ситуациях даже стоповые кодоны могут кодировать аминокислоты.

Лабораторный практикум

Задание 1

Имеется последовательность нуклеотидов.

Фрагмент молекулы ДНК состоит из нуклеотидов, расположенных в следующей последовательности: AUG UCC GGA ACC

Определить

Состав и последовательность аминокислот в полипептидной цепи, закодированной в этом участке гена.

РЕШЕНИЕ

Выделяем первый триплет AUG.

Далее по аналогии "нарезаем триплеты" UCC - GGA - ACC

Для первого триплета определяем по коду название аминокислоты.

Для этого пользуемся таблицей 4.

Таблица 4 Идентификация табличной записи аминокислоты по триплетному коду

1st	2nd				3rd
	U	C	A	G	
U	F Phe	S Ser	Y Tyr	C Cys	U
	F Phe	S Ser	Y Tyr	C Cys	C
	L Leu	S Ser	Ter	Ter	A
	L Leu	S Ser	Ter	W Trp	G
C	L Leu	P Pro	H His	R Arg	U
	L Leu	P Pro	H His	R Arg	C
	L Leu	P Pro	Q Gln	R Arg	A
	L Leu	P Pro	Q Gln	R Arg	G
A	I Ile	T Thr	N Asn	S Ser	U
	I Ile	T Thr	N Asn	S Ser	C
	I Ile	T Thr	K Lys	R Arg	A
	M Met	T Thr	K Lys	R Arg	G
G	V Val	A Ala	D Asp	G Gly	U
	V Val	A Ala	D Asp	G Gly	C
	V Val	A Ala	E Glu	G Gly	A
	V Val	A Ala	E Glu	G Gly	G

1. Смотрим первый столбец - 1st. Находим индекс A, фиксируем строку с четырьмя подстроками.
2. Смотрим верхнюю часть таблицы. Среди столбцов для второго нуклеотида (2nd) находим второй элемент последовательности U. На пересечении найденной строки и столбца находится ячейка с 4 аминокислотами.
3. Уточняем название аминокислоты используя третий столбец таблицы - правый столбец 3rd. В широкой строке, найденной в п.1, выбираем нужный из 4 нуклеотидов (G) и получаем узкую подстроку, на пересечении со столбцом (п.2) - искомая аминокислота (Met, МЕТИОНИН).

Прочтение аминокислот сверяем по таблице 5

Обобщенное решение

Имеем

Таблица 1.1 Формализованная запись аминокислот

ДНК	AUG	UCC	GGA	ACC
иРНК				
Аминокислота	Метионин	Серин	Глицин	Треонин

Развернутая схема формирования кода аминокислоты на РНК.

Читаем название 2 аминокислоты: UCC

Анализируем таблицу 4. Искомая аминокислота: СЕРИН

Читаем название 3 аминокислоты: GGA

Анализируем таблицу 4. Искомая аминокислота: ГЛИЦИН

Читаем название 4 аминокислоты: ACC

Анализируем таблицу 4. Искомая аминокислота: ТРЕОНИН

Полученные идентификаторы сверяем по номенклатуре аминокислот, представленных в таблице 5.

Таблица 5 Названия и обозначения аминокислот

№	Название			Написание
1.	Аланин	Ala	A	Alanine
2.	Аргинин	Arg	R	aRginine
3.	Аспарагин	Asn	N	asparagiNe
4.	Аспарагиновая кислота	Asp	D	asparDic acid
5.	Валин	Val	V	Valine
6.	Гистидин	His	H	Histidine
7.	Глицин	Gly	G	Glycine
8.	Глутамин	Gln	Q	Q-tamine
9.	Глутаминовая кислота	Glu	E	gluEtamic acid
10.	Изолейцин	Ile	I	Isoleucine
11.	Лейцин	Leu	L	Leucine
12.	Лизин	Lys	K	before L
13.	Метионин	Met	M	Methionine
14.	Пролин	Pro	P	Proline
15.	Серин	Ser	S	Serine
16.	Тирозин	Tyr	Y	tYrosine
17.	Треонин	Thr	T	Threonine
18.	Триптофан	Trp	W	tWo rings
19.	Фенилаланин	Phe	F	Fenylalanine
20.	Цистеин	Cys	C	Cysteine

Задача 2.

Имеется Фрагмент молекулы, который представлен аминокислотами: аспаргиновая кислота, аланин, метионин и валин.

Определить:

1. какова структура участка молекулы ДНК, кодирующего эту последовательность аминокислот;
2. количество (в %) различных видов нуклеотидов в этом участке гена (в двух цепях);
3. длину анализируемого участка гена.

