

Молекулярная биология – это комплексная наука, изучающая свойства и проявления жизни на молекулярном уровне

Термин молекулярная биология был введен Уильямом Астбери в 1938 году, а использован Френсисом Криком в 1953 году для объяснения, чем он занимается. Ему надоело в ответ на вопрос о его профессии объявлять себя смесью кристаллографа, биохимика, биофизика и генетика

Молекулярная биология гена – это наука, занимающаяся исследованием структурно-функциональной организации генетического аппарата клеток и механизмов реализации наследственной информации

Что такое «реализация генетической информации»?

Это перенос смысла, записанного в последовательности нуклеотидов в ДНК, в последовательность аминокислот в белке.

Реализация наследственной информации осуществляется посредством транскрипции и трансляции

Схема
переноса наследственной информации от ДНК на белок
составляет суть

«Центральной догмы молекулярной биологии»

Информация передаётся от нуклеиновых кислот к белку, но не в обратном направлении!

Центральная догма молекулярной биологии

ЯДРО
О

ДНК

репликация

РНК

трансляция

белок

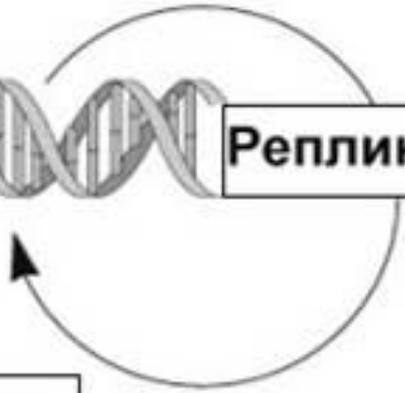
ЦИТОПЛАЗМА

«Центральная догма» в ее общепринятой форме описывает матричные процессы: репликацию, транскрипцию и трансляцию

ДНК



Репликация



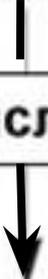
Транскрипция



РНК



Трансляция



Белок





Современная интерпретация Центральной догмы молекулярной биологии

Открытия, интерпретируемые как исключения из Центральной догмы молекулярной биологии

- Обратная транскрипция
- Действие рибозимов
- Редактирование РНК
- Сплайсинг
- Эпигенетические явления (Геномный импринтинг)
- РНК-интерференция
- Прионизация

История молекулярной биологии гена

***«Без знания истории нет "понятного"
будущего»***

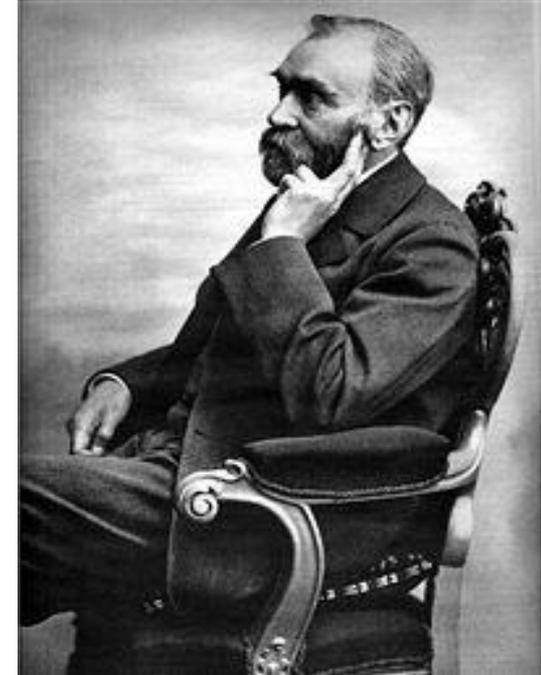
УСПЕХИ ГЕНЕТИКИ

Год	Открытие	Авторы
1865	Законы Г. Менделя.	Г. Мендель
1900	Рождение генетики как науки.	К. Корренс, Г. Де Фриз Э. Чермак
1910-1925	Разработка хромосомной теории наследственности. <i>Нобелевская премия (1933 г.).</i>	Т. Морган
1920-1930	Н. К. Кольцов создал Институт экспериментальной биологии , из стен которого вышли известные генетики: Б. Л. Астауров, Е. И. Гершензон, Н. П. Дубинин, П. Ф. Рокицкий, А. С. Серебровский, Н. В. Тимофеев-Ресовский, В. П. Эфроимсон и др.	Н.К.Кольцов
1920-1930	Открытие индуцированного мутагенеза. <i>Нобелевская премия (1946 г.).</i>	Г. Меллер
1941	Создание концепции « один ген – один фермент ». <i>Нобелевская премия (1958) (совместно с Дж. Ледербергом).</i>	Дж. Бидл, Э. Татум
1943	В начале 40–х гг. развитие генетики бактерий и бактериофагов. Обнаружены мутации у бактериофагов. <i>Нобелевская премия (1969).</i>	С. Луриа, М. Дельбрюк А. Херши
1946	За открытия, касающиеся <u>генетической рекомбинации</u> и организации генетического материала у бактерий. <i>Нобелевская премия (1958) (Совместно с Э. Татум, Дж.Бидл).</i>	Дж. Ледерберг
1961	Достижения в области генетики микроорганизмов <i>Нобелевская премия (1965).</i>	Ф.Жакоб, Ж.Моно, А. Львов

СПРАВКА:

Нобелевские премии учреждены в соответствии с завещанием Альфреда Нобеля, составленное им 27 ноября 1895 года, которое гласило:

”Всё моё движимое и недвижимое имущество должно быть обращено моими душеприказчиками в ликвидные ценности, а собранный таким образом капитал помещён в надёжный банк. Доходы от вложений должны принадлежать фонду, **который, начиная с 1900 г., будет ежегодно распределять их в виде премий тем, кто в течение предыдущего года принёс наибольшую пользу человечеству...**”



**Альфред
Нобель**

шведский химик,
инженер,
изобретатель
динамита

Размер премии -1,4 млн \$ США



Нобелевские премии вручаются представителям только пяти направлений:

- Физика
- **Химия**
- **Физиология и медицина**
- Литература
- Содействие

установлению мира во всем мире

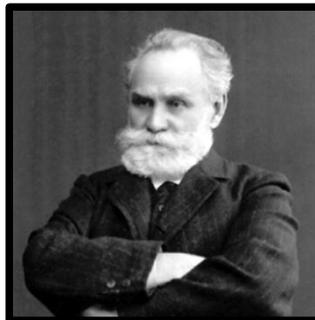
Нобелевские премии были вручены более 830 лауреатам, из них 17 – граждане царской России, СССР или Российской Федерации.

1904 г.

Физиология и медицина.

Иван Петрович Павлов

«за работу по физиологии пищеварения»

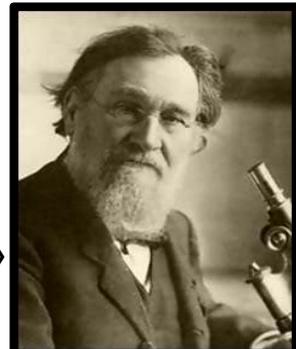


1908 г.

Физиология и медицина

Илья Ильич Мечников

«за труды по иммунитету»



УСПЕХИ МИКРОБИОЛОГИИ

Год	Открытие	Авторы
1860-1861	Открытие брожения и участия в этом процессе микроорганизмов.	Л. Пастер
1897	Открытие бесклеточного брожения. <i>Нобелевская премия (1907).</i>	Э. Бюхнер
1892	Открытие вирусов.	Д.И. Ивановский
1902	За работу по малярии, в которой он показал, как возбудитель попадает в организм. <i>Нобелевская премия (1902).</i>	Р. Росс
1908	Совместно с немецким микробиологом П. Эрлихом, создал фагоцитарную теорию иммунитета. <i>Нобелевская премия (1908).</i>	И.И. Мечников П.Эрлих
1915-1917	Открытие бактериофагов.	Д. Туотер Ф.Д.'Эрелль
1895-1905	За исследования и открытия, касающиеся лечения <u>туберкулёза</u> . <i>Нобелевская премия (1905).</i>	Р. Кох
1928	Открытие трансформации у бактерий.	Ф. Гриффитс
1945	За открытие, пенициллина и его целебного воздействия при различных инфекционных болезнях. <i>Нобелевская премия (1945).</i>	А. Флеминг Э. Чейн Х. Флори

УСПЕХИ БИОХИМИИ

Год	Открытие	Авторы
1902	За эксперименты по синтезу веществ с <u>сахарными</u> и <u>пуриновыми</u> группами. <i>Нобелевская премия (1902 г.)</i> .	Э. Фишер
1929	За исследование ферментации сахара, а также ферментов брожения. <i>Нобелевская премия (1929 г.)</i> .	Х. Фон Эйлер-Хельпин, А. Гаден
1926 1930 1932	Установлено, что ферменты являются белками. Получены белки (фермент уреазы) в кристаллическом виде. Получен пепсин в кристаллическом виде. Получен вирус табачной мозаики и вирус полимиелита в кристаллическом виде. <i>Нобелевская премия (1946 г.)</i> .	Дж. Б. Самнер Дж. Нортроп У.М. Стенли
<p><i>К 40-м годам были охарактеризованы все 20 аминокислот. Показано, что белки представляют собой полипептидную цепь, состоящую из аминокислот. Расшифрована структура многих белков.</i></p>		
1943	Использование радиоизотопов в качестве индикаторов биохимических процессов. <i>Нобелевская премия (1943 г.)</i> . За открытие явления кристаллизации белков и получение в чистом виде ферментов и вирусных белков.	Д. Хевиши, У. М. Стэнли
1949	Определена аминокислотная последовательность инсулина, было показано, что белки — это линейные полимеры аминокислот. <i>Нобелевская премия (1958 г.)</i> .	Ф. Сенгер

