



СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ



МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ КРУЖОК
КАФЕДРЫ БИОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ

Структура ДНК

Доказательства роли ДНК в передаче
наследственной информации

(Вопросы 1 – 9)



ТОМСК, 2018 г.

студентка 1 курса ЛФС, гр. 1745
Трушко А.С.

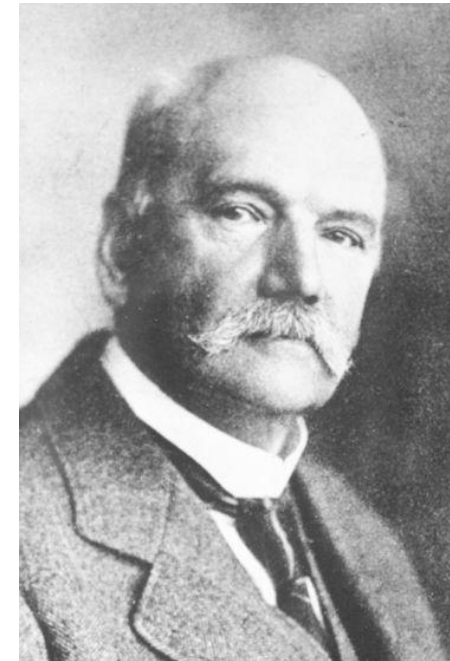
**История открытия и
исследования нуклеиновых
кислот.**

История открытия и исследования НК

- **1869г.:** Фридерих Мишер выделенное из ядер лейкоцитов вещество назвал нуклеином



- **1891г.:** Альбрехт Коссель в составе нуклеина обнаружил пуриновые и пиримидиновые основания



История открытия и исследования НК

- **1905г.:** Эрвин Чаргафф при изучении состава ДНК устанавливает правило Чаргаффа



Правило Чаргаффа:

- 1) количество пуриновых оснований = количеству пиримидиновых азотистых оснований;
- 2) содержание в клетке $A = T$; содержание в клетке $C = G$ (для ДНК);
- 3) соотношение количества гуанина и цитозина в ДНК к количеству аденина и тимина является постоянным для каждого вида живых организмов: $[(G+C)/(A+T)=K$, где K - коэффициент специфичности].

История открытия и исследования НК

- **1909г.:** Питер Левин установил, что в нуклеине есть остаток фосфорной кислоты и сахар рибоза;
- **В 1930 г.** он же находит дезоксирибозу.

- **1950г.:** Морис Уилкинс и Розалинда Франклин на поперечном срезе ДНК с помощью рентгеноструктурного анализа получают интересную картину...

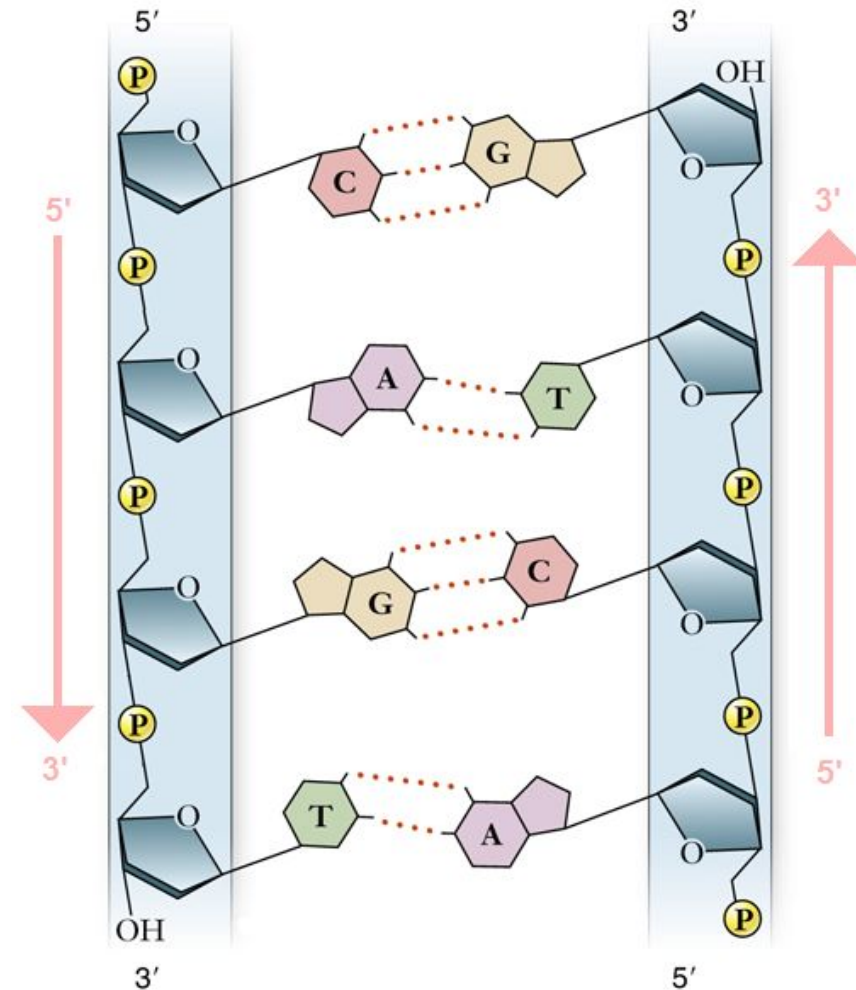


**Выводы рентгеноструктурного анализа ДНК:
(Уилкинс и Франклин)**

- ДНК состоит из 2 цепей;
- цепь спирально закручена, ее диаметр = 2 нм;
- цепь состоит из повторяющихся элементов, каждый из которых занимает 0,34 нм;
- на виток спирали ДНК приходится около 10 повторов, и сам виток равен 3,4 нм.

История открытия и исследования НК

- **1953г.:** Джеймс Уотсон и Френсис Крик пришли к выводу, что нити ДНК антипараллельны друг другу



ВОПРОС № 1

Доказательство роли ДНК в передаче наследственной информации.

*Опыты Гриффитса, Эвери, Мак-Леода и Мак-Карти.
Трансформация.*

Опыты Фредерика Гриффитса

В 1928г. Ф. Гриффитс обнаружил у пневмококков (*Streptococcus pneumoniae*) явление трансформации.



Роль НК как носителей наследственной информации

2 типа пневмококков:

- S – тип:

пневмококки, окруженные капсулой, образуют крупные гладкие колонии (от англ. smooth — гладкий)

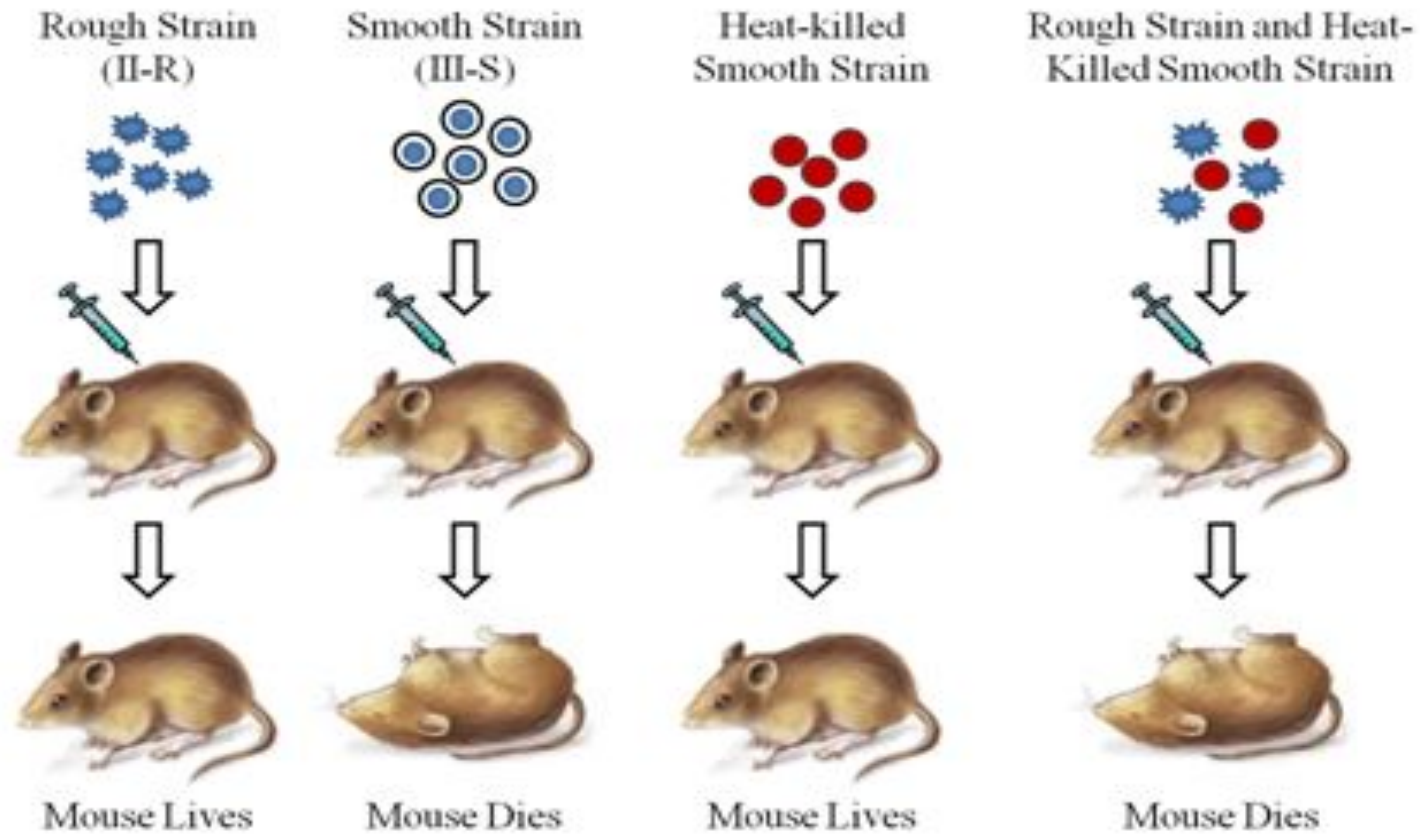
ПАТОГЕННЫ, содержат поверхностный антиген **III S**

- R – тип:

бескапсульные пневмококки образуют мелкие шероховатые колонии (от англ. rough - шероховатый),

НЕПАТОГЕННЫ, содержат поверхностный антиген **III R**

Схема опытов Ф. Гриффитса



**Непатогенный
штамм**

**Патогенный
штамм**

**Патогенный
штамм после
нагревания**

**Микст -
вариант**

Вывод опыта Ф. Гриффитса:

Гриффитс выявил существование некоего “трансформирующего начала”, превращающего клетки пневмококков типа II_R в клетки типа II_S.

