**ХИМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ**

Нуклеиновая кислота представляет собой гигантскую молекулу или макромолекулу, построенную из многих повторяющихся единиц, называемых нуклеотидами. Выяснение структуры и функции нуклеиновых кислот позволило понять, каким образом живые клетки, а значит, и организмы точно воспроизводят себя и как осуществляется хранение и кодирование генетической информации, необходимой для регуляции всех жизненных процессов. Поскольку нуклеиновые кислоты состоят из многократно повторяющихся мономерных звеньев - нуклеотидов, их называют также полинуклеотидами.

Нуклеотид состоит из азотистого основания, сахара, остатка фосфорной кислоты (рис. 2.1).

*Азотистые основания* в структуре нуклеотида представляют собой производные одного из двух классов соединений - пуринового или пиримидинового ряда. В нуклеиновых кислотах присутствуют два пуриновых производных - *аденин* (А) и *гуанин* (Г) и три пиримидиновых - *цитозин* (Ц), *тимин* (Т), *урацил* (У). В состав ДНК входят аденин, гуанин, цитозин и тимин. РНК тоже имеет четыре типа оснований, из которых три (аденин, гуанин и цитозин) такие же, как в ДНК, а тимин заменен здесь другим пиримидином - урацилом.

Сахар, входящий в состав нуклеотида, содержит пять углеродных атомов, т.е. представляет собой пентозу. В зависимости от вида пентозы, присутствующей в нуклеотиде, различают два типа нуклеиновых кислот - *дезоксирибонуклеиновую кислоту* (ДНК) и *рибонуклеиновую кислоту* (РНК).

Нуклеиновые кислоты являются кислотами, потому что в их молекулу входит остаток фосфорной кислоты.

*Фосфорная кислота.* В нуклеотидах к молекуле дезоксирибозы (или рибозы) с одной стороны присоединено азотистое основание, а с другой - остаток фосфорной кислоты. Нуклеотиды соединяются между собой в длинные цепи.



**Рис. 2.1.** Строение и составные части нуклеотида

Остов такой цепи образуют регулярно чередующиеся остатки сахара и фосфорной кислоты, а боковые группы этой цепи - четыре типа нерегулярно чередующихся азотистых оснований.

Именно такая специфичность строения полимерных молекул нуклеиновых кислот определяет возможность хранения в них обширной и сложной генетической информации.

Согласно предложенной Дж. Уотсоном и Ф. Криком модели, молекула ДНК представляет собой две параллельные неразветвленные полинуклеотидные цепи, закрученные вокруг общей оси в двойную спираль. Двойная спираль ДНК правосторонняя, с диаметром 20 нм и шагом около 3,4 нм, каждый виток которой включает 10 пар нуклеотидов (рис. 2.2).

Пространственная структура ДНК удерживается множеством водородных связей, образуемых азотистыми основаниями, направленными внутрь спирали.

Водородные связи возникают между пуриновым основанием одной цепи и пиримидиновым основанием другой цепи. Эти основания составляют комплементарные пары (от лат. *complementum* - дополнение). Образование водородных связей между комплементарными

парами оснований (А с Т и Г с Ц) обусловлено их пространственным соответствием. Пиримидиновое основание комплементарно пуриновому основанию. Вследствие такой комплементарности азотистых оснований порядок чередования нуклеотидов в обеих нитях ДНК оказывается взаимообусловленным. Комплементарность двух нитей молекулы ДНК приводит к тому, что число пуринов в нем равно числу пиримидинов [А=Т; Г=Ц или (А+Г)/(Т+Ц)=1].

Именно комплементарностью определяется точное воспроизведение последовательности оснований при копировании (*репликации)* молекул ДНК.

Размеры ДНК могут меняться в гигантских пределах - от нескольких нук-леотидов до миллиардов пар оснований. Единицами измерения длины молекулы являются: пары оснований (п. о.), тысячи пар оснований - килобазы (кб), миллионы пар оснований - мегабазы (мб).

Молекулы ДНК бывают либо линейными, либо замкнутыми в кольцо.

**Основное количество** ДНК локализовано в хромосомах (99,5%). Внехромосомная часть генома человека - это ДНК митохондрий (0,5%). Совсем небольшое количество составляют отдельные кольцевые молекулы ДНК в ядре и цитоплазме. Структурные классы ДНК человека представлены на рис. 1.5.

В ядерной или хромосомной ДНК только 25-35% составляют гены и их регуляторные участки (это уникальные последовательности). Лишь 10% относящейся к генам ДНК является кодирующей.



**Рис. 1.5.** Структурные классы ДНК человека

Следовательно, 2,5-3,5% всей ядерной ДНК имеют отношение к синтезу белков. Что делает остальная часть генома, пока неизвестно. Однако вряд ли она не имеет функций.

