

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Федеральный научный центр биологических систем и  
агротехнологий Российской академии наук»  
(ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН)

## МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ

ДИСЦИПЛИНЫ  
«Б1.О.13 Молекулярная биология»

Уровень высшего образования

МАГИСТРАТУРА

Направление подготовки

36.04.02 ЗООТЕХНИЯ

(код и наименование направления подготовки)

Питание сельскохозяйственных животных и кормопроизводство  
(наименование направленности (профиля) образовательной программы)

Квалификация

Магистр

Форма обучения

Заочная

Методические указания рассмотрены и утверждены на заседании отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. проф. С.Г. Леушина  
Протокол № 1 от «10» января 2020 г.  
Зав. отделом, д.б.н. \_\_\_\_\_ Г.К. Дускаев

## Содержание

|  |    |
|--|----|
| 1 История становления науки. Современные направления молекулярной биологии. Белки и нуклеиновые кислоты как объект молекулярной биологии | 4  |
| 2 Методы молекулярной биологии .....   | 6  |
| 3 Репликация ДНК .....   | 7  |
| 4 Репарация ДНК.....   | 10 |
| 5 Биосинтез РНК (транскрипция). Регуляция транскрипции у эукариот и прокариот .....  | 13 |
| 6 Процессинг РНК.....  | 16 |
| 7 Биосинтез белка (трансляция). Регуляция трансляции у прокариот и эукариот.....   | 19 |
| Литература, рекомендуемая для изучения дисциплины .....  | 27 |

## Введение

Становление молекулярной биологии как науки произошло сравнительно недавно, в начале 50-х годов XX века. Именно в недрах биохимии зародилась эта наука, предметом которой является изучение биологических явлений на уровне макромолекул. Шаги этой молодой науки столь стремительны, что порой превосходят воображение: заложены основы для понимания механизма биологического катализа и, следовательно, управления процессами жизнедеятельности, выявлены кардинальные закономерности специфического биосинтеза макромолекул, искусственно создана молекула вируса — прототипа простейшей живой системы, расшифрован генетический код. В результате исследования процессов преобразования нуклеиновых кислот под влиянием физических факторов и химических агентов найдены принципиально новые подходы к пониманию явлений изменчивости и наследственности в природе.

Настоящие «Методические указания» содержат темы работ по основным разделам: «Методы молекулярной биологии», «Репликация ДНК», «Репарация ДНК», «Транскрипция», «Процессинг РНК» и «Трансляция». Каждая тема включает основные вопросы для самопроверки студентов, перечень работ, методические указания к выполнению работ, а также список обязательной и дополнительной литературы.

# 1 История становления науки. Современные направления молекулярной биологии. Белки и нуклеиновые кислоты как объект молекулярной биологии

## 1.1 Цель занятия и задачи

Дать определения молекулярной биологии, как науки, рассмотреть этапы ее становления, определить связь с другими науками. Охарактеризовать особенности строения белков и нуклеиновых кислот.

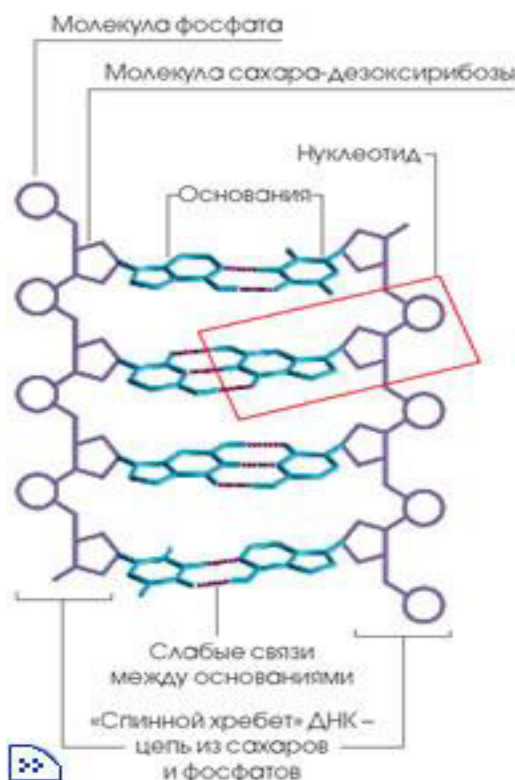
## 1.2 Основные вопросы темы

- 1 История развития науки.
- 2 Основопологающие открытия молекулярной биологии.
- 3 Аминокислоты как мономеры белков: строение, физико-химические свойства, классификация.
- 4 Характеристика белков: строение, функции, свойства, структурная организация белковой молекулы.
- 5 Строение нуклеиновых кислот. Модель ДНК Д.Уотсона и Ф.Крика.

## 1.3 Практическая работа

### 1.3.1 Схема строения ДНК

Зарисуйте схему строения ДНК, выделите нуклеотид и обозначьте его составные части.



### 1.3.2 Сравнительная характеристика ДНК и РНК

Сравните нуклеиновые кислоты по следующим признакам и заполните таблицу 1.

Таблица 1

| Признаки                 | ДНК | РНК |
|--------------------------|-----|-----|
| Построение макромолекулы |     |     |
| Мономеры                 |     |     |
| Состав нуклеотида        |     |     |
| Типы нуклеотидов         |     |     |
| Свойства                 |     |     |
| Местонахождение в клетке |     |     |
| Функции                  |     |     |

#### 1.4 Контрольные вопросы для самопроверки

- наук.
- 1 Раскройте роль и место молекулярной биологии в системе естественных наук.
  - 2 Что является предметом изучения молекулярной биологии?
  - 3 Какие задачи молекулярной биологии вам известны?
  - 4 Охарактеризуйте основные этапы становления молекулярной биологии как науки.
  - 5 Какие доказательства генетической роли нуклеиновых кислот вам известны?
  - 6 Что такое геномика?
  - 7 Что такое протеомика?
  - 8 Что изучает энзимология?
  - 9 Почему аминокислоты являются мономерами белков?
  - 10 От чего зависит молекулярная масса белков?
  - 11 Какими факторами определяется форма белковых молекул?
  - 12 Дайте характеристику высших уровней организации белковых молекул?
  - 13 На каких принципах базируется классификация простых белков?
  - 14 Какие группы простых белков вам известны?
  - 15 Каково строение сложных белков?
  - 16 Какие группы сложных белков вам известны?
  - 17 Что такое нуклеопротеиды?
  - 18 В чем заключаются важнейшие биологические функции нуклеотидов?
  - 19 Какие функции в клетке выполняет ДНК?
  - 20 Какие виды РНК в клетке вам известны?

## 2 Методы молекулярной биологии

### 2.1 Цель занятия и задачи

Дать характеристику основным методам выделения и очистки белков и нуклеиновых кислот.

### 2.2 Основные вопросы темы

- 1 Микроскопия.
- 2 Рентгеноструктурный анализ.
- 3 Применение радиоактивных изотопов в молекулярной биологии.
- 4 Ультрацентрифугирование.
- 5 Методы фракционирования белков: хроматография, электрофорез и изоэлектрофокусирование.
- 6 Применение культур клеток и бесклеточных систем в молекулярной биологии.

### 2.3 Практическая работа

#### 2.3.1 Используя полученные знания, заполните таблицу 2.

Таблица 2

| Факторы денатурации                              | Виды денатурации (обратимая, необратимая) | Изменения, произошедшие с белками, степень разрушения структур белка. |
|--|---|---|
| 1 Нагревание до 40 °С                            |   |   |
| 2 Нагревание выше 50 °С                          |   |   |
| 3 Рентгеновское излучение                        |   |   |
| 4 Ультрафиолетовое излучение                     |   |   |
| 5 Концентрированные растворы кислот и щелочей    |   |   |
| 6 Растворы солей легких металлов Na, K, Ca, Mg   |   |   |
| 7 Растворы солей тяжелых металлов Cu, Hg, Pb, Sn |   |   |
| 8 Органические растворители и детергенты         |   |   |

### 2.4 Контрольные вопросы для самопроверки

- 1 Какие методы выделения белков вам известны?
- 2 Дайте характеристику основным этапам выделения белков.
- 3 На каких принципах основано фракционирование белков солевыми растворами?
- 4 В чем сущность электрофореза как метод выделения белков?
- 5 Какие виды хроматографии применимы для разделения белковых смесей?
- 6 Какие реакции осаждения белков вам известны?
- 7 Перечислите основные методы выделения нуклеиновых кислот.