Опыты О. Эвери, К. Мак-Леода и М. Мак-Карти

В 1944г. К. Мак-Леод и О. Эвери
К. Мак-Карти показали, что
если ДНК, выделенную из
убитых S нагреванием
пневмококков типа S ,
смешать с живыми бактериями
типа R , то последние
приобретают способность
формировать на агаре гладкие
крупные колонии, состоящие
из бактерий типа S



Схема опытов О. Эвери, К. Мак-Леода и М. Мак-Карти

Препараты ДНК из
пневмококков типа
III делили на порции

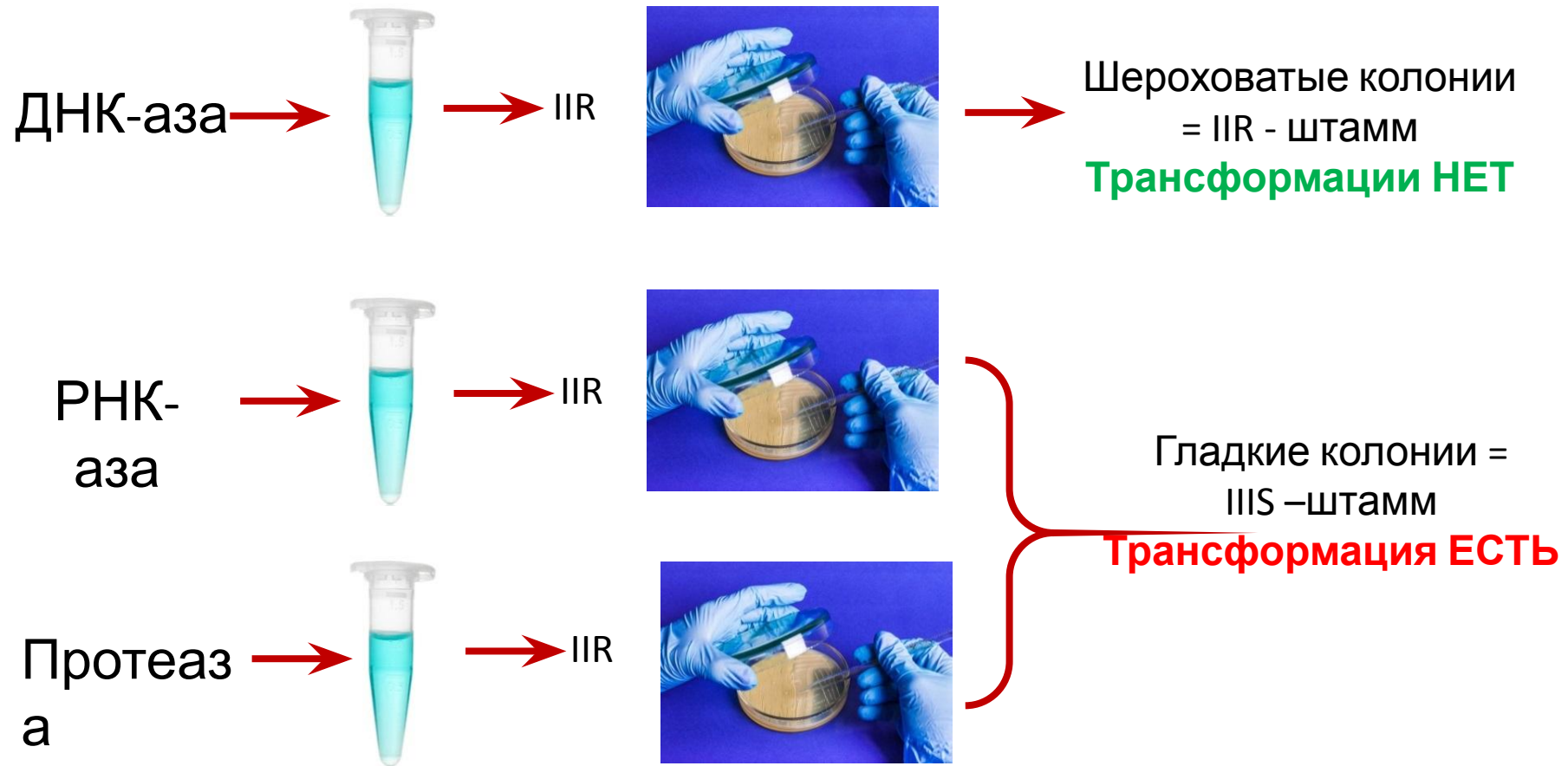


Обработали
соответствующими
ферментами



Добавили к
непатогенному PR -
штамму

Схема опытов О. Эвери, К. Мак-Леода и М. Мак-Карти



Вывод опытов О. Эвери, К. Мак-Леода и М. Мак-Карти:

Только обработка ДНК-азой полностью снимала трансформирующую активность препаратов ДНК, что подтверждало следующее: генетическая информация, кодирующая капсульный полисахарид и его антигенную специфичность у пневмококков, находится в ДНК.

ВОПРОС № 2

**Доказательство роли ДНК в
передаче наследственной
информации.**

Опыты Херши и Чейз.

Опыты А. Херши и М. Чейз

В 1952г. А. Херши и М. Чейз в качестве объекта генетических исследования взяли бактериофаг Т2 и для доказательства проникновения ДНК использовали радиоактивные изотопы

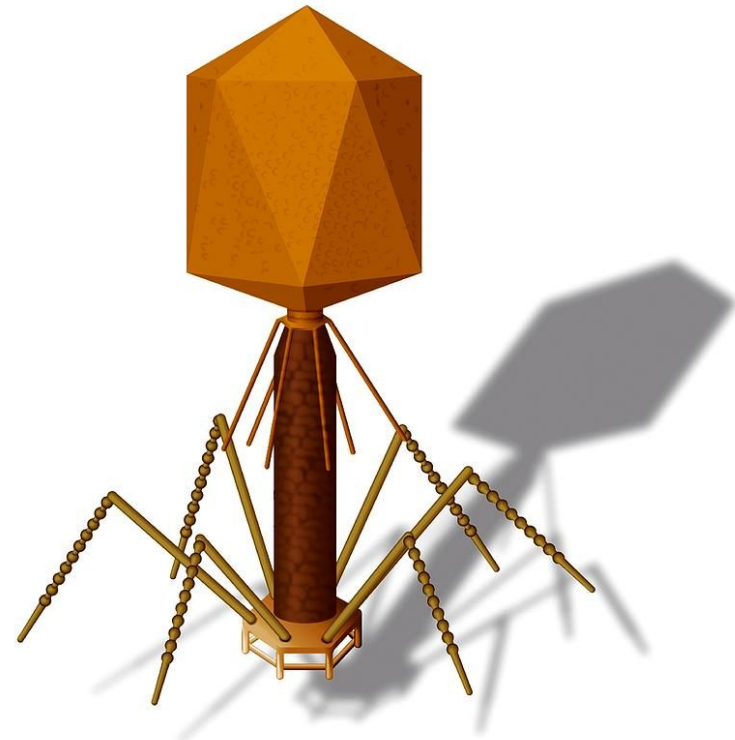
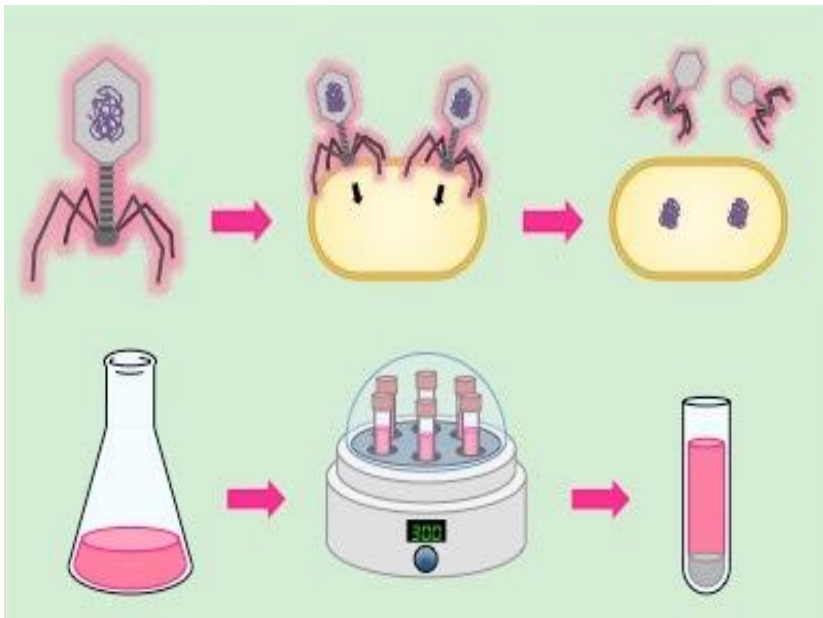