**Повторы**

В составе геномной ДНК выделяют несколько классов повторяющихся последовательностей. Участки ДНК различаются по длине каждого повтора и числу повторяющихся единиц (их называют тандемными). Различают **умеренно повторяющиеся** последовательности (до 1000 повторов в одном локусе) и **высокоповторяющиеся** (свыше 1000 повторов). Они могут быть локализованы в одном локусе или во многих локусах одной или разных хромосом. Одна и та же последовательность может повторяться в разных локусах разное число раз. Такие повторы называют гипервариабельными тандемными повторами.

|  |
| --- |
|  |

Если повтор состоит из 2-6 пар нуклеотидов, то такие повторы называют **микросателлитами.** Число повторяющихся копий микросателлитов варьирует от 5 до 50, а суммарная протяженность может достигать несколько сотен нуклеотидов. Другая группа повторов - **мини-сателлиты,** представлена повторяющимися элементами размером от 10 до 100 пар нуклеотидов. Этот умеренно повторяющийся класс повторов формирует тракты протяженностью 102-105 нуклеотидов. Значительная часть **мини-сателлитов** равномерно рассеяна по геному. Некоторые гипервариабельные повторы этого класса кластеризуются в субтеломерных областях хромосом.

Мини- и микросателлитные тандемные повторы разбросаны по всему геному и представляют собой уникальную для каждого человека комбинацию по числу тандемных повторов в разных локусах и по числу таких локусов. Их выявление характеризует генетический полиморфизм каждого человека, оценка которого используется в медико-генетических и судебно-медицинских целях (см. гл. 9).

Высокоповторяющиеся последовательности размером от 100 пар нуклеотидов и более, формирующие тракты протяженностью до 103- 107 нуклеотидов, составляют фракцию сателлитной ДНК. Данный класс повторов локализован преимущественно в областях конститутивного гетерохроматина и в прицентромерных регионах хромосом.

Особый класс низкокопийных повторов составляют крупные блоки рассеянных по геному дупликаций. Многие из них имеют достаточно протяженные размеры (до 100 тыс. пар нуклеотидов) и обнаруживают высокую степень идентичности нуклеотидных последовательностей (>95%). Существует две категории сегментных дупликаций - внутрихромосомные и межхромосомные. Часто они кластеризуются в прицентромерных и субтеломерных районах хромосом. В геноме человека блоки сегментных дупликаций локализованы в хромосомах 7, 15, 17, 22, X. Высокая степень гомологии нуклеотидных

|  |
| --- |
|  |

последовательностей в пределах сегментных дупликаций определяет возможность прохождения между ними неравного кроссинговера, что приводит к возникновению микроделеций и микродупликаций в хромосомных сегментах. Многие из этих нарушений проявляются хромосомными или генными заболеваниями (в зависимости от размера затрагиваемого участка).

Наконец, недавно в геноме человека было идентифицировано 255 областей с крупными, размером от 100 тыс. пар нуклеотидов до 2,2 млн пар нуклеотидов, блоками повторов *(CNV - Copy Number Variation).* В настоящее время ведутся исследования, направленные на установление структуры и функции данного класса повторов. Получены первые данные, указывающие на ассоциацию числа крупных блоков повторов с системной красной волчанкой, псориазом, риском инфицирования вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) I типа.

**Внехромосомные и кольцевые молекулы ДНК**

Обнаруживают в цитоплазме и ядре. У человека они изучены еще недостаточно. В строгом смысле они являются не составными элементами генома, а его продуктом. Их размер колеблется от 150 пар нуклеотидов до 20 тыс. пар нуклеотидов. Являются ли эти молекулы продуктом фрагментации хромосомной ДНК в клетке или они образуются в результате других генетических процессов (гомологичной рекомбинации, обратной транскрипции), пока не ясно. Исследованные к настоящему времени у млекопитающих большие кольцевые ДНК размером от 150 до 900 тыс. пар нуклеотидов, локализованные только в ядрах, представляют собой амплифицированные участки онкогенов или генов устойчивости к ядам и антиметаболитам. С этими молекулами предположительно связывают устойчивость клеток к лекарствам и способность клеток к неограниченному росту. Их происхождение объясняют делециями соответствующих областей хромосом.

**Митохондриальный геном**

Митохондрии содержат кольцевую двухцепочечную ДНК, которую иногда называют 25-й хромосомой человека (мтДНК - митохондриальная ДНК). В каждой соматической клетке в среднем содержится около 1000 митохондрий. Суммарно ДНК митохондрий составляет не более 0,5% общего количества ДНК в организме. ДНК митохондрий реплицируется полуавтономно от ядерной ДНК.

