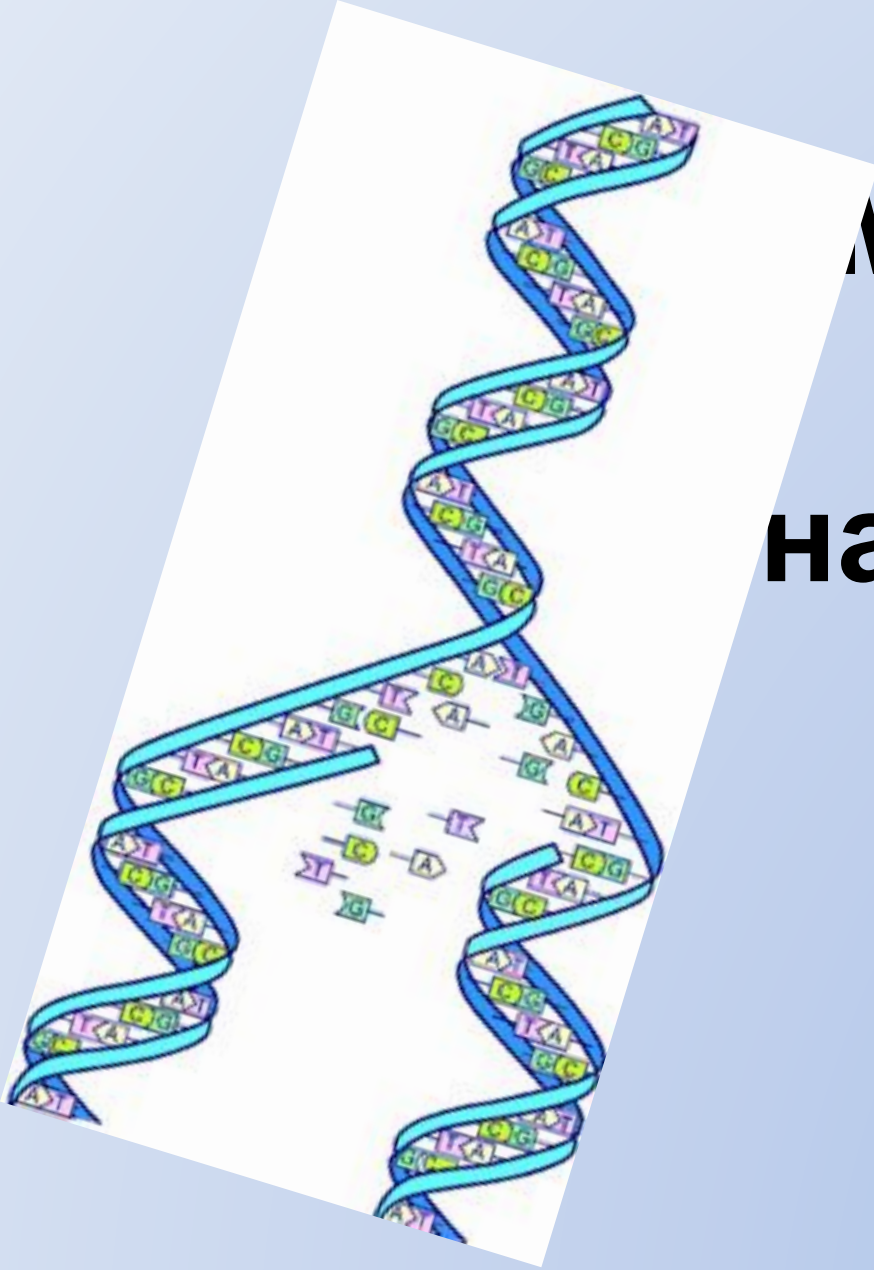


Молекулярные основы наследственности и



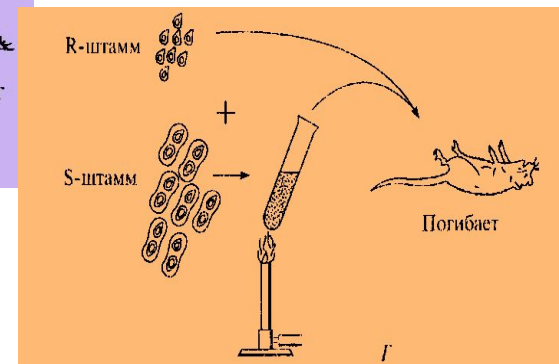
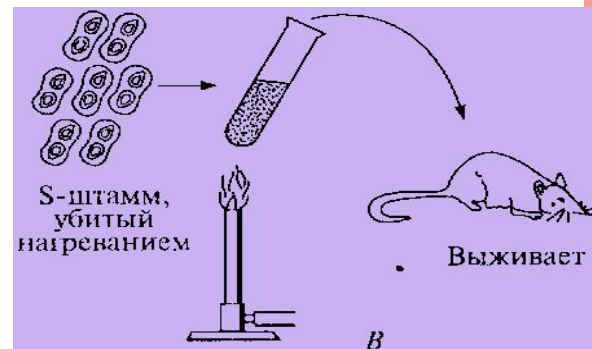
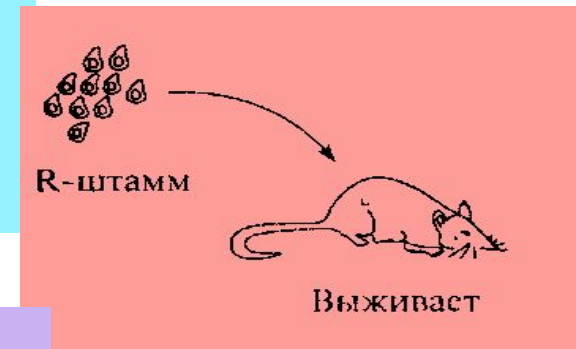
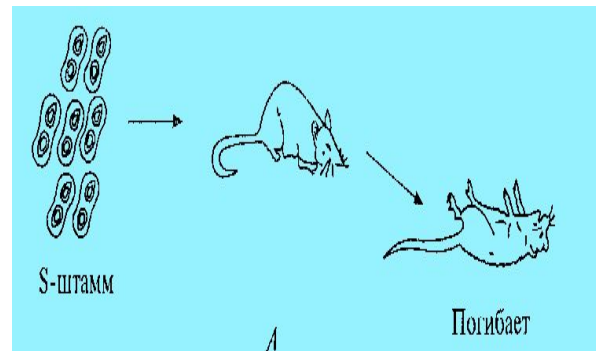
Зенкина Виктория Геннадьевна, к.
М.Н.

План лекции:

- Доказательства генетической роли ДНК
- Химический состав хромосом, функции и свойства ДНК
- Биологический код, его характеристика
- Репликация ДНК
- Особенности строения и виды РНК
- Реализация наследственной информации: транскрипция, процессинг, трансляция. Особенности строения и виды РНК.
- Регуляция генной активности
- Репаративные процессы в ДНК
- Генная инженерия
- Цитоплазматическая наследственность
- Мутагены и антимутагены

Трансформация – включение чужеродной ДНК в бактериальную клетку (Гриффитс, 1928 год, при изучении штаммов пневмококка)

- свойство убитых бактерий - наличие капсулы и вирулентность передались от убитых бактерий к живым, произошла трансформация R штамма в S.



Трансдукция – способность вируса захватывать с собой часть ДНК клетки хозяина и передавать новым хозяевам свойства прежних

- Ледеберг и Зиндер в 1952 г – опыты по трансдукции. Вирус – бактериофаг добавили к бактериям, синтезирующим триптофан ...