УСПЕХИ ХИМИИ ДНК

Год	Открытие	Авторы
1869	Открыта нуклеиновая кислота. Показано, что нуклеиновая кислота находится в ядре и обладает кислотными свойствами.	Ф. Мишер
1879-1891	Выделены составные элементы нуклеиновой кислоты: пурины и пиримидины, фосфорная кислота, углеводный остаток. Было обнаружено четыре азотистых основания. <i>Нобелевская премия (1910 г.).</i>	А. Коссель
1924	Обнаружен краситель (фуксин), избирательно окрашивающий нуклеиновую кислоту.	Р. Фельген
1934	Получены химически чистые препараты ДНК тимуса телят. Было показано, что ДНК — это полимер. Используя специфику поглощения ДНК УФ-светом, была показана связь ДНК с хромосомами.	Э. Хаммерштайн, Т. Касперсон
1938	Получена первая рентгенограмма ДНК. Показано, что азотистые основания расположены в определенном порядке – одно за другим.	У. Астбери
1948	Расшифрована структура нуклеотидов. <i>Нобелевская премия (1957 г.)</i>	А. Тодд

РАЗВИТИЕ МЕТОДИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ ИЗУЧЕНИЯ ДНК

Год	Открытие	Авторы
1907	Изобретение оптических приборов и разработка методов спектроскопии. <i>Нобелевская премия (1907)</i>	А. Майкельсон
1912 1913	Разработка метода дифракции рентгеновских лучей. <i>Нобелевская премия.</i> Применение метода для выяснения структуры вещества. <i>Нобелевская премия.</i>	М. фон Лауэ У. Брегг, Г. Вульф
1922 1938	Разработан метод высокоскоростного центрифугирования (более 10 000 об/мин). <i>Нобелевская премия (1938 г.).</i> Этот метод впервые использован для разделения ядер и цитоплазмы.	Т. Сведберг Т. Беренс
1931-1 939	Создан электронный микроскоп. <i>Нобелевская премия (1986 г.).</i>	Э. Руска
1906- 1942	Изобретена хроматография. Изобретена разделительная хроматография. Метод введен в биохимические исследования. <i>Нобелевская премия (1952 г.).</i>	М.С. Цвет А. Мартин, Р. Синж
1933	Разработан метод электрофореза, который применен для разделения белков. <i>Нобелевская премия (1938 г.)</i>	А. Тизелиус
1943	Разработан метод радиоизотопного анализа биомолекул. <i>Нобелевская премия (1943 г.).</i>	Д. Хевеши

**Вот эти люди находились у истоков рождения
молекулярной биологии гена:**

***Николай Константинович Кольцов,
Эрвин Шредингер,
Лайнус Полинг,
Николай Владимирович Тимофеев-Ресовский,
Макс Дельбрюк,
Сальвадор Луриа.***



КОЛЬЦОВ
Николай
Константинович
(1872 – 1940)

*Разработал гипотезу «**молекулярного строения и матричного принципа удвоения хромосом**».*

Положил начало молекулярной биологии в СССР. Основатель Института экспериментальной биологии (ИЭБ) в Москве (1917-1939 гг.).

Н.К. Кольцову принадлежит крылатая фраза:

«Иончики должны понимать генщиков и наоборот»

В Институте экспериментальной биологии создал отделения - физико-химической биологии, зоопсихологическое, евгеническое, цитологическое, генетическое, гидробиологическое, экспериментальной хирургии, культуры тканей, механики развития.

Идея матричного принципа

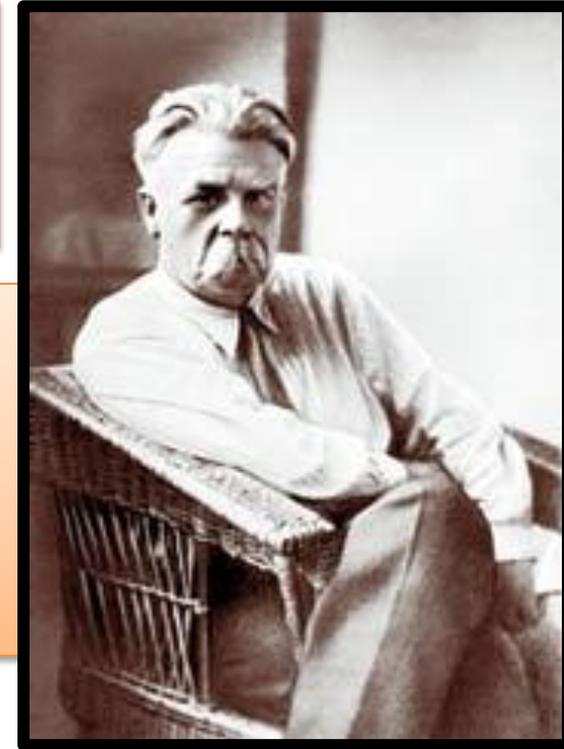
Кольцову принадлежит главная идея XX века в молекулярной биологии – идея матричного происхождения хромосом.

В 1927 г. Кольцов предположил, что наследственные «тексты» копируются с использованием матриц.

Матричное воспроизведение «текста» - еще одно озарение Кольцова.

”...признаки, передаваемые по наследству, определяются линейным расположением мономеров в полимерных молекулах.”

(Кольцов думал, что это последовательность аминокислот в полипептидах). **По его мнению способность молекул каких-то белков к конвариантной редупликации лежит в основе наследственности.**



Николай Константинович
Кольцов
(1872-1940 г.)

В 1917 г. организовал в Москве и возглавил Институт экспериментальной биологии.

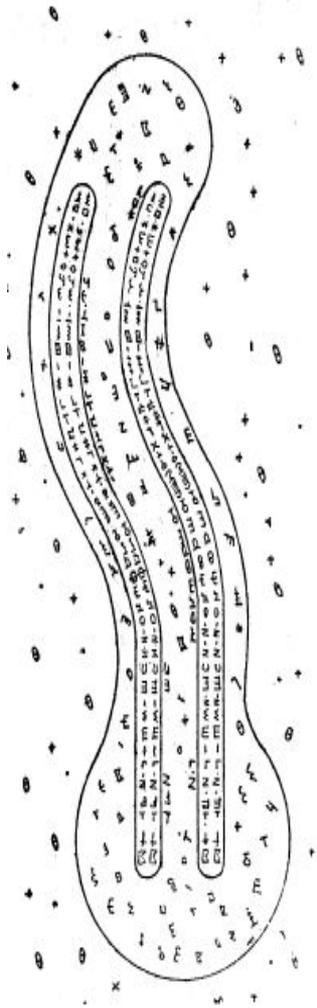
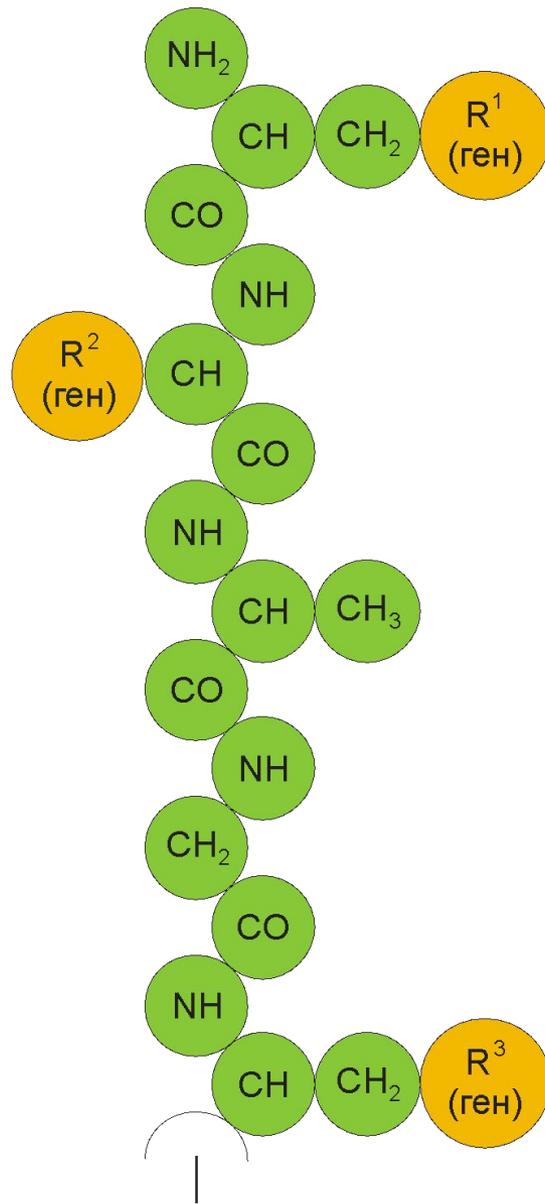


Схема хромосомы перед делением клетки, по Н.К. Кольцову.
Видны четыре одинаковых (2+2) полимерных молекулы – генономы.

Идея доклада Кольцова такова: наследственность передается молекулами, которых не так много, но эти молекулы – длинные полимерные нити, отдельные участки которых (мономеры) и определяют конкретные наследственные признаки.

