

7. ПЕРЕДАЧА НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ

7.1. Строение ядра

Ядро – это органелла эукариотической клетки размером порядка 10 мкм. Ядро регулирует всю клеточную активность, являясь местом хранения всей клеточной информации. Структура ядра представлена ядерной оболочкой, ядрышком и хроматином. Ядерная оболочка состоит из двух мембран. Наружная переходит в ЭПР и может содержать рибосомы, на которых идет синтез белка. Ядерная оболочка пронизана порами, через которые происходит обмен материалами между ядром и цитоплазмой. Поры имеют определенную структуру, представляющую собой результат слияния наружной и внутренней мембраны ядерной оболочки (рис. 87).

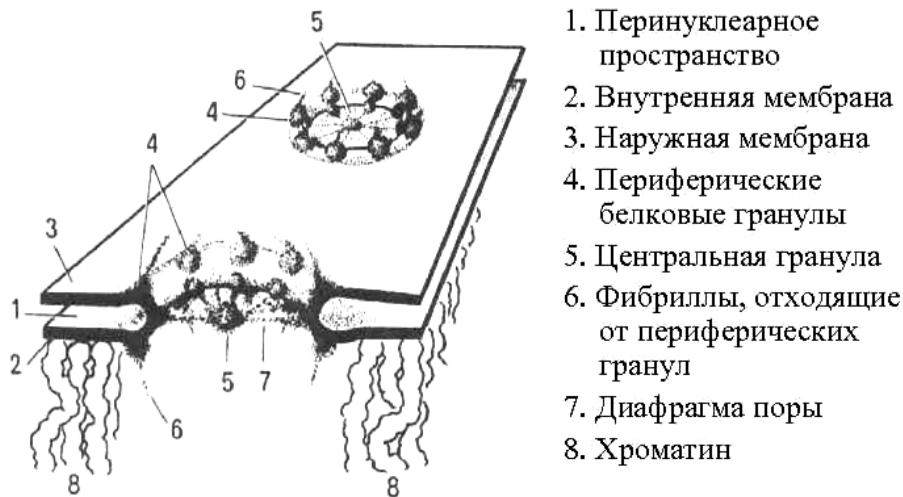


Рис. 87. Строение ядерной оболочки

Хроматин представляет собой коллоидную субстанцию, наполняющую ядро. Состоит из многих витков ДНК, присоединенных к гистонам – белкам основной природы. Наибольшую часть ядерных белков составляют гистоны. Выделяют пять основных типов: Н1, Н2А, Н2В, Н3 и Н4. Это небольшие белки с молекулярными массами 10–15 кДа. Они чрезвычайно богаты положительно заряженными аминокислотами (лизином и аргинином). Нити ДНК упакованы вместе с гистонами в структуры, напоминающие бусины (нуклеосомы). Упаковка нуклеосом в хроматине носит регулярный характер. Во время деления клетки хроматин становится более конденсированным, что объясняется образованием хромосом – туго скрученных (спирализованных) нитей. В интерфазе хроматин переходит в более диспергированное состояние. Однако часть хроматина остается плотно упакованной (гетерохроматин).

Часть хроматина с более рыхло спирализованной структурой называют эухроматином, в котором содержится генетически активная ДНК (рис. 88).

Ядрышко представляет собой хорошо заметную округлую структуру, находящуюся внутри ядра. Это место образования рибосом. Эта структура содержит большое количество ДНК и РНК. Особо плотная область в ядрышке содержит ДНК одной или нескольких хромосом, в которой сосредоточено большое количество копий генов, кодирующих синтез рРНК. В менее плотной периферической области, окружающей центральную часть ядрышка, начинается свертывание РНК и идет сборка рибосом (РНК соединяется с белком). Не полностью собранные рибосомы переходят по ядерным порам в цитоплазму, где завершается их сборка (рис. 89).