Доказательства генетической роли ДНК:

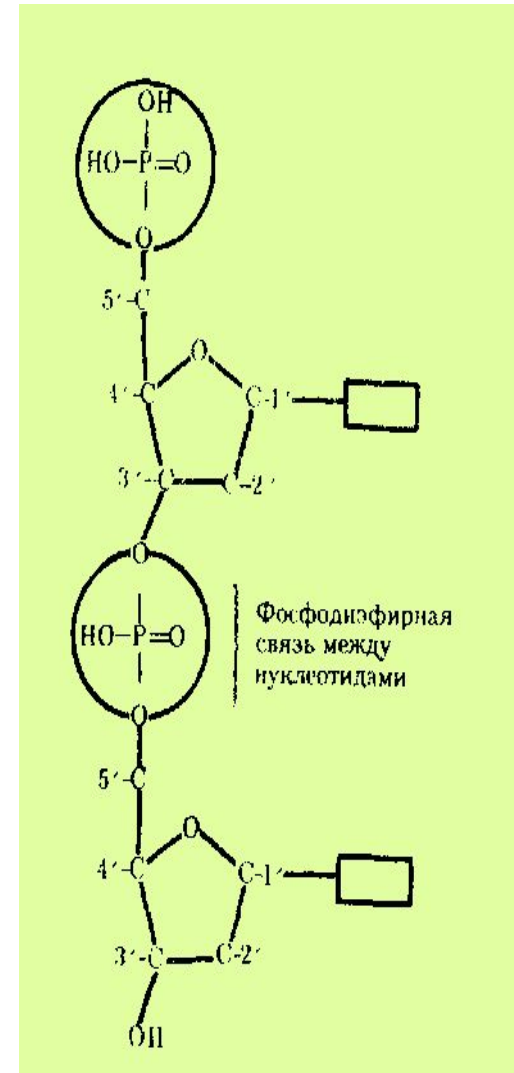
- 1) изотопный способ: бактериофаги помечали радиоактивной серой и фосфором, в результате вновь образованные фаги содержали только фосфор, которым была помечена ДНК
- 2) опыты по гибридизации вирусов, когда гибриды содержали белковый футляр одного вида, а нуклеиновую кислоту другого
- 3) конъюгационный перенос: две бактерии — кишечные палочки могут конъюгировать между собой и ДНК одной переходит к другой
- 4) клонирование клеток, метод соматической гибридизации

Химический состав хромосом

- Хромосомы состоят из ДНК (40%) и белка (60%)
- Белков 2 вида: гистоновые (основные – 70%) и негистоновые (кислые – 30%)

Строение ДНК

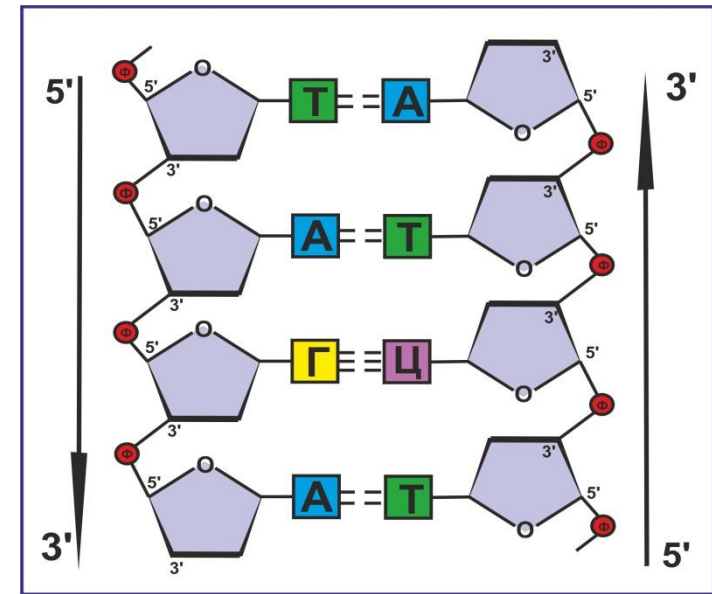
- **ДНК** – полимерная молекула, состоящая из повторяющихся мономерных звеньев, называемых нуклеотидами
- **Нуклеотид** состоит из азотистого основания, сахара – дезоксирибозы и остатка фосфорной кислоты
- К первому атому углерода в молекуле пентозы С-1' присоединяется азотистое основание, к пятому атому С-5' с помощью эфирной связи – фосфат, у третьего атома С-3' всегда имеется гидроксильная группа – ОН
- Соединение нуклеотидов в макромолекулу происходит путем взаимодействия фосфата одного нуклеотида с гидроксильной группой другого так, что между ними устанавливается фосфодиэфирная связь
- Азотистые основания в ДНК: аденин, гуанин – пуриновые; тимин и цитозин – пиримидиновые



Правила Чаргаффа

- У всякого организма число адениновых нуклеотидов равно числу тиминовых, а число гуаниновых — числу цитозиновых: $A=T$, $G=C$
- Число пуриновых оснований равно числу пиримидиновых оснований: $A+G=T+C$
- Соотношение $A+T/G+C$ = видовому индексу (у человека 1,53)
- Количество нуклеотидов в молекуле ДНК равно 100% или 1: $A+G+T+C = 100\%$

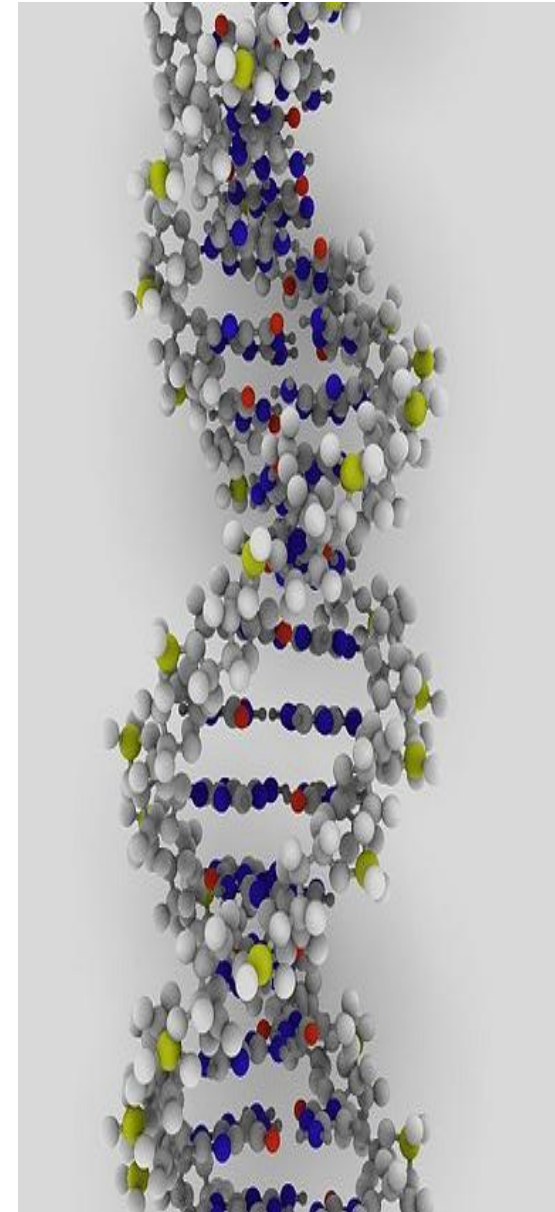
Молекула ДНК включает две полинуклеотидные цепи, соединённые друг с другом водородными связями между их азотистыми основаниями по принципу комплементарности