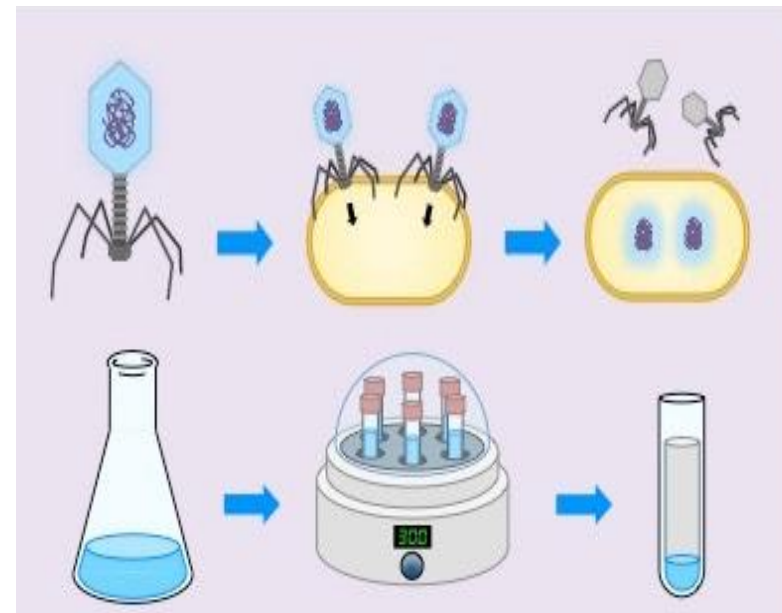
Схема опытов А. Херши и М. Чейз

Белок капсида фага T2 помечали радиоактивным изотопом серы S35, добавляли фаг T2 к клеткам E.coli для абсорбции, резко встряхивали и центрифугировали раствор



Радиоактивным оказался супернатант

ДНК фага T2 помечали радиоактивным изотопом фосфора P32, добавляли фаг T2 к клеткам E.coli для абсорбции, резко встряхивали и центрифугировали раствор



Радиоактивным оказался осадок

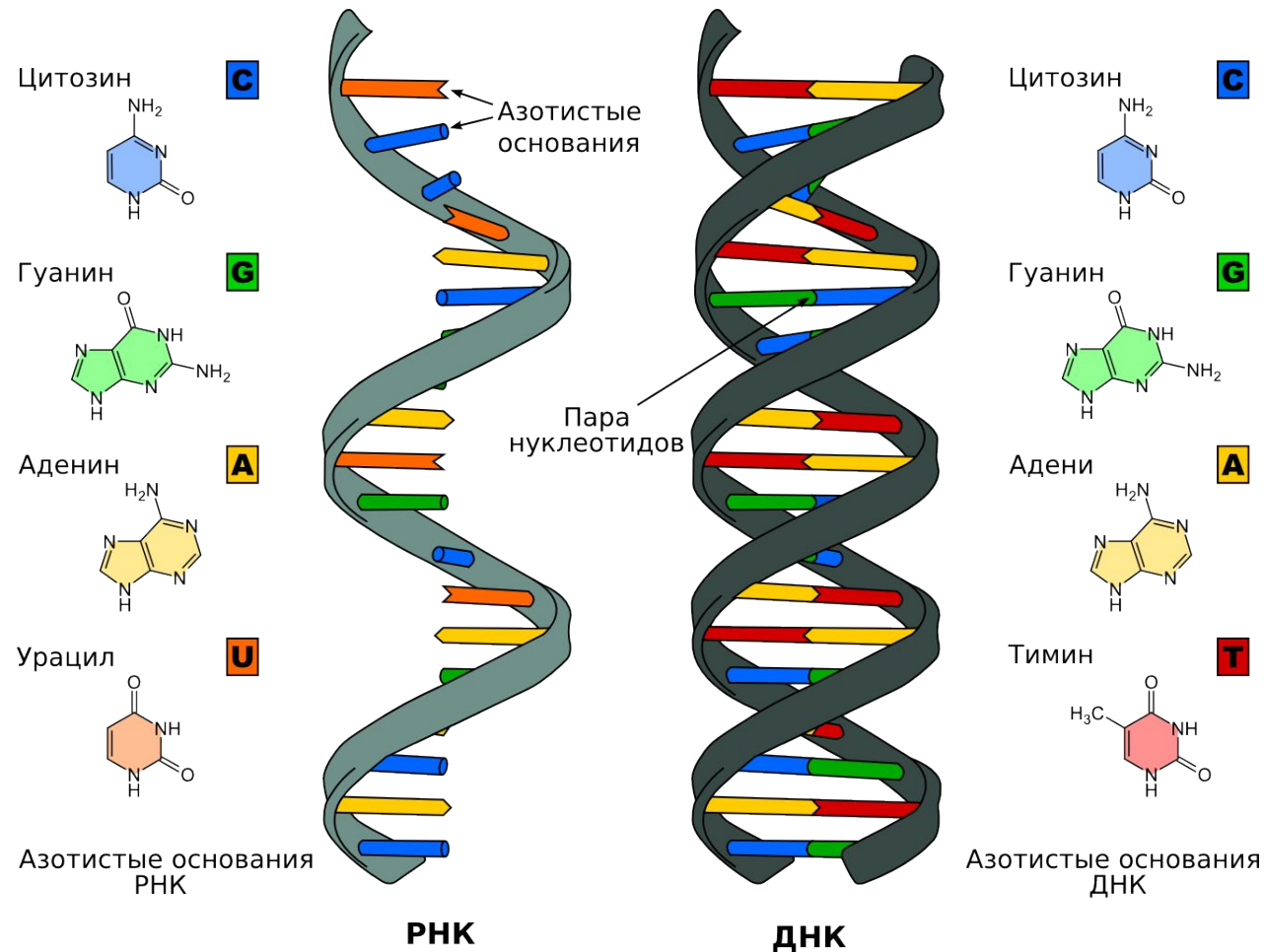
Вывод опытов А. Херши и М. Чейз:

Во время инфекции в клетку проникает преимущественно фаговая ДНК и, следовательно, именно ДНК необходима для образования фагового потомства.

ВОПРОС № 3

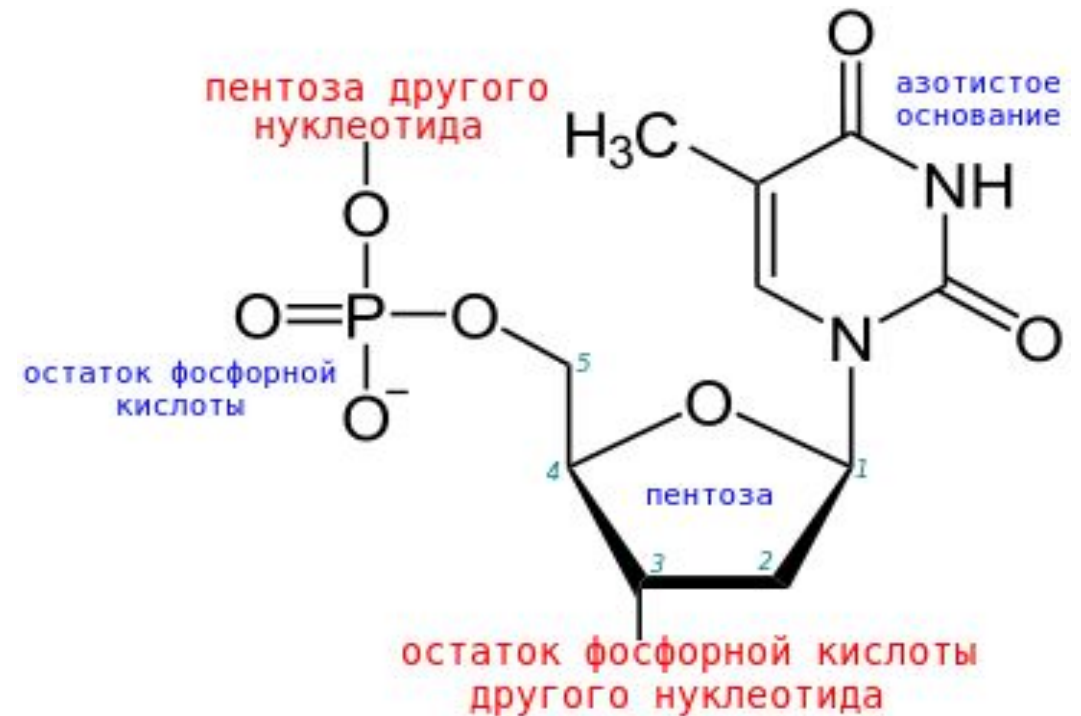
**Структура нуклеиновых кислот.
Нуклеотиды, их разновидности.**

Нуклеиновые кислоты представляют собой макромолекулы, образованные повторяющимися структурами- нуклеотидами.



Состав нуклеотида:

- циклическое азотсодержащее соединение, называемое основанием;
- сахар пентоза, включающий пять атомов углерода;
- остаток фосфорной кислоты.