Геном митохондрий человека был полностью секвенирован еще в 1981 г. Он содержит 16 569 пар оснований и кодирует 2 рибосомные РНК (рРНК) [12S и 16S], 22 транспортные РНК (тРНК) и 13 полипептидов. Полипептиды являются субъединицами ферментативных комплексов окислительного фосфорилирования. Другие 66 субъединиц дыхательной цепи кодируются в ядре.

Митохондриальный геном как целое отличается от ядерного генома несколькими признаками:

• мтДНК наследуется по материнскому типу. В **зиготе** содержится от 1 до 4 отцовских митохондрий, а материнских - 25 000. К тому же не исключается, что после оплодотворения репликация отцовских митохондрий вообще блокируется.

• Комбинативная изменчивость мтДНК (мейоз) отсутствует. Нуклеотидная последовательность меняется в поколениях только в результате мутаций.

• Митохондриальный геном непрерывен, т.е. не содержит интронов. В нем имеется всего лишь несколько межгенных пар оснований (или их вообще нет). Известно только одно исключение - около 1000 пар нуклеотидов является интроном в области промоторов (Д-петля). В мтДНК нет защитных гистонов и системы репарации ДНК. Такая организация определяет примерно в 10 раз большую скорость мутирования по сравнению с ядерной ДНК.

• Большинство генов мтДНК чередуются с генами тРНК, которые служат разделяющими сигналами для дальнейшего процессинга первичных транскриптов.

|  |
| --- |
|  |

• Внутри одной клетки могут функционировать митохондрии с разными типами мтДНК. Это состояние называют **гетероплазмией.** Присутствие в клетках митохондрий с одним типом мтДНК - **гомоплазмия.**

• В мтДНК транскрибируются или транслируются обе цепи. Код мтДНК лишь частично отличается от универсального (UGA кодирует триптофан, AUA кодирует метионин, AGA и AGG являются стоп-кодонами).

Мутации генов мтДНК лежат в основе митохондриальных болезней, отличающихся от моногенных болезней не только особенностями передачи из поколения в поколение по материнской линии, но и своеобразными чертами клинической картины.

Патологические мутации мтДНК открыты в каждом типе митохондриальных генов.

В отличие от ДНК молекулы РНК, как правило, однонитевые (рис. 2.4). Построены они аналогично нитям ДНК, только, как уже говорилось, в сахарно-фосфатный остов их молекул входит не дезоксирибоза, а рибоза, и вместо тимина у них имеется другой пиримидин - урацил.

**Гены и их структура**

Элементарной единицей наследственности является *ген.* Согласно современным представлениям, ген - это участок молекулы геномной ДНК, характеризуемый специфической для него последовательностью нуклеотидов, представляющий единицу функции, отличной от функций других генов, и способный изменяться путем мутирования.

Ген - это отрезок молекулы ДНК, он дискретен, так как состоит из набора нуклеотидов. Это наиболее точная его характеристика, позволяющая идентифицировать данный ген, в каком бы месте он ни находился. Изменение молекулярной структуры ДНК генов, т.е. изменения нуклеиновой кислоты, из которой они состоят, ведет к появлению новых форм генетической информации, новых молекулярных структур в материальной структуре наследственности. Такие изменения, как мутации (см. гл. 4), могут происходить в любых точках в пределах гена. Но в функциональном отношении ген представляет собой целостную единицу: изменение нуклеотидов в гене или потеря его части либо полностью его инактивирует, либо изменяет его генетическую функцию.

*Экзон-интронная организация гена.* Ген человека имеет кодирующую часть *(экзон)* общей длиной в несколько тысяч пар оснований. Однако общая длина гена значительно больше, поскольку кроме экзонов (кодирующей части) в состав гена входят *интроны* (некодирую-щая часть) и *фланкирующие последовательности,* расположенные до (с 5'-конца) и после (с З'-конца) кодирующей части (рис. 2.7).

Кодирующая часть большинства генов находится в пределах 1-3 тысяч пар оснований, что соответствует белковому продукту из 300-1000 аминокислотных остатков. У большинства генов кодирующая часть поделена на несколько экзонов, между которыми расположены некодирующие участки (интроны).

Межгенные участки ДНК называются спейсерами. Спейсеры состоят из повторяющихся последовательностей ДНК различных типов и уникальных нетранскрибируемых последовательностей, не являющихся генами. Их функция неизвестна.

Молекула ДНК может содержать множество генов. По приблизительным оценкам человек имеет около 30 тыс. генов, каждый из которых выполняет специфическую функцию - кодирует определенный полипептид (например, ферменты или структурные белки клетки) или молекулу РНК.