### 3 Репликативный синтез ДНК

#### Цель занятия и задачи

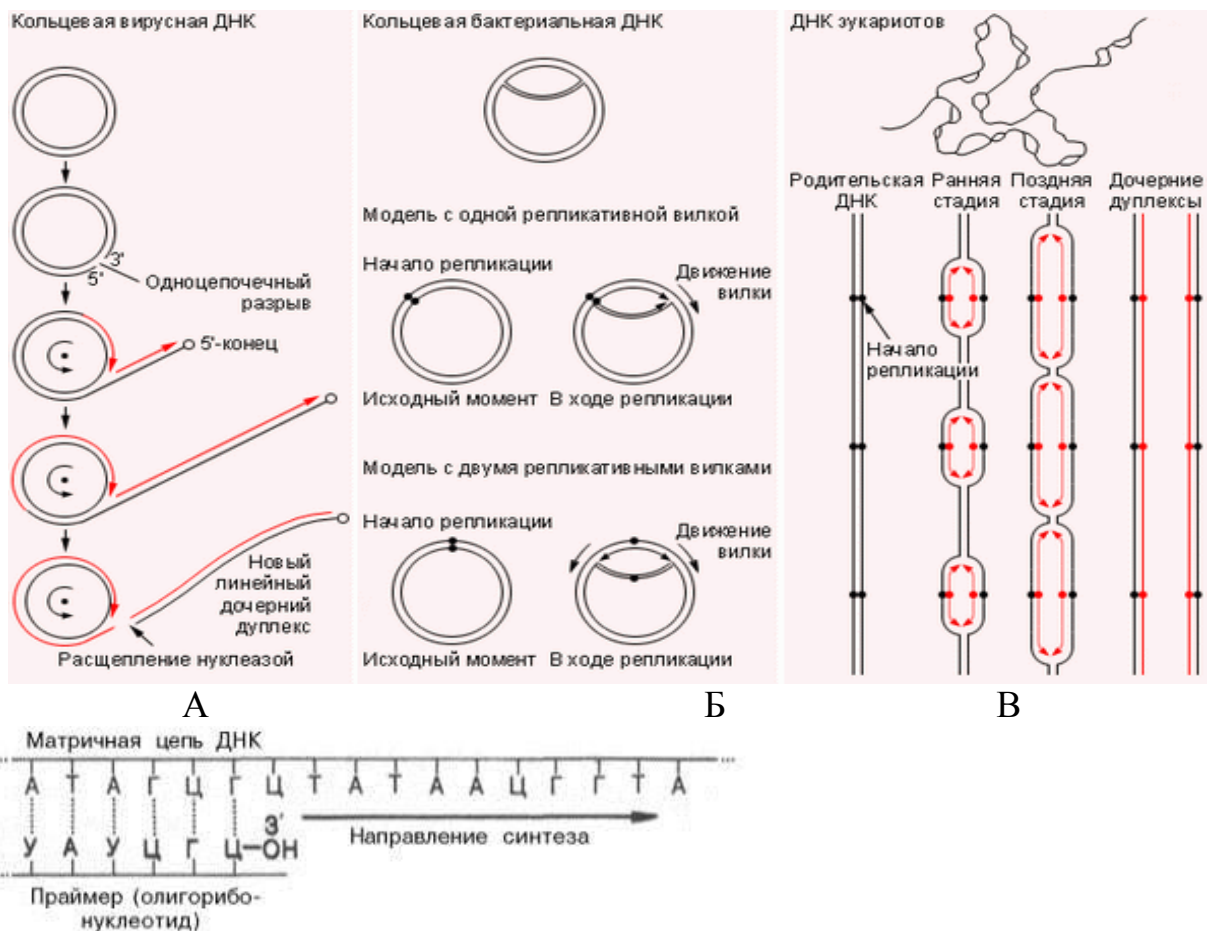
Изучить принципы передачи генетической информации от материнской клетки к дочерней.

#### 3.2 Основные вопросы темы

- 1 Белки и ферменты, участвующие в репликации ДНК.
2. Инициация репликации
- 3 Элонгация репликации. Модель Артура Корнберга.
- 4 Терминация репликации
- 5 Регуляция репликации

#### 3.3 Практическая работа

##### 3.3.1 Зарисуйте схему инициации репликации.



#### Инициация репликации ДНК.

Репликация иницируется в специфическом участке ДНК, называемом origin (ori).

А, Б - в замкнутых кольцевых дуплексах ДНК новосинтезируемые цепи соединяются в местах встречи увеличивающихся в размере репликативных вилок, или где единственная вилка возвращается к точке начала репликации.

В – репликация хромосомной ДНК эукариот. Репликация идет в двух направлениях из разных точек начала репликации (ori), с образованием «пузырьков». Как видно из рисунка по мере движения репликативных вилок пузырьки увеличиваются в размере и в конце концов сливаются.

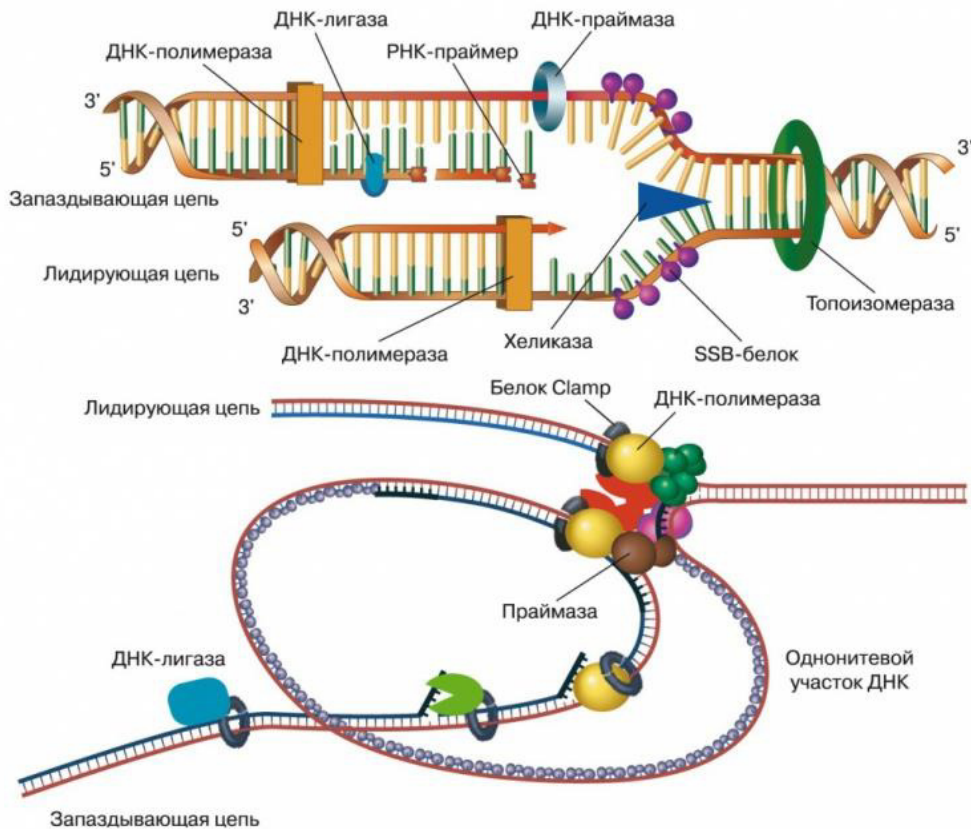
Г – с образованием коротких РНК-затравок (праймеров), комплементарных матричной ДНК.

**3.3.2** Дан фрагмент одной из цепей молекулы ДНК: -A-G-C-T-T-A-G-C-C-:

а) запишите, какую нуклеотидную последовательность имеет 2-я цепь ДНК;

б) укажите 3'- и 5'-концы в цепях ДНК.

**3.3.3** Зарисуйте схему репликативной вилки и обозначьте ферменты, участвующие в ее образовании.



**3.3.4** Решить задачу

**Пример 1:**

Участок правой цепи молекулы ДНК имеет последовательность нуклеотидов:

А-Г-Т-Ц-Т-А-А-Ц-Т-Г-А-Г-Ц-А-Т. Запишите последовательность нуклеотидов левой цепи ДНК.