Известны пять главных азотистых основания :

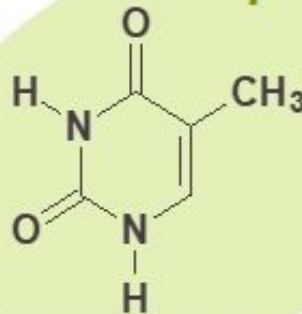
Азотистые основания

А - аденин



пурины

Т - тимин



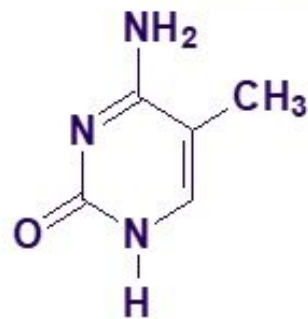
Только в ДНК

пиримидины

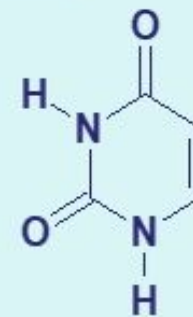
Только в РНК



Г - гуанин



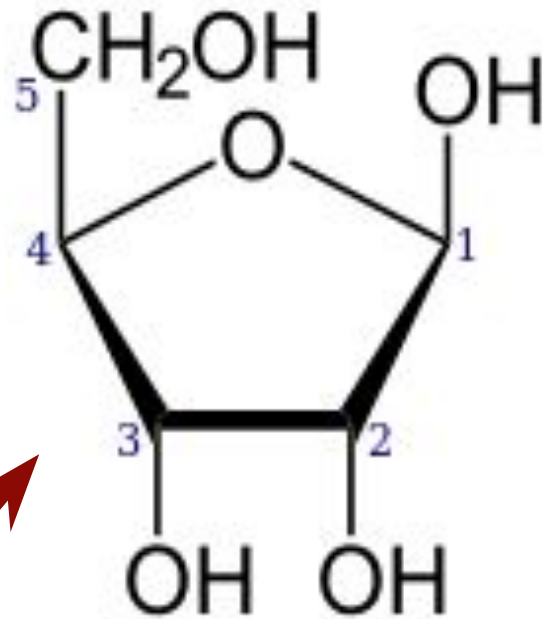
Ц - цитозин



У - урацил

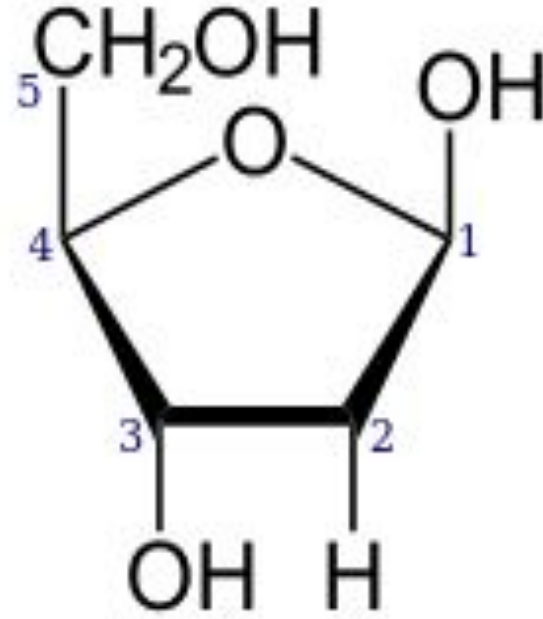


Сахара, входящие в состав НК :



Рибоза

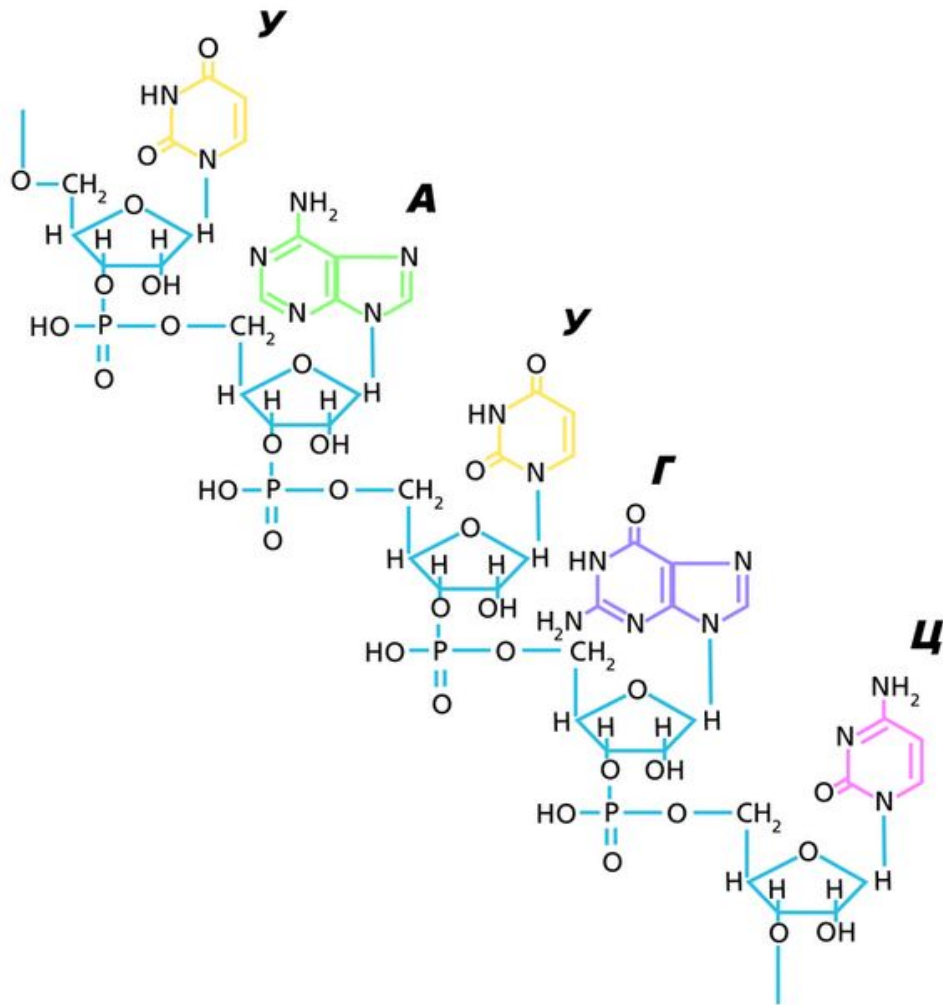
В составе
РНК



Дезоксирибоза

В составе
ДНК

Молекула РНК

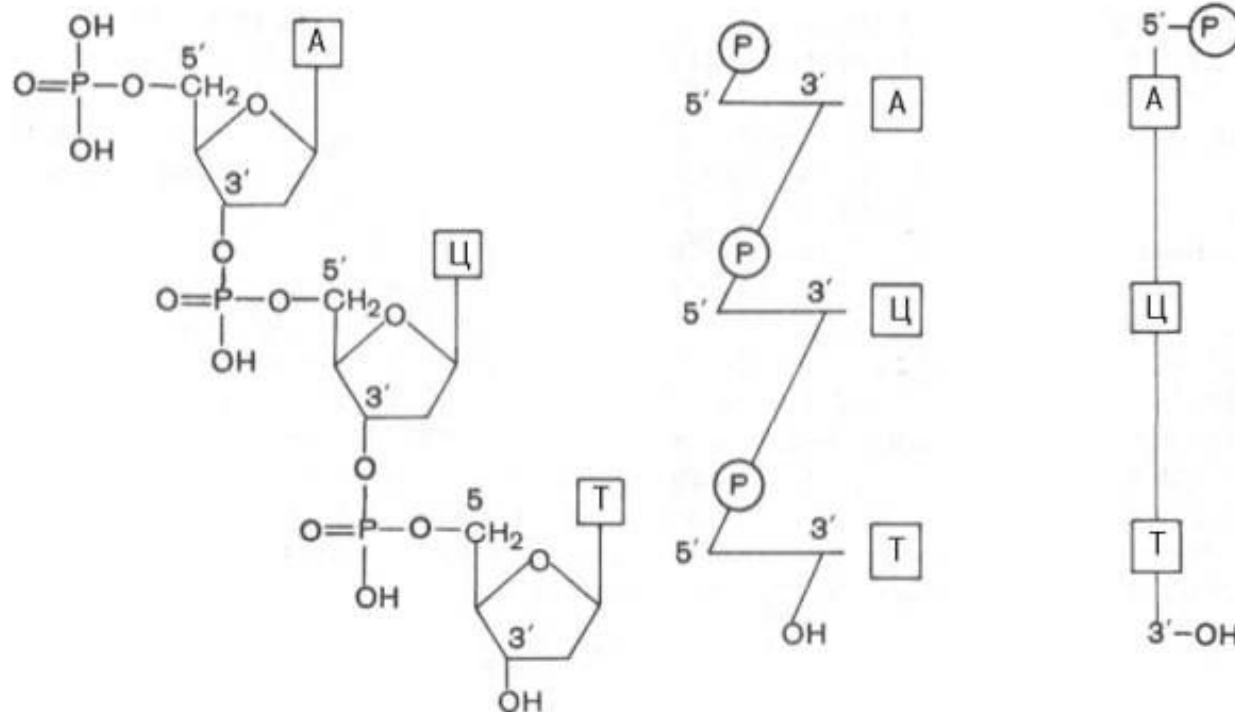


Молекула РНК состоит из одной цепи, в которой последовательно чередуются четыре возможных нуклеотида.