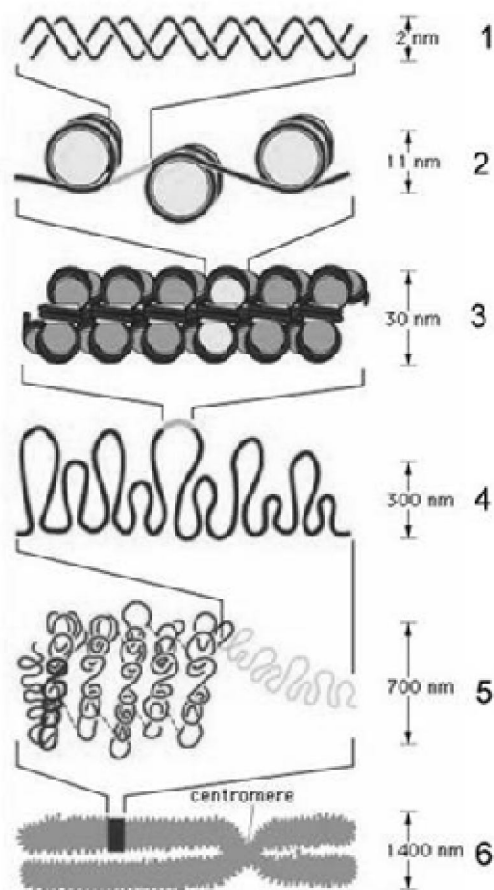


Рис. 88. Уровни упаковки генома: 1 – молекула ДНК (2 нм);
2 – нуклеосомная нить (11 нм); 3 – хроматиновая фибрилла (30 нм);
4 – хромонема (300 нм); 5 – хроматида (700 нм); 6 – хромосома (1 400 нм)

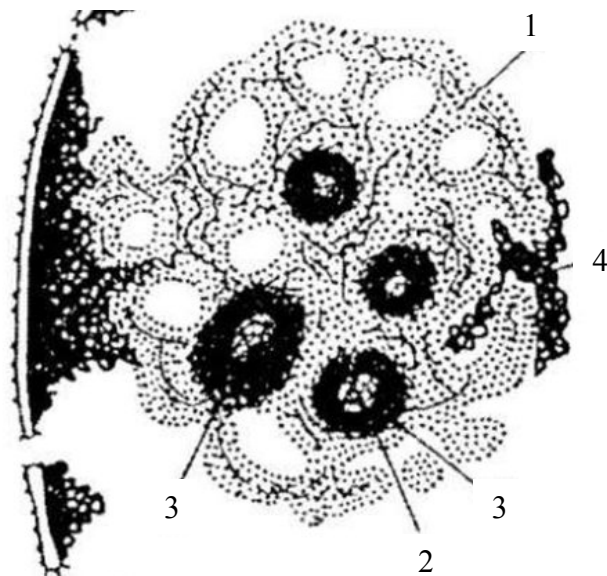


Рис. 89. Строение ядрышка: 1 – гранулярный компонент (нуклеонема); 2 – фибриллярные центры; 3 – плотный фибриллярный компонент; 4 – околядрышковый хроматин

7.2. Биосинтез азотистых оснований

Почти все организмы способны синтезировать пиримидиновые и пуриновые нуклеотиды из простых соединений, например из CO_2 , NH_3 , аспартата, глицина, глутамина и рибозы (рис. 90).