Дано: ДНК А-Г-Т-Ц-Т-А-А-Ц-Т-Г-А-Г-Ц-А-Т

Решение: ( нуклеотиды левой цепи ДНК подбираем по принципу комплементарности А-Т, Г-Ц)

ДНК А Г Т Ц Т А А Ц Т Г А Г Ц А Т

ДНК Т Ц А Г А Т Т Г А Ц Т Ц Г Т А

Ответ : левая цепь ДНК имеет последовательность нуклеотидов Т-Ц-А-Г-А-Т-Т-Г-А-Ц-Т-Ц-Г-Т-А

**Пример 2:**



Участок цепи молекулы ДНК имеет последовательность нуклеотидов: Ц-Т-А-А-Ц-Ц-А-Т-А-Г-Т-Т-Г-А-Г. Запишите последовательность нуклеотидов иРНК.

**Дано:** ДНК Ц-Т-А-А- Ц-Ц-А-Т-А-Г-Т-Т- Г- А- Г

**Решение:** ( нуклеотиды иРНК подбираем по принципу комплементарности к ДНК : А-У, Г-Ц)

ДНК Ц Т А А Ц Ц А Т А Г Т Т Г А Г  
иРНК Г А У У Г Г У А У Ц А А Ц У Ц

**Ответ :** иРНК имеет последовательность нуклеотидов Г-А-У-У-Г- Г-У-А-У-Ц-А-А-Ц-У-Ц

**Задача:**

Определите последовательность нуклеотидов иРНК, антикодоны молекул тРНК , если фрагмент ДНК имеет последовательность нуклеотидов Г-Ц-Ц-Т-А-Ц-Т-А-А-Г-Т-Ц

### 3.4 Контрольные вопросы для самопроверки

- 1 Что такое репликация ДНК?
- 2 Каковы основные принципы репликации ДНК?
- 3 Какие механизмы репликации ДНК вам известны?
- 4 Какие опыты являются доказательствами полуконсервативного механизма репликации ДНК?
- 5 Дайте характеристику основным этапам репликации ДНК.
- 6 Какие белки способствуют осуществлению процесса репликации?
- 6 Какие ферменты участвуют в протекании репликации?
- 7 Что такое репликационная вилка?
- 8 Что такое ориджины?
- 9 Что такое фрагменты Оказаки?
- 10 Почему одна из цепей репликационной вилки называется лидирующей, а другая – запаздывающей?
- 11 В чем заключаются отличия в процесса репликации у эукариот

## 4 Репарация ДНК

### Цель занятия и задачи

Указать типы и процессы повреждения ДНК, изучить механизмы репарации

### 4.2 Основные вопросы темы

- 1 Типы и механизмы повреждения ДНК.
- 2 Типы репарации.
- 3 SOS-репарация.
- 4 Рекомбинантная (пострепликативная) репарация.

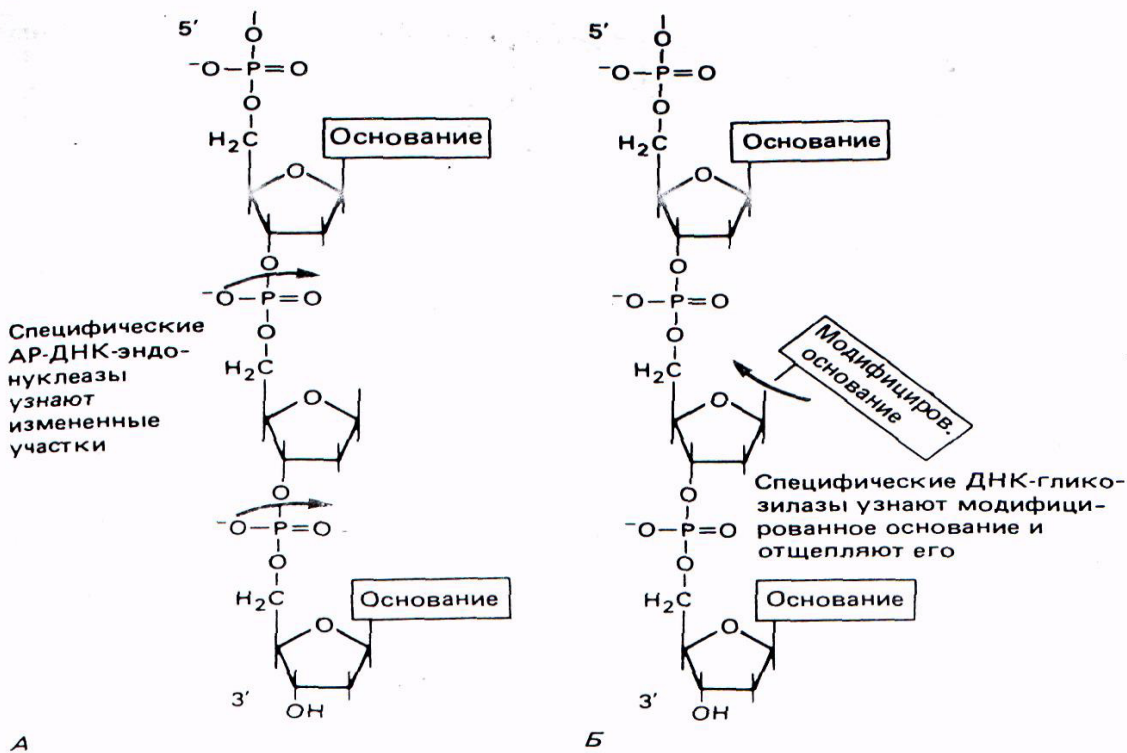
### 4.3 Практическая работа

#### 4.3.1 Заполните таблицу.

Таблица 3- Общие ферменты эксцизионной репарации.

| НАЗВАНИЕ          | ФУНКЦИЯ | МЕХАНИЗМ |
|-------------------|---------|----------|
| ДНК-N-гликозилазы |         |          |
| AP-эндонуклеаза   |         |          |
| эксзонуклеаза     |         |          |

#### 4.3.2 Зарисуйте схему репарации N-алкилированных пуринов.



Репарация N-алкилированных пуринов и других модифицированных оснований.

А. AP-эндонуклеазы узнают сайты, где произошла апуринизация или апириимидинизация, и гидролизуют фосфодиэфирную связь либо с 3'-, либо с 5'-стороны от этого сайта.

Б. N-гликозилазы осуществляют репарацию, гидролизуя гликозидную связь между модифицированным основанием и дезоксирибозой.

#### 4.3.3 Заполните таблицу 4.

Таблица 4 - Гены, задействованные в SOS-репарации повреждений ДНК

| Гены           | Последствия активации гена |
|----------------|----------------------------|
| uvr A, B, C, D |                            |
| rec A          |                            |
| rec N, ruv     |                            |
| SSB            |                            |
| umu C, D       |                            |
| sul A          |                            |
| lex A          |                            |

#### 4.3.4 Решите задачу

##### Пример:

В одной молекуле ДНК нуклеотидов с тимином Т -22% . Определите процентное содержание нуклеотидов с А, Г, Ц по отдельности в этой молекуле ДНК.

Дано: Т -22%

Найти: % А, Г, Ц

Решение 1:

согласно правилу Чаргаффа  $A+G = T+C$ , все нуклеотиды в ДНК составляют 100%.

Так как тимин комплементарен аденину, то  $A=22\%$ .

$$22+22=44\% (A+T)$$

$$100- 44 =56\% (Г+Ц)$$

Так как гуанин комплементарен цитозину, то их количество тоже равно, поэтому

$$56 : 2 =28\% (Г, Ц)$$

Решение 2:

согласно правилу Чаргаффа  $A+G = T+C$ , все нуклеотиды в ДНК составляют 100% или  $A+G$  и  $T+C$  по 50 %

Так как тимин комплементарен аденину, то  $A=22\%$ .

следовательно  $50 - 22=28\%$  (Г, Ц, т.к. они комплементарны)

Ответ :  $A=22\%$ ,  $Г=28\%$ ,  $Ц=28\%$

##### Задача 1:

Сколько содержится нуклеотидов А, Т, Г, во фрагменте молекулы ДНК, если в нем обнаружено 1500 нуклеотидов Ц, что составляет 30% от общего количества нуклеотидов в этом фрагменте ДНК?

##### Задача 2:

Участок молекулы ДНК ( одна цепочка) содержит:

150 нуклеотидов – А, 50 нуклеотидов – Т,

300 нуклеотидов – Ц, 100 нуклеотидов - Г.

Определите : количество нуклеотидов во второй цепи с А, Т, Г, Ц и общее количество нуклеотидов с А, Т, Ц, Г в двух цепях ДНК.