- **Принцип комплементарности:** аденин одной цепи соединяется двумя водородными связями с тимином другой цепи, а между гуанином и цитозином разных цепей образуются три водородные связи
- Полинуклеотидные цепи в молекуле ДНК **антипараллельны**, т.е. взаимнопротивоположны: 5'-конец одной цепи соединяется с 3'-концом другой, и наоборот. На 5'-конце цепи ДНК всегда расположен свободный фосфат у 5'-атома углерода, на противоположном 3'-конце – свободная ОН-группа у 3' атома углерода

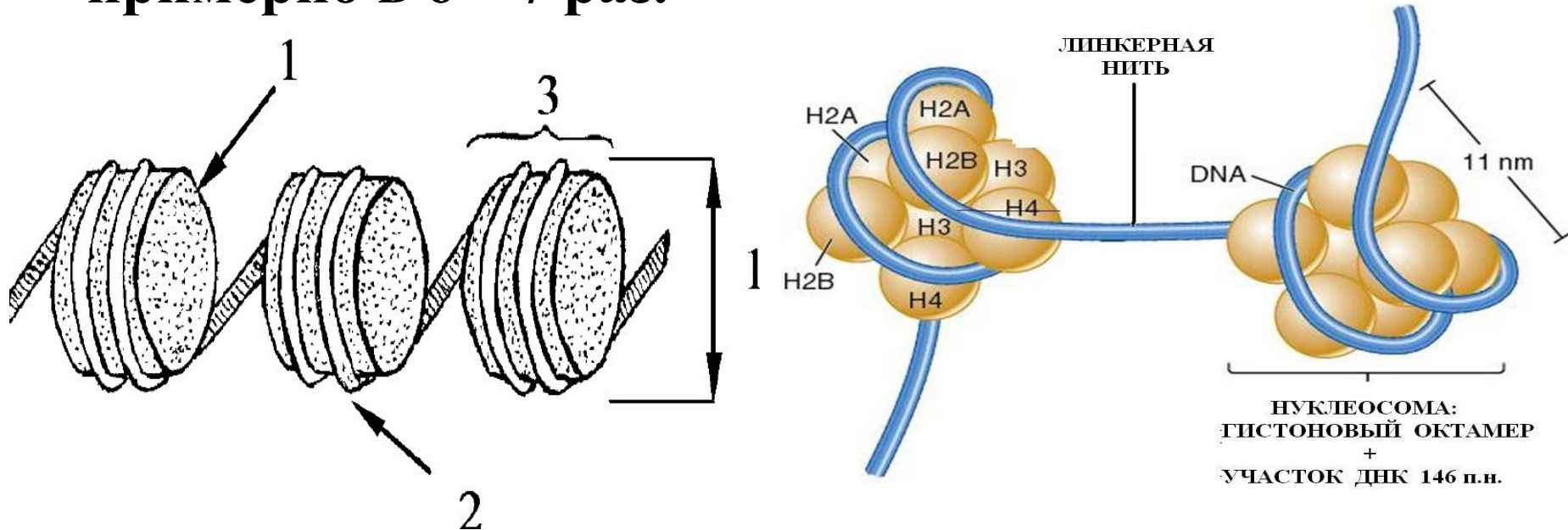
Модель ДНК

- **Свойства ДНК:** двухцепочечная, правозакрученная спираль, гены в которой располагаются линейно, антипараллельность цепей, прерывистость (интроны и экзоны). Ген – участок ДНК, состоящий из нуклеотидов от нескольких десятков до тысяч, кодирующий какой-либо признак
- **Функции ДНК:** хранение и воспроизводство генетической информации



Уровни упаковки генетического материала

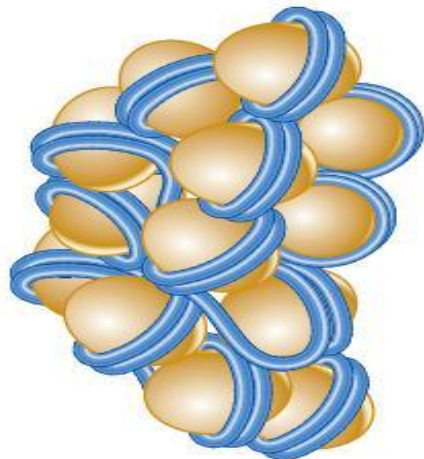
- **Нуклеосомный уровень**
- **Нуклеосома** — это белковая глобула (октаэдр), содержащая по 2 молекулы четырех гистонов H2A, H2B, H3, H4, вокруг которой двойная спираль ДНК образует 1,8 витка (200 пар нуклеотидов). Нуклеосомная нить имеет диаметр = 10-13 нм. Такая структура обеспечивает компактизацию ДНК примерно в 6—7 раз.



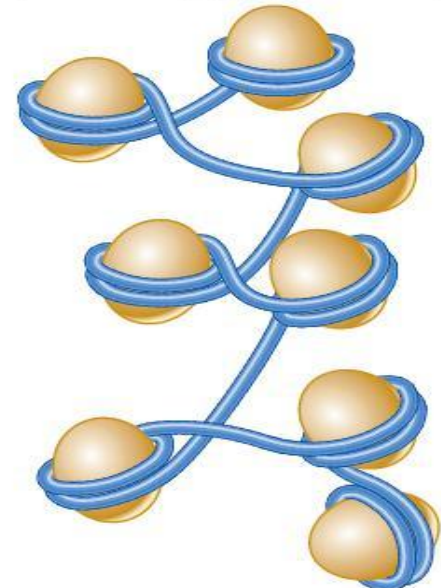
Вторая уровень компактизации – соленоидный (супернуклеосомный)

- Формирование хроматиновой фибриллы диаметром 25-30 нм. В этом процессе участвует гистон Н1, который связывается с линкерной ДНК между нуклеосомными корами и сворачивает нуклеосомную фибриллу в спираль, с шагом в 6-8 нуклеосом. Длина ДНК сокращается в 50 раз.

30 nm

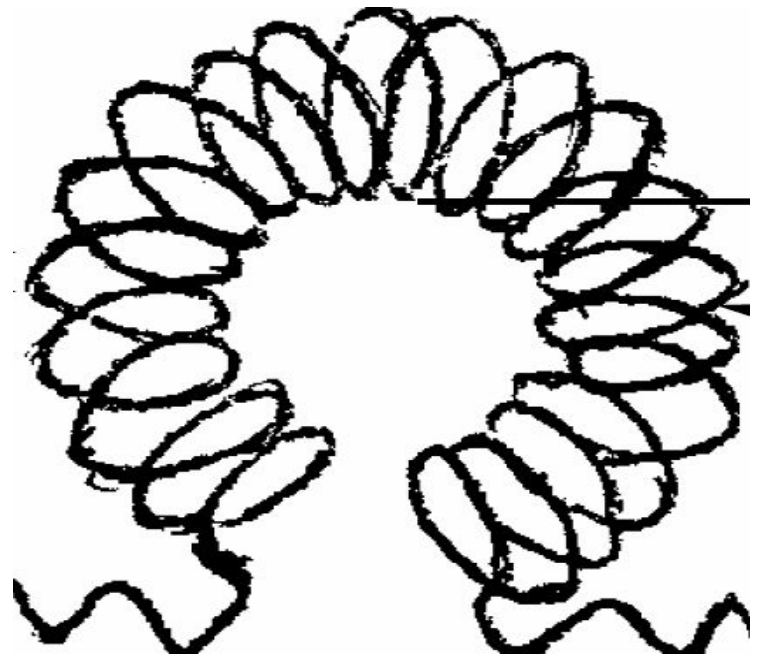
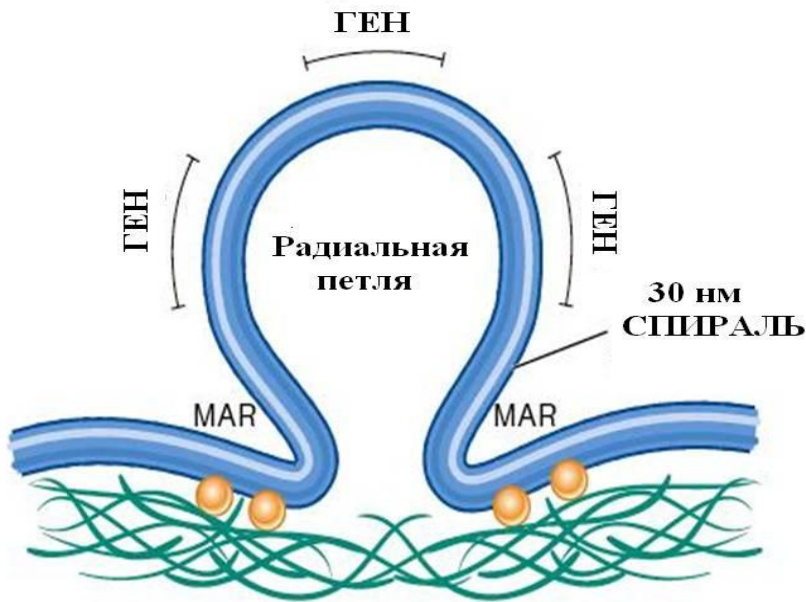