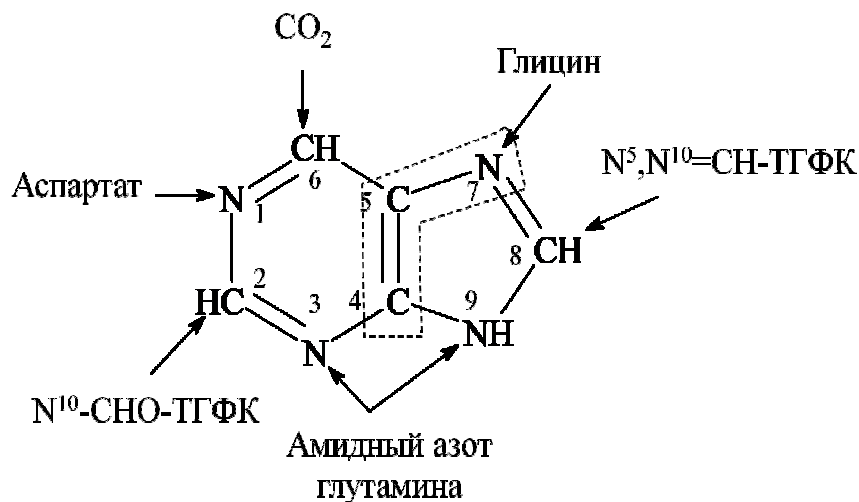


Рис. 90. Схема азотистого основания

Из схемы видно, что 4-й и 5-й атомы углерода и 7-й атом азота в ядре имеют своим источником глицин. Два атома азота (N-3 и N-9) происходят из амидной группы глутамина, один атом азота (N-1) – из азота

аспарагиновой кислоты; углеродный атом (С-2) происходит из углерода N10-формил-тетрагидрофолиевой кислоты (ТГФК), атом углерода в 8-м положении – из N5,N10-метенил-ТГФК, а углерод С-6 имеет своим источником CO₂.

В синтезе обоих типов нуклеотидов фосфорибозильный фрагмент переносится в виде 5-фосфорибозил-1-пирофосфата (ФРПФ), который образуется при фосфорилировании рибозо-5-фосфата – промежуточного метаболита пентозофосфатного пути. Образовавшийся ФРПФ взаимодействует с глутамином, являющимся донором NH₂-группы, в результате чего образуется β-5-фосфорибозил-амин, причем в процессе реакции наряду с освобождением пирофосфата и свободной глутаминовой кислоты происходит изменение его конфигурации (из α- в β-). Таким образом, данная стадия становится ключевой реакцией в синтезе пуринов.

На следующей стадии присоединяется вся молекула глицина к свободной NH₂-группе β-5-фосфорибозил-амин (реакция нуждается в доставке энергии АТФ) с образованием глицинамидрибонуклеотида. Затем, на следующей стадии, цепь удлиняется за счет присоединения формильной группы из N5,N10-метенил-ТГФК с образованием формилглицинамид-рибонуклеотида. На формильную группу последнего переносится далее амидная группа глутамин и синтезируется формилглицинамидинрибо-нуклеотид (реакция также идет с потреблением энергии АТФ). На следующей стадии замыкается пятичленное имидазольное кольцо и образуется 5-аминоимидазолрибонуклеотид, который способен акцептировать CO₂ с образованием рибонуклеотида 5-аминоимидазол-4-карбоновой кислоты. В последующем двух-ступенчатом процессе, в котором участвуют аспарагиновая кислота и АТФ, образуется 5-аминоимидазол-4-карбоксамид-рибонуклеотид и освобождается фумаровая кислота. В этих реакциях азот аспарагиновой кислоты включается в 1-е положение будущего пуринового ядра. Последний углеродный атом пиримидинового остатка кольца пурина вводится в виде формильного остатка (источник N10-формил-ТГФК), который присоединяется к 5-NH₂-группе. После этого отщепляется молекула воды и второе кольцо замыкается. В результате образуется первый пуриновый нуклеотид – инозиновая кислота (ИМФ), которая является предшественником пуриновых нуклеотидов в составе нуклеиновых кислот (рис. 91).