### **Контрольные вопросы для самопроверки**

- 1 Что такое репарация генетический повреждений?
- 2 Какие виды «прямой» репарации вам известны?
- 3 В чем сущность процесса фотореактивации?
- 4 Объясните механизм репарации димеров тимина.
- 5 Каков механизм репарации односторонних разрывов ДНК?
- 6 Как осуществляется репарация АП-сайтов за счет вставки пуринов?
- 7 Что такое инсертазы?
- 8 Что такое эксцизионная репарация?
- 9 Какие виды эксцизионной репарации вам известны?
- 10 Раскройте основной механизм эксцизионной репарации нуклеотидов?
- 11 Что такое мисмэтчи?
- 12 Как осуществляется репарация неспаренных нуклеотидов?
- 13 Что такое пострепликативная репарация?
- 14 Какова роль SOS-репарации?
- 15 Какие наследственные болезни могут быть вызваны дефектами репарационных систем?

## 5 Биосинтез РНК (транскрипция). Регуляция транскрипции у эукариот и прокариот

### 5.1 Цель занятия и задачи

Изучить основные этапы транскрипции, рассмотреть принципы позитивной и негативной регуляции.

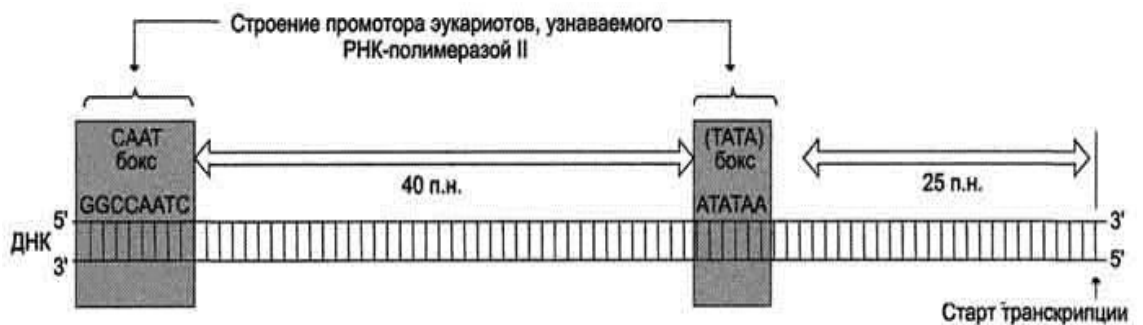
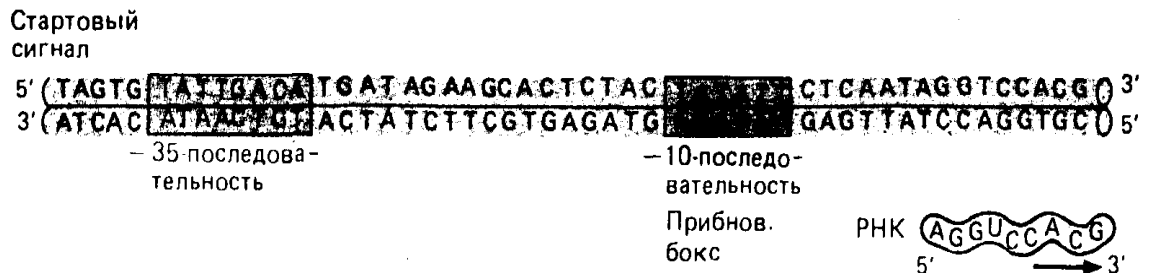
### 5.2 Основные вопросы темы

- 1 Характеристика основных этапов транскрипции у прокариот
- 2 Инициация транскрипции
- 3 Терминация транскрипции
- 4 Отличительные особенности транскрипции у эукариот.
- 5 Механизмы регуляции транскрипции у прокариот.
- 6 Принципы негативной и позитивной регуляции.

### 5.3 Практическая работа

#### 5.3.1 Зарисуйте схему промотора про- и эукариотов.

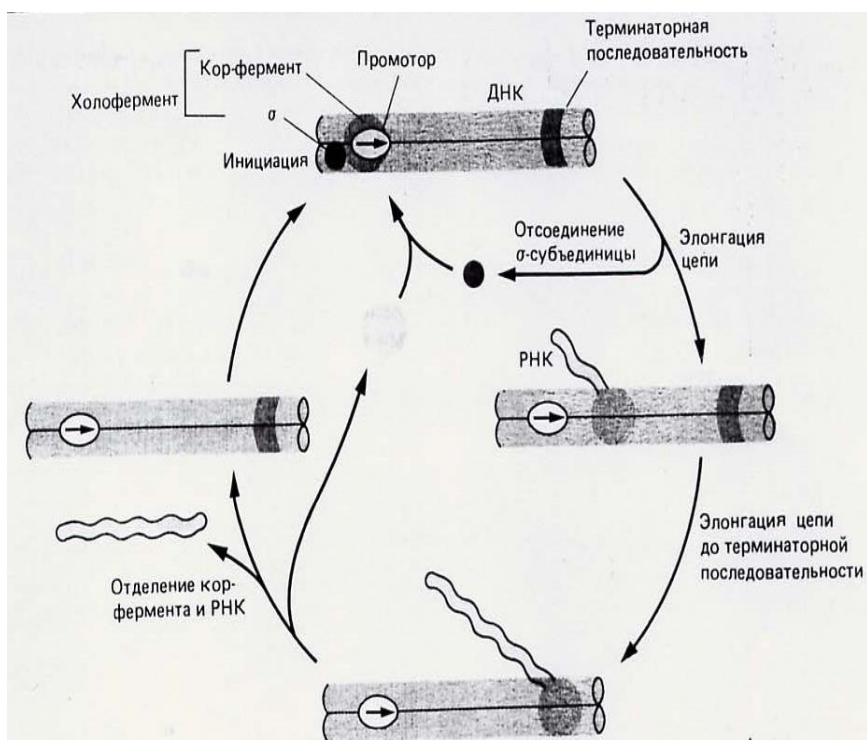
Строение промотора *E. Coli*.



#### 5.3.2 Зарисуйте «Рабочий цикл» $\sigma$ -субъединицы.

«Рабочий цикл»  $\sigma$ -субъединицы. Кор-фермент связывается с  $\sigma$ -субъединицей, образуя холофермент, который прочно связывается с

промотором. После запуска транскрипции  $\sigma$ -субъединица отделяется, а кор-фермент катализирует элонгацию цепи.



**5.3.3** Если нуклеотидный состав ДНК – АТТ-ГЦГ-ТАТ, то каким должен быть нуклеотидный состав и-РНК?

Используя полученные знания, заполните таблицу 5.

Таблица 5 - Субъединицы РНК – полимеразы *E. Coli*

| Субъединицы             | Функции |
|-------------------------|---------|
| Альфа ( $\alpha$ )      |         |
| Бета ( $\beta$ )        |         |
| Бета прим. ( $\beta'$ ) |         |
| Сигма ( $\sigma$ )      |         |
| Омега ( $\omega$ )      |         |

**5.3.4** Решите задачу

**Пример:**

Участок молекулы ДНК состоит из 60 пар нуклеотидов. Определите длину этого участка (расстояние между нуклеотидами в ДНК составляет 0,34 нм)

Дано: 60 пар нуклеотидов

Найти: длину участка

Решение: длина нуклеотида 0,34 нм

$60 \times 0,34 = 20,4$  нм

Ответ: 20,4 нм

Длина участка молекулы ДНК составляет 510нм. Определите число пар нуклеотидов в этом участке.

Дано: длина участка ДНК 510нм

Найти: Определите число пар нуклеотидов

Решение: длина нуклеотида 0,34 нм

$510:0,34= 1500$  нуклеотидов

Ответ: 1500 нуклеотидов

**Задача 1:**

Число нуклеотидов в цепи ДНК равно 100. Определите длину этого участка

**Задача 2:**

Число нуклеотидов в цепи и-РНК равно 100. Определите длину этого участка

**5.4 Контрольные вопросы для самопроверки**

- 1 Что такое транскрипция?
- 2 Какие принципы транскрипции вам известны?
- 3 Что такое оперон?
- 4 Опишите структурную организацию оперона.
- 5 Какова роль РНК-полимераз в биосинтезе белка?
- 6 Какие виды РНК-полимераз характерны для прокариот?
- 7 Раскройте основные моменты строения РНК-полимераз?
- 8 Каков механизм действия у данных ферментов?
- 9 Какие этапы можно выделить в процессе биосинтеза РНК?
- 10 Дайте характеристику основным этапам транскрипции у прокариот.
- 11 Что такое негативная индукция транскрипции? Каков ее механизм?
- 12 Что такое позитивная индукция? Каков ее механизм?
- 13 Что такое негативная репрессия? Каков ее механизм?
- 14 Что такое позитивная репрессия? Каков ее механизм?
- 15 Что такое аттенуация? Каков ее механизм?
- 16 В чем состоят особенности процесса транскрипции у эукариот?

