

ПРОБЛЕМНЫЕ ОБЛАСТИ

1. Что является наследственным материалом у некоторых вирусов, не содержащих ДНК? Как происходит реализация наследственной информации этих организмов?
2. Почему и в каких случаях у некоторых животных основным источником энергии является не глюкоза, а жир?
3. Каково значение витаминов и других низкомолекулярных органических соединений в жизнедеятельности организмов?

ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ

1. Каковы пути решения задач в области генетической инженерии, существующие в настоящее время?
2. Как можно использовать каталитические функции белковых молекул в народном хозяйстве?

ЗАДАНИЯ

1. Охарактеризуйте свойства генетического кода.
2. Каковы пути передачи наследственной информации в биологических системах?

Реализация наследственной информации. Метаболизм

Рост, размножение, подвижность, возбудимость, способность реагировать на изменение внешней среды — все эти свойства живого в конечном счёте неразрывно связаны с определёнными химическими превращениями, без которых ни одно из этих проявлений жизнедеятельности не могло бы осуществиться.

В. А. Энгельгардт



В клетках непрерывно идут процессы биологического синтеза. С помощью ферментов из низкомолекулярных веществ образуются сложные высокомолекулярные соединения: из аминокислот синтезируются белки, из моносахаридов — сложные углеводы, из азотистых оснований и сахаров — нуклеотиды, а из них — нуклеиновые кислоты. Совокупность реакций биосинтеза называют пластическим обменом или ассимиляцией. Процессом, противоположным синтезу, является диссимиляция — совокупность реакций расщепления. При расщеплении

высокомолекулярных соединений выделяется энергия, необходимая для реакций биологического синтеза.

Биосинтетические реакции отличаются видовой и индивидуальной специфичностью. Структура синтезируемых крупных органических молекул определяется последовательностью нуклеотидов в ДНК, т. е. генотипом. Обменные процессы обеспечивают гомеостаз. Этой задаче подчинены и процессы синтеза — пластический обмен и реакции распада, в результате которых высвобождается энергия, содержащаяся в макроэргических связях АТФ. Синтезированные вещества используются в процессе роста для построения клеток и их органелл и для замены израсходованных или разрушенных молекул. Все реакции синтеза идут с поглощением энергии.

4.1. Анаболизм

Совокупность реакций биологического синтеза называется пластическим обменом или *анаболизмом* (от греч. *anabole* — подъём). Название этого вида обмена отражает его сущность: из простых веществ, поступающих в клетку извне, образуются вещества, подобные веществам клетки (белки, углеводы, жиры и др.), т. е. происходит ассимиляция.

Все процессы метаболизма в клетке и целом организме протекают под контролем наследственного материала. Можно сказать, что все они являются результатом реализации генетической информации, имеющейся в клетке.

4.1.1. Регуляция активности генов

Как уже упоминалось ранее, все структурообразовательные процессы и реакции обмена веществ осуществляются благодаря экспрессии тех или иных генов. Экспрессией называют активацию гена, в результате чего синтезируется РНК. Именно продукты множества генов — РНК и белки осуществляют весь комплекс структурно-функциональных событий, происходящих в каждой клетке, ткани и организме в целом.

При этом надо отметить, что процессы, осуществляемые, скажем, в печени, резко отличаются от событий, имеющих место в то же самое время, но уже в клетках центральной нервной системы или в мышечных волокнах, клетках кожи и других тканей. Различия в характере превращения веществ в различных типах клеток зависят от тех генов, которые в данный момент «работают», т. е. экспрессированы в данном типе клеток. Избирательная, дифференциальная активность генов в разных типах клеток как во времени, так и в пространстве зависит от состояния организма, от влияния на него факторов окружающей среды и определяется деятельностью регуляторных систем организма.

Следовательно, в начале ответной реакции организма на внешние воздействия лежит регуляция активности генов, направленная на инициацию процессов, лежащих в основе поддержания гомеостаза.

Рассмотрим регуляторные воздействия на наследственный аппарат клетки, приводящие к тем или иным последствиям в ходе реакции обмена веществ. Начнём с наиболее простых ситуаций, связанных с метаболизмом у прокариот.

4.1.1.1. Регуляция активности генов прокариот

Отсутствие ядерной оболочки является внешним проявлением организации генома прокариот, построенного очень компактно и представляющего собой одну кольцевую молекулу ДНК, а также ДНК плазмид, не образующих связей с гистоновыми и другими белками (см. с. 331, рис. 11.12). Гены прокариот представляют собой сплошную информационную последова-

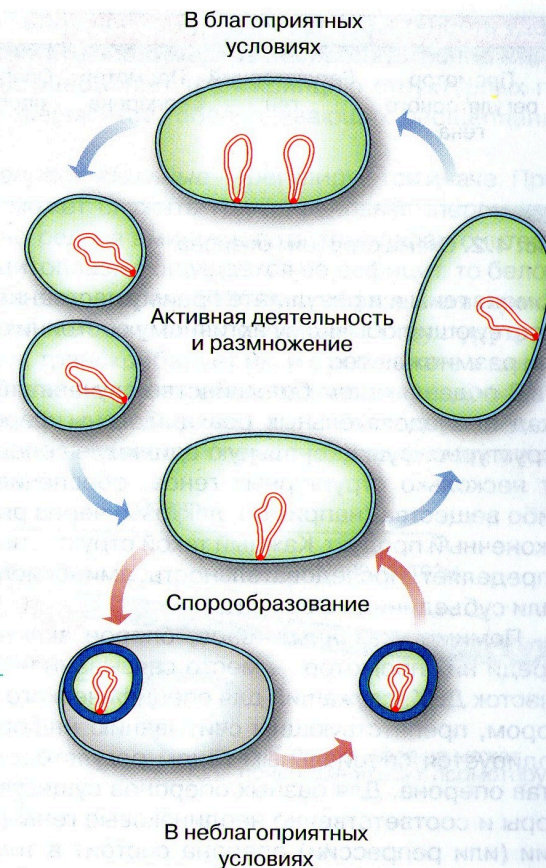


Рис. 4.1. Схема жизненного цикла бактериальной клетки. Жизненный цикл прокариот не богат событиями. Он включает активную фазу и образование спор в неблагоприятных условиях

тельность нуклеотидов; количество некодирующих участков в кольцевой хромосоме весьма незначительно. Такая простота строения генома прокариот может быть объяснена их несложным жизненным циклом (рис. 4.1).

Для прокариотических организмов характерны два основных типа регуляции генной активности.

Многие гены, являясь как бы «генами домашнего хозяйства», активны постоянно, и скорость их транскрипции зависит только от общего состояния клетки. Эти гены кодируют структурные белки и ферменты, всегда необходимые в клетке. Их называют конститутивными генами. Например, для кишечной палочки такими генами являются последовательности ДНК, определяющие структуру ферментов, расщепляющих глюкозу, а также РНК-полимераза, обеспечивающая процесс транскрипции. Однако в различных условиях существования или в разные периоды жизненного цикла в клетке синтезируется неодинаковое количество фермента РНК-полимеразы, имеющего большее или меньшее сродство (способность соединяться) с одним или другими генами. РНК-полимераза считывает только «нужные» в данный

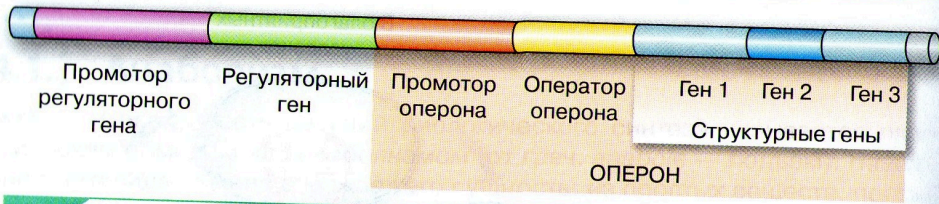


Рис. 4.2. Схема строения оперона

момент гены и в результате преимущественно образуются ферменты, соответствующие обычному активному состоянию клетки, процессу споруляции или размножению.

В подавляющем большинстве случаев у бактерий, катализирующих каскад последовательных реакций, гены ферментов объединяются в одну структурно-функциональную единицу — *оперон* (рис. 4.2). Оперон включает несколько структурных генов, обеспечивающих превращение какого-либо вещества (например, лактозы) через ряд промежуточных соединений в конечный продукт. Каждый такой структурный ген называют *цистроном*, он определяет последовательность аминокислот в одном белке-ферменте (или субъединице фермента).

Помимо указанных генов, оперон включает и регуляторные области. Среди них промотор — место связывания РНК-полимеразы и оператор — участок ДНК, служащий для специфического соединения с белком-репрессором, препятствующим считыванию информации. Сам белок-репрессор кодируется специальным геном-регулятором, обычно не входящим в состав оперона. Для разных оперонов существуют различные белки-репрессоры и соответственно неодинаковые гены-регуляторы. Принцип экспрессии (или репрессии) оперона состоит в том, что на присоединение (или отсоединение) белка-репрессора к оператору влияют продукты той метаболической цепи реакций, ферменты которой кодируются данным опероном. Это определяет возможность существования по крайней мере двух типов оперонов, в одном из них продукт активирует репрессор (экспрессия оперона прекращается), а в другом, напротив, подавляет (при этом оперон экспрессируется). Первый тип регуляции активности оперонов характерен, как правило, для реакций биосинтеза, а второй — для катаболических процессов.

Рассмотрим более подробно работу оперона, стимулируемого продуктами обменных процессов, так называемого *индуцибельного* оперона (рис. 4.3). Примером такого рода оперонов является лактозный оперон, или Лас-оперон, открытый в 1961 г. французскими микробиологами Ф. Жакобом и Ж. Моно.