Решение по п. 1. По таблице 4 кодонов находим триплеты иРНК, кодирующие каждую из указанных аминокислот. Результаты представляем в таблице 2.1

Таблица 2.1 Определение структуры иРНК

Белок	Асп	Ала	Мет	Вал
иРНК				
Аминокислота	GAC	GCA	AUG	GUU
	Кодон	Кодон	Кодон	Кодон

Если аминокислоте соответствуют несколькими кодонов, то можно выбрать любой из них. В процессе синтеза, по мере продвижения иРНК- вдоль молекулы ДНК пройденные ею одно-цепочечные участки ДНК вновь объединяются в двойную спираль. Образующая в ходе транскрипции иРНК содержит точную копию информации, записанной в соответствующем участке ДНК. Тройки рядом стоящих нуклеотидов иРНК, шифрующие аминокислоты, называются кодонами. Последовательность кодонов иРНК шифрует последовательность аминокислот в полипептидной цепи. Кодонам иРНК соответствуют определенные аминокислоты.

В нормальной клетке передача информации осуществляется только в направлении ДНК → ДНК и ДНК → РНК.

Правило комплементарности. Уотсон и Крик показали, что образование водородных связей и регулярной двойной спирали возможно только тогда, когда более крупное пуриновое основание аденин (А) в одной цепи имеет своим партнером в другой цепи меньшее по размерам пиримидиновое основание тимин (Т), а гуанин (Г) связан с цитозином (Ц). Эту закономерность можно представить следующим образом:

... — Г — Ц — Г — А — А — Т — Ц — Ц — Т — А — ...

... — Ц — Г — Ц — Т — Т — А — Г — Г — А — Т — ...

Соответствие А ↔ Т и Г ↔ Ц называют правилом комплементарности, а сами цепи - комплементарными. Согласно этому правилу, содержание аденина в ДНК всегда равно содержанию тимина, а количество гуанина – количеству цитозина. Следует отметить, что две цепи ДНК, различаясь химически, несут одинаковую информацию, поскольку вследствие комплементарности одна цепь однозначно задает другую.

Общие важные принципы

1. ДНК содержится в ядре и состоит из двух комплементарных цепей, в ней содержится информация о структуре белка (порядок расположения аминокислот);
2. Во время транскрипции на одной из цепей ДНК синтезируется и-РНК, она поступает в цитоплазму и служит матрицей для синтеза белка;
3. Структурной единицей нуклеиновых кислот(НК) является нуклеотид, их выделяют пять типов- адениловый (А), тимидиловый (Т), гуаниловый (Г), цитидиловый (Ц), уридиловый (У)
4. Каждый тип НК содержит только четыре вида нуклеотида, в ДНК – А,Т,Г,Ц; в РНК – А,У,Г,Ц;

5. Одна аминокислота кодируется тремя стоящими рядом нуклеотидами - ТРИПЛЕТОМ (кодоном);
6. Одна аминокислота транспортируется к месту синтеза одной т-РНК, на вершине которой расположен антикодон;
7. Нуклеотиды соединяются по принципу комплиментарности: напротив А располагается Т, а напротив Г-Ц.

Далее, приступаем к определению структуры молекулы ДНК. Определяем строение той цепочки ДНК, которая кодировала строение иРНК. Для этого под каждым кодоном молекулы иРНК записываем комплементарный ему кодон молекулы ДНК.

1-я цепь ДНК: CTG-CGT-TAC-CAA

По аналогии воспроизведем вторую цепь ДНК.

В этой части задания заметим следующее. Чтобы определить количество (%) нуклеотидов в этом гене, необходимо, используя принцип комплементарности (А-Т, Г-Ц), достроить вторую цепь ДНК. Смотрим указания, помещенные ниже, и проводим формирование 2 цепи ДНК. Полученный результат вписываем в таблицу 2.2

Таблица 2.2 Определение полной структуры ДНК

Наименование структуры				
иРНК	GAC	GCA	AUG	GUU
	Кодон	Кодон	Кодон	Кодон
ДНК 1 цепь	CTG	CGT	TAC	CAA
ДНК 2 цепь	GAC	GCA	ATG	GTT

Указания по формированию цепей ДНК

1 Цепь ДНК: реализует замену кодона иРНК : А ↔ Т и G ↔ С

2 Цепь ДНК: реализует замену кодона 1 цепи ДНК : А ↔ Т и G ↔ С

Получившийся результат характеризуется набором нуклеотидов, что позволяет перейти к решению второй части задания.

Решение по п. 2.

Фиксируем количество нуклеотидов (нтд): в двух цепях – 24 нтд, из них А = 6. Составляем пропорцию.

Общее количество нуклеотидов 24 - 100%

Аланин 6 - x%

Тогда имеем:
$$x \frac{6 * 100}{24} = 25\%$$

По правилу Чаргаффа количество аденина в молекуле ДНК равно количеству тимина, а количество гуанина равно количеству цитозина. Поэтому:

$$T = A = 25\%$$

$$T + A = 50\%, \text{ следовательно}$$

$$Ц + Г = 100\% - 50\% = 50\%.$$

$$Ц = Г = 25\%.$$

Решение по п. 3.