## 6 Процессинг РНК

### 6.1 Цель занятия и задачи

Изучить процесс посттранскрипционной модификации первичных транскриптов (РНК-предшественников).

### 6.2 Основные вопросы темы

- 1 Процессинг у прокариот.
- 2 Процессинг т-РНК и р-РНК у эукариот.
- 3 Процессинг м-РНК у эукариот
- 4 Альтернативный сплайсинг.

### 6.3 Практическая работа

6.3.1 Зарисуйте схему процессинга молекулы тРНК из молекулы-предшественника тРНК<sup>Tyr</sup> *E. coli*, укажите ферменты, участвующие в этом процессе.

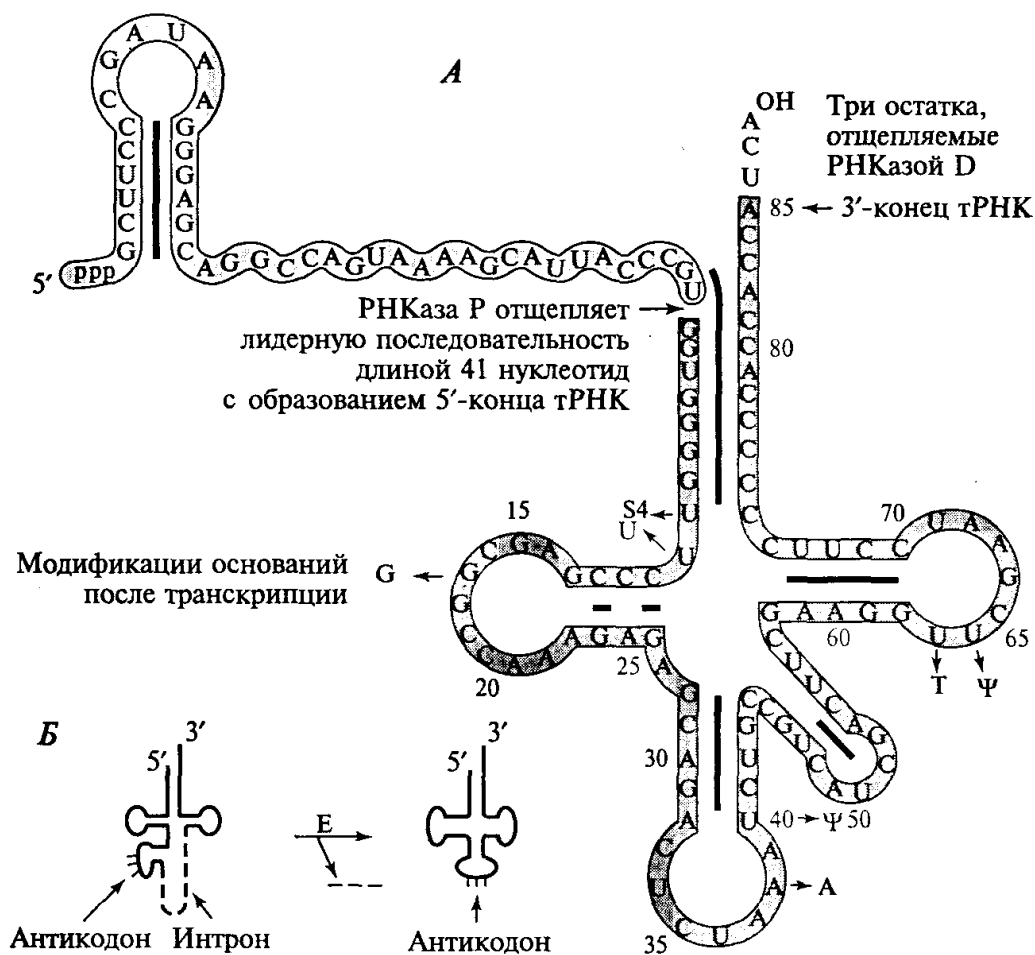
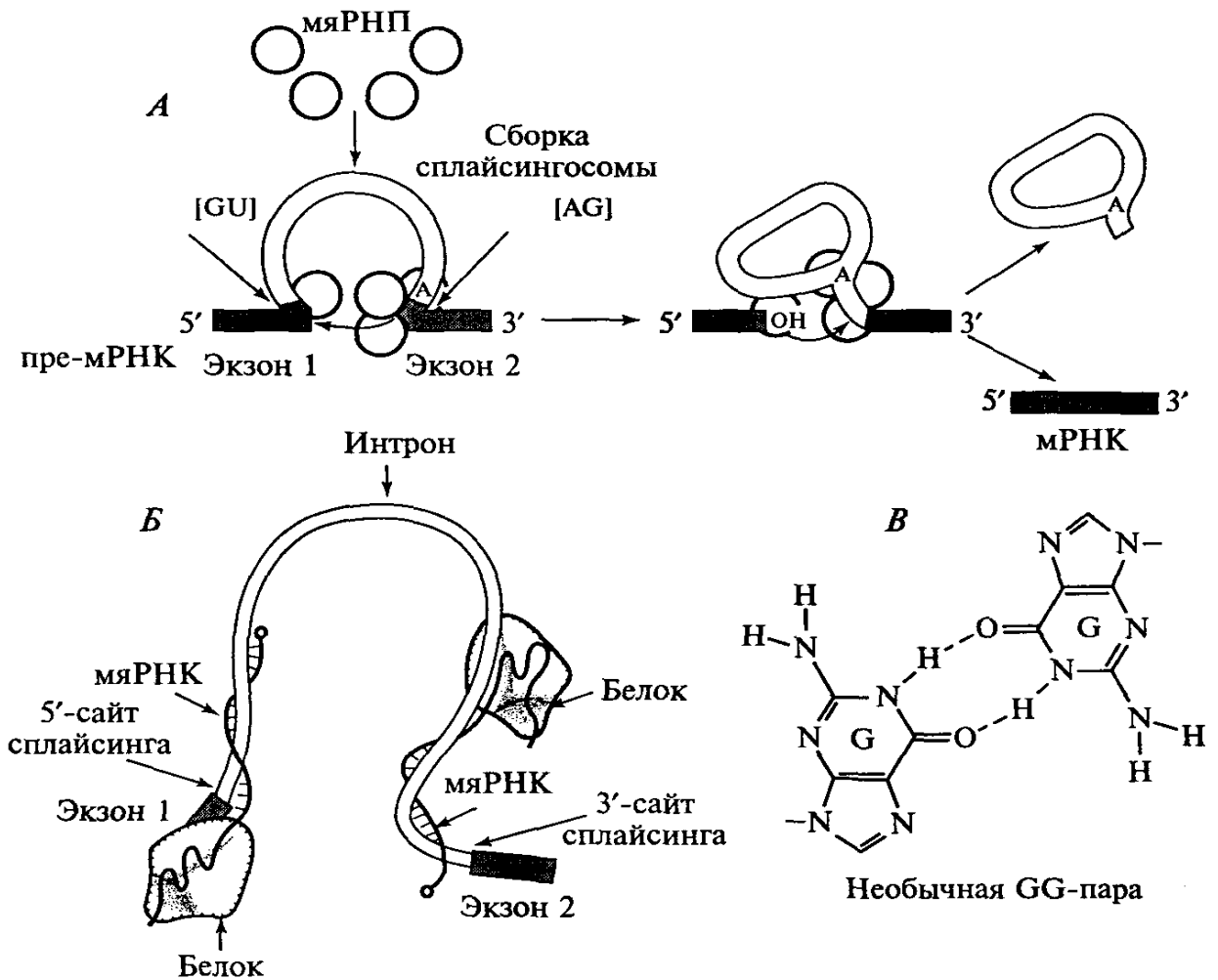


Рис. 1 Процессинг тРНК

*А* — процессинг тРНК из молекулы-предшественника тРНК<sup>Tyr</sup> *E. coli* (М. Сингер, П. Берг, 1998); *Б* — удаление интрона из предшественника тРНК у эукариот; *Е* — полифункциональный фермент, обладающий киназной, лигазной и фосфодиэстеразной активностью



**6.3.1** Зарисуйте схему сплайсинга предшественников м-РНК с участием мя-РНП.



**Сплайсинг предшественника мРНК с участием мяРНП:**

*А* — этапы сплайсинга с участием сплайсингосом (пояснения в тексте). Кругами обозначены отдельные мяРНП; GU и AG — консенсусные пары нуклеотидов интрона, расположенные в 5'- и 3'-сайте сплайсинга соответственно; *Б* — схема комплементарного взаимодействия мяРНК, входящих в состав мяРНП, с пограничными участками интрона; *В* — необычные G-G-взаимодействия, способствующие сближению 5'- и 3'-концов интрона

**6.3.2** Решите задачу

**Пример:**

Фрагмент цепи ДНК имеет последовательность нуклеотидов: ТГГАГТГАГТТА. Определите последовательность нуклеотидов на иРНК, антикодоны тРНК и аминокислотную последовательность фрагмента молекулы белка.