30 nm



Третий уровень – петлевой

- Соленоидная фибрилла складывается, образуя петли различной длины. Длина ДНК сокращается в 1000 раз. Диаметр структуры в среднем составляет 300 нм, типична для интерфазной хромосомы.



Четвертый уровень – хроматидный

- Образуются хроматиды диаметром примерно 600-700 нм.

Двойная
спираль ДНК
2 нм

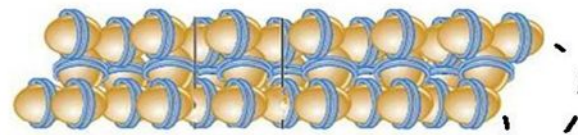
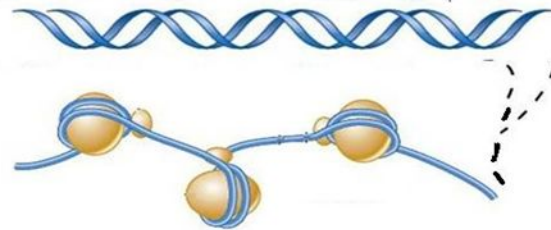
Нуклеосомная
нить 11 нм

Хроматиновая
нить 30 нм

Scaffold

Хроматиновые
петли 300 нм

Хроматида
700 нм

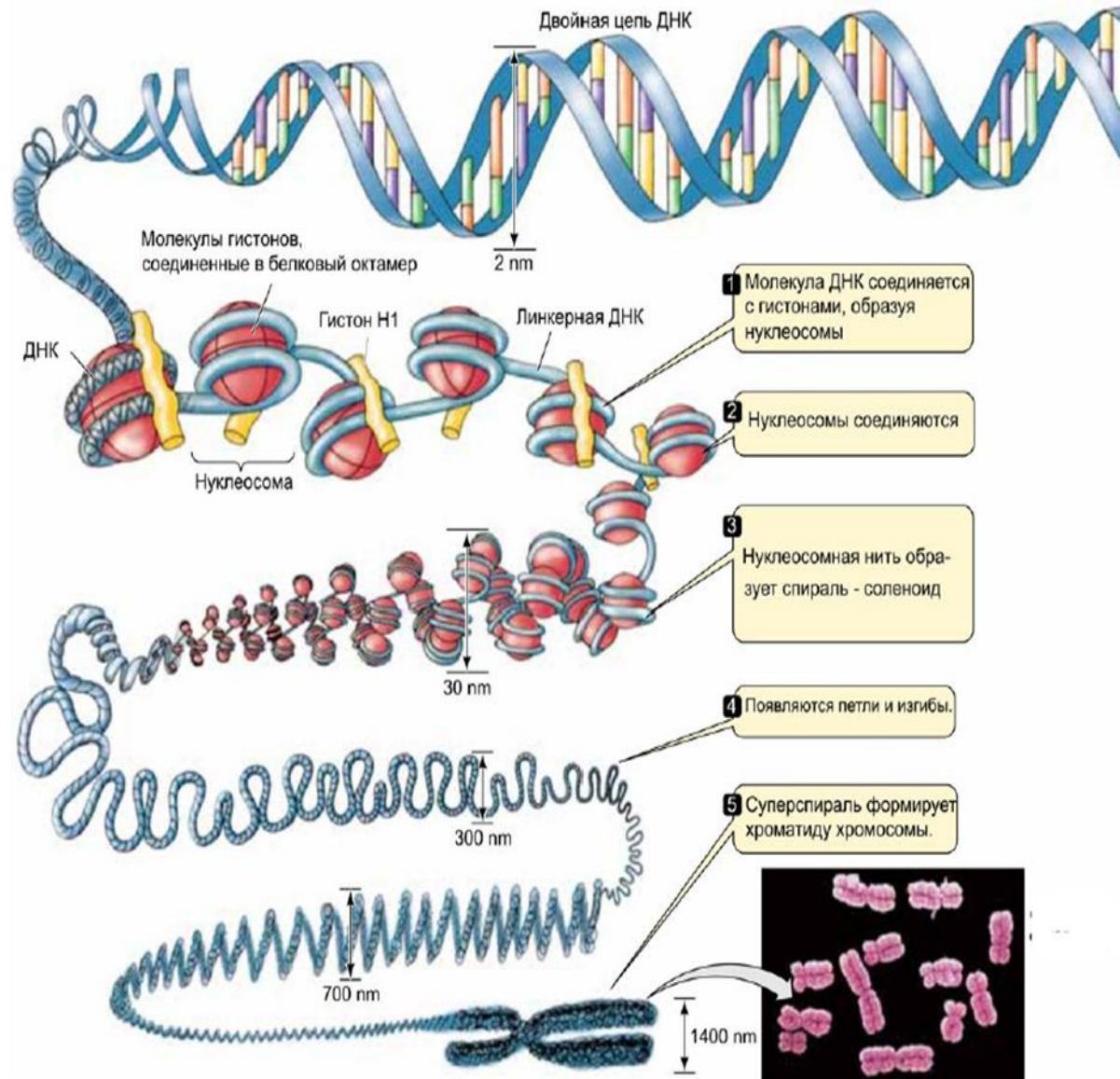


Метафазная хромосома



Пятый уровень — метафазной хромосомы

- Ступень компактизации и (в 7000 раз) характерна для метафазной хромосомы; ее диаметр равен 1400 нм.