Итак, было сделано гениальное открытие в молекулярной биологии XX в.: наследственная информация передается на молекулярном уровне и воспроизводится матричным способом.

Н.К. Кольцову последовал вопрос: «Какую пользу принесет это открытие пролетарскому государству? Вот, если бы был выведен сорт сверхурожайной пшеницы или создано суперлекарство, тогда – да! А так, подумаешь – теория наследственности, эка невидаль!»



Модель белковой хромосомы, предложенная Н.К. Кольцовым (1927 г.)



Австрийский физик-теоретик, один из создателей [квантовой механики](#) (1887-1961).

Создание квантовой механики позволило заложить надёжные теоретические основы химии,

с помощью которых было получено современное объяснение природы химической связи.

Развитие химии, в свою очередь, оказало глубокое влияние на формирование молекулярной биологии.

В 30-х годах известные физики и химики заинтересовались биологией и стали пытаться подвести под нее теоретическую базу так, как они это делали в теоретической физике.

Эрвин Шредингер обсуждает общие проблемы физического подхода к различным явлениям жизни, причины макроскопичности, многоатомности организма, механизма наследственности и мутаций.

В книге «Что такое жизнь?» (1944).

Э. Шрёдингер обратился к проблемам [генетики](#), взглянув на феномен [жизни](#) с точки зрения физики.

Для решения этой проблемы Э. Шрёдингер обратился к своей знаменитой гипотезе о гене как аperiodическом одномерном [кристалле](#).

Он предположил, что в молекулярном аperiodический кристалле записана «программа жизни».



Лайнус Полинг (1901-1994). Лауреат двух Нобелевских премий.

Л. Полинг – известный химик. Специалист в области рентгеновской кристаллографии – **установил, что при прохождении рентгеновских лучей через кристалл на рентгенограмме можно зарегистрировать характерный рисунок, по которому можно судить об атомной структуре данного вещества.**

В 1934 г. занялся биохимией белков. Он был первым ученым, который смог успешно предсказать вторичную структуру белков.

Работая с антителами, Л. Полинг выдвинул верный постулат, что трехмерные структуры антигена и его антитела комплементарны и, таким образом, «несут ответственность» за образование комплекса антиген – антитело, **т.е. обнаружил явление комплементарности биологических молекул.**

В начале 50-х гг. Л. Полинг сосредоточил свое внимание на ДНК. В 1953 г., когда ученые в разных странах мира пытались установить структуру ДНК, **он опубликовал статью, в которой описывал эту структуру как тройную спираль, что не соответствовало действительности.** Возможно, для правильного решения проблемы ему не хватало высококачественных рентгенограмм ДНК.



Макс
Дельбрюк
(1906–1981)



В начале
40-х годов

М. Дельбрюк начинал свою научную карьеру как физик, он, в частности, первым предсказал один из нелинейных эффектов квантовой электродинамики — дельбрюковское рассеяние.

Макс Дельбрюк работал в середине 1930-х гг. (до 1937 г.) в Химическом институте кайзера Вильгельма в Берлине. **Под влиянием Тимофеева-Ресовского заинтересовался биологией настолько, что бросил физику и стал биологом.**



Сальвадор
Лурия
(1912-1991)

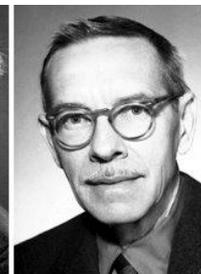
В середине 1930-х гг. служил офицером медицинских войск в итальянской армии. В это время он изучает литературу по физике и математике, а демобилизовавшись из армии, – медицинскую физику и радиологию в лаборатории Кюри Института радия в Париже.

В 1938 г. у Лурия проснулся интерес к бактериофагам (вирусам, атакующим бактерии), и он вскоре занялся экспериментами по облучению бактериофагов рентгеновскими лучами с целью вызвать генетические мутации.

В 1969 М. Дельбрюк (совместно с А. Херши и С. Лурия) получили Нобелевскую премию за открытия, касающиеся механизма репликации и генетической структуры вирусов.



Max Delbrück
(1906 - 1981)



Alfred D. Hershey
(1908 - 1997)



Salvador E. Luria
(1921 - 1991)



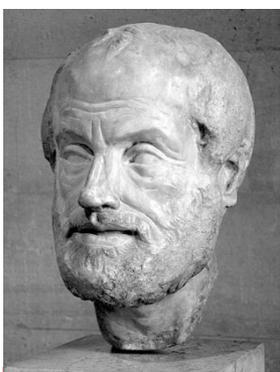
Идеи Н.К. Кольцова воспринял
Н.В. Тимофеев-Ресовский.

Тимофеев Ресовский Н.В. (1900-1981).

Биолог, генетик, один из основоположников популяционной и радиационной генетики. **Исследования Тимофеева-Ресовского 30-х гг. дали толчок формированию молекулярной биологии.**

Тимофеев-Ресовский участвовал в семинарах [Нильса Бора](#); вместе с Б.С. Эфрусси организовал коллоквиум биологов и физиков. **Генетики и кристаллографы (впоследствии внесшие решающий вклад в открытие структуры «двойной спирали») впервые совместно обсуждали химическую природу хромосомы и гена в 1938 г.**

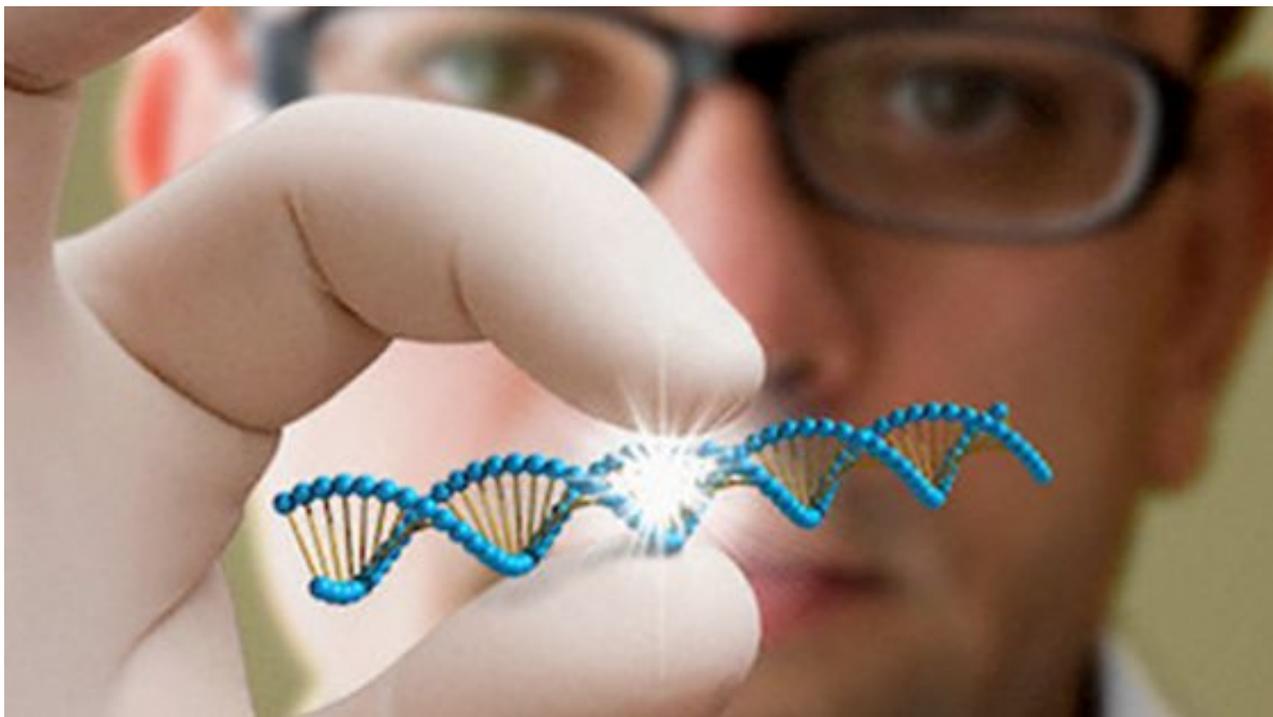
Н.В. Тимофеев-Ресовский совместно с К. Циммером и М.Дельбрюком осуществил "мозговой штурм" проблемы молекулярной природы генов, воплотившийся в статье «О природе генных мутаций и природе гена» (1935 г.).



Признак образованного человека: при любом типе исследования добиваться такой степени точности, какую только позволяет предмет исследования (*Аристотель*).

Аристотель
(384 – 322 до н.э.)

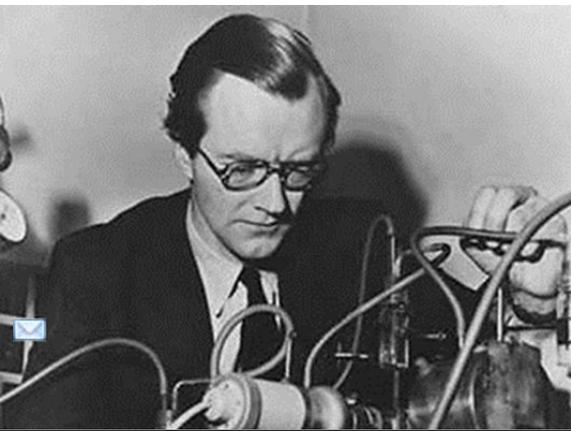
Прямая дорога в ДНК





**Уильям Астбери
(1898-1961)**

В 1938 Уильям Астбери и Флориан Белл получили рентгенограммы ДНК, которые показали, что азотистые основания располагаются одно за другим, построенные как пластинки.