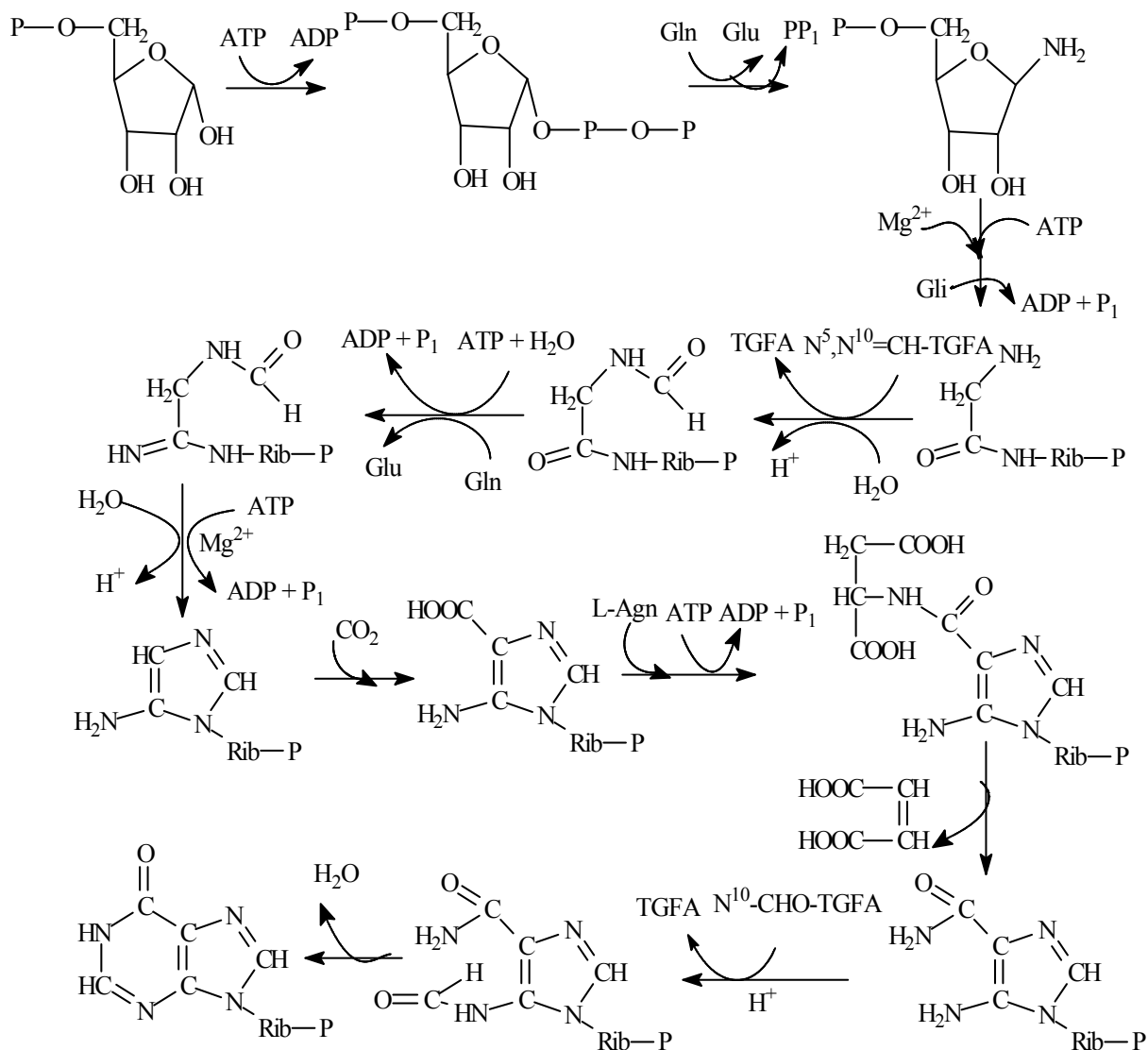


Рис. 91. Синтез инозиновой кислоты

АМФ и ГМФ образуются из ИМФ, причем в синтезе обоих мононуклеотидов участвуют по два фермента, различных по своему механизму действия. Образование ГМФ из ИМФ катализируют ИМФ-дегидрогеназа и ГМФ-синтетаза, а образование АМФ из того же предшественника катализируется последовательным действием аденилосукцинатсинтетазы и аденилосукцинат-лиазы. Механизм двухэтапного синтеза АМФ и ГМФ можно представить в виде химических реакций (рис. 92).