Уровни организации молекулы ДНК

• Первичная структура ДНК

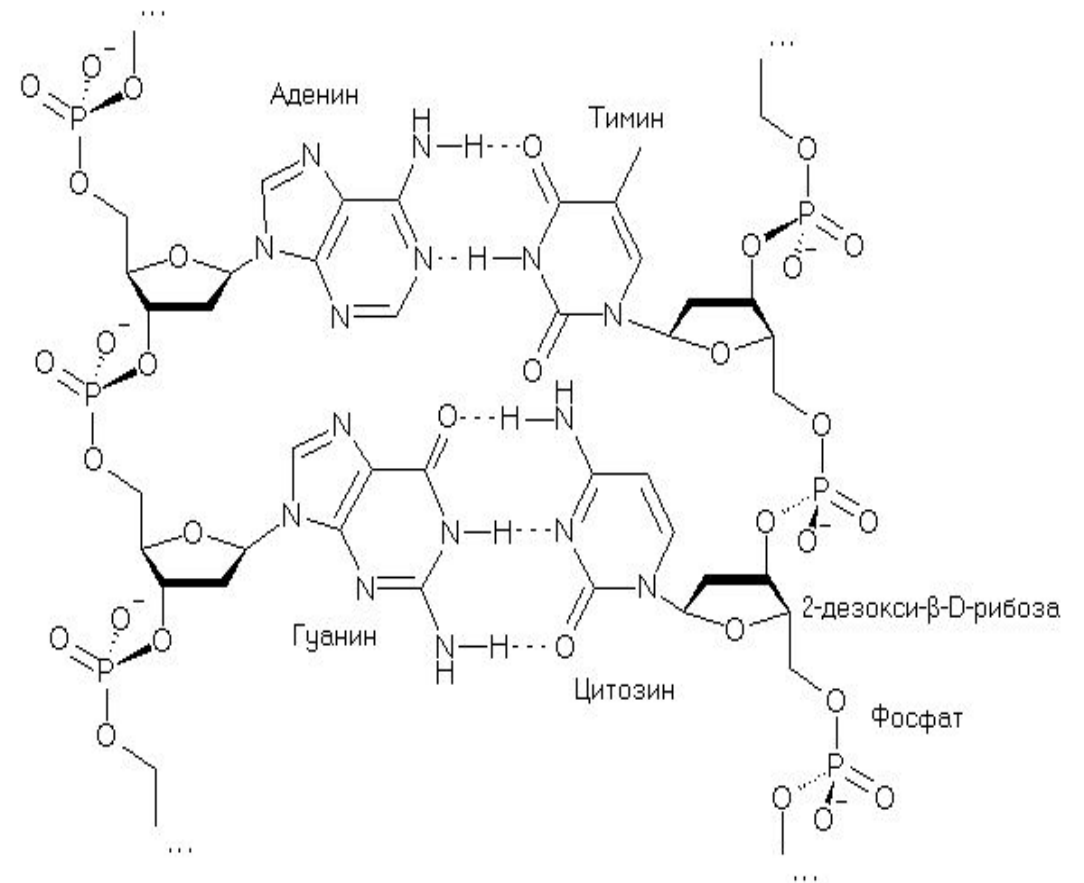
- нуклеотиды соединяются друг с другом 3',5' фосфодиэфирной связью. Фосфат связывает 3'-ОН группу одного нуклеотида 5'-ОН группой другого нуклеотида.



Уровни организации молекулы ДНК

- **Вторичная структура ДНК** – это

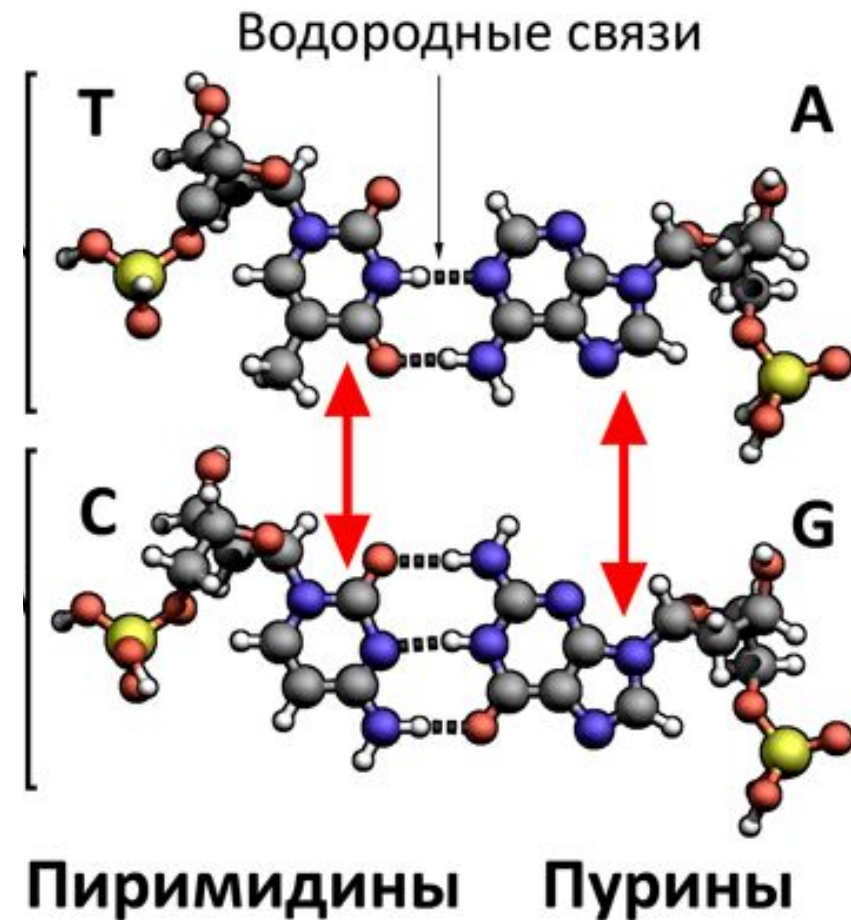
- Двойная спираль, состоящая из двух полинуклеотидных цепей
- Цепи комплементарны, антипараллельны и закручены в спираль вокруг общей оси
- На один виток спирали приходится 10 пар оснований
- Диаметр спирали составляет 2 нм
- Сахарофосфатный остов расположен снаружи, азотистые основания находятся внутри спирали и располагаются стопкой друг над другом



Связи, стабилизирующие вторичную структуру ДНК :

- **Водородные связи** - между комплементарными азотистыми основаниями

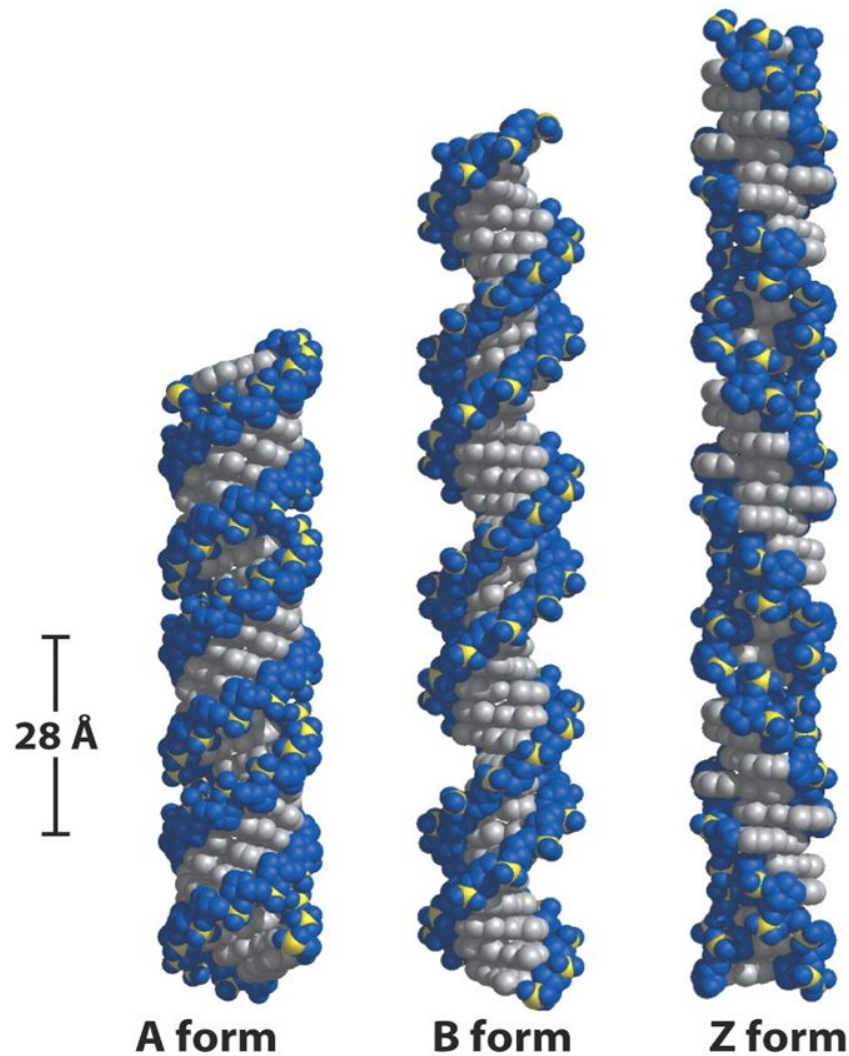
- **Стэкинг-взаимодействия** - между «плоскими» азотистыми основаниями