При отсутствии лактозы в среде обитания бактерии ферменты, расщепляющие лактозу, не вырабатываются, так как белок-репрессор тесно связан с геном-оператором и РНК-полимераза не имеет возможности преодолеть участок, занятый репрессором, а значит, и считывать структурные гены. Появление в клетке лактозы приводит к связыванию части её молекул

с белком-репрессором, в результате чего он утрачивает возможность удерживаться на операторе. При этом РНК-полимераза беспрепятственно минует участок гена-оператора и осуществляет транскрипцию структурных генов, ответственных за синтез ферментов, обеспечивающих расщепление молочного сахара.

Опероны другого типа — *репрессибельные* — регулируются иначе. Примером такого рода оперонов может служить триптофановый оперон, или Trp-оперон (рис. 4.4). Довольно редкая аминокислота триптофан синтезируется в самой клетке. Если в цитоплазме ощущается её дефицит, то белок-репрессор не может связаться с оператором. РНК-полимераза, не встречая препятствий перед структурными генами, определяющими структуру ферментов, образующих триптофан, транскрибирует их, и в результате в клетке синтезируется триптофан. Появление вновь образованного триптофана в достаточных количествах приводит к соединению его с белком-репрессором, в этом случае прочно связывающимся с оператором триптофанового

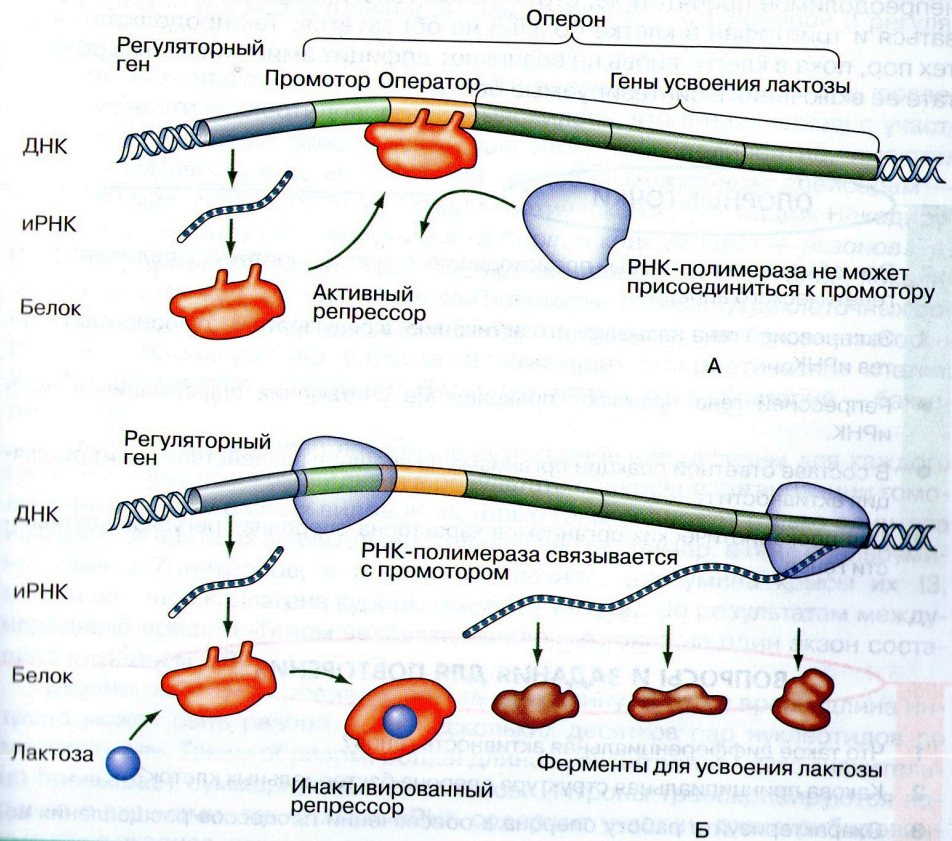


Рис. 4.3. Принцип работы индуцибельного лактозного оперона (Лас-оперон): А — заблокированный оперон; Б — работающий оперон

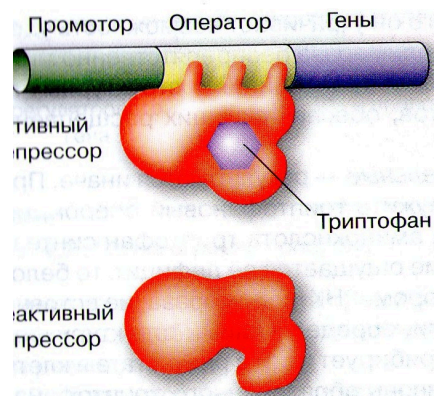


Рис. 4.4. Принцип работы репрессивного триптофанового оперона (Trp-оперон)

перона. Для продвижения РНК-полимеразы по молекуле ДНК возникает непреодолимое препятствие, структурные гены прекращают экспрессироваться и триптофан в клетке больше не образуется. Так продолжается до тех пор, пока в клетке вновь не возникнет дефицит аминокислоты в результате её включения в синтезируемые белки.

ОПОРНЫЕ ТОЧКИ

- Все обменные процессы, происходящие в клетке, протекают под контролем генетического аппарата.
- Экспрессией гена называют его активацию, в результате чего происходит синтез иРНК.
- Репрессией гена называют прекращение считывания информации в виде иРНК.
- В составе ответной реакции организма на внешние воздействия лежит регуляция активности генов.
- Для прокариотических организмов характерна оперонная регуляция активности генов.

ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ ПОВТОРЕНИЯ

1. Что такое дифференциальная активность генов?
2. Какова принципиальная структура оперона бактериальных клеток?
3. Охарактеризуйте работу оперона в обеспечении процессов расщепления веществ.
4. Опишите процесс регуляции активности оперона, обеспечивающего биосинтез веществ в бактериальной клетке.

4.1.1.2. Регуляция активности генов эукариот

Клетки эукариот содержат оформленное (ограниченное оболочкой) ядро, и их генетический материал представлен линейными молекулами ДНК — хромосомами, причём каждая из них у большинства эукариот имеет пару. Как у прокариотических, так и у эукариотических организмов все гены располагаются линейно, друг за другом, в составе отдельных молекул ДНК — хромосом. У эукариот практически отсутствуют полицистронные гены, считываемые единым проходом РНК-полимеразы по ДНК-матрице, как в опероне у прокариот. Это не касается лишь генов тРНК, рРНК и гистоновых белков. В других случаях участок молекулы ДНК определяет структуру одного полипептида или молекулы РНК.

Для того чтобы экспрессия гена была регулируемой, он должен содержать индивидуальную регуляторную метку, по которой регулирующие системы клетки или организма могли бы оказать на него необходимое воздействие. В соответствии с этим положением любой ген состоит из двух основных частей — последовательностей нуклеотидов — структурной и регуляторной.

Структурная часть гена. При изучении первичной структуры, т. е. последовательности нуклеотидов, генов, выяснилось, что в них, наряду с участками, кодирующими специфичный для этого гена полипептид, имеются неинформативные участки, т. е. они, подобно межгенным спейсерам — участкам между генами, не содержат генетической информации. Некодирующие участки получили название *интронов*, а кодирующие — *экзонов*. Такой тип структурной организации обнаружен для множества генов, локализованных в хромосомах эукариот, для некоторых генов внутриклеточных органелл эукариот — пластид и митохондрий, а также для генов некоторых РНК- и ДНК-содержащих вирусов, поражающих эукариотические клетки. У бактерий интронов в генах нет. Нет их и в генах вирусов бактерий — бактериофагов.

Число и внутригенная локализация интронов специфичны для каждого гена, что становится очевидным в результате сравнения организации гомологичных генов у разных видов. Некоторые гены содержат только один-два интрона, но часто их значительно больше. Так, например, в гене овальбумина курицы 7 интронов, в гене сывороточного альбумина крысы их 13, а один из генов коллагена курицы имеет 51 интрон. По результатам международного проекта «Геном человека» число интронов на один экзон составило в среднем 7,8.

Экзоны имеют, как правило, небольшую длину. В то же время длина интрона может быть разной — от нескольких десятков пар нуклеотидов до многих тысяч. Таким образом, общая длина всех интронов часто значительно превышает суммарную длину экзонов. Интроны транскрибируются наравне с экзонами, так что пре-иРНК содержит участки, транскрибированные как с экзонов, так и с интронов.

Последовательности нуклеотидов в экзонах консервативны, а в интронах сильно варьируют. Между интронами одних и тех же генов гомология не

найдена, по-видимому, из-за того, что интроны не подвержены естественному отбору, при этом они и более изменчивы, чем экзоны. А вот при сравнении последовательностей нуклеотидов в экзонах одних и тех же генов у разных видов находят высокую гомологию.

Говоря об избыточности генома в целом (см. гл. 3, с. 104), мы можем прийти к заключению, что эукариотический ген находится в окружении целого ряда некодирующих последовательностей нуклеотидов ДНК, размеры которых во много раз превышают протяжённость информативного участка цепи ДНК. Учёные полагают, что неинформативные участки хромосом выполняют регуляторную функцию.

Регуляторная часть гена. Регуляторная часть гена обеспечивает первые этапы реализации генетической информации, заключённой в структурной части гена, которая, в свою очередь, содержит информацию о структуре конкретных РНК или белков. Поэтому размер гена складывается из размеров его структурной и регуляторной частей. Однако определить протяжённость гена не так просто, особенно в случае генов эукариот.

Как и у прокариот, информативной части генов эукариотических организмов предшествует *промотор* — место связывания РНК-полимеразы с ДНК. Однако структура этого участка у эукариот значительно сложнее. Он имеет ряд закономерно повторяющихся одинаковых (обязательных) и различающихся у разных промоторов последовательностей, что приводит к различной интенсивности их связывания с белками, обеспечивающими транскрипцию. Наличие промотора обязательно для присоединения РНК-полимеразы, связывания белков — регуляторов транскрипционного комплекса, потому что только при формировании такого комплекса (рис. 4.5) становится возможным считывание информации со структурного гена.