Дано: ДНК Т-Г-Г-А-Г-Т-Г-А-Г-Т-Т-А

Найти: иРНК, тРНК и аминокислотную последовательность белка

Решение: на участке ДНК по принципу комплементарности (А-У, Г-Ц) построим иРНК, затем по цепи иРНК построим тРНК по принципу комплементарности (А-У, Г-Ц)

ДНК Т- Г- Г- А- Г- Т- Г- А- Г- Т- Т- А  
иРНК А-Ц-Ц-У- Ц- А- Ц- У- Ц- А- А- У  
тРНК У- Г- Г- А -Г- У- Г -А- Г- У- У-А

иРНК разделим на триплеты и по таблице генетического кода определим аминокислотную последовательность белка:

А-Ц-Ц тре, У-Ц-А сер, Ц-У-Ц лей, А- А-У асн.

Ответ : иРНК А-Ц- Ц-У- Ц- А-Ц-У-Ц-А- А-У

тРНК У- Г -Г- А- Г-У- Г-А-Г- У- У-А

аминокислотную последовательность белка :тре, сер, лей, асн

### **Задача 1:**

Участок молекулы ДНК имеет следующее строение:

ГГА -АЦЦ-АТА-ГТЦ-ЦАА

Определите последовательность нуклеотидов соответствующего участка иРНК. Определите последовательность аминокислот в полипептиде, синтезируемом по иРНК. Как изменится последовательность аминокислот в полипептиде, если в результате мутации пятый нуклеотид в ДНК будет заменён на аденин? Ответ объясните.

### **Задача 2:**

Известно, что все виды РНК синтезируются на ДНК- матрице. Фрагмент молекулы ДНК, на котором синтезируется участок центральной петли тРНК, имеет следующую последовательность нуклеотидов АТАГЦТГААЦГГАЦТ. Установите нуклеотидную последовательность участка тРНК, который синтезируется на данном фрагменте, и аминокислоту, которую будет переносить эта тРНК в процессе биосинтеза белка, если третий триплет соответствует антикодону тРНК.

## **6.4 Контрольные вопросы для самопроверки**

- 1 Что такое процессинг клеточных РНК?
- 2 Какие этапы процессинга вам известны?
- 3 Что такое кепирование?
- 4 Какова биологическая роль кепа?
- 5 Что такое полиаденилирование?
- 6 Каков биологический смысл процесса полиаденилирования?
- 7 Что такое интроны?
- 8 Что такое экзоны?
- 9 Что такие сплайсинг?
- 10 Какие виды сплайсинга вам известны?

## 7 Биосинтез белка (трансляция). Регуляция трансляции у прокариот и эукариот

### 7.1 Цель занятия и задачи

Изучить этапы биосинтеза белка, особенности регуляции трансляции и эукариот и прокариот. Рассмотреть строение рибосом.

### 7.2 Основные вопросы темы

- 1 Факторы трансляции
- 2 Этапы трансляции.
- 3 Морфологическая и функциональная структура рибосом.
- 4 Регуляция трансляции.
- 5 Особенности трансляции у прокариот и эукариот

### 7.3 Практическая работа

7.3.1 Зарисуйте строение рибосом. Укажите их типичный состав у прокариот и эукариот.

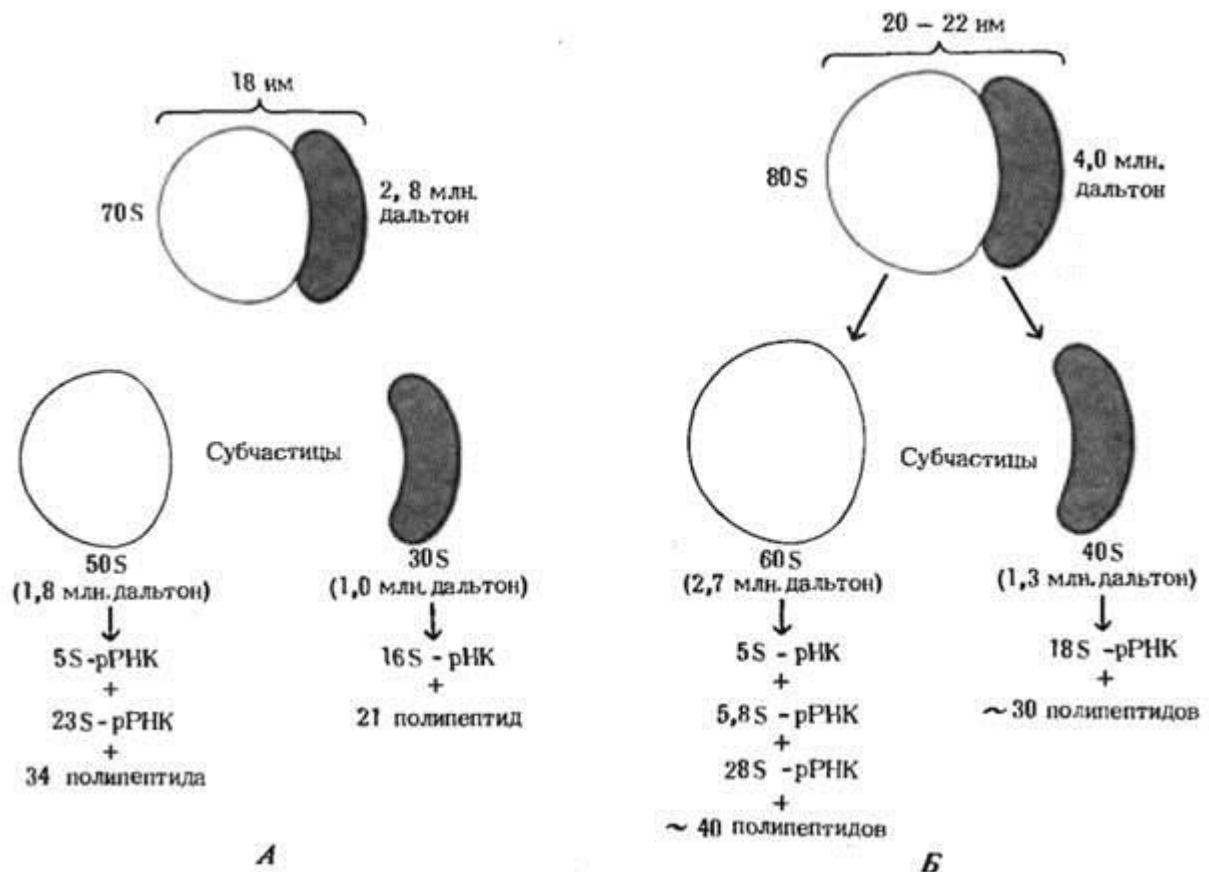


Рис. 1. Состав типичных рибосом про- и эукариот.

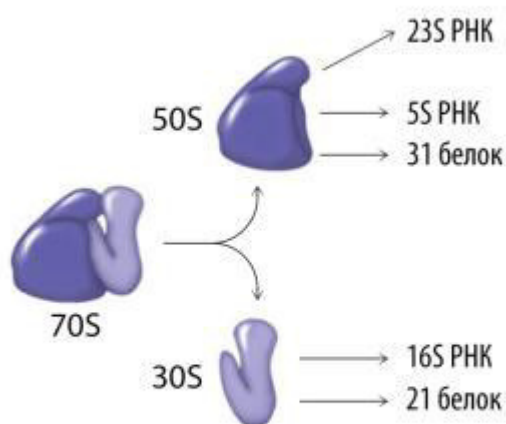


Рис. 2. Реконструированные изображения 30S, 50S и 70S рибосом *E. Coli*, полученные с помощью данных электронной дифракции. Субчастицы представлены в двух взаимно перпендикулярных проекциях.