**Генный уровень**

Основное внимание в генетике всегда уделялось гену. Благодаря комплексному подходу к изучению генов (от фенотипа на уровне организма до расшифровки нуклеотидной последовательности) накопилась обширная информация о строении и функции генов. **Ген** - последовательность нуклеотидов в ДНК, кодирующих определенную мРНК и соответствующий белок, либо РНК, несущие структурные или регуляторные функции. Большинство генов являются участками ДНК, которые несут информацию о последовательности аминокислотных остатков в белке, однако некоторые гены кодируют только РНК. Со всеми генами связаны **регуляторные последовательности ДНК,** т.е. участки, к которым присоединяются белки, определяющие, будет ли ген экспрессирован в данное время и в данном месте.

На основе данных по секвенированию определено, что в геноме человека около 30 000 генов, а не 70 000-100 000, как считали ранее. По уточненным данным Национального центра биотехнологической информации США на март 2008 г. в геноме человека насчитывается 31 809 генов, включая псевдогены, гены, кодирующие микроРНК. В базу *OMIM (Gene Map)* включены только гены, влияющие на различные заболевания. На май 2009 г. зарегистрировано 10 752 таких генов. Сотни генов, вероятно, получены человеком в результате горизонтальной передачи, начиная от бактерий. Более 6500 генов человека (примерно 1/6 часть генома) охарактеризованы экспериментально (по функции продукта, наличию мутаций, тканеспецифичности, размеру транскрипта).

|  |
| --- |
|  |

Гены человека более сложные, чем у других изученных организмов (например, у дрозофилы). Благодаря **альтернативному сплайсингу,** число синтезируемых белковых продуктов, очевидно, в 1,5-2 раза больше, чем число генов. Явление альтернативного сплайсинга заключается в следующем. Из одного и того же первичного РНК-транскрипта в процессинге РНК в разных тканях образуется не один, а несколько разных по длине мРНК-транскриптов. Соответственно синтезированные полипептиды также будут различными. Таким образом, одна и та же ДНК-последовательность может кодировать не один, а несколько разных белковых продуктов. Предполагается, что 40-60% генов человека подвергается альтернативному сплайсингу. Это существенным образом увеличивает разнообразие кодируемых геном продуктов.

Большинство генов имеет размеры до 50 000 пар нуклеотидов (табл. 1.4). Средняя длина участка хромосомы, приходящегося на ген, составляет 27 000 пар нуклеотидов. Однако есть гены, размер которых в 100 раз меньше или в 100 раз больше этой средней величины.

|  |
| --- |
|  |

Как известно из менделевской генетики, различные аллели могут проявляться в доминантном, рецессивном и кодоминантном вариантах. В геноме человека это правило в отдельных случаях нарушается.

Эти данные необходимо принимать во внимание при медикогенетическом консультировании, когда родословная может не укладываться в рамки привычных типов наследования.

**Функции генов**

Накопленные сведения о генах человека позволяют выделить их группы по функциям первичного продукта: ферменты; модуляторы белковой функции; рецепторы; транскрипционные факторы; белки внутриклеточного матрикса; белки внеклеточного матрикса; трансмембранные переносчики; структуры ионных каналов; молекулы клеточных сигналов; гормоны; экстраклеточные переносчики; иммуноглобулины.

Кроме того, необходимо отметить наличие генов, продуктом которых являются различные классы РНК (тРНК, рРНК, малые ядерные РНК). В настоящее время идет активное изучение новых видов РНК. К моменту написания данного учебника открыто более 20 видов РНК, которые участвуют в синтезе белка, посттранскрипционной регуляции, репликации ДНК. Например, микроРНК в эукариотических клетках и малые интерферирующие РНК могут блокировать трансляцию мРНК или усиливать ее распад, что приводит к подавлению экспрессии гена. Этот феномен назван РНК-интерференцией и по эффекту напоминает эпигенетическую регуляцию экспрессии генов путем их метилирования. Малая ядерная РНК участвует в сплайсинге путем удаления интронов из мРНК. Очевидно, что основная роль большинства видов РНК - регуляция экспрессии генов и их продуктов. Полагают, что 30-50% регуляции транскрипционной активности выполняется упомянутыми выше видами РНК.

|  |
| --- |
|  |

Безусловно, есть еще и гены с неизвестным пока действием.

Наибольшую функциональную категорию (31,2% общего числа идентифицированных генов) составляют гены, кодирующие ферменты. В 2 раза меньше генов-модуляторов белковой структуры и функции (13,6%). Они стабилизируют, свертывают полипептидные цепи или влияют на функции белка. Каждая из остальных категорий генов составляет менее 10% общего числа.