Отдельные элементы регуляторной области генов, называемые *энхансерами*, могут располагаться перед структурной частью гена, позади неё

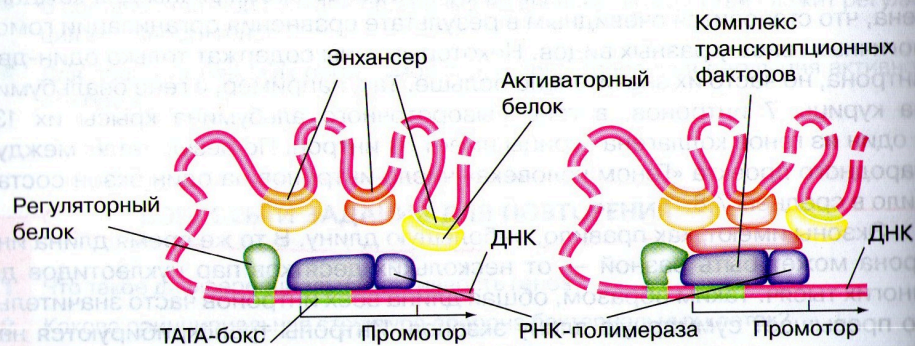


Рис. 4.5. Участие энхансеров в активации комплекса транскрипционных факторов: TATA-бокс — специфическая последовательность нуклеотидов в промоторных областях генов эукариот, выполняющая регуляторную функцию

или даже в ней самой. Вопрос о функциональном назначении этих участков молекулы ДНК окончательно не решён. Известно лишь, что энхансеры участвуют в формировании комплекса транскрипционных факторов. Другие регуляторные участки — *инсуляторы* (от англ. *insulate* — изолировать, отделять) разграничивают соседние участки, содержащие структурные и регуляторные гены, препятствуя «чужим» энхансерам экспрессировать не свои гены (рис. 4.6). Инсуляторы обнаружены, например, в системе глобиновых генов человека, у дрозофилы и других организмов.

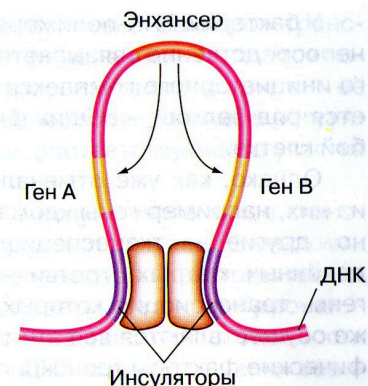


Рис. 4.6. Принцип работы инсуляторов — обеспечение избирательной деятельности энхансеров

На функционирование генов оказывают влияние очень многие белки и рибонуклеопротеиды. Причём это влияние не укладывается в те относительно простые схемы оперонной регуляции, которые наблюдаются у прокариотических организмов. Так, в последние годы выявлено и описано большое количество белков, обладающих свойствами транскрипционных факторов или репрессоров. При этом они вступают в разнообразные взаимоотношения друг с другом, а также с прочими веществами, от чего зависит конечное влияние этих белков на активность генов — их экспрессия или, наоборот, репрессия.

Иными словами, подобно сложной сети из множества метаболических превращений, в клетках эукариот имеется не менее сложная система регуляторных взаимоотношений. Полной картины её пока ещё нет, но отдельные факты уже известны. В данную схему вовлечены не только белки, непосредственно взаимодействующие с ДНК, но и многие другие вещества — внеклеточные сигнальные вещества, в том числе гормоны, клеточные, внутриклеточные и ядерные рецепторы, внутриклеточные посредники — медиаторы. По этим причинам регуляторные взаимоотношения в геноме эукариот требуют отдельного рассмотрения и глубоких знаний в области биохимии и молекулярной биологии. Здесь же мы кратко остановимся только на моментах, касающихся ДНК-связывающих белков, выступающих в качестве активаторов или репрессоров генов.

4.1.1.3. Механизм инициации транскрипции генов эукариот

Транскрипция (от лат. *transcriptio* — переписываю) представляет собой процесс перевода наследственной информации из последовательности ДНК в последовательность нуклеотидов РНК. Осуществляется она путём комплементарного синтеза РНК на матричной цепи ДНК. Образование молекулы РНК на матричной цепи ДНК по принципу комплементарности так же, как и при редупликации, называют *матричным синтезом*.

У бактерий РНК-полимераза «узнаёт» правильное место на промоторе и непосредственно связывается с ДНК. У эукариот для образования основного инициаторного комплекса на ДНК, необходимого для всех генов, требуется ряд белков — *общих факторов транскрипции*, присутствующих в любой клетке.

Однако, как уже отмечалось, существуют различные гены. Некоторые из них, например гены «домашнего хозяйства», экспрессируются постоянно, другие — тканеспецифичные — экспрессируются только в определённых клетках, третьи — индуцибельны (например, специфические гены, транскрипция которых активируется стероидными гормонами). Как же осуществляются все эти типы регуляции? Здесь мы рассмотрим специфические факторы транскрипции, комбинирующиеся с энхансерами и элементами, расположенными перед стартовой точкой, т. е. началом транскрипции.

Транскрипционные факторы. Все гены в отсутствие факторов транскрипции находятся в «выключенном», или репрессированном, состоянии, так как гистоновые белки, образующие нуклеосому, блокируют область промотора.

В активации одного и того же гена могут участвовать различные молекулы. Прежде всего к ним относят факторы, связывающиеся с участками, расположенными перед стартовой точкой. Они есть во всех клетках, и конститутивно (обязательно) экспрессирующиеся гены могут нуждаться только в них.

В других случаях молекулы транскрипции связываются с удалёнными регуляторными элементами и участвуют в формировании комплекса в результате образования петли ДНК. Каждый такой белок имеет по меньшей мере два участка связывания: один — с ДНК, а другой — с белками, участвующими в формировании транскрипционного комплекса.

Каким же образом осуществляется избирательный контроль экспрессии генов? Это функция отрезков ДНК, расположенных в разных участках хромосомы. Даже на расстоянии нескольких тысяч пар оснований они могут влиять на транскрипцию гена. Например, присутствие в ДНК удалённого энхансера увеличивает в сотни раз интенсивность транскрипции гена. Так, ген β -глобина экспрессируется только в незрелых эритроцитах. Его транскрипция зависит от связывания ДНК в области промотора со специальным белком — активатором, присутствующим только в клетках этого типа.

Регуляция скорости транскрипции индуцибельного гена осуществляется иным способом. В клетках-мишенях присутствуют *неактивные факторы транскрипции*. Они не способны самостоятельно связываться с соответствующими элементами ДНК. Стероидный гормон (это может быть, например, какой-либо гормон коры надпочечников или половой гормон), поступающий в клетку, активируя этот фактор, определяет связывание с ДНК, РНК-полимеразой и всем комплексом, вызывающим активацию транскрипции.

Основной вопрос — каким образом взаимодействие факторов транскрипции и инициаторного комплекса регулирует инициацию — остаётся пока без ответа. Важное свойство регуляции экспрессии генов эукариот — её высокая гибкость, т. е. многие вещества могут внести свой вклад в регуляцию транскрипции при условии наличия для них соответствующего участка связывания на молекуле ДНК.

Структура ДНК-связывающих белков. Из изложенного выше становится понятной важная роль белков, соединяющихся со специфическими участками ДНК. Существуют многочисленные репрессоры и факторы транскрипции, участвующие в процессе дифференцировки клеток, эмбрионального развития и т. д. Эффективность их действия зависит от способности этих соединений узнавать конкретные участки ДНК и специфически взаимодействовать с ними.

Оказалось, что на основании структурных характеристик большинство ДНК-связывающих белков может быть сгруппировано в несколько семейств, среди которых наиболее важными являются белки с мотивами (как говорят молекулярные биологи): «спираль—поворот—спираль», «спираль—петля—спираль», белки со структурами типа «лейциновой застёжки» и так называемые белки — «цинковые пальцы» (рис. 4.7).