Генетический код – это
последовательность нуклеотидов в
цепи ДНК, которая определяет
последовательность аминокислот
в белке

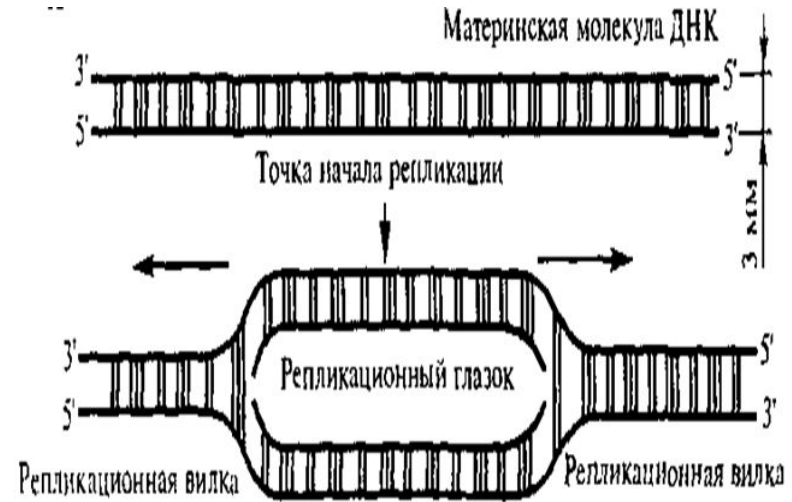
		ВТОРАЯ БУКВА					
		U	C	A	G		
ПЕРВАЯ БУКВА	U	UUU } Фенил-аланин F UUC } UUA } Лейцин L UUG }	UCU } UCC } Серин S UCA } UCG }	UAU } Тирозин Y UAC } UAA } Стоп-кодон UAG } Стоп-кодон	UGU } Цистеин C UGC } UGA } Стоп-кодон UGG } Триптофан W	U	C
	C	CUU } Лейцин L CUC } CUA } CUG }	CCU } CCC } Пролин P CCA } CCG }	CAU } Гистидин H CAC } CAA } Глутамин Q CAG }	CGU } CGC } Аргинин R CGA } CGG }	C	A
	A	AUU } Изолейцин I AUC } AUA } AUG } Метионин старт-кодон M	ACU } ACC } Треонин T ACA } ACG }	AAU } Аспарагин N AAC } AAA } Лизин K AAG }	AGU } Серин S AGC } AGA } Аргинин R AGG }	A	G
	G	GUU } Валин V GUC } GUA } GUG }	GCU } GCC } Аланин A GCA } GCG }	GAU } Аспарагиновая кислота D GAC } GAA } Глутаминовая кислота E GAG }	GGU } GGC } Глицин G GGA } GGG }	G	U

Свойства кода:

- триплетность
- коллинеарность (линейность)
- неперекрываемость
- однозначность
- избыточность (выраженность)
- универсальность

Репликация ДНК

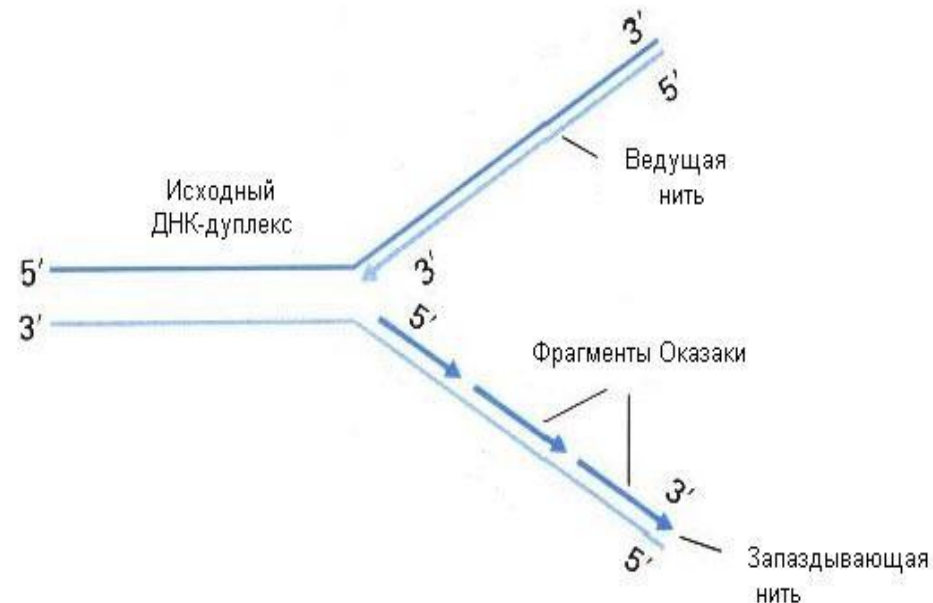
- Репликация ДНК
Синтез ДНК называется репликацией или редупликацией.
В 1959 г. Артуру Корнбергу была присуждена Нобелевская премия за открытие механизма биосинтеза ДНК.



Принципы репликации ДНК

1. Прерывистость. Синтез новых цепей ДНК фрагментами. Репликон — участок между двумя точками, в которых начинается синтез «дочерних» цепей.
2. Комплементарность.
3. Полуконсервативность.
4. Антипараллельность.

РЕПЛИКАТИВНАЯ ВИЛКА



РНК

- **Нуклеиновая кислота**, состоящая из нуклеотидов, в состав которых входят азотистые основания (А У Г Ц), сахар рибоза и остаток фосфорной кислоты
- Виды РНК: информационная, рибосомальная, транспортная и затравочная
- Все виды РНК образуются в ядре

И - РНК

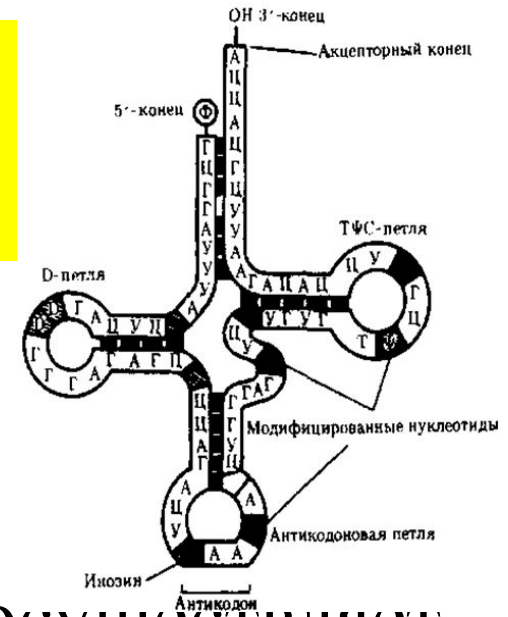
- И-РНК образовавшаяся в результате транскрипции называется незрелой, т.к. имеет в своем составе интроны и экзоны
- Процесс созревания (вырезание неинформативных участков — интронов) называется процессинг. В этом участвуют рестриктазы
- А процесс сшивания экзонов — сплайсинг происходит с помощью лигаз

Р-РНК

- (90%)
- включает в себя до 3000-5000 нуклеотидов
- из р-РНК построен структурный каркас рибосом, ей принадлежит важная роль в инициации, окончании синтеза и отщеплении готовых молекул белка от рибосом

Т-РНК

- (10-15%)
- состоит из 70-100 нуклеотидов
- массой 25-30 тыс.
- содержится в цитоплазме клеток и осуществляет перенос аминокислот из цитоплазмы на рибосомы
- имеет вид клеверного листа.
- на одном из концов имеет участок, к которому прикрепляется определенная аминокислота — акцепторный участок, на другом — участок, в котором располагается антикодон — это три нуклеотида, комплементарные кодону м-РНК.



Z-РНК

- (0,1%)
- участвует в репликации
- короткие молекулы, необходимые для синтеза фрагментов Оказаки, отстающей цепи ДНК при репликации

Гены подразделяются:

- **Структурные** – гены, кодирующие белки;
- **Регуляторные или функциональные** - гены, контролирующие синтез РНК, оказывающие влияние на активность структурных генов.
- **Экзоны** - кодирующие участки гена, отвечающие за синтез аминокислотной последовательности белка.
- **Интроны** – некодирующие участки гена.