Морис Уилкинс
(1916- 2004 г.)

*Нобелевская премия 1962 г.
совместно с Дж. Уотсоном
и Ф. Криком*



Розалин Франклин
(1921- 1958 г.)

Нобелевской премии – нет!

М. Уилкинс известен своими работами по рентгеноструктурному анализу ДНК

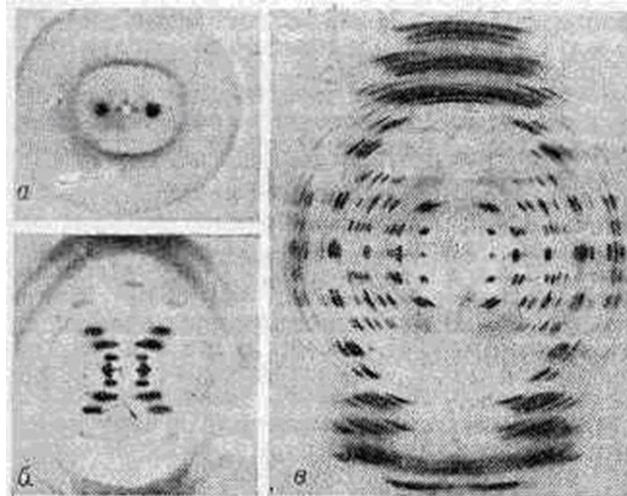
В начале 1950-х гг. приступил к работе в Лондонском университете вместе с Р. Франклин. К этому времени уже было известно, что нуклеиновые кислоты существуют в двух формах: ДНК и РНК.

М. Уилкинс изготавливал лучшие в мире препараты ДНК и работал не спешно, считая, что никто его обогнать не сможет!

Р. Франклин получала лучшие в мире рентгенограммы ДНК и тоже никуда не торопилась, стремясь к еще большему!

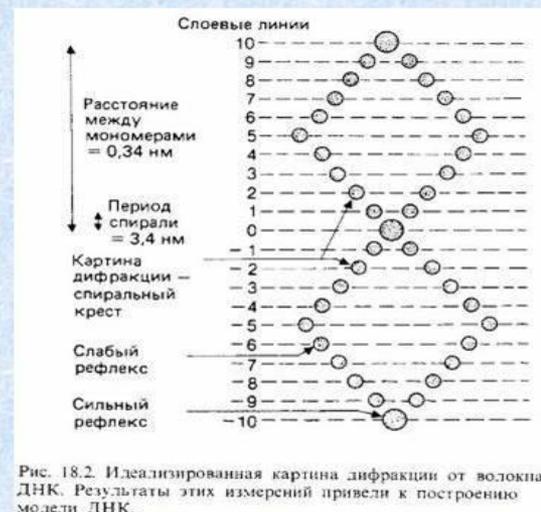
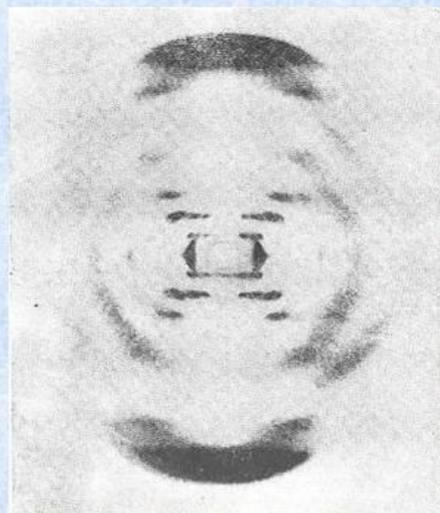
Анализ полученных рентгенограмм показал, что молекула ДНК имеет форму двойной спирали, напоминающую винтовую лестницу. М. Уилкинс поделился данными с Ф. Криком и Дж. Уотсоном, двумя исследователями из Кавендишской лаборатории Кембриджского Университета, которые пытались определить структуру ДНК.

Эта фотография стала вершиной карьеры Р. Франклин и одновременно одной из самых печальных страниц мировой науки, ведь достойной оценки ее труд не получил, лавровый венок увенчал совсем других ученых.



Знаменитая фотография № 51, полученная Розалин Франклин.

Рентгенограмма ДНК



Рентгенограмма дала очень важную информацию для построения двойной спирали. Идеализированная дифракционная картина имеет вид креста из рефлексов (пятен), образующегося из-за регулярности структуры ДНК. Расстояние между слоевыми линиями отвечает периоду 3,4 нм, т.е. шагу двойной спирали, а сильный рефлекс на 10-й слоевой линии – периоду 0,34 нм, т.е. расстоянию между парами оснований.



Э. Чаргафф
(1905-2002)

Это уже не ученому, а публицисту Эрвину Чаргаффу принадлежат слова:

"Уровень развития государства определяется тремя составляющими: отношением к деревьям, отношением к детям, отношением к родному языку."

Период

◆ Количество аденина равно количеству тимина, а гуанина - цитозину:

$$A=T, G=C.$$

◆ Количество пуринов равно количеству пиримидинов:

$$A+G=T+C.$$

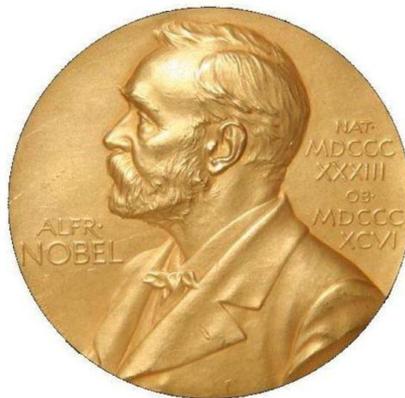
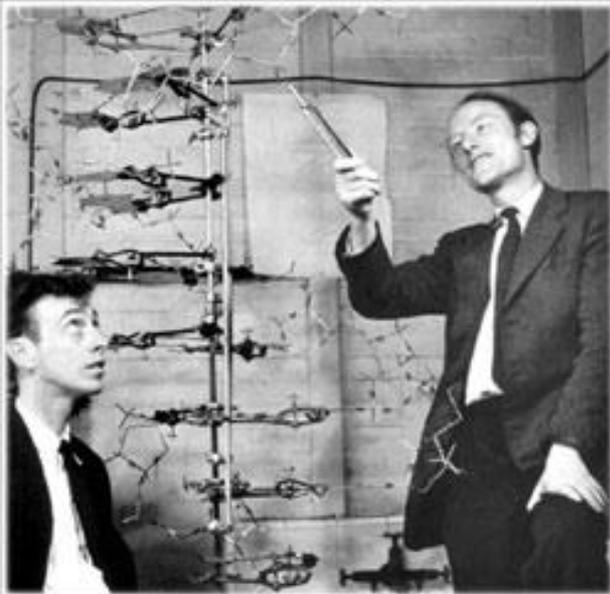
◆ Количество оснований, содержащих **аминогруппу в положении 4 пиримидинового ядра и в положении 6 - пуринового** (цитозин и аденин), равно количеству оснований, содержащих **кетогруппу в тех же положениях** (гуанин и тимин):

$$A+C=G+T.$$

◆ Соотношение $(G+C)/(A+T)=K$, где K - коэффициент специфичности, является постоянным для каждого вида живых организмов.

Правила Чаргаффа, наряду с данными рентгеноструктурного анализа, сыграли решающую роль в расшифровке структуры ДНК Дж. Уотсоном и Ф. Криком.

Организм	% ГЦ
<i>Ното саріенс</i>	39.7 %
Овца	42.4 %
Курица	42.0 %
Черепаха	43.3 %
Семга	41.2 %
Морской еж	35.0 %
<i>E. coli</i>	51.7 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	68.0 %
<i>Mycobacterium phlei</i>	73.0%



«А мы только что открыли секрет жизни!» - 1953 г.

В 1952 г. Дж. Уотсон и Ф. Крик стали работать над моделированием структуры ДНК. Используя правила Чаргаффа, рентгенограммы Р. Франклин и М. Уилкинса, они построили двухспиральную модель ДНК.



Результаты работы были опубликованы 30 мая 1953 г. в журнале Nature.



УОТСОН Джеймс Дьюи
(1928 - н.в.)

Американский биофизик, биохимик, молекулярный биолог, предложил гипотезу о том, что ДНК имеет форму двойной спирали, выяснил молекулярную структуру нуклеиновых кислот и принцип передачи наследственной информации.