ВОПРОС № 4

**Пространственная
конфигурация молекулы ДНК.
Модель Уотсона и Крика. В и Z
формы ДНК.**

Пространственные конфигурации молекулы ДНК



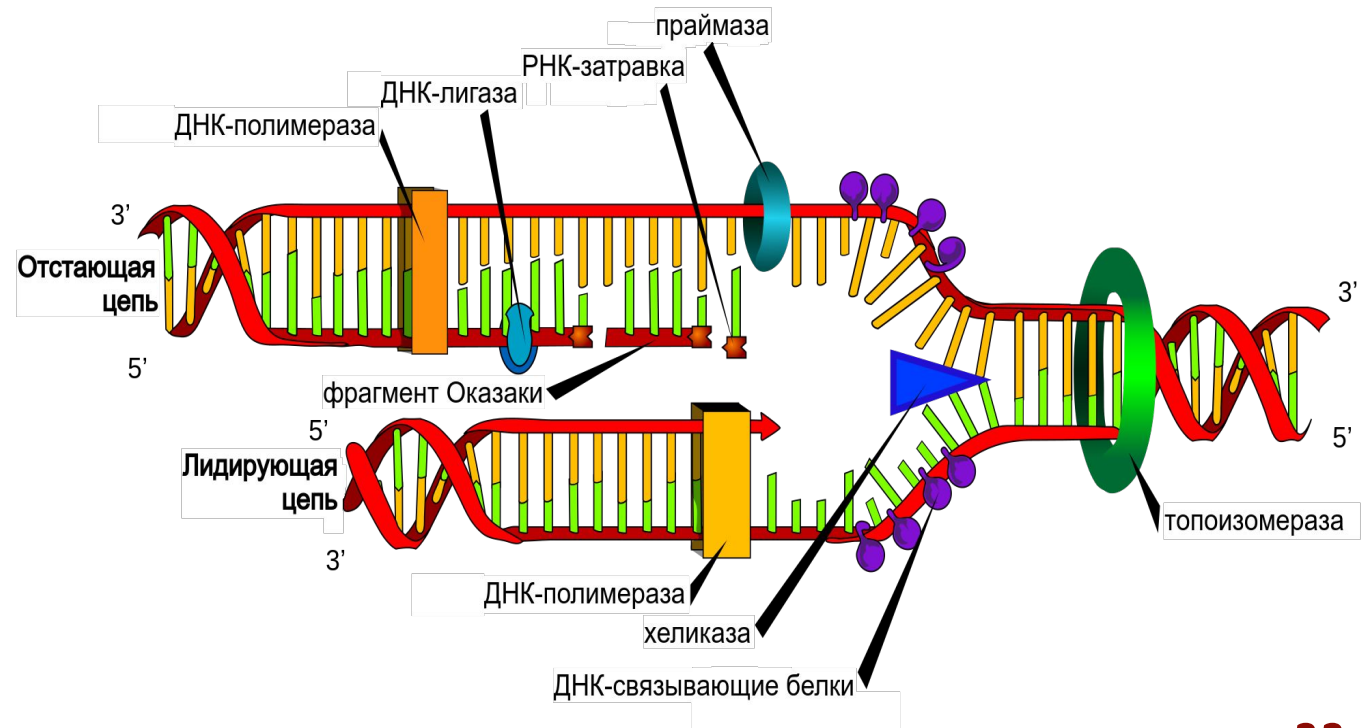
ВОПРОС № 5

**Способы репликации ДНК:
консервативный,
полуконсервативный,
дисперсионный.**

Опыты М. Мезельсона и Ф. Сталя.

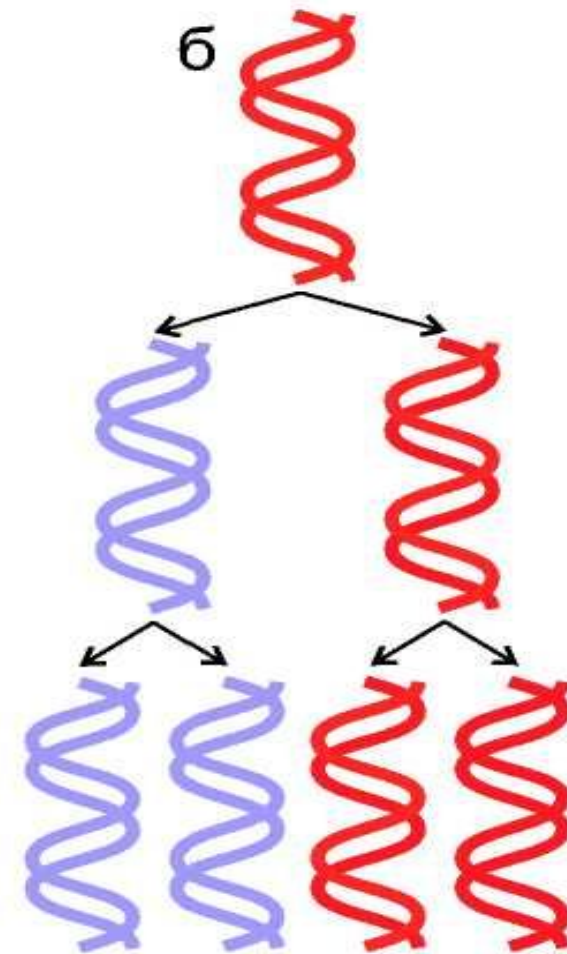
Репликация ДНК

Репликация (от лат. replicatio — возобновление) — процесс синтеза дочерней молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты на матрице родительской молекулы ДНК.



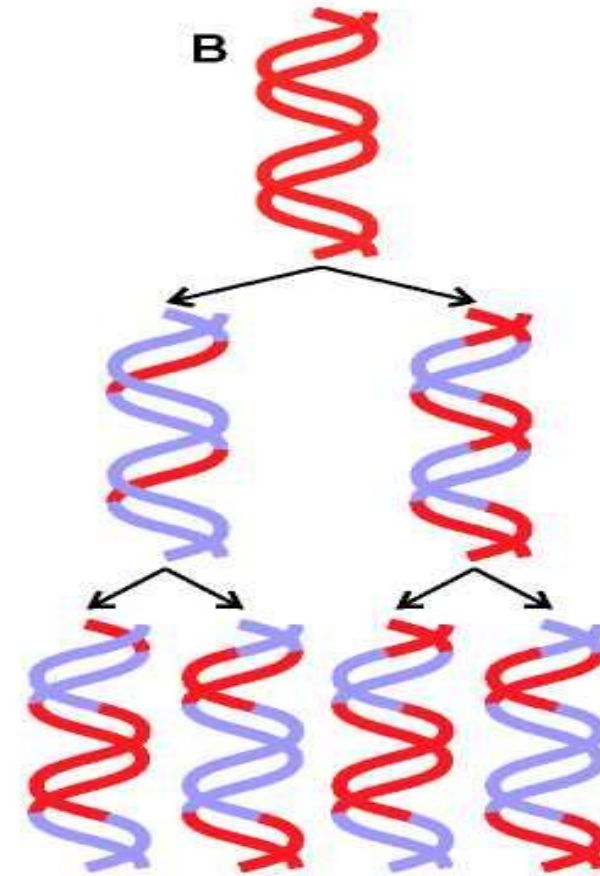
Консервативный способ репликации ДНК

Исходная ДНК остается неизменной во время всего процесса репликации и дочерние ДНК полностью состоят из вновь синтезированной ДНК.



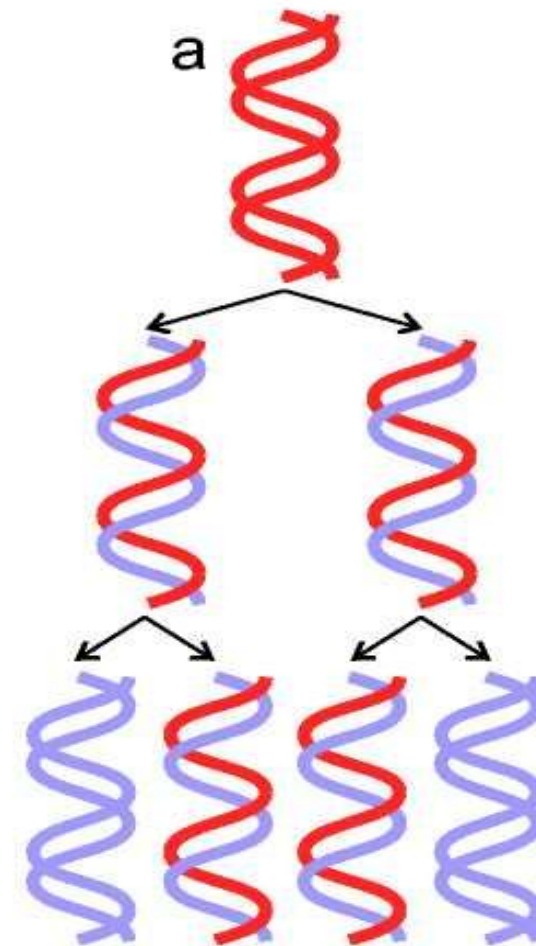
Дисперсионный способ репликации ДНК

Дробление молекул ДНК, в результате которого каждая отдельная цепь новых дочерних молекул содержит в себе участки как старой, так и новой цепи ДНК.



Полуконсервативный способ репликации ДНК

Способ репликации двухцепочечной молекулы ДНК, при котором исходная молекула разделяется на две цепи (с образованием репликативной вилки «*replication fork*»), каждая из которых служит матрицей для синтеза второй (новой) комплементарной полинуклеотидной цепи.



Эксперименты М. Мезельсона и Ф. Сталя

В 1958г. М. Мезельсон и Ф. Сталь с помощью метода равновесного ультрацентрифугирования в градиенте плотности 6М CsCl экспериментально доказали гипотезу полуконсервативного механизма синтеза ДНК.