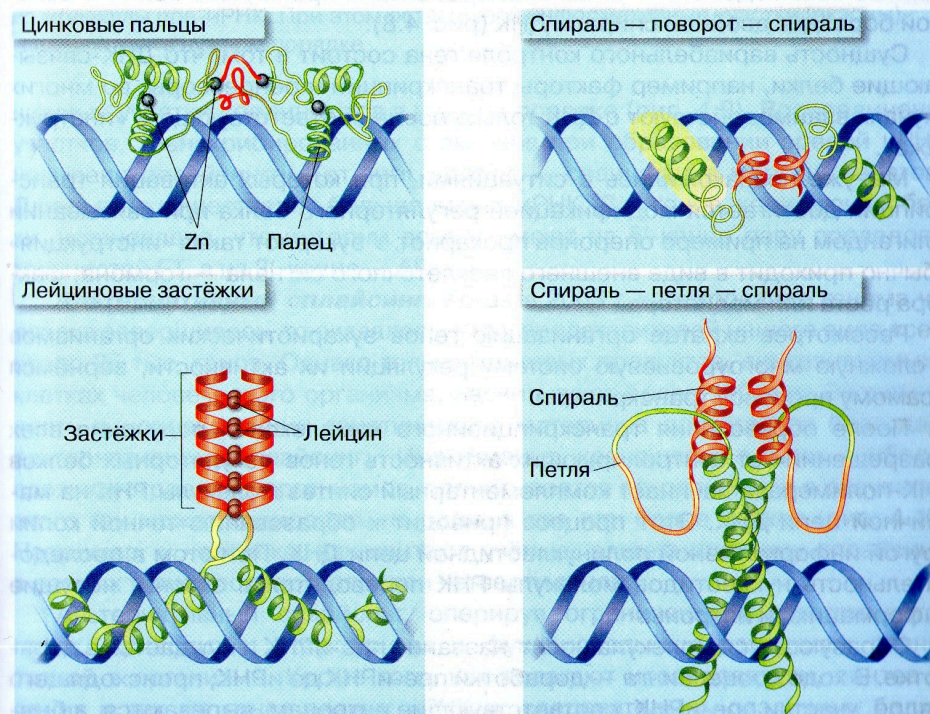


Рис. 4.7. Типы белков-регуляторов активности генов

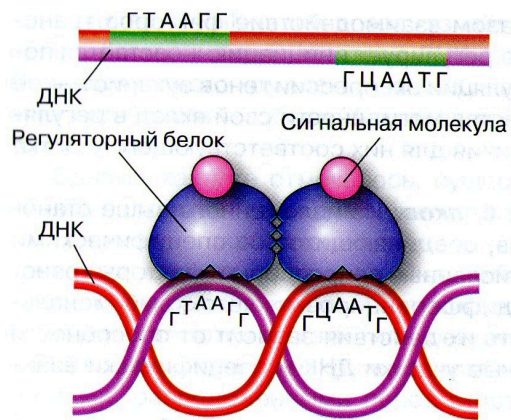


Рис. 4.8. Механизм взаимодействия регуляторов активности генов с молекулой ДНК

Регуляторные белки присоединяются к двухцепочечной ДНК. Специфическое связывание происходит за счёт взаимодействия между радикалами аминокислотных остатков и основаниями ДНК. Дополнительная стабилизация может достигаться соединением и с сахарофосфатным скелетом. Контактные взаимодействия узнавания происходят преимущественно в большой бороздке двойной спирали ДНК (рис. 4.8).

Сущность варибельного контроля гена состоит в том, что ДНК-связывающие белки, например факторы транскрипции и репрессоры, во многих случаях взаимодействуют с ДНК только после соответствующего «инструктажа».

Мы уже познакомились с ситуациями, при которых активация транскрипции достигается модификацией регуляторного белка при связывании с лигандом на примере оперонов прокариот. У эукариот такая «инструкция» обычно приходит в виде внешнего внеклеточного сигнала — гормона, фактора роста или медиатора.

Рассмотрев вкратце организацию генов эукариотических организмов и сложную многоуровневую систему регуляции их активности, вернёмся к самому процессу транскрипции.

После образования транскрипционного комплекса и получения всех «разрешений» от контролирующей активность генов регуляторных белков РНК-полимераза начинает комплементарный синтез молекулы РНК на матричной цепи ДНК. Этот процесс приводит к образованию точной копии другой информативной полинуклеотидной цепи ДНК. При этом в последовательность нуклеотидов молекулы РНК переводятся и экзоны, несущие информацию, и интроны.

Образующаяся молекула носит название пре-иРНК и нуждается в доработке. В ходе *процессинга* — доработки пре-иРНК до иРНК, происходящего в ядре, участки пре-иРНК, соответствующие интронам, вырезаются, а бывшие разобщёнными участки, считанные с экзонов, «сшиваются». Таким образом, зрелая иРНК содержит только копии экзонов. Эти прежде разоб-

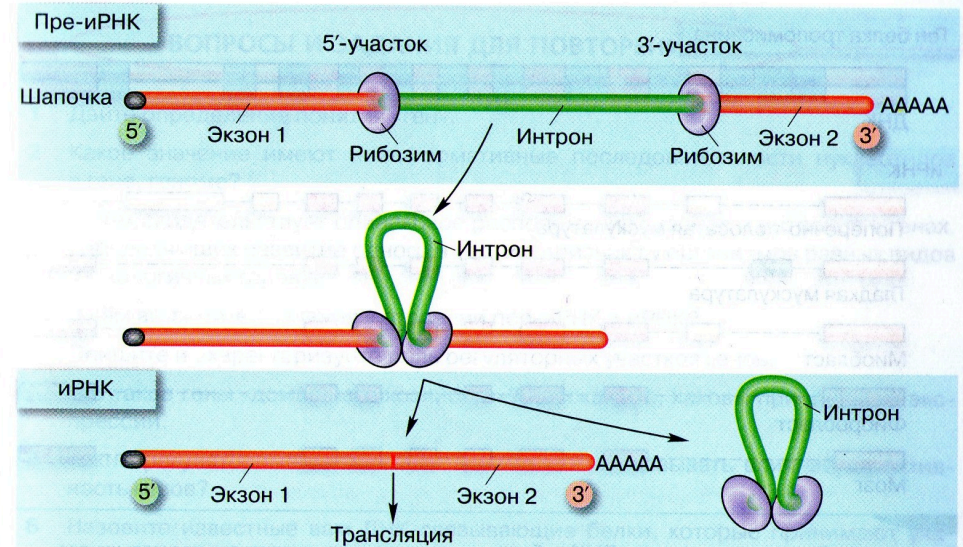


Рис. 4.9. Сплайсинг. Рибозимы вырезают неинформативные участки (интроны) из молекулы пре-иРНК. При этом оставшиеся информативные участки (экзоны) «сшиваются» в нужном порядке

щённые участки соединяются в нужном порядке (рис. 4.9). Воссоединение участков, транскрибированных с экзонов при образовании зрелой иРНК, называют *сплайсингом* (от англ. *splicing* — сращивание морских канатов). Длина гена существенно больше длины иРНК. Для генов, кодирующих белки, установлено, что интроны всегда имеют на 5'-конце пару последовательностей ГТ, а на 3'-конце — АГ.

Альтернативный сплайсинг. Когда в 2003 г. картирование генома человека завершилось, то оказалось, что у представителей нашего вида всего около 25 тыс. генов. Однако только белковых продуктов, синтезируемых в клетках человеческого организма, насчитывают более 100 тыс. Экономичность в использовании генетического материала достигается благодаря альтернативному сплайсингу. Информация, хранящаяся в генах наиболее сложно устроенных организмов, прочитывается по-разному, и в результате этого ген может кодировать не один, а два или более белков (рис. 4.10). Например, у человека, как считают учёные, альтернативному сплайсингу в разных тканях подвергается три четверти генов.

Альтернативный сплайсинг, оперируя ограниченным ассортиментом генов, приводит к структурным и функциональным различиям разных тканей в организме. Кроме того, как полагают исследователи, синтез на одних и тех же генах разных иРНК и, следовательно, различных белков обуславливает различия между видами организмов со сходными наборами генов.

Ген белка тропомиозина

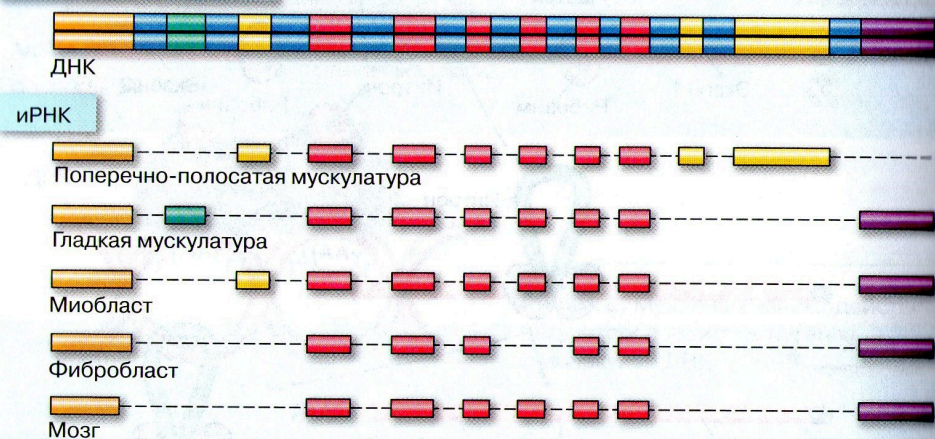


Рис. 4.10. Варианты зрелой иРНК, образующиеся в результате альтернативного сплайсинга пре-иРНК в клетках разных тканей

Таким образом, в результате транскрипции и сплайсинга — доработки первичного транскрипта (пре-иРНК) — образуются зрелые иРНК, готовые участвовать в качестве матрицы в процессе трансляции.

ОПОРНЫЕ ТОЧКИ

- В структурных генах эукариот чередуются информативные участки ДНК — экзоны и неинформативные последовательности нуклеотидов — интроны. У бактерий и вирусов интронов в генах нет.
- Информативной части гена эукариотических организмов, как и у прокариотических организмов, предшествует промотор — место связывания РНК-полимеразы с ДНК.
- Число и внутреннее расположение интронов и экзонов специфичны для каждого гена.
- На границах экзонов и интронов расположены специфические метки — последовательности нуклеотидов.
- Транскрипцией называют процесс перевода информации из последовательности нуклеотидов (кодонов) ДНК в последовательность кодонов иРНК.
- Для начала процесса транскрипции эукариот необходимо, чтобы сформировался сложный транскрипционный комплекс регуляторов — белков и нуклеопротеидов.
- Факторами, обуславливающими сборку транскрипционного комплекса, могут выступать гормоны, факторы роста или другие внеклеточные вещества.

ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ ПОВТОРЕНИЯ

1. Дайте определение понятия «ген».
2. Какое значение имеют неинформативные последовательности нуклеотидов в гене, геноме?
3. О чём свидетельствует одинаковое расположение экзонов и интронов в генах, определяющих развитие одного и того же признака у организмов разных видов (гомологичных генов)?
4. В чём вы видите различия в строении пре-иРНК и иРНК?
5. Опишите и охарактеризуйте роль регуляторных участков генов.
6. Что такое гены «домашнего хозяйства»? Расскажите, каковы принципы их экспрессии.
7. Какие регуляторные системы организма могут оказывать влияние на активность генов?
8. Назовите известные вам ДНК-связывающие белки, которые принимают участие в активации и прекращении экспрессии генов эукариотических организмов.