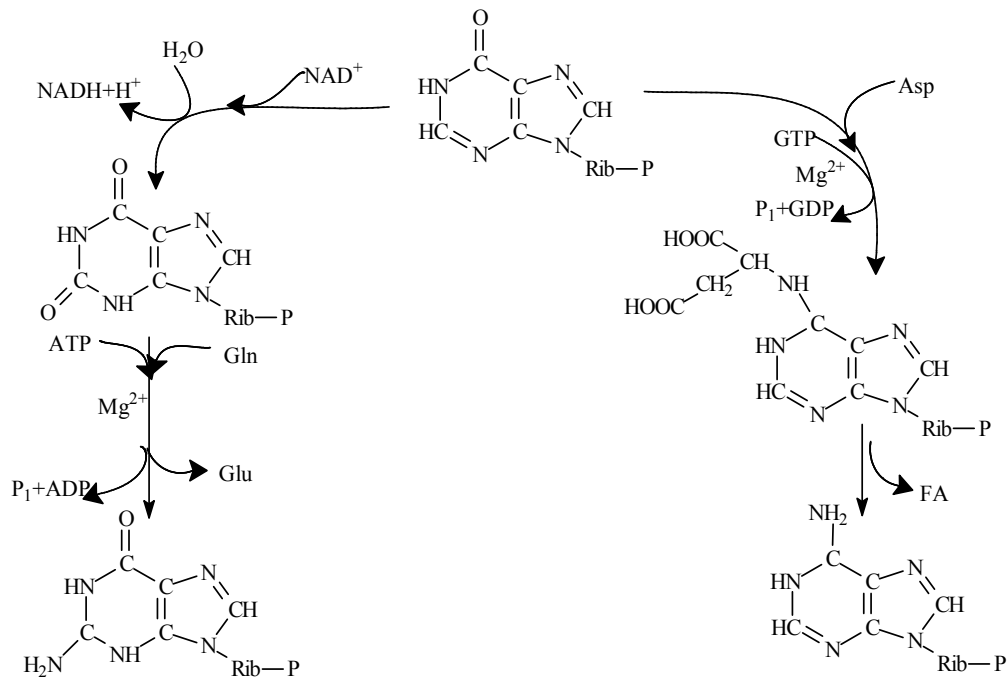


Рис. 92. Синтез АМФ и ГМФ

В ферментативном синтезе АМФ из ИМФ специфическое участие принимают аспарагиновая кислота, являющаяся донором NH_2 -группы, и ГТФ в качестве источника энергии; промежуточным продуктом реакции является аденилоянтарная кислота. Биосинтез ГМФ, напротив, начинается с дегидрогеназной реакции ИМФ с образованием ксантозиловой кислоты; в аминировании последней используется только амидный азот глутамина. Превращение АМФ и ГМФ в соответствующие нуклеозидди- и нуклеозидтрифосфаты также протекает в 2 стадии при участии специфических нуклеозидмонофосфат- и нуклеозиддифосфаткиназ.

Синтез пиримидиновых оснований начинается с элементарных уровней (CO_2 , NH_3 , аспарат), и специфическую ключевую роль выполняет оротовая кислота. Последовательность химических реакций синтеза пиримидиновых нуклеотидов, в частности УМФ, можно представить в следующем виде (рис. 93).

Первая стадия синтеза УМФ включает катализируемое цитоплазматической карбамоилфосфатсинтетазой образование карбамоилфосфата из глутамина. На второй стадии карбамоилфосфат реагирует с аспаратом, в результате чего образуется N-карбамоиласпарагиновая кислота. Последняя подвергается циклизации (под действием дигидрооротазы) с отщеплением молекулы воды, при этом образуется дигидрооротовая кислота, которая, подвергаясь дегидрированию, превращается в оротовую кислоту. В этой реакции участвует специфический НАД-содержащий фермент дигидрооротатдегидрогеназа. Оротовая кислота обратимо реагирует с ФРПФ, являющимся донатором

рибозо-фосфата, с образованием оротидин-5'-фосфата (ОМФ). Декарбоксилирование последнего приводит к образованию первого пиримидинового нуклеотида – уридин-5-фосфата (УМФ). Превращение УМФ в УДФ и УТФ осуществляется путем фосфотрансферных реакций.