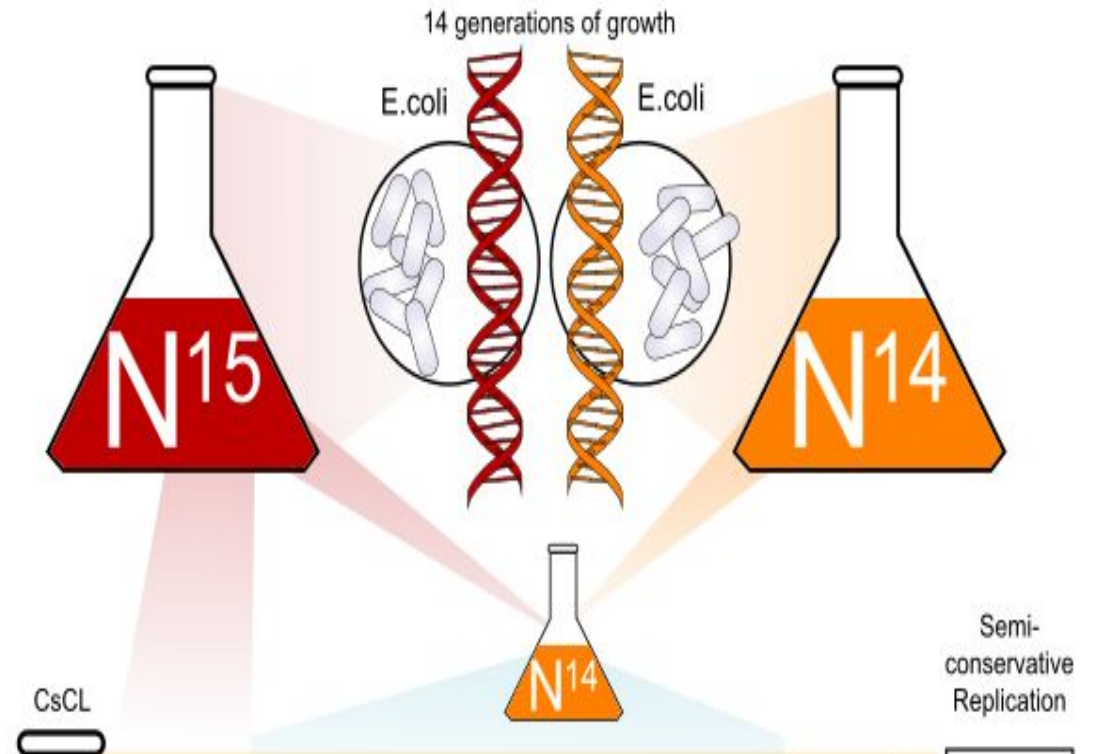
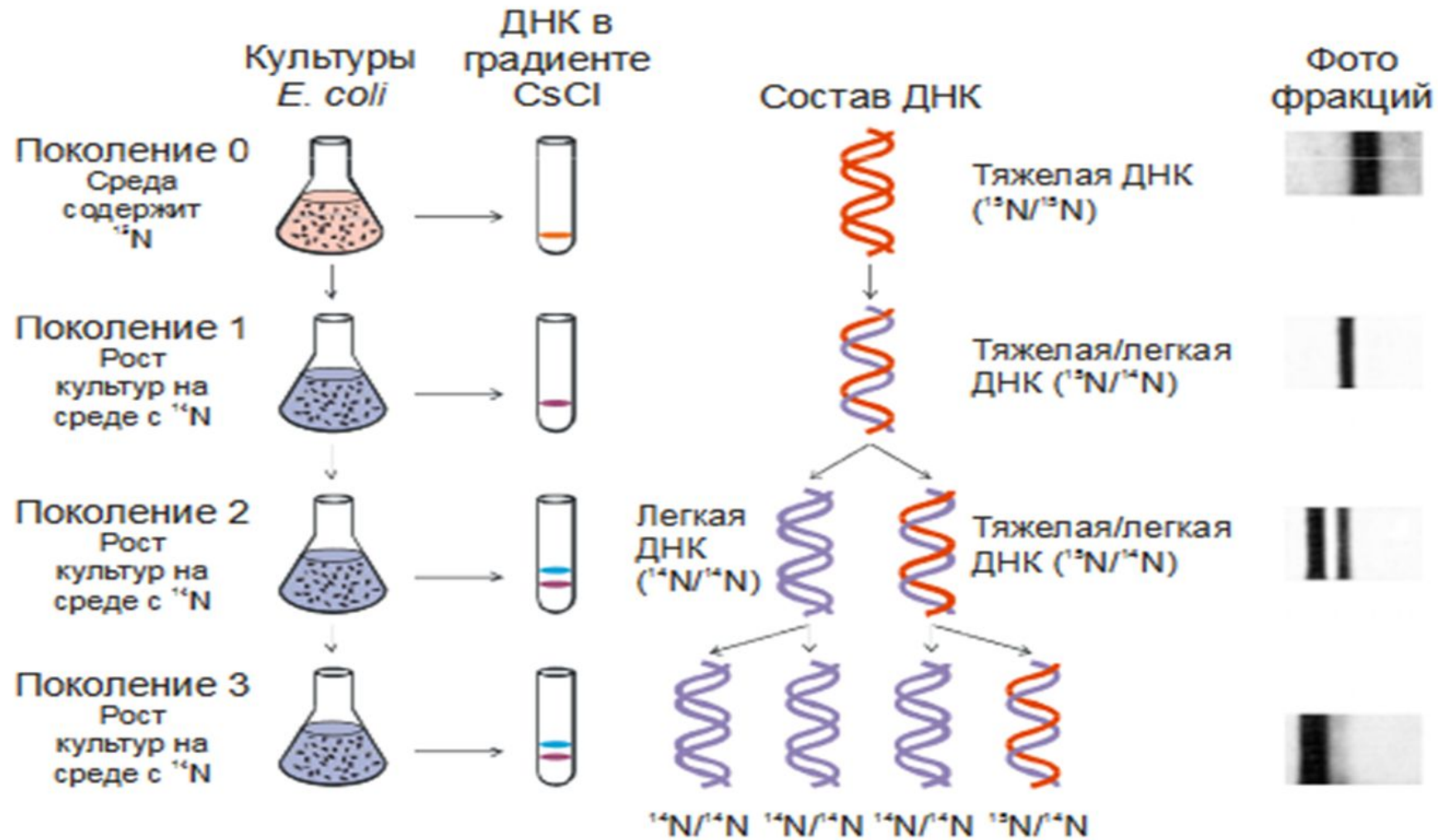


Схема опытов М. Мезельсона и Ф. Сталя



Вывод из опытов М. Мезельсона и Ф. Сталя:

Вся ДНК, выделенная из клеток, выращенных в течение одной генерации в среде с ^{14}N , располагается в градиенте CsCl в положении, промежуточном между положением “тяжелой” ДНК из клеток, выращенных только в среде с ^{15}N , и “легкой” ДНК из клеток, выращенных только в среде с ^{14}N .

ВОПРОС № 6

**Направление репликации ДНК.
Образование репликативной
вилки. Точка *ori*.**

Направление репликации ДНК

В 1963г. Дж. Кэрнс, используя метод автордиографии, визуализировал процесс репликации ДНК у бактерий.

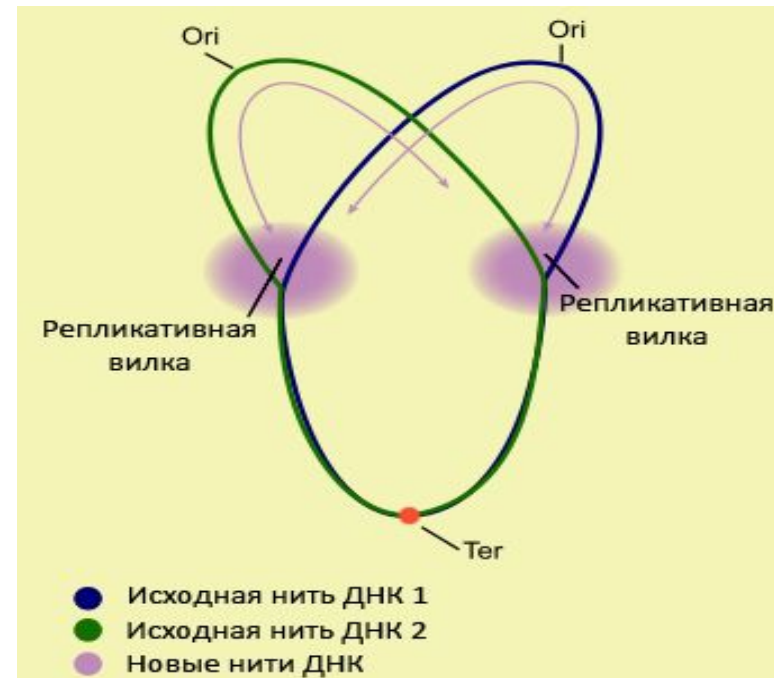
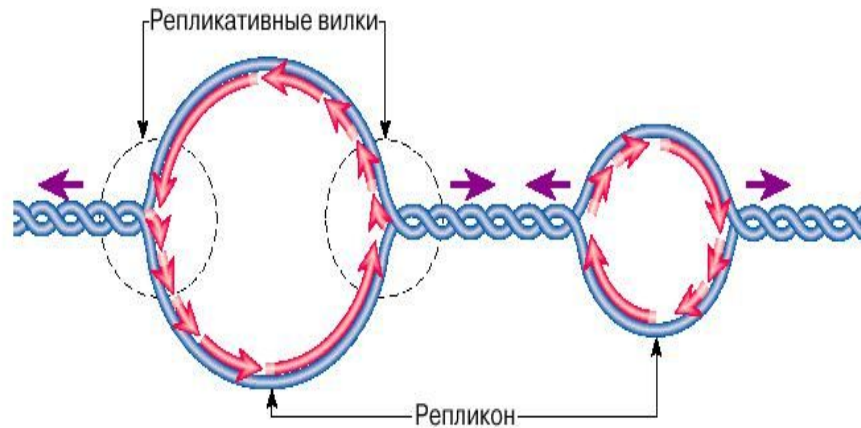


Репликация у бактерий **E.coli** происходит полуконсервативным способом одновременно в двух направлениях – монореplikонная репликация.