4.1.1.4. Механизм обеспечения синтеза белка

Следующий этап биосинтеза — перевод информации, заключённой в последовательности нуклеотидов (последовательности кодонов) молекулы иРНК, в последовательность аминокислот полипептидной цепи — *трансляция* (от лат. *translatio* — передача).

У прокариот (бактерий), не имеющих оформленного ядра, рибосомы могут связываться с вновь синтезированной молекулой иРНК сразу же после её отделения от ДНК или даже до полного завершения её синтеза. У эукариот иРНК сначала должна быть доставлена через ядерную оболочку в цитоплазму. Перенос осуществляется специальными белками-переносчиками, образующими комплекс с молекулой РНК. Кроме транспорта иРНК к рибосомам, они защищают иРНК от повреждающего действия цитоплазматических ферментов. В цитоплазме на одном из концов иРНК (именно на том, с которого начинался синтез молекулы в ядре) собирается рибосома и начинается синтез полипептида (рис. 4.11).

Рибосома перемещается по молекуле иРНК не плавно, а прерывисто, триплет за триплетом. По мере перемещения рибосомы по молекуле иРНК к полипептидной цепочке одна за другой пристраиваются аминокислоты, соответствующие триплетам иРНК. Точное соответствие аминокислоты коду триплета иРНК обеспечивается тРНК. Для каждой аминокислоты существует своя тРНК, один из триплетов которой — антикодон — комплементарен строго определённому триплету иРНК. Точно так же каждой аминокислоте соответствует свой фермент, присоединяющий её к тРНК.

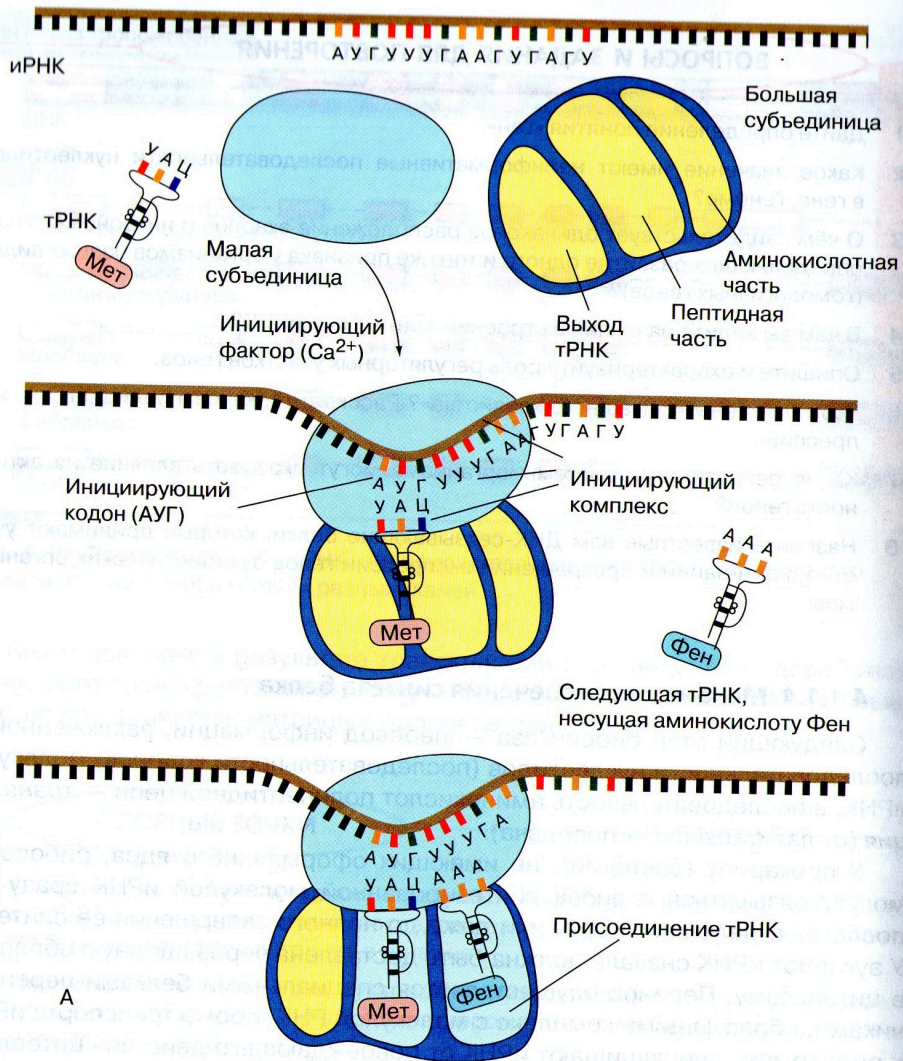


Рис. 4.11. Схема последовательных этапов трансляции: А — инициация; Б—В — элонгация; Г — терминация

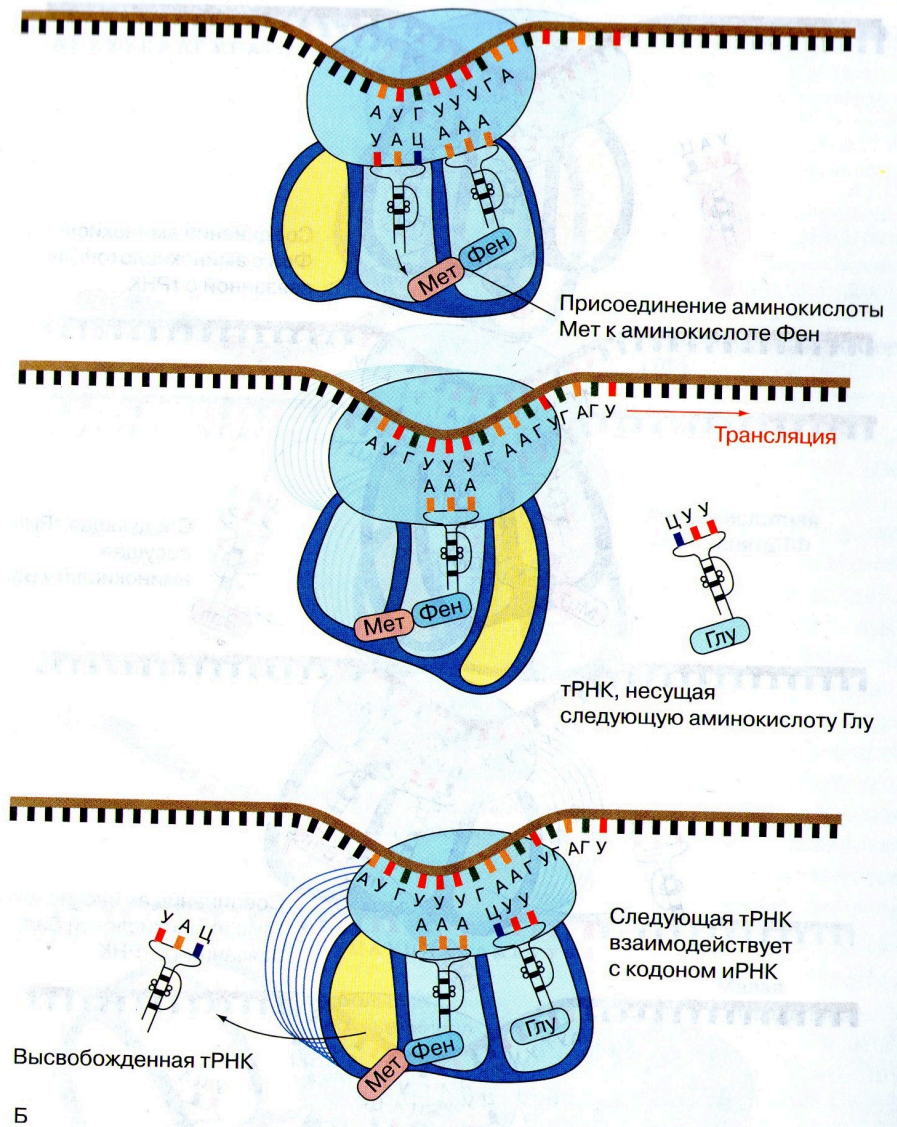


Рис. 4.11 (продолжение). Схема последовательных этапов трансляции: А — инициация; Б—В — элонгация; Г — терминация