### 7.3.2 Зарисуйте схему инициации трансляции

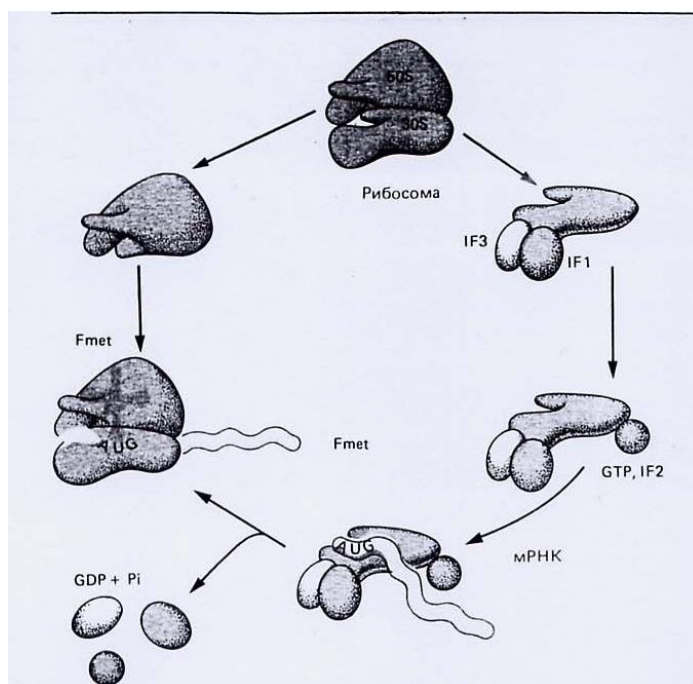


Рис. 3. События, предшествующие инициации трансляции. При связывании IF-1 IF-3 с 30S-субчастицей происходит диссоциация 70S-рибосомы. Затем образуется преиницирующий комплекс, состоящий из 30S-субчастицы, N-формилметинил-тРНК<sup>fMet</sup> и мРНК. Последующая ассоциация этого комплекса с 50S-субчастицей сопровождается отделением IF-1, IF-2 и IF-3 и гидролизом одной молекулы GTP до GDP.

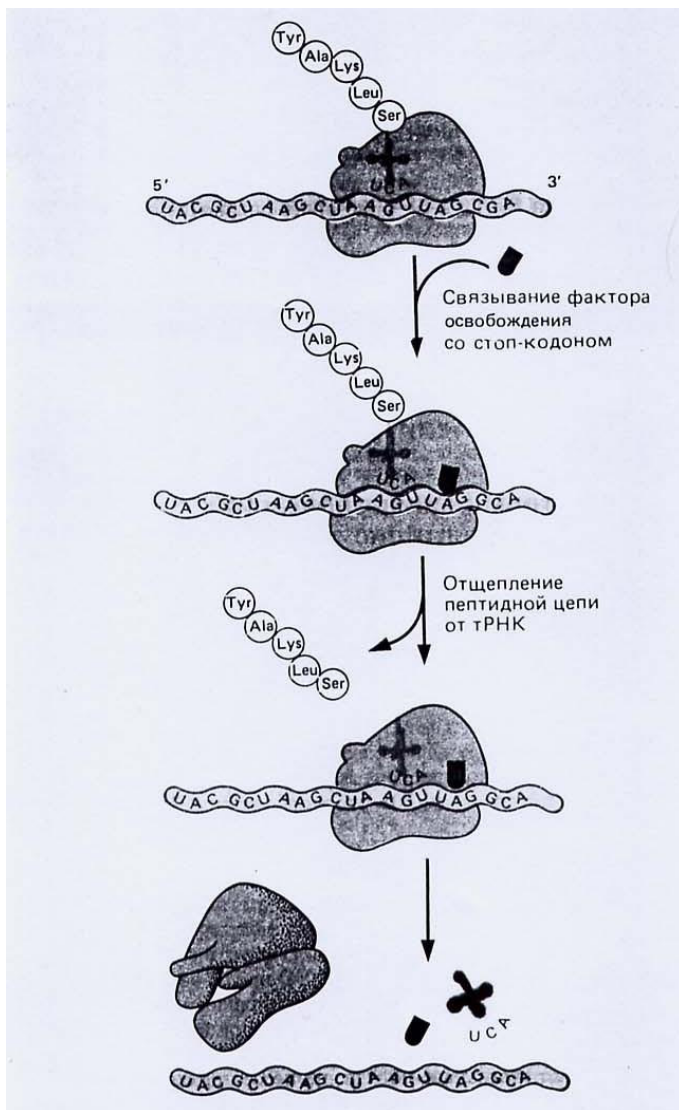


Рис. 4. Образование первой пептидной связи. Преиницирующий комплекс 70S-рибосомы с мРНК и N-формилметионил-тРНК<sup>fMet</sup>, находящийся в Р-участке, связывает тройной комплекс аланил-тРНК<sup>Ala</sup>-EF-Tu-GTP. Аланил-тРНК<sup>Ala</sup> перемещается к А-участку и связывается со вторым кодоном, GCU, с помощью антикодона 5'-AGC-3'. GTP гидролизуется, и комплекс EF-Tu-GDP отделяется. В результате пептидилтрансферазной реакции дипептидил-тРНК занимает А-участок.

### 7.3.3 Зарисуйте схему элонгации полипептидной цепи.

При ассоциации двух рибосомных субчастиц перед инициацией трансляции образуются два функциональных участка, необходимых для сборки белка: Р- и А-участки. Формилметионил-тРНК<sup>fMet</sup> занимает Р-участок, а для образования первой пептидной связи необходимо, чтобы аминоксил-тРНК, соответствующая следующему кодону, заняла А-участок. Для этого аминоксил-тРНК должна сначала связать EF-Tu и GTP. Образовавшийся тройной комплекс (аминоксил-тРНК-EF-Tu-GTP) и доставляет аминоксил-тРНК к А-участку.

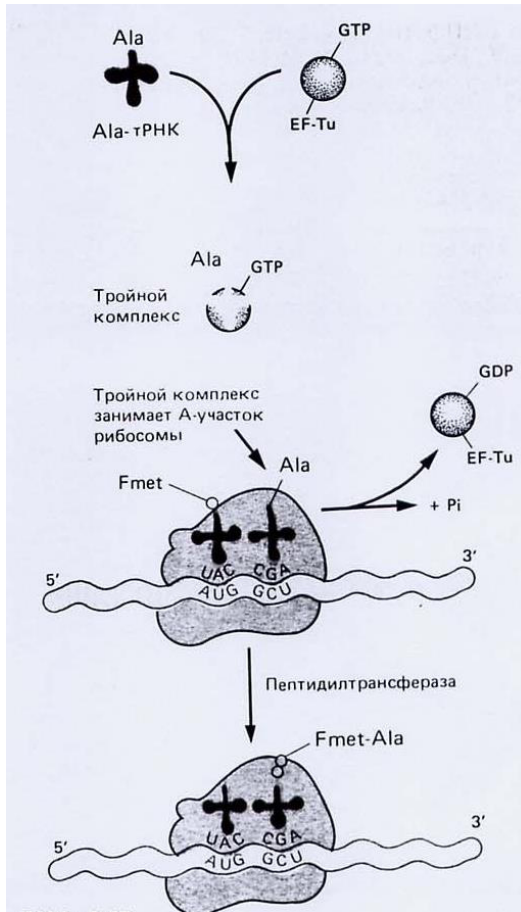


Рис. 5. Элонгация полипептидной цепи. Фактор EF-C осуществляет СТР-зависимое перемещение 70S-рибосомы вдоль мРНК. Далее СТР гидролизуется, тРНК удаляется из Р-участка и пептидил-тРНК перемещается из А-участка на освободившийся Р-участок. Теперь А-участок и следующий кодом готовы принять «свою» аминоксил-тРНК.