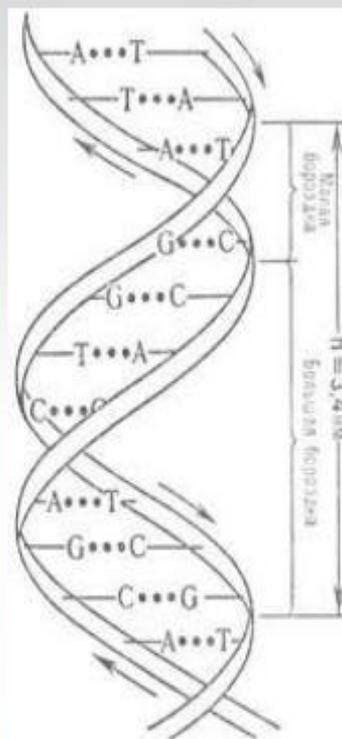
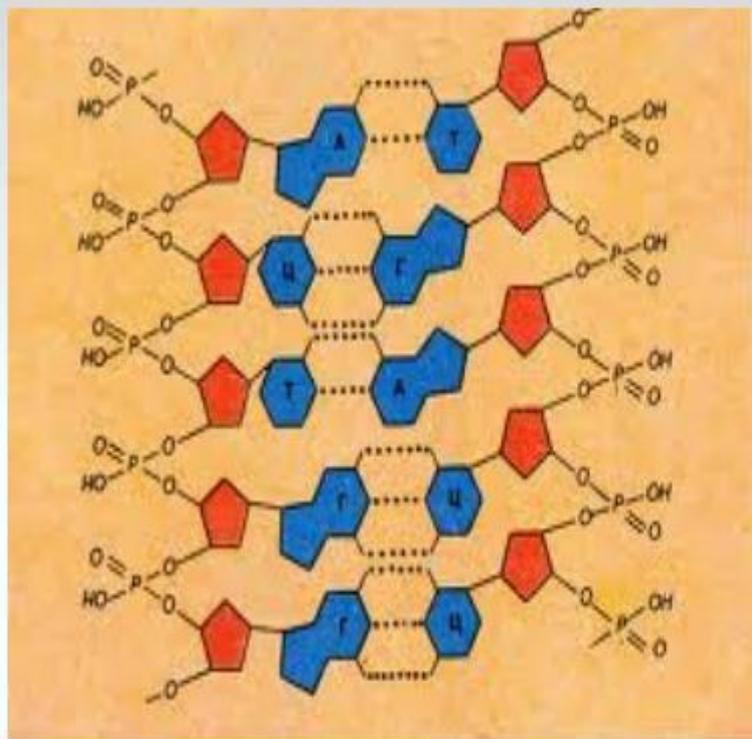
Нобелевская премия 1962 г. по физиологии и медицине (совместно с М. Уилкинсом) за открытие, касающееся молекулярной структуры нуклеиновых кислот и их значения для передачи информации в живых системах.



КРИК Френсис
Харри Комптон (1916 - 2004)

Английский физик, биофизик, специалист в области молекулярной биологии, выяснил молекулярную структуру нуклеиновых кислот; открыв основные типы РНК, предложил теорию передачи генетического кода и показал, как происходит копирование молекул ДНК при делении клеток.

Модели двойной спирали ДНК



Почему возник такой ажиотаж вокруг ДНК в начале 50-х годов?

Потому что человечество начало убеждаться, что ДНК - это главная молекула жизни!

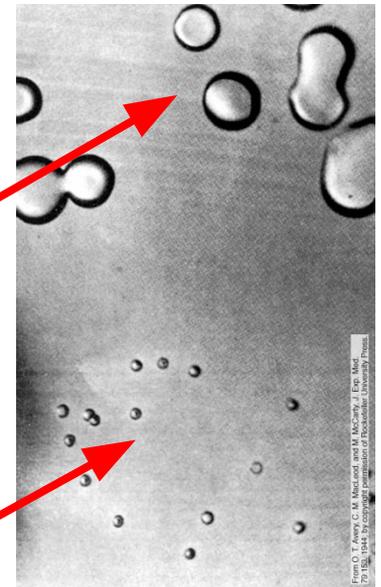
Доказывать это пришлось более 8 лет, начиная с 1944 года!

Доказательство генетической роли ДНК

С чего все началось?

Еще в 1928 г. Фредерик Гриффитс открыл явление трансформации у бактерий

- Объект - *Streptococcus pneumoniae*, патогенные бактерии, вызывающие пневмонию.
- Использовал 2 штамма *Streptococcus*:
 - **S-штамм**, вирулентный (клетки окружены полисахаридной капсулой, являющейся фактором вирулентности);
 - **R-штамм**, неvirulentный (полисахаридная капсула отсутствует)
- Осуществляли инфицирование мышей указанными штаммами для того, чтобы понять различия между капсульным и бескапсульным вариантами.

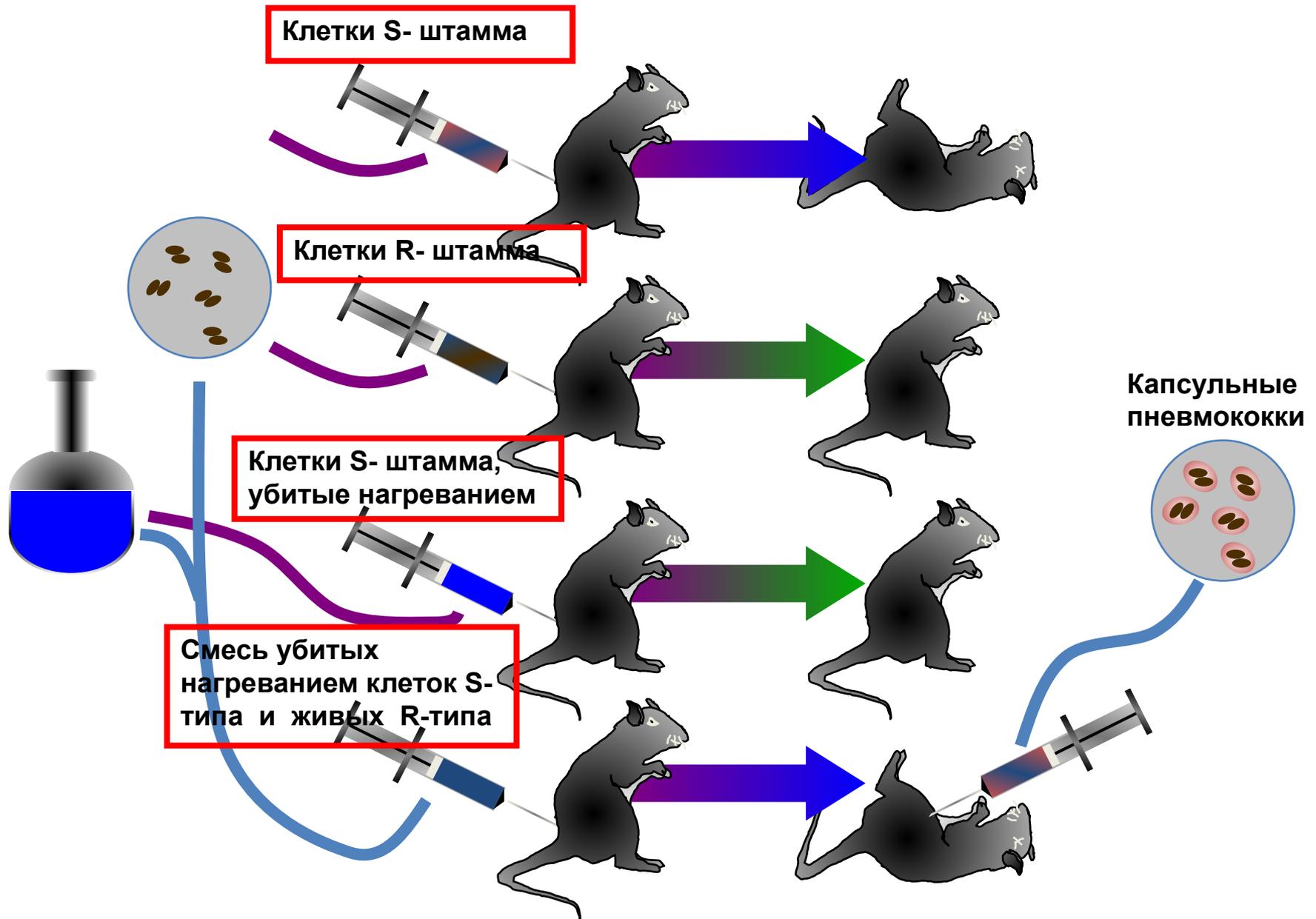




Эксперимент Ф. Гриффитса:

- Живые клетки S-штамма убивают мышей;
- Живые клетки R-штамма не убивают мышей;
- Убитые нагреванием клетки S-штамма не убивают мышей;
- Смесь убитых нагреванием клеток S-штамма и живых клеток R-штамма убивает мышей.

Открытие трансформации Фредериком Гриффитсом, 1928



Эксперимент Ф. Гриффитса

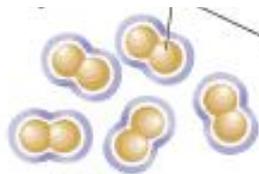
Бактери с полисахаридной капсулой



Тип R: живые неvirulentные



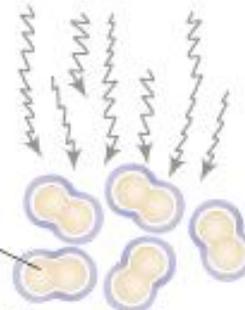
Мыши живые



Тип S: живые virulentные



Мыши погибли, из крови выделены живые бактерии типа S



Тип S: неживые, убитые нагреванием virulentные



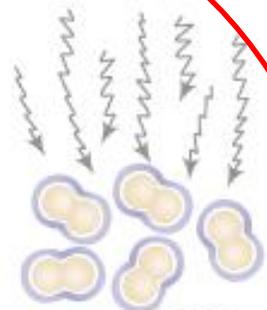
Мыши живые



Тип R: живые неvirulentные



Мыши погибли, из крови выделены живые бактерии типа S



Тип S: неживые, убитые нагреванием virulentные



Мыши погибли, из крови выделены живые бактерии типа S



Ф. Гриффитс предположил, что убитые нагреванием вирулентные пневмококки S-типа, имеют некий фактор (он устойчив к температуре), который способен трансформировать неvirulentные клетки R-типа в вирулентные, при этом вирулентные клетки превращаются в слизистые, покрытые полисахаридной капсулой. **Ф. Гриффитс предположил, что трансформирующим фактором является белок.**



Ф. Гриффитс назвал превращение неvirulentных клеток пневмококков в вирулентные - трансформацией.