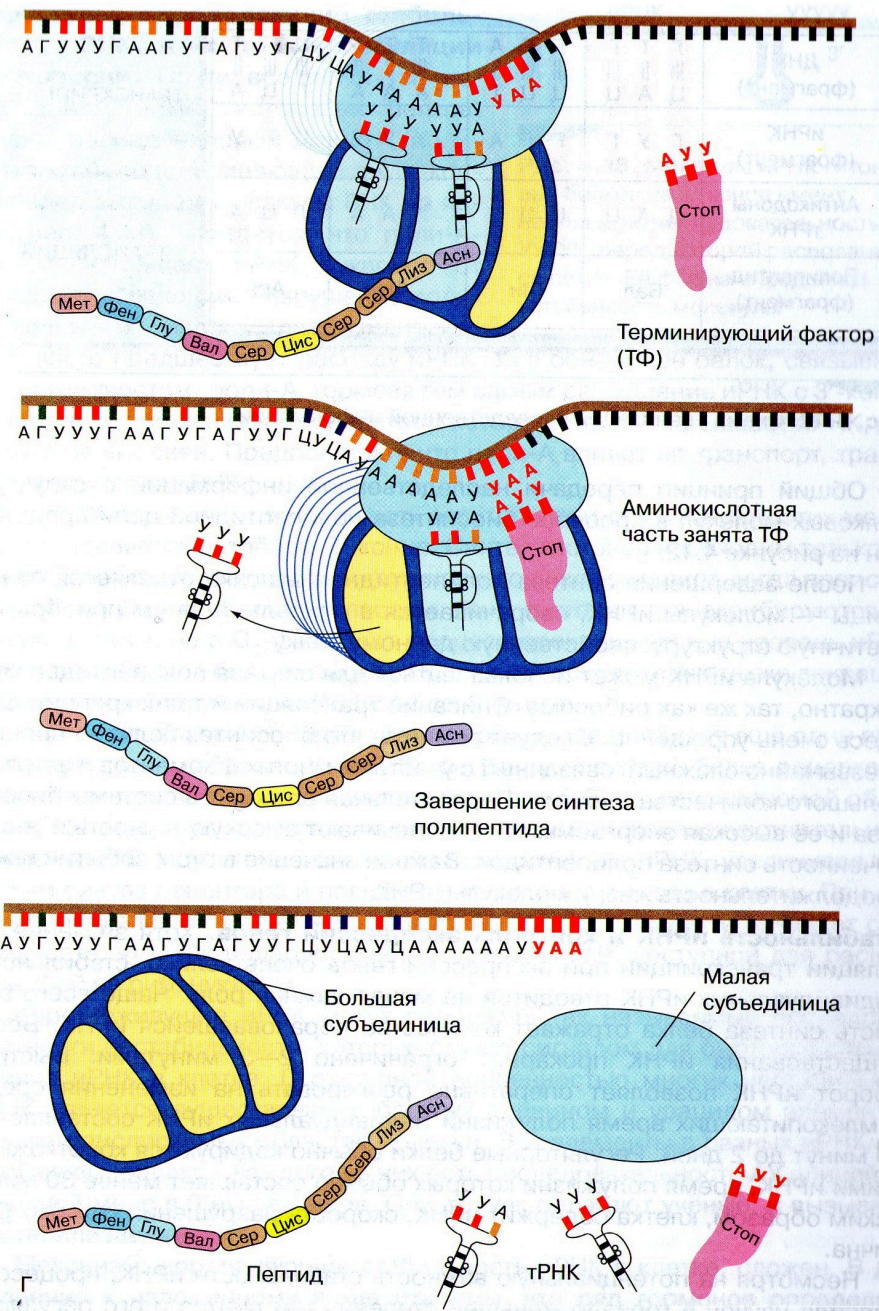
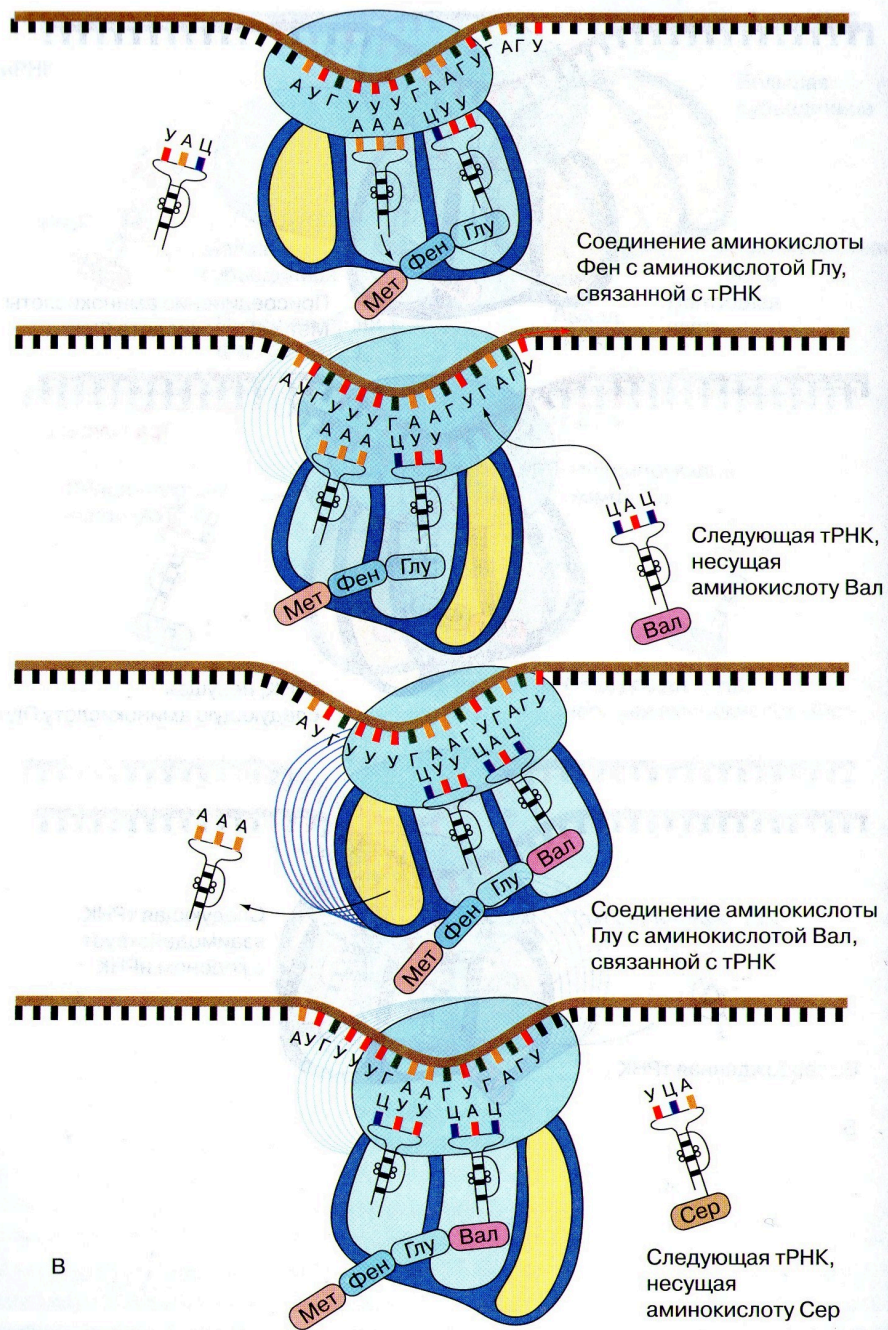


Рис. 4.11 (продолжение). Схема последовательных этапов трансляции: А — инициация; Б—В — элонгация; Г — терминация

Рис. 4.11 (окончание). Схема последовательных этапов трансляции: А — инициация; Б—В — элонгация; Г — терминация

ДНК (фрагмент)	Г	Т	Г	Г	Г	А	Т	Т	Т	Ц	Г	Т	ТРАНСКРИПЦИЯ
	Ц	А	Ц	Ц	Ц	Т	А	А	А	Г	Ц	А	
иРНК (фрагмент)	Г	У	Г	Г	Г	А	У	У	У	Ц	Г	У	ТРАНСЛЯЦИЯ
Антикодоны тРНК	Ц	А	Ц	Ц	Ц	У	А	А	А	Г	Ц	А	
Полипептид (фрагмент)	Вал			Гли			Фен			Арг			

Рис. 4.12. Схема реализации наследственной информации

Общий принцип передачи наследственной информации о структуре белковых молекул в процессе биосинтеза полипептидной цепи представлен на рисунке 4.12.

После завершения синтеза полипептидная цепочка отделяется от матрицы — молекулы иРНК, сворачивается в спираль, а затем приобретает третичную структуру, свойственную данному белку.

Молекула иРНК может использоваться для синтеза полипептидов многократно, так же как рибосома. Описание трансляции и транскрипции дано здесь очень упрощённо. Следует помнить, что биосинтез белка — процесс чрезвычайно сложный, связанный с участием многих ферментов и затратой большого количества энергии. Поразительная сложность системы биосинтеза и её высокая энергоёмкость обеспечивают высокую точность и упорядоченность синтеза полипептидов. Важное значение в этом событии имеет продолжительность жизни молекулы иРНК.

Стабильность иРНК и контроль экспрессии генов. Хотя значение регуляции транскрипции при экспрессии генов очень велико, стабильности индивидуальных иРНК отводится не менее важная роль. Чаще всего скорость синтеза белка отражает количество образовавшейся иРНК. Время существования иРНК прокариот ограничено 2—3 минутами. Быстрый оборот иРНК позволяет оперативно реагировать на изменения среды. У млекопитающих время полужизни индивидуальных иРНК составляет от 10 минут до 2 дней. Регуляторные белки обычно кодируются короткоживущими иРНК, время полужизни которых обычно составляет менее 30 минут. Таким образом, клетка содержит иРНК, скорость разрушения которых различна.

Несмотря на потенциальную важность стабильности иРНК, процесс её распада изучен в гораздо меньшей степени, чем синтез и его регуляция. Немного известно и о ферментах, участвующих в процессе распада, однако некоторые механизмы, определяющие продолжительность жизни иРНК, уже установлены.

Структуры, определяющие стабильность иРНК, и их роль в регуляции экспрессии.

Почти все иРНК (за исключением иРНК гистоновых белков) имеют полиадениловый «хвост» (поли-А-«хвост»), присоединяющийся к 3'-концу перед выходом молекулы РНК из ядра (рис. 4.13). Считается, что поли-А-«хвост» защищает иРНК эукариот от быстрой деградации. Разрушение полиаденилового участка (деаденилирование) часто предшествует распаду иРНК. Уже обнаружен белок, связывающийся с «хвостом» поли-А, тормозя тем самым разрушение иРНК с 3'-конца молекулы, но механизм, посредством которого поли-А защищает иРНК, детально не выяснен. Предполагают, что поли-А влияет на транспорт, трансляцию и распад иРНК.

У иРНК гистонов поли-А-«хвост» отсутствует и стабильность этих молекул определяется петлёй на 3'-конце. Синтез гистонов необходим только во время S-периода интерфазы митотического цикла эукариот, когда происходит синтез ДНК и сборка нуклеосом. Гены гистонов транскрибируются во время S-фазы, но в G₂-фазе этот процесс прекращается, и уровень иРНК гистоновых белков быстро падает. Последнее обусловлено также сокращением времени полужизни иРНК с 40 до 10 минут.