Сроки развития наследственных болезней во многом зависят от функции вовлеченного в патологию гена. Болезни, ассоциированные с генами, кодирующими белки во всех функциональных категориях, могут проявляться в любом периоде жизни. Гены, кодирующие транскрипционные факторы, чаще представлены среди генов, вызывающих болезни с началом во внутриутробном периоде. Это говорит о том, что транскрипционные факторы, вероятно, играют важную роль в «оркестровке» развития на ранних стадиях онтогенеза. Неудивительно, что гены, кодирующие транскрипционные факторы, составляют более 30% генов, ассоциируемых с фенотипами врожденных пороков развития.

Особенно высока доля болезней с началом на 1-м году жизни, вызванных мутациями в генах, кодирующих ферменты (47%). Развивающийся плод имеет доступ к материнской метаболической системе гомеостаза через плаценту. Таким образом, дети с врожденными нарушениями, вызванными недостаточностью ферментов, обычно нормальны при рождении, но симптомы нарушения гомеостаза развиваются после рождения, когда у ребенка включается собственная дефектная система метаболизма.

Болезни, вызванные дефектами генов, кодирующих ферменты, наследуются по аутосомно-рецессивному типу, а связанные с генами, кодирующими модуляторы белковой функции или рецепторы, - по аутосомно-рецессивному или аутосомно-доминантному. Болезни, вызванные генами транскрипционных факторов, обычно относятся к группе аутосомно-доминантных.

|  |
| --- |
|  |

Таким образом, временные закономерности формирования наследственных болезней строго соответствуют роли и месту первичных продуктов в онтогенезе. Болезни транскрипционных факторов развиваются внутриутробно, патология ферментов - в течение 1-го года жизни, рецепторов - в возрасте от 1 года до пубертатного периода, модуляторов белковой функции - у взрослых до 50 лет.

Клетка живет и работает благодаря строго скоординированным действиям генов. Количественное распределение функций генов, участвующих в основных процессах типичной клетки человека, следующее: синтез РНК и белков - 22%; клеточное деление - 12%; клеточные сигналы - 12%; защита клетки - 12%; обмен (метаболизм) - 17%; клеточные структуры - 8%; неизвестная функция - 17%.

**ФУНКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ**

Нуклеиновые кислоты выполняют важнейшие биологические функции. В ДНК хранится наследственная информация обо всех свойствах клетки и организма в целом. Различные виды РНК принимают участие в реализации наследственной информации через синтез белка.

**В зависимости от функций, присущих молекулам РНК**, все РНК могут быть разделены на несколько классов: РНК-транскрипты (информационная иРНК или матричная мРНК), транспортная (тРНК), рибосомальная (рРНК) и гетерогенная ядерная РНК

(гяРНК).

Каждая молекула РНК выполняет свою специфическую функцию:

• мРНК (иногда ее называют информационной - иРНК) переносят информацию о структуре белка от ДНК к рибосомам, т.е. являются транскриптом (копией) смысловой ДНК, который служит матрицей для синтеза белка;

• гяРНК участвуют в процессе сплайсинга (вырезания последователь-

ностей, комплементарных интронам, из первичного РНК-транскрипта);

• тРНК переносят аминокислоты в рибосомы, специфичность такого переноса обеспечивается наличием 20 типов тРНК, соответствующих 20 аминокислотам;

• рРНК образуют в комплексе с белками рибосому, сложную органеллу, в которой происходит синтез белка.

Размеры молекул РНК очень различны, но в общем они меньше молекул ДНК. К самым мелким относятся тРНК, молекулярная масса молекулы около 25 000, состоят они из 75 нуклеотидов.

Расшифровка генетической информации, заключенной в молекуле ДНК, осуществляется в соответствии с центральной молекулярно-генетической догмой (рис. 2.5).



**Рис. 2.5.** Центральная догма молекулярной биологии

**Сохранение информации от поколения к поколению**

При размножении любых форм жизни происходит увеличение числа молекул ДНК. Из одной клетки, образовавшейся в результате слияния гамет, получаются тысячи, миллионы клеток тела. Каждая исходная молекула ДНК дает начало огромному числу новых молекул ДНК с сохранением в неизменном виде всех особенностей, присущих ДНК. Это происходит в процессе **репликации**, при которой информация, закодированная в последовательности оснований молекулы родительской ДНК, передается с максимальной точностью дочерней ДНК (рис. 2.6).