Прошло 16 лет!

- В 1944 г. **Освальд Эйвери, Колин МакЛеод и Маклин МакКарти** поставили перед собой цель - установить природу «трансформирующего» фактора, открытого в 1928 г. Ф. Гриффитсом.



О. Эйвери



К. МакЛеод



М. МакКарти

Эксперимент Эйвери, МакЛеод и МакКарти, 1944

Вместо убитых нагреванием целых клеток *Streptococcus pneumoniae* ученые **предварительно разрушили их и взяли экстракт этих клеток.**

Полученный экстракт поочередно подвергли действию гидролитических ферментов, которые специфически разрушают определенные классы макромолекул – **полисахариды, белки, липиды, РНК и ДНК.** И затем определяли, при деградации каких макромолекул **исчезает трансформирующая активность клеточного экстракта.**

Эйвери с сотр. поочередно обрабатывали клеточный экстракт **трипсином, химотрипсином, рибонуклеазой, липазой, гидролитическими ферментами для разрушения полисахаридов,** но эти обработки никак не влияли на трансформирующую активность экстракта.

Лишь обработка ДНК-азой приводила к исчезновению трансформирующего начала!

Только ДНК, выделенная из клеточного экстракта, обладала трансформирующей активностью

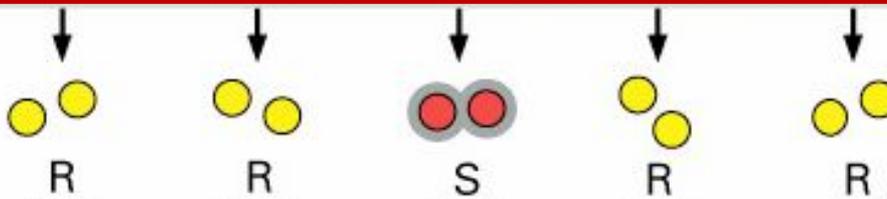
Клетки S-штамма



Получение бесклеточного экстракта

РНК белков **ДНК** липидов полисахаридов

Обработка клеток R-типа



Трансформанты: типа типа типа типа типа

Только после обработки клеточного экстракта ДНК-азой трансформирующая активность исчезала

Таким образом было установлено, что действующим началом бактериальной трансформации является дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)

1. Химический анализ показал, что соотношение углерода, водорода, азота и фосфора в трансформирующем веществе соответствуют соотношению этих же элементов в молекуле ДНК.
2. По молекулярной массе молекулы трансформирующего вещества были больше, чем белков.
3. Максимум при спектрофотометрическом анализе соответствовал 260 нм, что соответствовало нуклеиновой кислоте (у белков – 280 нм).
4. ДНК, выделенная из клеточного экстракта, обладала трансформирующей активностью.

Эксперимент Альфреда Херши и Марты Чейз, 1952 г.



**Марта Чейз (1927–2003) и
Альфред Херши (1908–1997)**

Объекты:
бактериофаг T2,
бактерии E.coli

Херши и Чейз для разработки своего эксперимента осуществляли радиоактивное мечение белка и ДНК бактериофага T2



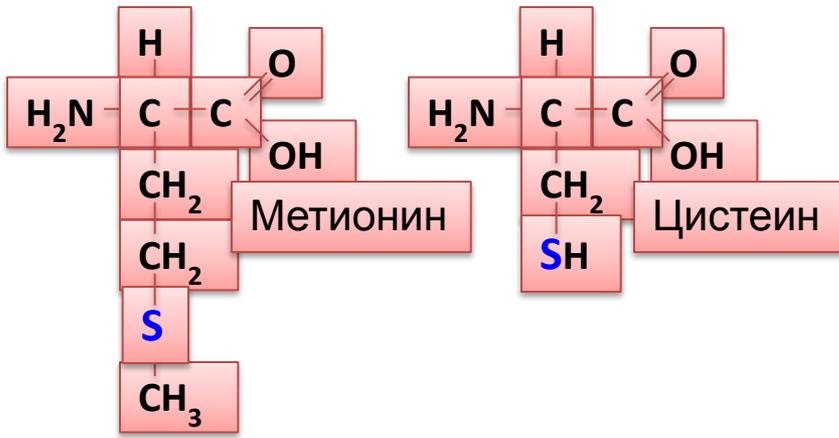
Предпосылки эксперимента:

А. Херши и М. Чейз решили проверить, насколько верна картина нарисованная прежними исследователями в 1944 г.

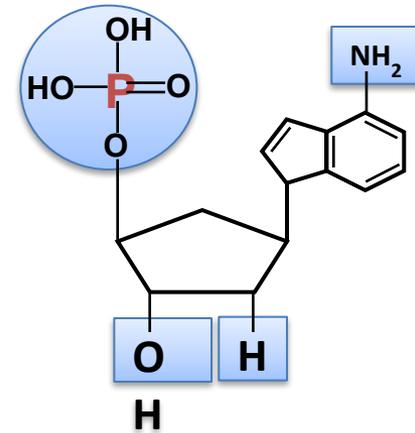
На поверхности клетки в электронный микроскоп бактериофаги были видны.

Но разглядеть их внутри клеток в те год никому не удавалось. Тем более нельзя было увидеть процесс проникновения фага в клетку.

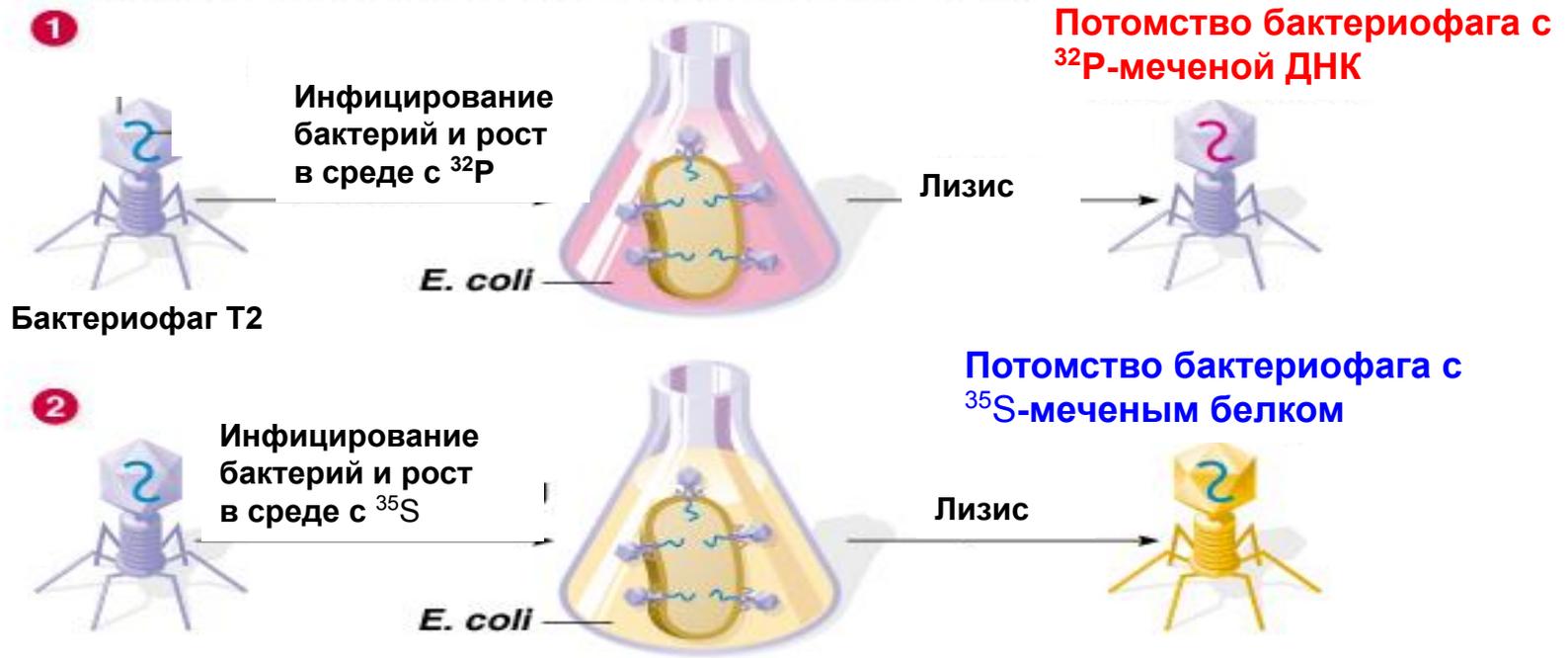
Стоило только подставить клетку с налипшими фагами под пучок электронов, как электроны убивали все живое, и то, что отражалось на экране микроскопа, было лишь посмертной маской бактериофагов.



Некоторые аминокислоты содержат серу. Поэтому белки могут быть помечены радиоактивной ^{35}S .