Синтез рецепторного белка трансферрина представляет ещё один пример того, как стабильность иРНК регулирует синтез белка-рецептора, ответственного за транспорт железа в клетки. В 3'-нетранслируемой области иРНК есть группа из пяти петель, называемая железочувствительным элементом. В отсутствие железа она стабилизирует иРНК, увеличивая тем самым синтез рецептора и повышая поступление железа в клетку. При накоплении железа в клетке железочувствительный элемент утрачивает стабильность, что, как полагают учёные, делает иРНК доступной для расщепляющей её рибонуклеазы.

Короткоживущие иРНК могут содержать так называемые последовательности нестабильности, которые служат сигналом для быстрого расщепления иРНК в клетке. Структурной особенностью многих нестабильных иРНК является существование богатых аденином и урацилом элементов в 3'-нетранслируемых областях молекул. Эти элементы в разных иРНК неодинаковы, однако у каждого из них есть последовательности АУ длиной по меньшей мере в 9 нуклеотидов. Они-то, как полагают учёные, и вызывают дестабилизацию иРНК.

Механизм, определяющий стабильность иРНК в клетке, сложен. В дополнение к изложенному выше отметим, что ряд гормонов определяет устойчивость или, напротив, нестабильность специфических иРНК, а регуляция её распада представляет собой один из важных методов контроля за экспрессией генов.

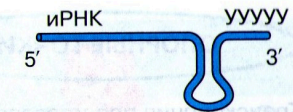


Рис. 4.13. Молекула иРНК гистоновых белков на 3'-конце имеет небольшую последовательность УУУУ, перед которой располагается петля. Её форма определяет устойчивость молекулы

ОПОРНЫЕ ТОЧКИ

- Транскрипция представляет собой перевод информации из последовательности нуклеотидов (кодонов) иРНК в последовательность аминокислот полипептидной цепи. Она осуществляется в активном центре рибосомы.
- Рибосомы обеспечивают последовательный подбор антикодонов тРНК к кодонам иРНК.
- Контроль активности генов на уровне трансляции обеспечивается различной продолжительностью «жизни» молекул иРНК, на которую влияют регуляторные факторы (гормоны), а также конечные продукты деятельности самого гена.

ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ ПОВТОРЕНИЯ

- 1 Как осуществляется процесс трансляции?
- 2 Расскажите о роли рРНК в обеспечении комплементарного связывания кодона иРНК с антикодоном тРНК.
- 3 Где происходит процесс трансляции?
- 4 Каково значение продолжительности «жизни» иРНК в жизнедеятельности клетки?
- 5 Что собой представляют гены тРНК и иРНК? Опишите, как реализуется информация о структуре этих молекул.

4.2. Энергетический обмен — катаболизм

Процессом, противоположным синтезу, является диссимиляция — совокупность реакций расщепления. При расщеплении высокомолекулярных соединений выделяется энергия, необходимая для реакций биосинтеза. Поэтому диссимиляцию часто называют ещё энергетическим обменом клетки или *катаболизмом* (от греч. *katabole* — разрушение).

Химическая энергия питательных веществ заключена в различных ковалентных связях между атомами в молекулах органических соединений. Например, при разрыве такой химической связи, как пептидная, освобождается около 12 кДж/моль. В глюкозе количество потенциальной энергии, заключённой в связях между атомами С, Н и О, составляет 2800 кДж/моль. При расщеплении глюкозы энергия выделяется поэтапно с участием ряда ферментов согласно итоговому уравнению:

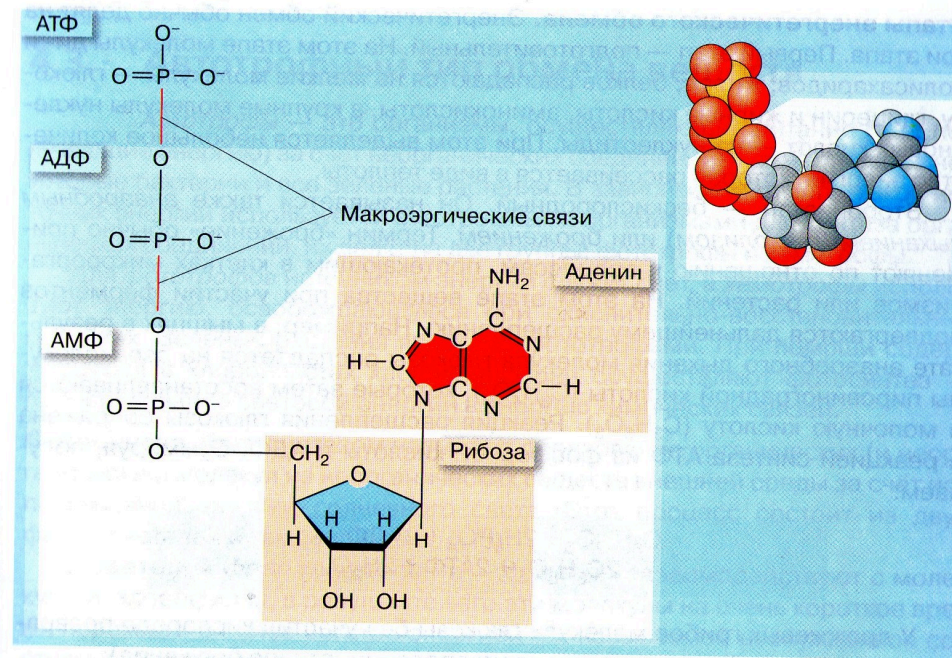
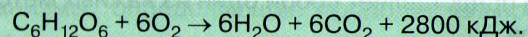


Рис. 4.14. Схема строения АТФ

Часть энергии, освобождаемой из питательных веществ, рассеивается в форме теплоты, а часть аккумулируется, т. е. накапливается в богатых энергией фосфатных связях АТФ.

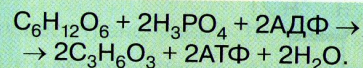
Именно АТФ обеспечивает энергией все виды клеточных функций: биосинтез, механическую работу (деление клетки, сокращение мышц), активный перенос веществ через мембраны, поддержание мембранного потенциала при проведении нервного импульса, выделение различных секретов.

Молекула АТФ состоит из азотистого основания аденина, сахара рибозы и трёх остатков фосфорной кислоты (рис. 4.14). Аденин, рибоза и первый фосфат образуют аденозинмонофосфат (АМФ). Если к первому фосфату присоединяется второй, получается аденозиндифосфат (АДФ). Молекула с тремя остатками фосфорной кислоты аденозинтрифосфат (АТФ) наиболее энергоёмка. Отщепление конечного фосфата АТФ сопровождается выделением 40 кДж вместо 12 кДж, выделяемых при разрыве химических связей других молекул.

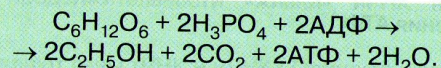
Благодаря богатым энергией связям в молекулах АТФ, клетка может накапливать большое количество энергии в очень небольшом пространстве и расходовать её по мере надобности. Синтез АТФ осуществляется в митохондриях. Оттуда молекулы АТФ поступают в разные участки клетки, обеспечивая энергией процессы жизнедеятельности.

Этапы энергетического обмена. Энергетический обмен обычно делят на три этапа. Первый этап — подготовительный. На этом этапе молекулы дисахаридов, жиров, белков распадаются на мелкие молекулы — глюкозу, глицерин и жирные кислоты, аминокислоты, а крупные молекулы нуклеиновых кислот — на нуклеотиды. При этом выделяется небольшое количество энергии, которая рассеивается в виде теплоты.

Второй этап — бескислородный. Он называется также *анаэробным дыханием (гликолизом) или брожением*. Термин «брожение» обычно применяют по отношению к процессам, протекающим в клетках микроорганизмов или растений. На этом этапе вещества при участии ферментов подвергаются дальнейшему расщеплению. Например, в мышцах в результате анаэробного дыхания молекула глюкозы распадается на две молекулы пировиноградной кислоты ($C_3H_4O_3$), которые затем восстанавливаются в молочную кислоту ($C_3H_6O_3$). Реакция расщепления глюкозы сопряжена с реакцией синтеза АТФ из фосфорной кислоты и АДФ. Суммируя, получаем:



У дрожжевых грибов молекула глюкозы без участия кислорода превращается в этиловый спирт и диоксид углерода (спиртовое брожение):



У других микроорганизмов брожение может завершаться образованием цетона, уксусной кислоты и т. д.

Во всех случаях распад одной молекулы глюкозы сопровождается образованием двух молекул АТФ. В ходе бескислородного расщепления глюкозы в виде макроэргической связи в молекуле АТФ сохраняется 40% энергии, а остальная рассеивается в виде теплоты.

Третий этап энергетического обмена — стадия *аэробного дыхания, или кислородного расщепления*. Реакции этой стадии энергетического обмена также катализируются ферментами. При доступе кислорода к клетке образовавшиеся во время предыдущего этапа вещества окисляются до конечных продуктов — H_2O и CO_2 . Кислородное дыхание сопровождается выделением большого количества энергии и аккумуляцией её в молекулах АТФ. При окислении двух молекул пировиноградной кислоты образуются 36 молекул АТФ. Следовательно, основную роль в обеспечении клетки энергией играет аэробное дыхание.

Итак, в ходе энергетического обмена при полном окислении одной молекулы глюкозы до CO_2 и H_2O образуются 38 молекул АТФ (2 молекулы в процессе гликолиза и 36 — в процессе аэробного дыхания).

По способу питания, т. е. получения энергии и вещества, все организмы делятся на две группы — автотрофные и гетеротрофные.

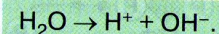
4.3. Автотрофный тип обмена веществ

Автотрофы — это организмы, осуществляющие питание (т. е. получающие энергию) за счёт неорганических соединений. К ним относятся некоторые бактерии и все зелёные растения. В зависимости от того, какой источник энергии используется автотрофными организмами для синтеза органических соединений, их делят на две группы: фототрофы и хемотрофы.