Транскрипция

- **Транскрипция** – это процесс переписывания информации с молекул ДНК на и-РНК с помощью фермента РНК-полимеразы по принципу комплементарности.

- **Этапы транскрипции:**

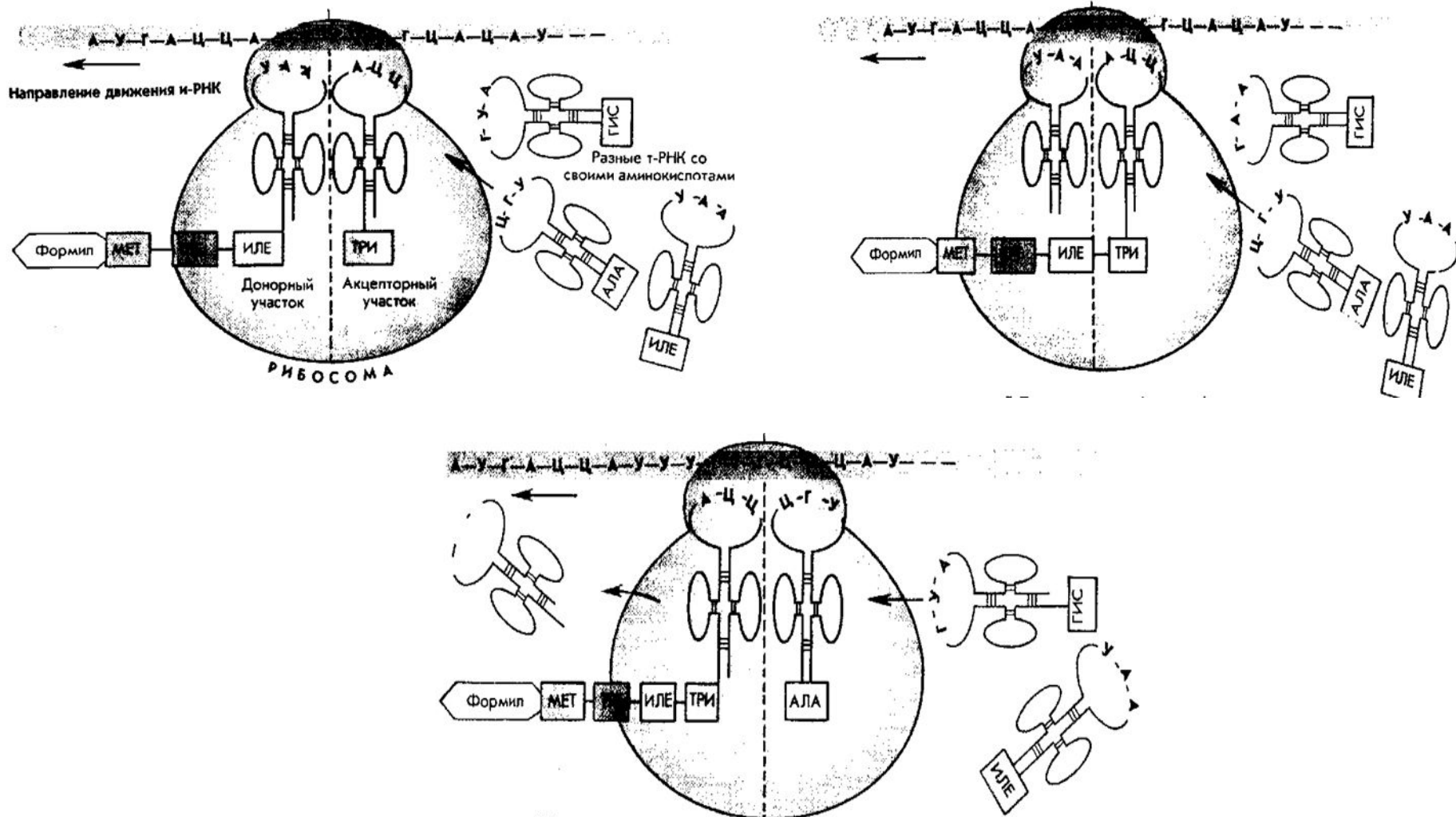
1. Связывание РНК-полимеразы с промотором
2. Инициация – начало синтеза
3. Элонгация – рост цепи РНК
4. Терминация – завершение синтеза и-РНК.

- И-РНК образовавшаяся в результате транскрипции называется незрелой, т.к. имеет в своем составе интроны и экзоны. Процесс созревания (вырезание неинформативных участков – интронов) называется **процессинг**. В этом участвуют рестриктазы. А процесс сшивания экзонов – **сплайсинг** происходит с помощью лигаз.

В структуре зрелой и-РНК выделяют

- 1. иницирующая часть: колпачок (узнает), лидер кодон (присоединяется к комплементарному ему участку малой субъединицы рибосомы), стартовый кодон (АУГ – формил-метионин)
- 2. кодирующая часть (элонгатор) – экзоны, которые кодируют аминокислоты белка
- 3. терминатор – триплет, заканчивающий трансляцию

Трансляция — это процесс реализации информации, закодированной в структуре м-РНК, в последовательность аминокислотных остатков белка.



Этапы трансляции:

- - присоединение и-РНК к рибосоме
- - активация а/к и ее присоединение к т-РНК
- - инициация (начало синтеза полипептидной цепи)
- - элонгация — удлинение цепи
- - терминация — окончание синтеза
- - дальнейшее использование и-РНК или ее разрушение

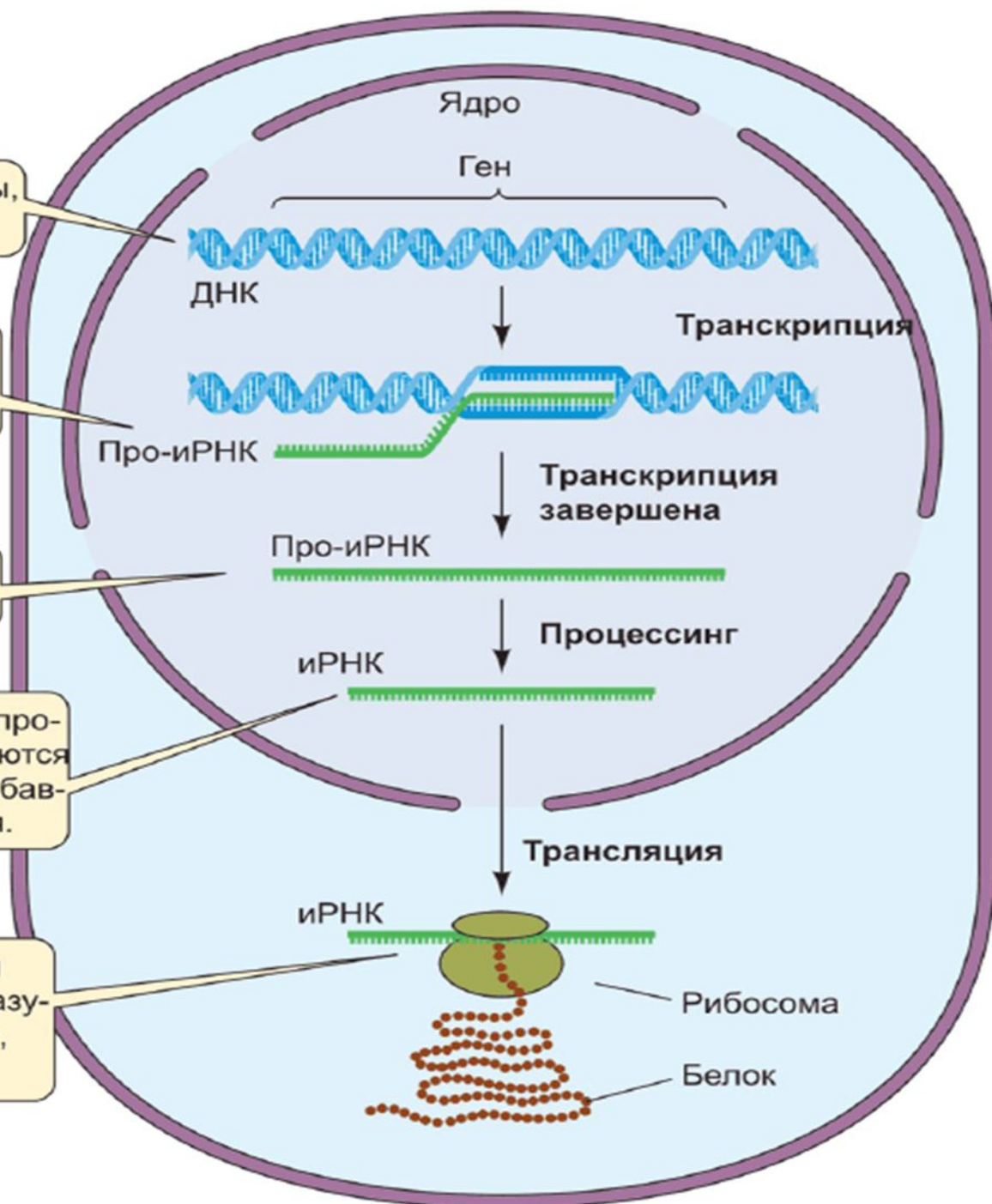
1 ДНК ядра содержит гены, кодирующие белки