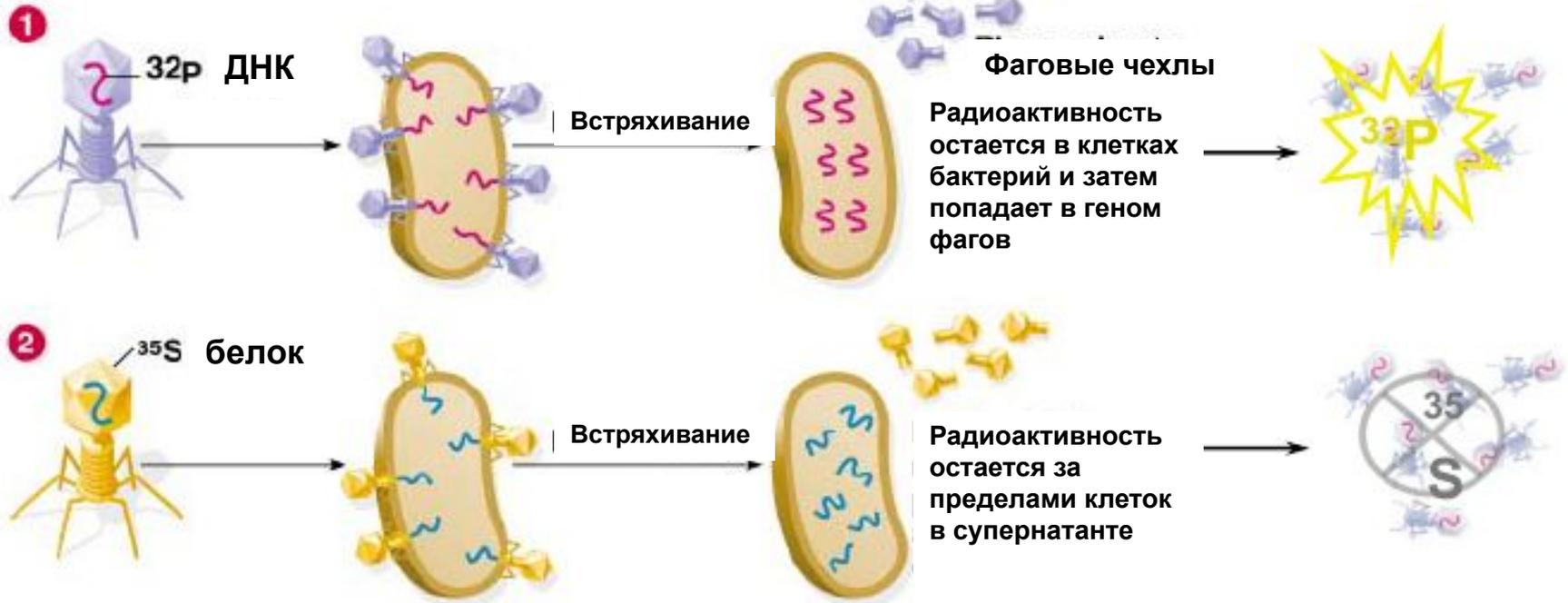
Нуклеотиды содержат фосфатную группу. Поэтому ДНК может быть помечена радиоактивным фосфором ^{32}P .



Принцип приготовления радиоактивно меченых бактериофагов

Радиоактивное мечение белковых оболочек бактериофага T2 и его ДНК, позволило проследить их судьбу при инфицировании бактериальных клеток.

Центрифугирование, чтобы
удалить фаговые чехлы



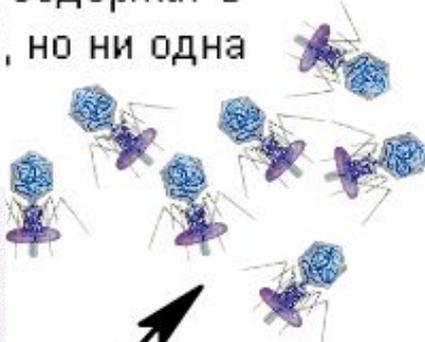
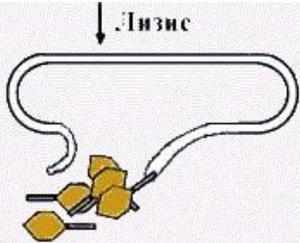
ЭВРИКА!

Радиоактивно меченая ДНК из родительских фагов попадает в клетки бактерий и обеспечивает размножение фагового потомства.

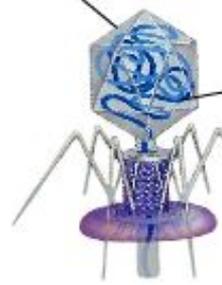
После инфекции бактерии фагами, с помощью центрифугирования удалось выделить две фракции: пустые белковые оболочки фага и бактерии, инфицированных фаговой ДНК. Оказалось, что 80% метки ^{35}S осталась в пустых фаговых оболочках, а 70% метки ^{32}P - в инфицированных бактериях.

Результаты этого эксперимента прямо показали, что при инфицировании бактерий бактериофагами, их ДНК проникает внутрь клеток и затем участвует в размножении новых фагов частиц.

Некоторые из вновь образованных
фаговых частиц содержат в
хромосомах ^{32}P , но ни одна
не содержит в
оболочке ^{35}S



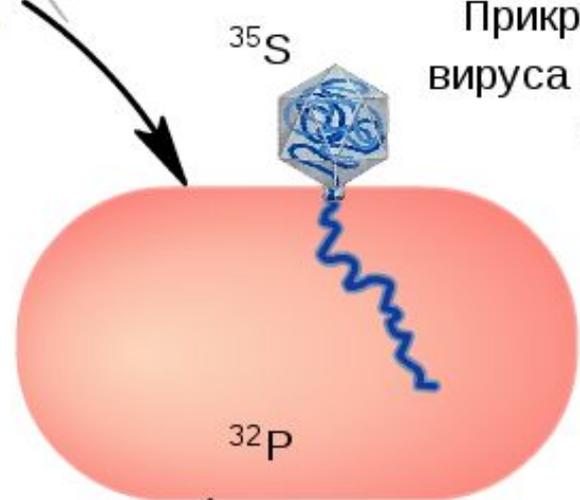
Белковые оболочки
специфически метятся ^{35}S