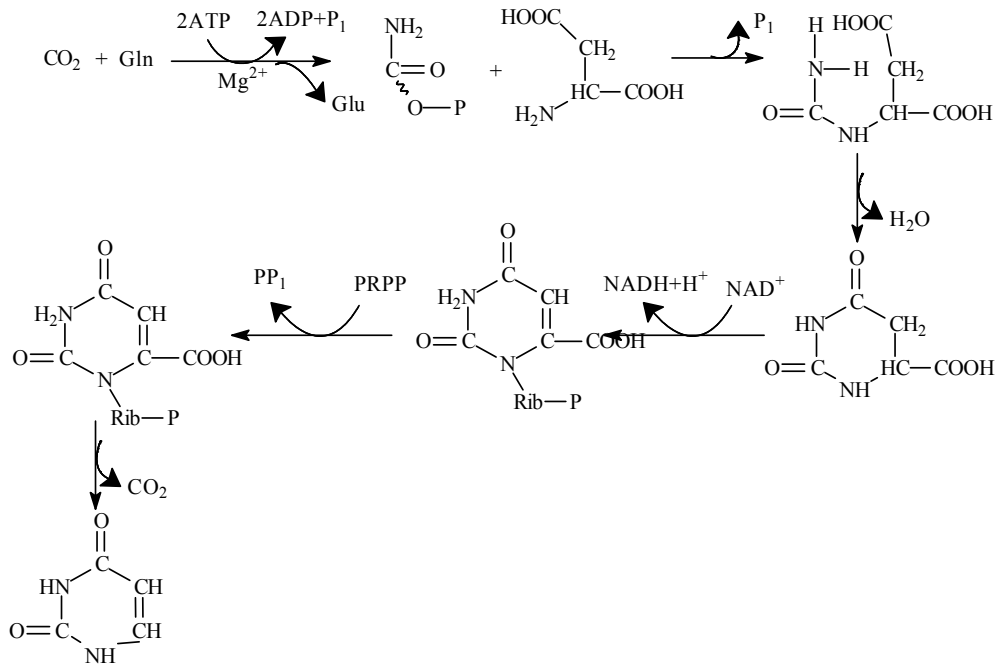


Рис. 93. Синтез УМФ

Предшественником цитидиловых нуклеотидов является УТФ, который превращается в цитидинтрифосфат (ЦТФ) в присутствии глутамината и АТФ. Для синтеза тимидиловых нуклеотидов требуется также метилированное производное урацила – тимин, который образуется в результате метилирования дезоксирибо-УМФ, катализируемого тимидилатсинтазой. Донором метильной группы в тимидилатсинтазной реакции является N⁵,N¹⁰-метилен-ТГФК, которая одновременно отдает и водородный протон, поэтому одним из конечных продуктов реакции является не тетрагидро-, а дигидрофолиевая кислота (ДГФК). Последняя вновь восстанавливается до ТГФК под действием НАДФН-зависимой дигидрофолатредуктазы. Из образовавшегося ТМФ путем фосфотрансферных реакций образуются дезоксирибо-ТДФ и дезоксирибо-ТТФ.

7.3. Синтез ДНК и РНК

Известно, что для любого синтеза полимерной органической молекулы, осуществляемого *in vitro* или *in vivo*, требуется энергия. Источником энергии в реакциях полимеризации мононуклеотидов

является энергия, освобождаемая всеми четырьмя типами дезоксирибонуклеозидтрифосфатов, участвующих в синтезе ДНК. Образующийся пирофосфат под действием пирофосфатазы также расщепляется на две молекулы ортофосфата, давая дополнительную энергию для биосинтеза ДНК. Помимо энергии, биогенез ДНК требует наличия специфических ферментов, катализирующих отдельные этапы синтеза, и множества белковых факторов, абсолютно необходимых для регулирования процесса репликации и проявления каталитической активности ферментов. В репликации ДНК, включающей узнавание точки начала процесса, расплетение родительских цепей ДНК в репликационной вилке, инициацию биосинтеза дочерних цепей и дальнейшую их элонгацию и, наконец, окончание (терминация) процесса, участвует более 40 ферментов и белковых факторов, объединенных в единую ДНК-репликационную систему, называемую реплисомой.