Молекула ДНК всегда двухцепочечная, ее длина равна длине одной цепи. Согласно справочным данным, размещенным ниже, длина каждого нуклеотида составляет 0,34 нм, следовательно: длина одной цепи равна 12 нуклеотидам, что в метрической системе мер соответствует:

$$L = 12 * 0.34 = 4.08 \text{ нм}$$

$$12 \text{ нтд} \times 0,34 = 4,08 \text{ нм.}$$

Задача 3.

Молекулярная масса белка А равна 50 тыс. дальтонов (50 кДа).

Белок представлен набором аминокислот. Требуется определить длину гена.

Указание.

Среднюю молекулярную массу одной аминокислоты рекомендуется принять равной 100 Да, а одного нуклеотида – 345 Да.

Решение

Белок X состоит из $50\,000 : 100 = 500$ аминокислот.

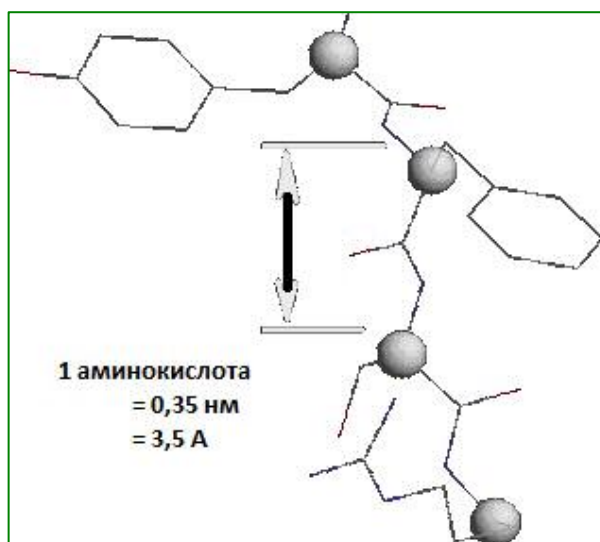
Одна из цепей гена, кодирующего белок X, должна состоять из 500 триплетов, или $500 \times 3 = 1500$ нтд.

Длина такой цепи ДНК равна $1500 \times 0,34 \text{ нм} = 510 \text{ нм}$.

Такова же длина гена (двухцепочечного участка ДНК).

Справочные данные

Аминокислоты. Мономеры белков. Линейная длина одного аминокислотного остатка в полипептидной цепи. $l_{\text{ак}} = 0,35 \text{ нм} = 3,5 \text{ ангстрем}$



Средняя молекулярная масса одной аминокислоты

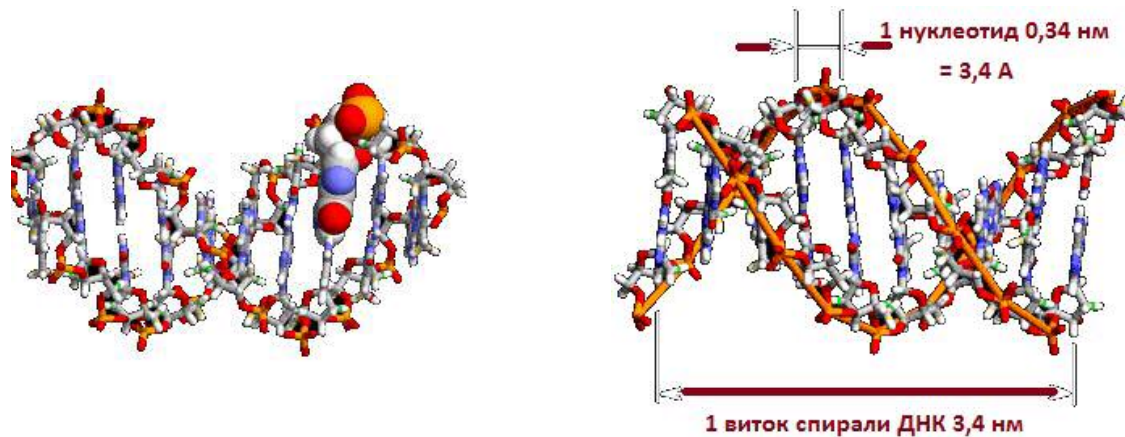
$$M_{\text{ак}} = 100 \text{ а.е.м. (Da)}^6$$

⁶ Атомная единица массы (обозначение а. е. м.), она же Дальтон (обозначение Da), она же углеродная единица — внесистемная единица массы, применяемая для масс молекул, атомов, атомных ядер и эле-

Мономеры нуклеиновых кислот (ДНК, РНК)

Линейная длина одного нуклеотида в нуклеиновой кислоте

Нуклеотиды $1 \text{ н} = 0,34 \text{ нм} = 3,4 \text{ ангстрем}$



ментарных частиц. Атомная единица массы выражается через массу нуклида углерода ^{12}C и равна $1/12$ массы этого нуклида.

$1 \text{ а. е. м.} = 1,660\,540\,2(10) \cdot 10^{-27} \text{ кг} = 1,660\,540\,2(10) \cdot 10^{-24} \text{ г}$