ДНК метится ^{32}P

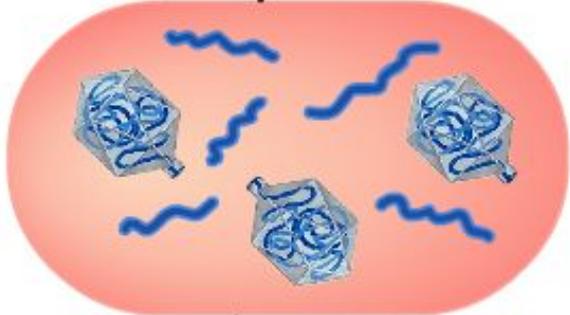
Прикрепление
вируса к клетке
хозяина

^{35}S

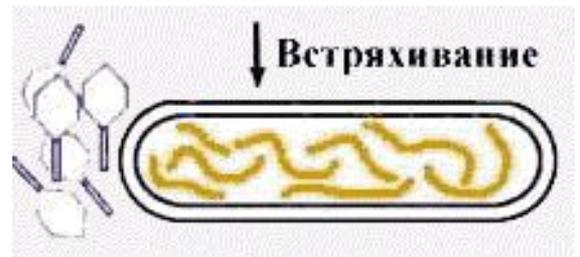


^{32}P

Репликация
фагов



ДНК, меченная ^{32}P



Белковые "тени",
меченные ^{35}S

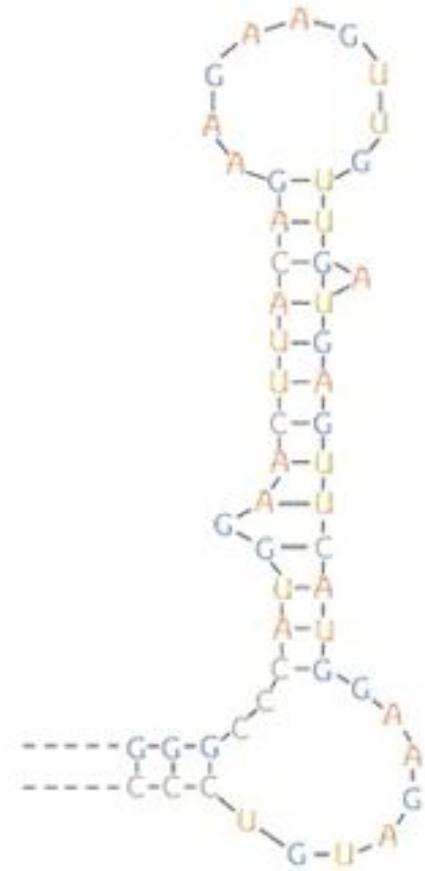
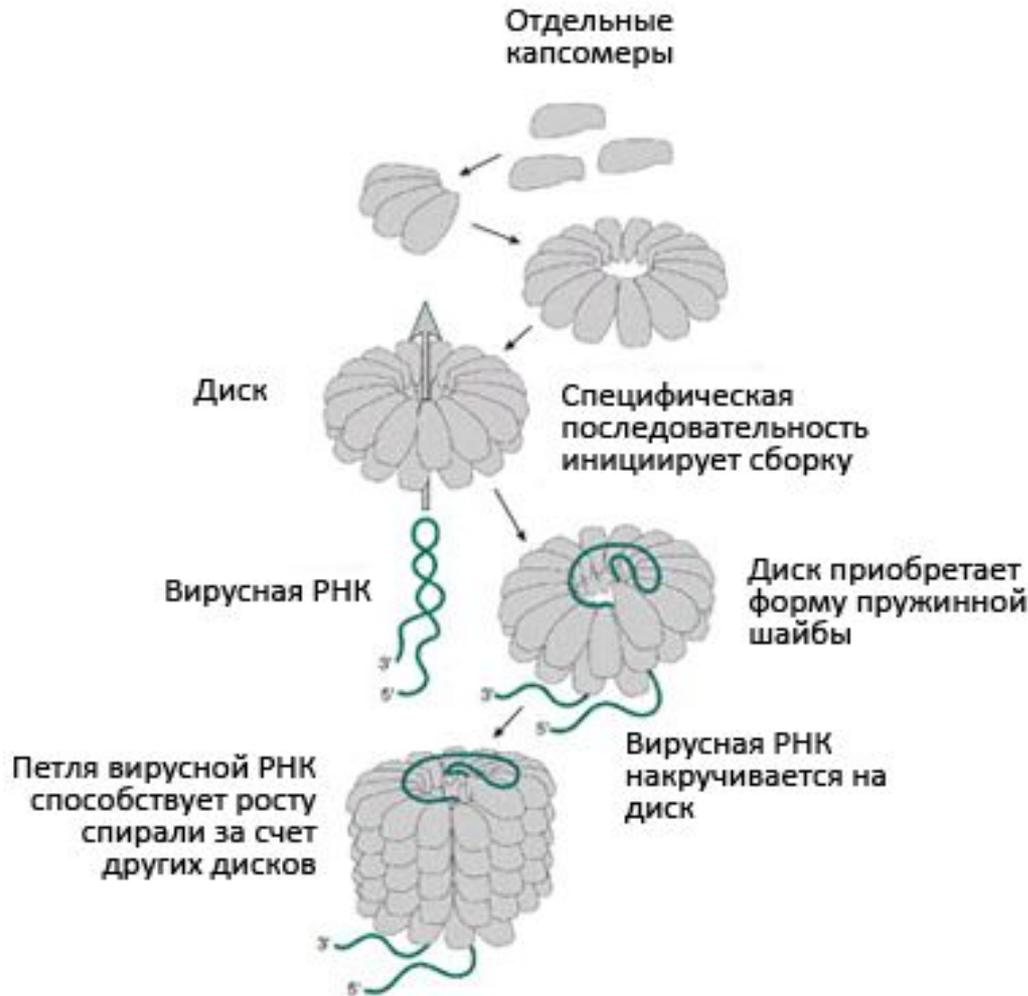
Таким образом, эксперимент А. Херши и М. Чейз показал, что **только ДНК бактериофага T2 при инфицировании бактерий попадает внутрь клеток**, и именно, она контролирует размножение фагов внутри клеток **(т.е. репликацию фаговых геномов, синтез фаговых оболочек, а также лизис бактериальных клеток и высвобождение фаговых частиц наружу)**.

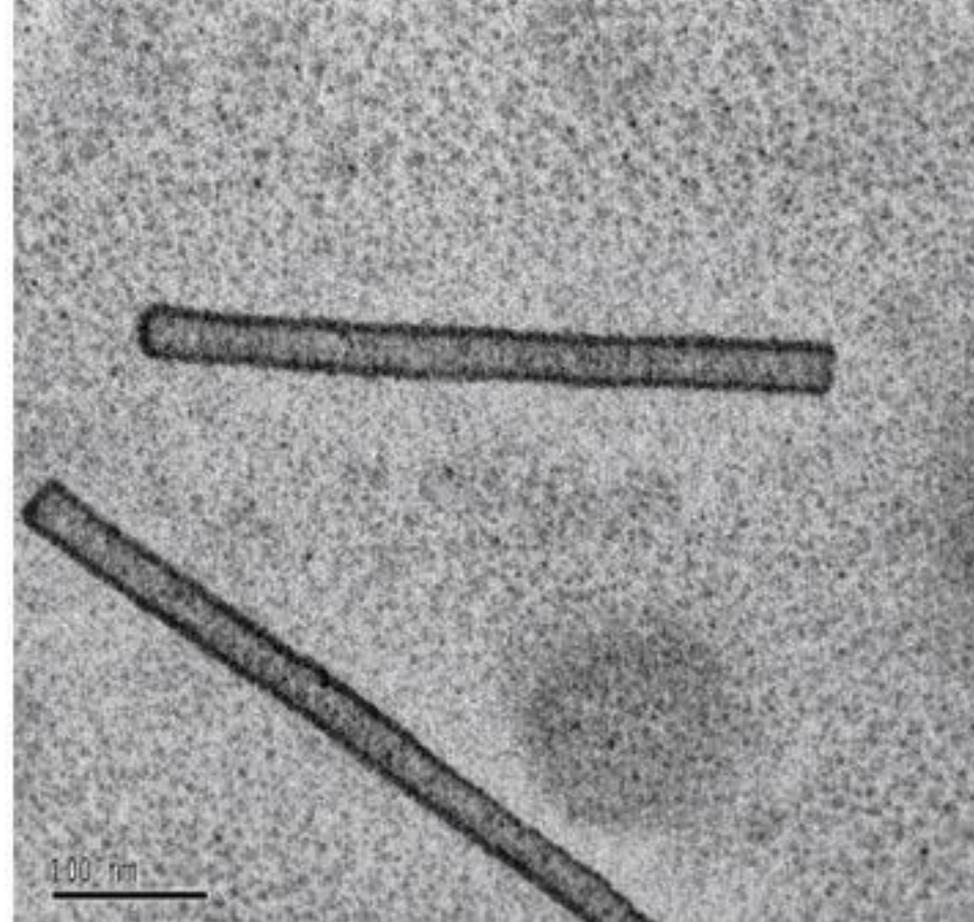
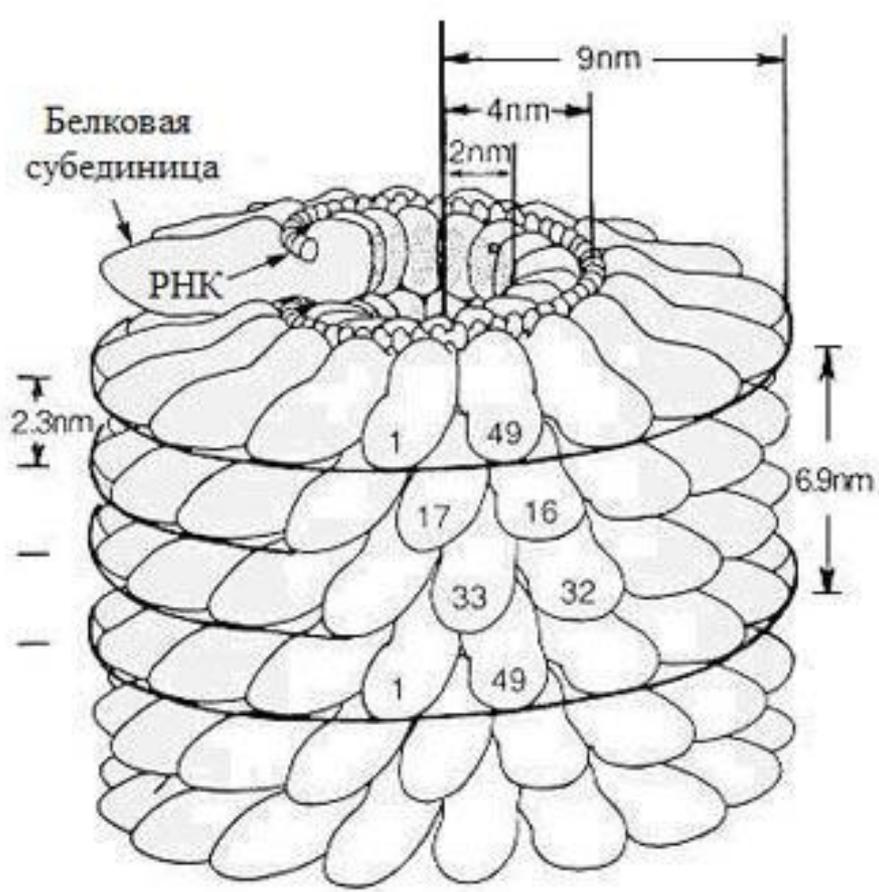
Результаты эксперимента А. Херши и М. Чейз были сразу же приняты в качестве решающего доказательства генетической роли ДНК.

**Доказательство генетической роли РНК
Х.Л.Френкель-Конратом и Р. Уильямсом (1955-1956 г.) с
использованием вируса табачной мозаики**



Впервые самоорганизация вирусов была продемонстрирована *in vitro* («в пробирке») на примере ВТМ в 1955 году вирусологами Хайнцем Френкелем-Конратом и Робли Вильямсом, которые открыли самопроизвольную сборку вирионов из инкубируемых очищенных вирусных белков и РНК .





Вирус табачной мозаики (ВТМ)

РНК молекула ВТМ заключена в белковый капсид,
состоящий
из 2130 идентичных полипептидных субъединиц

При введении в растение табака:

белка вирулентного штамма вируса табачной мозаики	→	нет заболевания
РНК вирулентного штамма вируса табачной мозаики	→	развивается заболевание
белка вирулентного штамма вируса + РНК авирулентного	→	нет заболевания
белка авирулентного штамма вируса + РНК вирулентного	→	развивается заболевание

В изящном эксперименте с "переодеванием" впервые было показано, что РНК может выполнять функцию носителя генетической информации