Химический смысл полимеризации состоит в том, что свободная 3'-гидроксильная группа матрицы атакует α -фосфатную группу соответствующего присоединяемого нуклеозидтрифосфата (определяется природой азотистого основания затравки), при этом происходят отщепление остатка пирофосфата и образование фосфодиэфирной связи. Далее свободный 3'-гидроксил вновь присоединенного нуклеотида атакует α -фосфатную группу следующего нуклеозидтрифосфата, и таким путем продолжается процесс полимеризации, идущий в направлении 5'→3', антипараллельно матрице, оканчивающейся 5'-фосфатом.

Модель структуры ДНК, предложенная Д. Уотсоном и Ф. Криком, показывает, каким образом происходит репликация ДНК. Две цепи спирали могут раскручиваться и разделяться. При этом они служат матрицами, к которым пристраивается комплементарная цепочка нуклеотидов. За синтез ДНК отвечает фермент – ДНК-полимераза. Нуклеотиды, используемые в клетке, содержат две дополнительные фосфатные группы, которые активируют нуклеотиды ДНК-цепи. По мере прикрепления каждого нуклеотида фосфатные группы отщепляются.

Раскручивание спирали ДНК контролируется ферментом геликазой. Затем ДНК-полимераза прикрепляется к цепи ДНК и начинает перемещаться вдоль цепи. Всякий раз, когда она доходит до очередного основания в цепи ДНК, свободные нуклеотиды приближаются к цепи и комплементарные образуют водородные связи. Свободный нуклеотид удерживается ферментом на месте до тех пор, пока он не присоединится к предыдущему нуклеотиду, наращивая цепь ДНК. Это наращивание происходит только в направлении 5'→3'. Так как ДНК-полимераза движется в том же направлении, что и раскручивающий фермент, существует возможность непрерывной репликации только одной цепи ДНК. Для второй цепи копирование должно начинаться всякий раз заново. В результате в цепи возникают небольшие разрывы, потому что ДНК-

полимераза не может соединить 3'-конец одного нуклеотида с 5'-концом следующего. Для ликвидации разрыва необходимо участие другого фермента – ДНК-лигазы. Данный способ репликации называют полуконсервативной репликацией (рис. 94).



Рис. 94. Схема синтеза ДНК

Современные представления о механизме синтеза РНК в клетках в значительной степени обязаны открытию в 1960 году в двух лабораториях США (открыватели – Дж. Хервиц и С. Вейс) особого фермента – РНК-полимеразы, катализирующей синтез РНК из свободных нуклеозидтрифосфатов. Фермент требует наличия ионов Mg^{2+} или Mn^{2+} и одновременного присутствия всех 4 типов рибонуклеозидтрифосфатов (АТФ, ГТФ, ЦТФ и УТФ). При тщательном изучении механизма синтеза РНК при участии РНК-полимеразы, называемой также ДНК-зависимой РНК-полимеразой (транскриптазой), было установлено, что молекула предобразованной ДНК, необходимая для реакции полимеризации, полностью определяет последовательность рибонуклеотидов во вновь синтезированной молекуле РНК. Другими словами, на матрице ДНК комплементарно строится полирибонуклеотид, являющийся копией первичной структуры ДНК, с той только разницей, что вместо тимидилового нуклеотида ДНК в РНК включается уридиловый нуклеотид.

В синтезируемой молекуле РНК отдельные мононуклеотиды, как и в ДНК, связаны между собой 3'-5'-фосфодиэфирными мостиками. Кроме того, сам механизм действия фермента РНК-полимеразы во многом совпадает с таковыми ДНК-полимеразы: синтез также идет в направлении 5'→3', цепь РНК имеет полярность, противоположную цепи предобразованной ДНК.