2 Гены транскрибируются для образования иРНК

3 Предшественником иРНК является про-иРНК

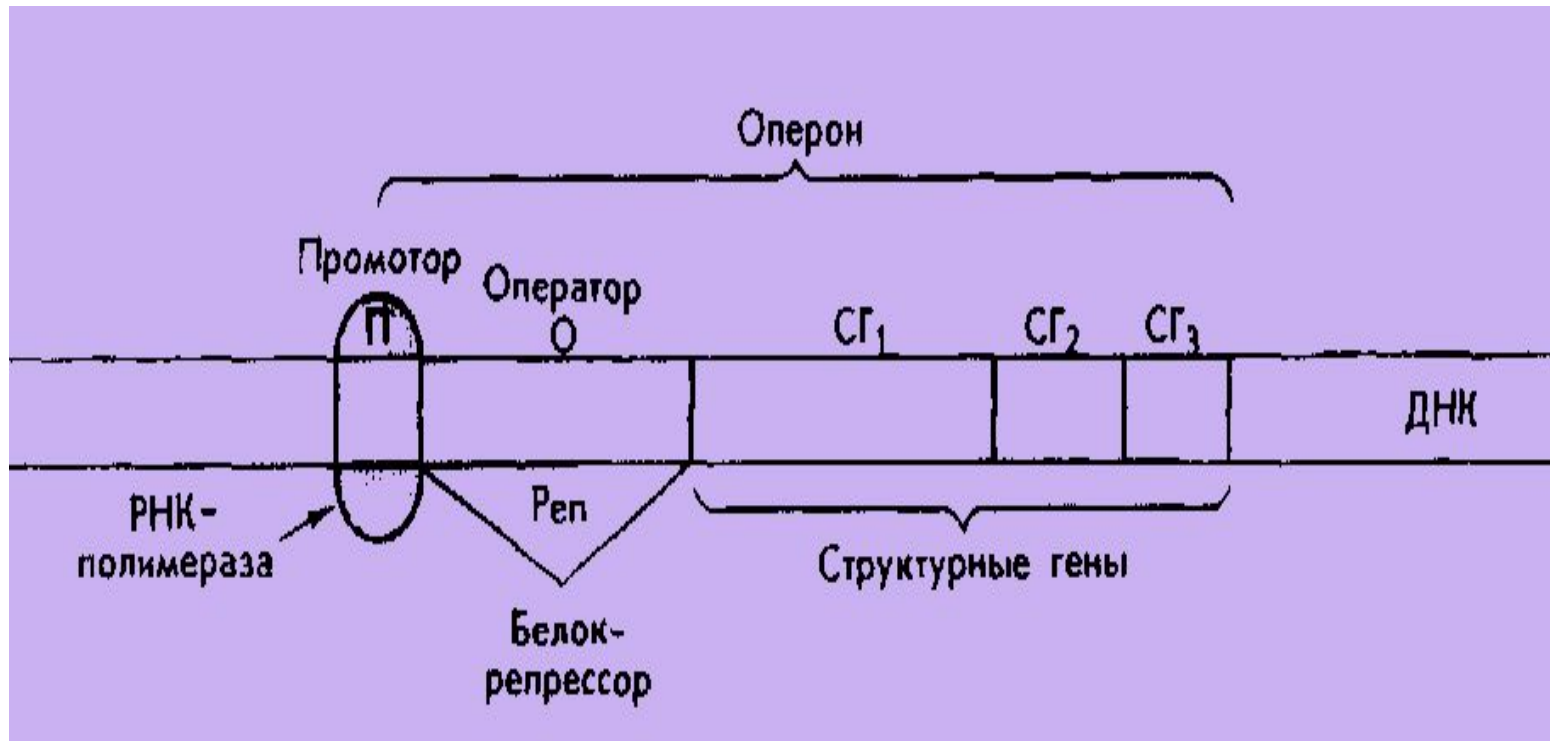
4 про-иРНК подвергается процессингу: интроны удаляются, концевые фрагменты добавляются, иРНК образуется.

5 В цитоплазме рибосомы транслируют иРНК, образуется белок (полипептид), закодированный в гене.



Регуляция генной активности

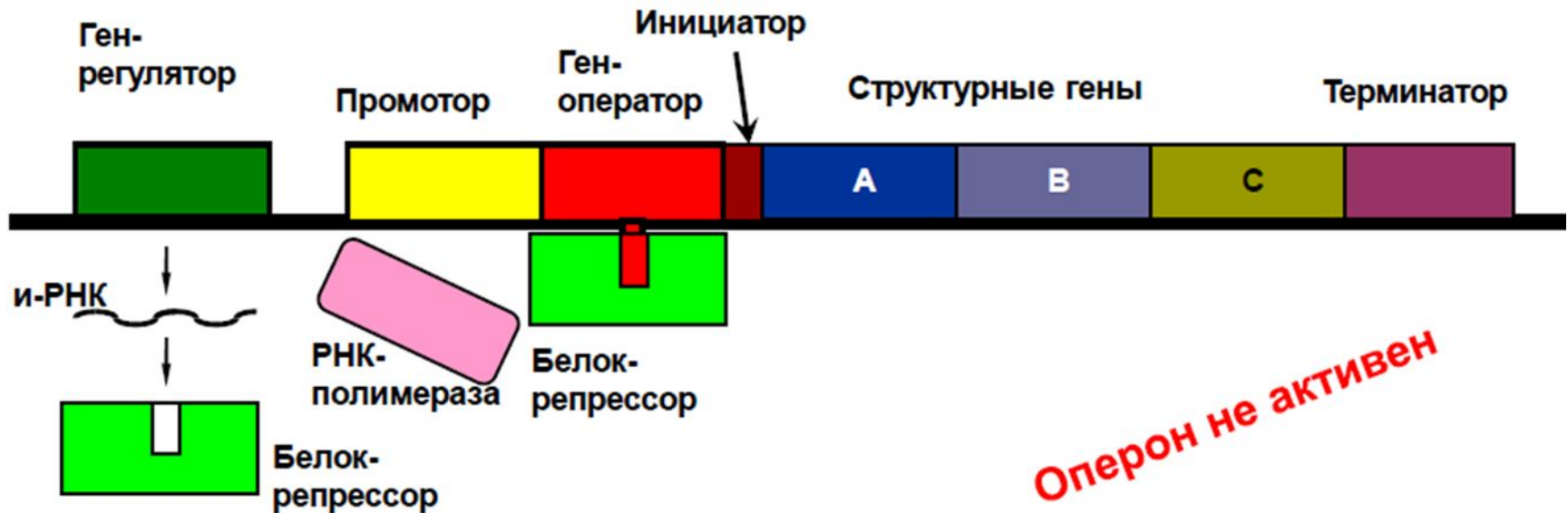
- Схема Ф. Жакобо и Ж. Моно, 1961 г.