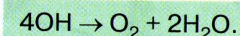
Для *фототрофов* источником энергии служит свет, а *хемотрофы* используют энергию, освобождающуюся при окислительно-восстановительных реакциях. Зелёные растения являются фототрофами. При помощи содержащегося в хлоропластах хлорофилла они осуществляют фотосинтез — преобразование световой энергии в энергию химических связей.

Фотосинтез. Фотосинтезом называют образование органических (и неорганических) молекул из неорганических веществ внешней среды за счёт использования энергии солнечного света. Этот процесс состоит из двух фаз — световой и темновой (рис. 4.15).

В *световой фазе* кванты света — фотоны — взаимодействуют с молекулами хлорофилла, в результате чего эти молекулы на очень короткое время переходят в более богатое энергией так называемое возбуждённое состояние. Затем избыточная энергия части возбуждённых молекул преобразуется в теплоту или испускается в виде света. Другая её часть передаётся ионам водорода H^+ , всегда имеющимся в водном растворе вследствие диссоциации воды:



Образовавшиеся атомы водорода (H^0) непрочно соединяются с органическими молекулами — переносчиками водорода. Ионы гидроксила OH^- отдают свои электроны другим молекулам и превращаются в свободные радикалы OH^0 . Радикалы OH^0 взаимодействуют друг с другом, в результате чего образуются вода и молекулярный кислород:



Таким образом, источником молекулярного кислорода, образующегося в процессе фотосинтеза и выделяющегося в атмосферу, является вода, расщепляющаяся в результате фотолиза — разложения воды под влиянием света. Кроме фотолиза воды, энергия света используется в световой фазе для синтеза АТФ из АДФ и фосфата без участия кислорода.

Описанный выше процесс очень эффективный: в хлоропластах образуется в 30 раз больше АТФ, чем в митохондриях тех же клеток с участием кислорода. Таким путём накапливается энергия, необходимая для процессов, происходящих в темновой фазе фотосинтеза.

В комплексе химических реакций *темновой фазы*, для течения которых свет не обязателен, ключевое место занимает связывание CO_2 . В этих реакциях участвуют молекулы АТФ, синтезированные во время световой фазы,



Лист

Клетки

Хлоропласт с гранами

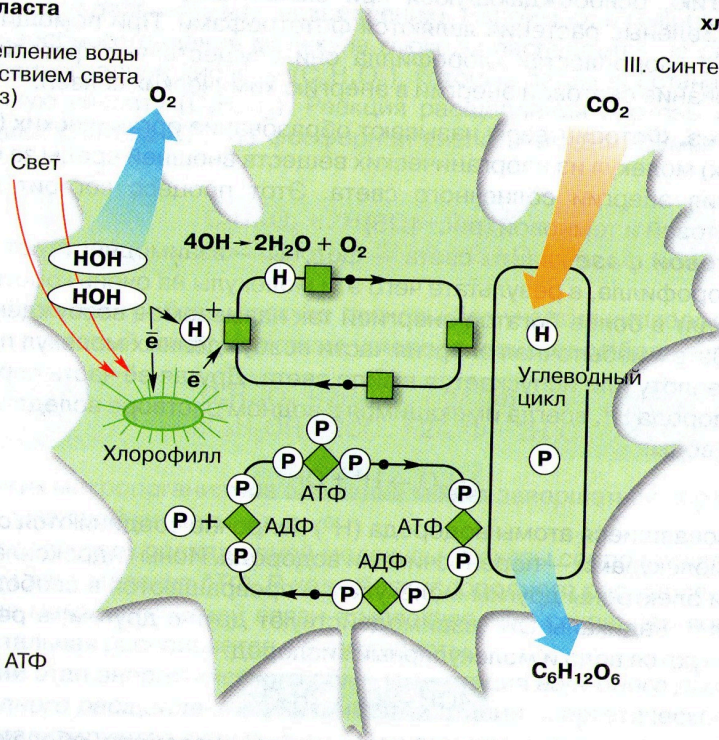
Хлорофилл в гране

Световая фаза в гранах хлоропласта

I. Расщепление воды под действием света (фотолиз)

Темновая фаза в строме хлоропласта

III. Синтез углеводов



II. Синтез АТФ

Свободный кислород в атмосфере является мощным фактором преобразования веществ. Его появление послужило предпосылкой возникновения на нашей планете аэробного типа обмена веществ.

Хемосинтез. Некоторые бактерии, лишённые хлорофилла, тоже способны к синтезу органических соединений, при этом они используют энергию реакций неорганических веществ. Преобразование энергии реакций в химическую энергию синтезируемых органических соединений называют *хемосинтезом*. Это явление было открыто русским микробиологом С. Н. Виноградским (1887).

К группе хемотрофов, или автотрофов-хемосинтетиков, относят нитрифицирующих бактерий. Некоторые из них используют энергию окисления аммиака в азотистую кислоту, другие — энергию окисления азотистой кислоты в азотную. Известны хемосинтетики, усваивающие энергию окисления двухвалентного железа в трёхвалентное («железные бактерии») или окисления сероводорода до серной кислоты («серные бактерии»). Фиксируя атмосферный азот, переводя нерастворимые минералы в форму, пригодную для усвоения растениями, хемосинтезирующие бактерии играют важную роль в круговороте веществ в природе.

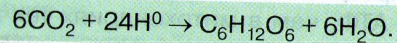
Гетеротрофный тип обмена веществ. Организмы, неспособные сами синтезировать органические соединения из неорганических, нуждаются в доставке их из окружающей среды. Такие организмы называют *гетеротрофами*. К ним относят большинство бактерий, грибов и животных. Животные поедают других животных, грибы и растения и получают с пищей готовые углеводы, жиры, белки и нуклеиновые кислоты. В ходе жизнедеятельности происходит расщепление этих веществ. Из части освободившихся при этом молекул — глюкозы, аминокислот, нуклеотидов и др. синтезируются более сложные органические соединения, свойственные данному организму, — гликоген, жиры, белки, нуклеиновые кислоты. Другая часть молекул расщепляется, а большая часть освобождающейся при этом энергии используется для жизнедеятельности.

ОПОРНЫЕ ТОЧКИ

- Метаболизм складывается из двух тесно взаимосвязанных и противоположно направленных процессов: ассимиляции и диссимиляции.
- Подавляющее большинство процессов жизнедеятельности, протекающих в клетке, требует затрат энергии в виде АТФ.
- Расщепление глюкозы у аэробных организмов, при котором за бескислородным этапом следует расщепление молочной кислоты с участием кислорода, в 18 раз более эффективно с энергетической точки зрения, чем анаэробный гликолиз.
- Наиболее распространённой формой фотосинтеза является такая, при которой в качестве источника водорода используется вода.

рис. 4.15. Схема фотосинтеза

атомы водорода, образовавшиеся в процессе фотолиза воды и связанные с молекулами-переносчиками:



Так энергия солнечного света преобразуется в энергию химических связей сложных органических соединений.

Как уже отмечалось выше, побочным продуктом фотосинтеза зелёных растений является молекулярный кислород, выделяемый в атмосферу.

ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ ПОВТОРЕНИЯ

- 1 Что такое диссимиляция? Охарактеризуйте этапы этого процесса.
- 2 В чём заключается роль АТФ в обмене веществ в клетке?
- 3 Расскажите об энергетическом обмене в клетке на примере расщепления глюкозы.
- 4 Какие типы питания организмов вам известны?
- 5 Какие организмы называют автотрофными?
- 6 Охарактеризуйте световую и темновую фазы фотосинтеза.
- 7 Почему в результате фотосинтеза у зелёных растений в атмосферу выделяется свободный кислород?
- 8 Что такое хемосинтез?
- 9 Какие организмы называют гетеротрофными? Приведите примеры.

ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

- 1 Какие организмы называют автотрофными? На какие группы подразделяют автотрофов?
- 2 Каков механизм образования свободного кислорода в результате фотосинтеза у зелёных растений? Раскройте биологическое и экологическое значение этого процесса.
- 3 Где, в результате каких преобразований молекул и в каком количестве образуется АТФ у живых организмов?

Обзор пройденного материала главы 4

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Сущность метаболизма заключается в преобразовании веществ и энергии.

Реакции обмена веществ складываются из взаимосвязанных, но разнонаправленных процессов ассимиляции и диссимиляции, согласованность которых обеспечивает гомеостаз организма.

Генетический код — это исторически сложившаяся организация молекул ДНК и РНК, при которой наследственная информация о признаках и свойствах организма оказывается заключённой в последовательности нуклеотидов.

Энергетический обмен организма или клетки включает три этапа: подготовительный — расщепление биополимеров пищи до мономеров, бескислородное расщепление — до промежуточных продуктов и кислородное расщепление — до конечных продуктов. Только два последних этапа сопровождаются образованием АТФ.

ВАША БУДУЩАЯ ПРОФЕССИЯ

Слово «биохимия» пришло к нам ещё из XIX в., но в качестве научного термина закрепилось только век спустя благодаря немецкому учёному Карлу Нойбергу. Биохимия объединяет собой положения двух наук: химии и биологии. Поэтому специалисты биохимики занимаются исследованием веществ и химических реакций, которые протекают в живой клетке, в организме. Деятельность биохимика — это сложный труд, где необходимы знание о строении и жизнедеятельности микроорганизмов, ботаники и физиологии растений, медицинской и физиологической химии. Специалисты в области биохимии занимаются также исследованиями вопросов теоретической и прикладной биологии, медицины. Результаты их работы важны в сфере технической и промышленной биологии, витаминологии, гистохимии и генетике. Труд биохимиков востребован в образовательных учреждениях (школах, медицинских и педагогических вузах), медицинских центрах, а также на предприятиях биологического производства.

ПРОБЛЕМНЫЕ ОБЛАСТИ

1. Как реализуется наследственная информация о признаках и свойствах ДНК- и РНК-содержащих вирусов?