Репликация - единственно возможный способ увеличения числа молекул ДНК, на который указывает сама структура этих молекул. С помощью фермента ДНК-полимеразы разрываются слабые водородные связи между двумя цепями ДНК, образуются одноцепочечные нити (цепи родительской ДНК расплетаются, и каждая из них служит матрицей, определяющей последовательность оснований в новой, комплементарной цепи ДНК (дочерней)). Затем к каждой цепочке достраиваются по принципу комплементарности нуклеотиды (А-Т, Г-Ц), образуя две двухцепочечные молекулы ДНК. Синтез новых нитей ДНК протекает всегда в направлении от 5' атома углерода сахара к 3' атому. Репликация имеет полуконсервативный характер: в каждой вновь образуемой молекуле ДНК одна нить происходит от родительской молекулы, а вторая синтезируется заново.

Процесс репликации нуклеиновых кислот целиком зависит от работы ряда ферментов. Установлено, что в этом процессе участвует минимум четыре группы ферментов: *ДНК-полимеразы, РНК-полимеразы, эндонуклеазы* и *ДНК-лигазы.*

1. Ферменты, осуществляющие синтез ДНК, называются *ДНК-полимеразами.* Впервые ДНК-полимераза I была получена в очищенном виде А. Корнбергом из *E. coli* в 1958 г. В клетках содержатся три различные формы ДНК-полимераз, все они обладают синтезирующей активностью и способны удлинять цепи ДНК в направлении 5'-3', последовательно прибавляя по одному нуклеотиду к 3'-ОН-концу цепи. Репликацию ДНК осуществляет ДНК-полимераза а, репарацию (исправление) поврежденных участков ДНК осуществляют ДНК-полимеразы I, II.

2. РНК-полимераза - фермент, осуществляющий транскрипцию ДНК.

3. Эндонуклеазы - ферменты, разрезающие двухнитевую молекулу ДНК в местах, соответствующих последовательностям из 4-12 нуклеотидов.

4. ДНК-лигазы - ферменты, катализирующие образование фосфо-диэфирной связи между 3'- и 5'-концами фрагментов ДНК.

Репликация ДНК начинается с разрыва в одной из двух цепей ДНК под действием эндонуклеазы. Затем к этому месту присоединяется ДНК-полимераза и начинается непрерывный синтез нового олигонуклеотида на одной из двух родительских цепей в направлении 5'-3'. Из второй цепи родительской ДНК идет синтез прерывистый, сопровождающийся образованием фрагментов ДНК, также в направлении 5'-3' с последующим объединением фрагментов ДНК при участии ДНК-лигаз в единую полинуклеотидную молекулу.

Инициация биосинтеза дочерних цепей ДНК требует предварительного синтеза на материнской ДНК *затравочного олигонуклеотидного праймера,* со свободной гидроксильной группой. Этот олигонуклеотид, содержащий около 50 нуклеотидных остатков, синтезируется комплементарно на матрице ДНК при участии РНК-полимеразы.

Таким образом, репликация ДНК обеспечивает высочайшую точность воспроизведения генетической информации в поколениях клеток и организмов в целом, т.е. реализует одну из основных функций нуклеиновых кислот (ДНК) - сохранение генетической информации.

**Реализация генетической информации**

Выше были рассмотрены: механизм, обеспечивающий сохранение генетической информации (репликация), и материальная единица наследственности (ген). Кроме того, должен существовать и другой механизм, ответственный за проявление записанной в нуклеиновой кислоте генетической информации в специфичной структуре синтезируемых в клетках белков, которые определяют все основные свойства организма и играют ключевую роль в его жизнедеятельности, т.е. ответственный за реализацию генетической информации.

Согласно молекулярной догме, генетическая информация реализуется через следующие этапы.

*Транскрипция* («переписывание») - перенос генетической информации от ДНК к РНК, который заключается в избирательном синтезе молекул мРНК, комплементарных определенным участкам ДНК, соответствующих одному или нескольким генам (рис. 2.8).



**Рис. 2.8.** Формирование молекулы мРНК на ДНК-матрице

Транскрипция заключается в том, что на одной из нитей ДНК происходит матричный синтез нити мРНК. Этот синтез осуществляется особым ферментом - РНК-полимеразой, который прикрепляется к началу участка ДНК, расплетает двойную спираль ДНК и, перемещаясь вдоль одной из нитей, последовательно строит рядом с ней комплементарную ей нить РНК. По мере передвижения РНК-полимеразы, растущая нить РНК отходит от матрицы ДНК и двойная спираль ДНК позади фермента восстанавливается, а когда РНК-полимераза достигает конца копируемого участка, РНК отделяется от ДНК. Синтезированная нить РНК содержит информацию, точно переписанную с соответствующего участка ДНК, так как последовательность нуклеотидов в ней полностью предопределена последовательностью нуклеотидов в ДНК: в строящуюся РНК напротив аденина ДНК включается урацил, напротив гуанина - цитозин, напротив цитозина - гуанин и напротив тимина - аденин.