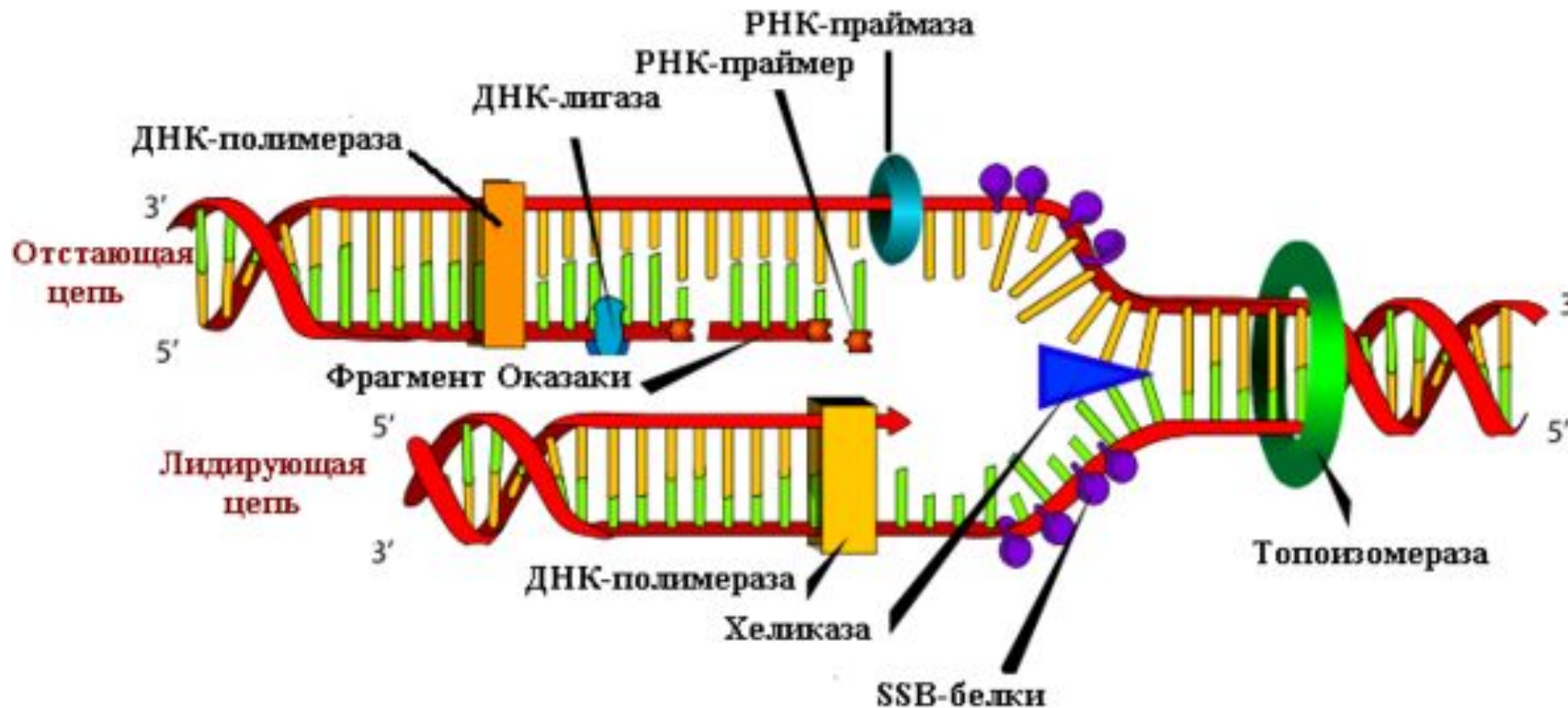
Точка ori

Репликон – расстояние между двумя сайтами начала репликации **ori**.

Точка начала репликации - **ori** (от англ. origin-начало).



Образование репликативной вилки



- Образование репликативной вилки связано с раскручиванием дуплекса ДНК и локальным разделением ее цепей.

ВОПРОС № 7

**Ферменты репликации.
Инициация репликации.
Факторы инициации.**

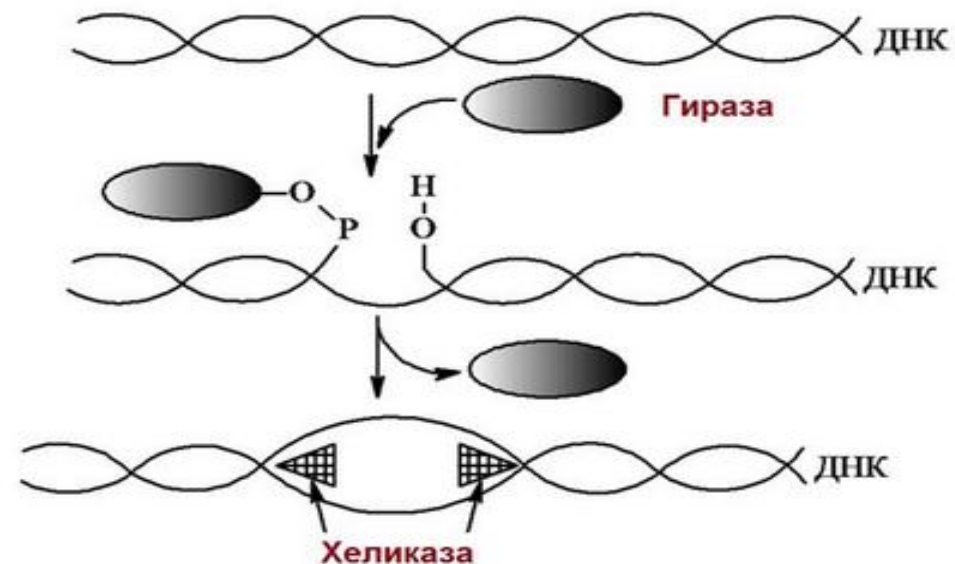
Ферменты, обеспечивающие репликацию ДНК

- **ДНК-полимераза** - фермент катализирующий полимеризацию дезоксирибонуклеотидов на матрице ДНК по принципу комплементарности
- **ДНК-лигаза** – фермент катализирующий образование фосфодиэфирных связей между 5'-фосфорильной и 3'-гидроксильной группами соседних дезоксинуклеотидов в местах разрыва двуцепочечной ДНК
- **ДНК-хеликаза** – фермент разделяющий цепи двухцепочечной ДНК на одинарные.
- **ДНК-топоизомераза** - фермент изменяющий степень сверхспиральности ДНК, путем внесения одноцепочечных разрывов в ДНК.
- **ДНК-праймаза** — это фермент РНК-полимераза, синтезирующий короткий фрагмент РНК, называемый праймером, комплементарный одноцепочечной матрице ДНК.

Этапы репликации ДНК:

1. Инициация

1. **Топоизомераза** (ДНК-гираза) находит точку начала репликации (**ori**), гидролизует одну фосфодиэфирную связь и дает возможность компонентам репликативной системы разомкнуть нити ДНК и образовать «репликативную вилку», а затем вновь соединяет связь между мононуклеотидами;
2. **Хеликаза** разрывает водородные связи между нитями ДНК - образуется «репликативный глазок»;



Этапы репликации ДНК:

1. Инициация

3. **ДНК-связывающие белки** (SSB-белки) стабилизируют репликативную вилку, не давая восстанавливаться водородным связям между комплементарными нуклеотидами;
4. **ДНК-полимераза α** (праймаза) строит праймер «затравку» из 8-10 рибонуклеотидов и 40-50 дезоксирибонуклеотидов, а ДНК-полимераза δ достраивает нить из дезоксирибонуклеотидов на лидирующей нити, а ДНК-полимераза ϵ – на отстающей нити ДНК;

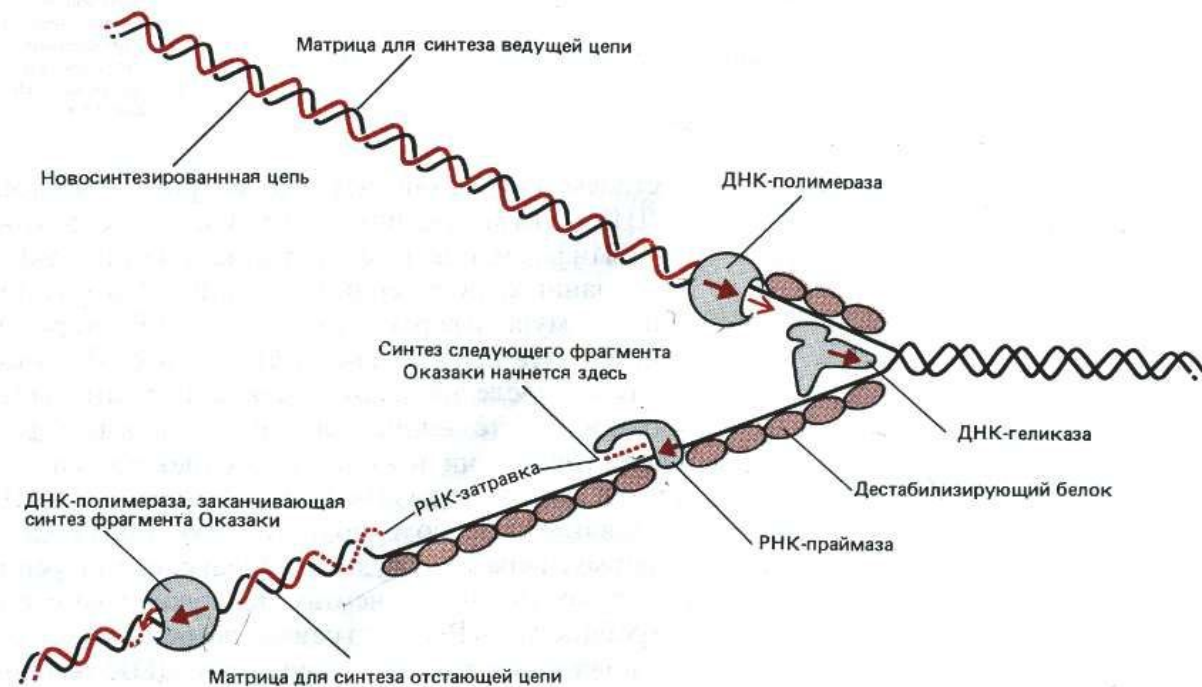
ВОПРОС № 8

**Элонгация репликации.
ДНК-топоизомераза, ДНК-
затравка, ДНК-полимераза.**

Этапы репликации ДНК:

2. Элонгация

5. ДНК-полимераза δ продолжает удлинять нить из дезоксирибонуклеотидов на лидирующей нити, а ДНК-полимеразы α и ϵ - строить фрагменты из праймеров и дезоксирибонуклеотидов (фрагменты Оказаки) на отстающей нити ДНК по мере движения репликативной вилки;



Этапы репликации ДНК:

3. Терминация

6. ДНК-полимераза β (фермент репарации) удаляет праймеры и достраивает фрагменты ДНК;

7. ДНК-лигаза соединяет фрагменты между собой.