- Единица регуляции транскрипции – оперон, в состав которого входят:
- 1. Промотор – место прикрепления РНК-полимеразы
- 2. Ген-оператор – регулирует доступ РНК-полимеразы к структурным генам, взаимодействуя с регуляторными белками
- 3. Инициатор – место начала считывания генетической информации
- 4. Структурные гены – определяют синтез белков-ферментов, обеспечивающие цепь последовательных биохимических реакций
- 5. Терминатор – последовательность нуклеотидов завершающих транскрипцию

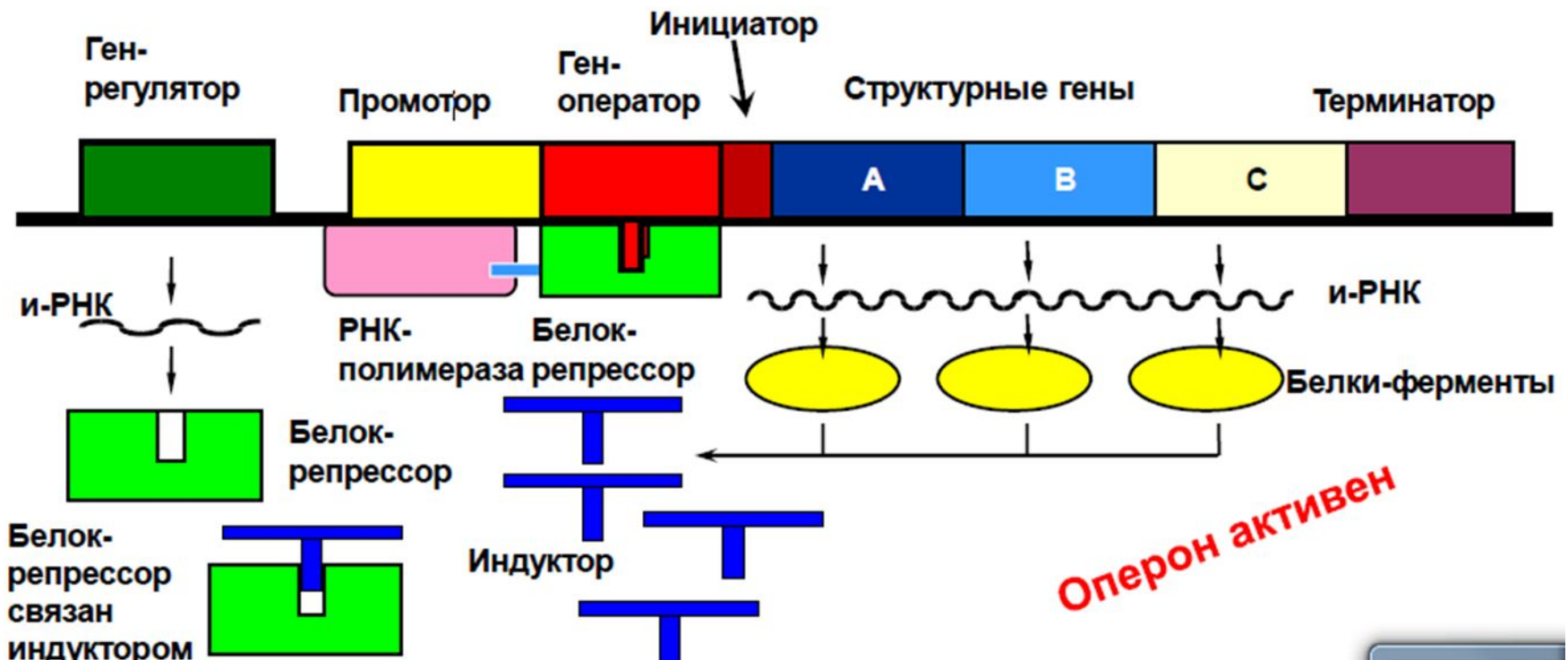


- Ген-регулятор расположен вблизи оперона, он постоянно активен, на основе его информации синтезируется белок – репрессор



- Белок – репрессор образует химическое соединение с геном-оператором, и препятствует соединению РНК-полимеразы с промотором

- Механизм регуляции активности оперона - индукция



РЕПАРАЦИЯ

- **ФОТОРЕАКТИВАЦИЯ** или **СВЕТОВАЯ** репарация.
В результате УФ - облучения целостность молекул ДНК нарушается, так как в ней возникают димеры, т. е. сцепленные между собой соединения в области пиримидиновых оснований. Фотореактивация катализируется ферментом фотолиазой, который активируется фотоном света и расщепляет димер на исходные составляющие.
- **ТЕМНОВАЯ** или **ЭКСЦИЗИОННАЯ** репарация.
Осуществляется в пять этапов: 1 - нарушения узнаются специфическими белками; 2 - эндонуклеазы делают надрезы в поврежденной цепи; 3 - экзонуклеазы осуществляют вырезание поврежденного участка; 4 - синтез нового участка по принципу комплементарности взамен удаленного фрагмента, с помощью ДНК-полимеразы; 5 - ДНК-лигаза соединяет концы старой цепи и восстановленного участка.

- **Генная инженерия** — совокупность приёмов, методов и технологий получения рекомбинантных РНК и ДНК, выделения генов из организма (клеток), осуществления манипуляций с генами и введения их в другие организмы.
- **Основные направления – создание трансгенных растений и животных и разработка принципов генной терапии.**

- 1. Получают нужный ген.
- 2. Подбирают вектор, обладающий всеми необходимыми характеристиками.
- 3. Вектор и клонированный ген обрабатывают одинаковыми рестриктазами.
- 4. Сшивают вектор и встроенный ген с помощью ДНК-лигазы.
- 5. Вводят рекомбинантную конструкцию из вектора и встроенного гена в клетки–мишени реципиента – осуществляют трансформации.
- 6. Проверяют наличие трансгена в клетках – мишенях.

Цитоплазматическая наследственность

- Собственную ДНК имеют пластиды, митохондрии, центриоли.
- Пластидная наследственность обнаружена у декоративных цветов львиного зева, ночной красавицы.
- В цитоплазме бактерий обнаружены автономно расположенные плазмиды, состоящие из кольцевых молекул ДНК. Выделяют три типа плазмид: содержащих половой фактор F, фактор R и плазмиды-колиценогены.
- Фактор R встречается у ряда патогенных бактерий, с ним связана устойчивость к ряду лек. средств. Эти плазмиды имеют ген образования конъюгационного мостика. Такие мостики образуются между кишечной палочкой, обитающей в кишечнике и патогенными бактериями и фактор R может переходить от кишечной палочки к ним. В результате они становятся нечувствительными к тем лекарствам, которые обычно для них губительны.

Благодарю за внимание