В зависимости от того, какие гены транскрибируются, продуктами транскрипции могут быть те или другие виды РНК: рибосомальные РНК, транспортные РНК, матричные РНК.

В большинстве случаев исходная молекула мРНК разрезается на отдельные фрагменты. Одни фрагменты - интроны - расщепляются до нуклеотидов, а другие - экзоны - сшиваются в зрелую мРНК. Процесс соединения экзонов «без узелков» называют сплайсингом.*Процессинг* (созревание)  *-* образование молекул мРНК, представляющих собой непрерывную последовательность нуклеотидов, комплементарную только экзонам - кодирующим участкам гена. Далее молекулы мРНК выходят из ядра в цитоплазму и соединяются с рибосомами, где происходит процесс трансляции - синтез полипептидной цепи по молекуле мРНК.

*Трансляция* («перевод») - процесс декодирования мРНК, в результате которого информация с языка последовательности оснований мРНК переводится на язык аминокислотной последовательности белка (рис. 2.9).

Центральное место в трансляции принадлежит *рибосомам* - рибонуклеопротеиновым частицам диаметром 20-30 нм, в большом количестве присутствующим в цитоплазме клеток. Рибосома образована двумя субъединицами - большой и малой, состоящими из рРНК и белков. Аминокислоты, синтезированные клеткой, доставляются к месту сборки из них белка, т.е. в рибосомы, посредством тРНК.

В цитоплазме клетки находится 20 различных аминокислот и соответствующие им тРНК. С помощью ферментов аминокислоты «узнают» соответствующие тРНК, присоединяются к ним, и тРНК переносит их к месту синтеза белка в рибосому. Все тРНК имеют три функциональных участка в своей молекуле:

1) участок узнавания фермента, определяющий, какая именно аминокислота будет присоединена к данной тРНК;

2) акцепторный участок, к которому прикрепляется аминокислота;

3) участок, состоящий из трех нуклеотидов - антикодон, определяющий то место в синтезируемой молекуле белка, какое должна занять данная аминокислота.

Акцепторный участок одинаков у всех тРНК, он имеет последовательность оснований Ц-Ц-А. Участки узнавания и антикодоны разные у различных тРНК.

мРНК содержат транскрибированную с соответствующих генов информацию о том, какие белки должны быть синтезированы в рибосомах и служат матрицами, определяющими, в какой последовательности аминокислоты, доставленные тРНК в рибосомы, включаются в растущую полипептидную цепь белка. Каждой аминокислоте в мРНК соответствует определенная тройка (триплет) нуклеотидов, называемая *кодоном* этой аминокислоты; кодон комплементарен триплету, образующему *антикодон* соответствующей тРНК. Соответственно, если в рибосоме на мРНК будет кодон АУГ, то к нему подойдет тРНК с комплементарным антикодоном УАЦ. В рибосоме, в большой ее субъединице между аминокислотами образуются пептидные связи. Затем тРНК вытесняется в цитоплазму, а рибосома передвигается на следующий кодон, т.е. происходит считывание информации. В мРНК существуют кодоны: инициирующие (АУГ) - определяющие начало синтеза белка; терминирующие (стоп-кодон) (УАГ, УАА, УГА), заканчивающие синтез белка. Сигналом к завершению трансляции служит один из трех стоп-кодонов. Таким образом, появление стоп-кодона на рибосоме прерывает процесс трансляции. На следующем этапе полипептидные цепи транспортируются к специфическим органеллам клетки и модифицируются с образованием зрелого, функционально активного белка.

Последовательность матричных реакций при биосинтезе белков можно представить в виде схемы.



**Генетический код и его свойства**

Генетическая информация, содержащаяся в ДНК и мРНК, заключена в последовательности расположения нуклеотидов в молекулах. Каждые три нуклеотида образуют кодон (триплет) - единицу генетического кода, который обычно кодирует включение одной аминокислоты. Последовательность кодонов в гене определяет последовательность аминокислот в полипептидной цепи белка, кодируемого этим геном.

Перенос информации с языка нуклеотидов на язык аминокислот осуществляется с помощью генетического кода. Расшифровка генетического кода - одно из великих достижений науки. Носителем генетической информации является ДНК, но так как непосредственное участие в синтезе белка принимает мРНК - копия одной из нитей ДНК, то генетический код записан на «языке» РНК.

Генетический код обозначается четырьмя буквами (первыми буквами названий четырех нуклеотидов), отличающихся азотистыми основаниями: А, Т, Ц, Г. В белках встречается 20 различных аминокислот, длина «слова», определяющая аминокислоту, состоит из трех нуклеотидов. Число возможных триплетов нуклеотидов равно 64.