### 7.3.4 Зарисуйте схему терминции трансляции

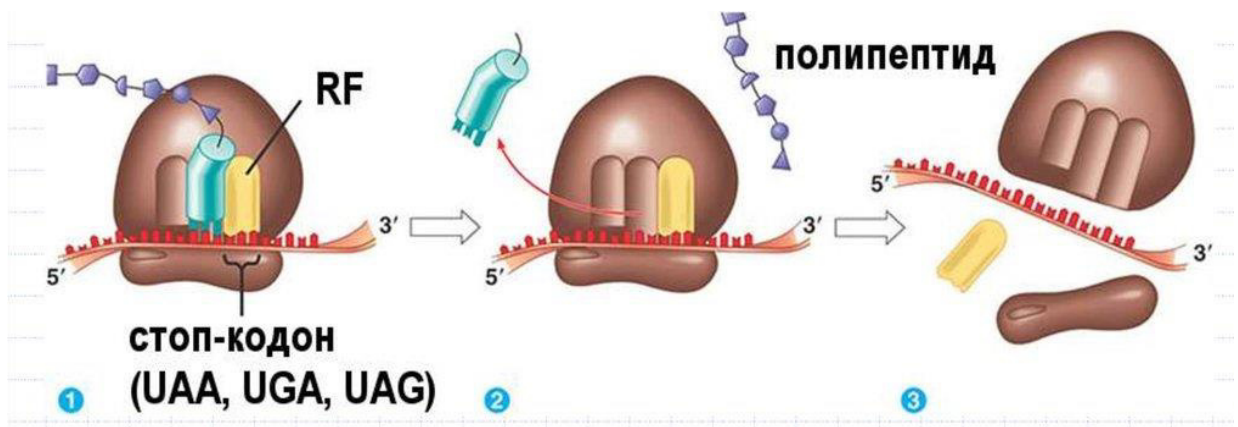


Рис. 6. Терминация трансляции.

Когда в А-участке оказывается один из стоп-кодонов, факторы освобождения инициируют серию реакций, приводящую к отделению синтезированной полипептидной цепи, тРНК и мРНК от 70S-рибосомы.

### 7.3.5 Решите задачу

**Пример:**

Фрагмент молекулы ДНК содержит 1230 нуклеотидных остатков. Сколько аминокислот будет входить в состав белка?

Дано: 1230 нуклеотидов

Найти: количество аминокислот

Решение:

Одной аминокислоте соответствует 3 нуклеотида, поэтому  $1230:3=410$  аминокислот.

Ответ: 410 аминокислот.

### **Задача 1:**

Определите число аминокислот, входящих в состав белка, число триплетов и число нуклеотидов в гене, который кодирует этот белок, если в процессе трансляции участвовало 30 молекул тРНК.

### **Задача 2:**

Молекулярная масса полипептида составляет 40000. Определите длину кодирующего его гена, если молекулярная масса одной аминокислоты в среднем равна 100, а расстояние между соседними нуклеотидами в цепи ДНК составляет 0,34 нм.

### Задачи к теме «Трансляция»:

Пользуясь таблицей биологического кода:

1) установите строение пептида, синтезированого на фрагменте матрицы следующего строения:



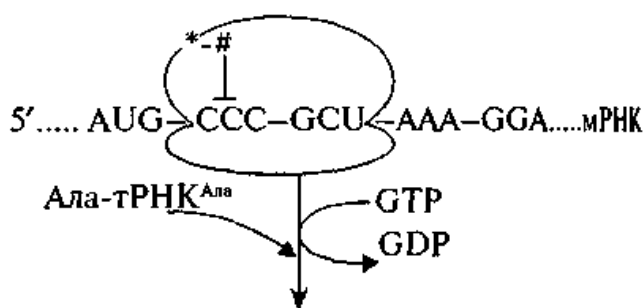
2) назовите нуклеиновую кислоту, которая является матрицей, и укажите, в каком направлении будут идти ее прочтение и синтез пептида;

3) перечислите компоненты, необходимые до синтеза белка;

4) напишите реакцию образования aa-тРНК для аминокислоты, закодированной триплетом CAC. Назовите фермент;

5) укажите последовательность и направление нуклеотидов антикодона адапторной молекулы.

6) Ниже изображены события на рибосоме на стадии...

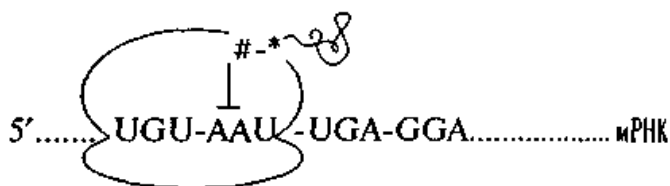


а) продолжите события, изобразив включение Ала-тРНК<sup>Ала</sup> в рибосому;

б) допишите в местах, обозначенных значками \* и #, соответствующие аминокислоты;

в) назовите центр на рибосоме, в который включается Ала-тРНК<sup>Ала</sup>, и фактор, необходимый для осуществления этой стадии

7) Ниже показано включение очередной аминокислоты в молекулу препроинсулина:



а) продолжите синтез пептида, изобразив соответствующую схему. Замените значки \* и # на соответствующие аминокислоты;

б) назовите последующие стадии процесса и участвующие в них факторы.

### 7.4 Контрольные вопросы для самопроверки

#### Общая схема биосинтеза белка

1 Что такое трансляция?

2 Из каких компонентов состоит белок-синтезирующая система клетки?



3 Дайте характеристику основным составляющим белок-синтезирующей системы.

4 Какова функция аминоацил-т-РНК-синтетаз?

5 Раскройте особенности строения аминоацил-т-РНК-синтетаз.

6 В чем заключается механизм действия аминоацил-т-РНК-синтетаз?

7 Раскройте особенности организации вторичной структуры т-РНК.

8 Раскройте особенности организации третичной структуры т-РНК.

9 Какие функции в клетке выполняют и-РНК?

10 Каково строение и особенности организации и-РНК?

11 Какие функции в клетке выполняют р-РНК?

12 Какие особенности характерны для вторичной структуры р-РНК?

13 Какие функции выполняют рибосомные белки?

14 Какие стадии составляют процесс трансляции?

### **Морфологическая и функциональная структура рибосом**

1 Что такое рибосомы?

2 Какие функции рибосомы выполняют в клетке?

3 Как рибосомы локализованы в клетке?

4 В чем заключаются особенности морфологической организации рибосом?

5 Почему рибосомы являются нуклеопротеидами?

6 Что такое коэффициент седиментации?

7 Какова детальная форма субъединиц рибосом?

8 Что такое диссоциация рибосомы? Когда она происходит?

9 Что такое ассоциация рибосомы? Когда происходит данный процесс?

10 Какие свойства рибосомы позволяют ей выполнять свои нативные функции?

11 Что такое рабочий цикл рибосомы?

12 Какие функционально-активные участки можно выделить на субъединицах рибосом?

13 Что такое рекогниция?

14 Что такое инициация белкового синтеза?

15 Как происходит инициация белкового синтеза у прокариот?

16 Как происходит инициация белкового синтеза у эукариот?

17 Какие факторы инициации вам известны?

18 Что такое элонгация белкового синтеза?

19 Что такое кодон-антикодонное взаимодействие?

20 В чем сущность адапторной гипотезы? Каковы ее доказательства?

21 В чем заключается гипотеза нестрогого соответствия?

22 Какова роль гидролиза ГТФ в ходе элонгации?

23 Напишите уравнение гидролиза ГТФ?

24 Что такое транспептидация?

25 Каков химизм процесса транспептидации?

26 Что такое транслокация?

- 27 Каков химизм процесса транслокации?
- 28 Какова скорость элонгации белкового синтеза?
- 29 Как можно регулировать скорость элонгации?
- 30 Какие факторы элонгации вам известны?
- 31 Что такое терминация белкового синтеза?
- 32 Что такое терминирующий кодон?
- 33 Какие терминационные факторы вам известны?

**Регуляция трансляции у прокариот и эукариот.**

- 1 Каким образом в клетке происходит регуляция биосинтеза белка?
- 2 В чем заключаются основные особенности регуляции биосинтеза белка у эукариот?
- 3 В чем заключаются основные особенности регуляции биосинтеза белка у прокариот?
- 4 Что такое инферосома?
- 5 Как осуществляется транспорт новосинтезированных полипептидных цепей в клетке?
- 6 Какие посттрансляционные изменения белков вам известны?

## **Литература, рекомендуемая для изучения дисциплины**

**1 Кони́чев, А.С.** Молекулярная биология/ А.С. Кони́чев, Г.А. Севастьянова. - М.: Академия, 2003. – 397 с.

**2 Степа́нов, В.М.** Молекулярная биология. Структура и функция белков/ В.М. Степа́нов. - М.: Высшая школа, 1996. – 335 с.

**3** Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот/ В.И. Агол [и др]; под ред. А.С. Спирина. - М.: Высшая школа, 1990.- 250 с.

**4 Уилсон, Дж.** Молекулярная биология клетки/ Дж. Уилсон, Т.Хант. - М.: Мир, 1994. – 520 с.

**5 Кларк, Д.** Молекулярная биология/ Д. Кларк, Л. Рассел. - М.: ЗАО «Компания КОНД», 2004. -472 с.