Это вытекает из того, что в молекуле нуклеиновой кислоты имеется только четыре разных вида нуклеотидов, различающихся своими азотистыми основаниями, а молекула белка содержит 20 разных аминокислот. Чтобы обеспечить кодирование всех аминокислот в кодоне, должно быть минимум три нуклеотида, так как в этом случае возможно 43= 64 разных трехнуклеотидных сочетаний. В 1965 году был расшифрован полностью весь генетический код. Из 64 кодонов три кодона - УАГ, УАА, УГА не кодируют аминокислот.

**Свойства генетического кода**

1. *Генетический код триплетен.* Каждая аминокислота кодируется группой из трех нуклеотидов (триплетом нуклеотидов, табл. 2.1).

2. *Вырожденность генетического кода.* Одна аминокислота может кодироваться не одним, а несколькими определенными триплетами нуклеотидов

3. *Однозначность генетического кода.* Каждому кодону соответствует только одна аминокислота, т.е. триплет шифрует только одну аминокислоту.

4. *Неперекрываемость генетического кода.* Процесс считывания генетического кода не допускает возможности перекрывания кодонов. Начавшись на определенном кодоне, считывание следующих идет без пропусков, т.е. внутри гена нет знаков препинания. Например, при выпадении одного или двух нуклеотидов из цепи, при считывании образуется белок, не имеющий ничего общего с тем белком, который кодировался нормальным геном.

5. *Универсальность генетического кода.* Генетическая информация для всех организмов, обладающих разным уровнем организации (от ромашки до человека), кодируется одинаково.

6. *Линейность генетического кода.* Кодоны прочитываются последовательно в направлении закодированной записи от 5'-конца к 3 ' -концу.

**Хроматин, хромосомы**

Установлено, что одной хромосоме соответствует одна молекула ДНК. В ядрах эукариотических клеток комплекс молекул ДНК с особыми белковыми молекулами (гистонами) называется хроматином.

Общая длина всей ДНК в клетке человека составляет почти 2 м. Эти длинные нити должны уместиться в ядре клетки диаметром несколько микрон, да еще потом и поделиться на две дочерние клетки. Для того чтобы это было возможно, существуют специальные механизмы компактизации. Представим себе, что в корзинке у вязальщицы должны уместиться нитки. Для этого их необходимо смотать в мотки и клубки. Молекулы ДНК наматываются на гистоновую основу, образуя «клубочки», которые называют нуклеосомами. Это обеспечивает компактизацию хроматина в 6-7 раз. Еще в 40 раз компактнее хромосомы становятся, когда нуклеосомы закручиваются в спираль. Дальнейшее уплотнение может происходить за счет образования петель вдоль хроматина. Еще большее увеличение компактизации ведет к переходу хроматина в неактивное состояние. Происходит спирализация молекул и появление плотных, видимых в световой микроскоп образований - хромомер - одних из промежуточных уровней компактизации хроматина.

Компактизованный хроматин представляет собой гетерохроматин, декомпактизованный - эухроматин. Степень компактизации хроматина отражает его функциональное состояние. Гетерохроматиновые участки функционально менее активны, чем эухроматиновые, в которых сосредоточена большая часть генов. Нить хромосомы неоднородна по всей длине. При специальной обработке эухроматические и гетерохроматические районы окрашиваются с разной интенсивностью, образуя чередование светлых и темных полосок разной ширины. Набор этих полосок (бэндов) специфичен для каждой хромосомы, что позволяет не просто распределить хромосомы по группам, но и присвоить каждой из них свой номер.

Чем более диффузен хроматин интерфазного ядра, тем активнее в нем проходят синтетические процессы. Снижение уровня синтеза ДНК и РНК в клетках обычно сопровождается увеличением количества компактизованного хроматина. Максимально компактизован хроматин во время митоза, когда его обнаруживают в виде плотных телец - хромосом.

Каждая хромосома имеет первичную перетяжку, называемую центромерой. Положение центромеры является строго фиксированным для каждой хромосомы и определяет ее форму (табл. 1.2).

Различают три типа строения хромосом:

- акроцентрические (хромосомы с очень коротким, почти незаметным вторым плечом);

- субметацентрические (с плечами неравной длины);

- метацентрические (Х-образные хромосомы, обладающие плечами равной длины).

Каждый вид имеет строго определенное количество хромосом определенной структуры, и любое отклонение представляет собой мутацию. Определенный набор хромосом (количество, размеры, структура) у особей одного вида представляет кариотип.

**Таблица 1.2.** Содержание ДНК и положение центромеры в хромосомах



