

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

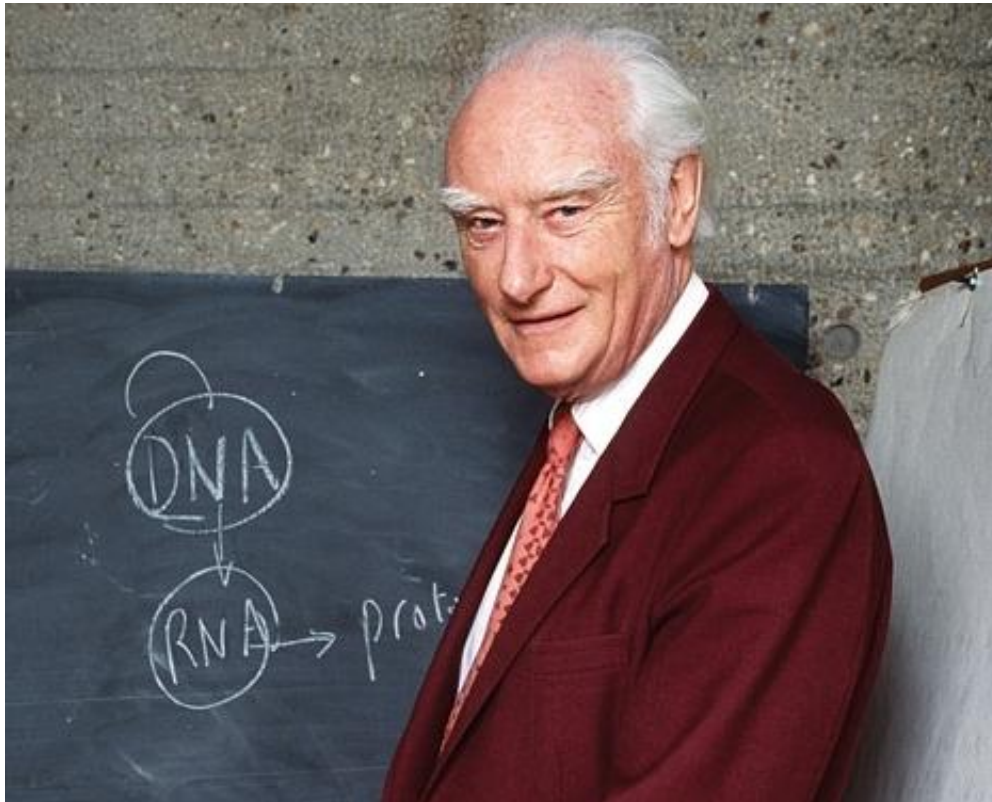
Основная литература:

- 1. Жимулев И. Ф. 2006. Общая и молекулярная генетика.**
- 2. Клаг у., Каммингс М. 2007. Основы генетики.**
- 3. Сингер М., Берг П. 1998. Гены и геномы.**
- 4. Инге-Вечтомов И. Г. 1989, 2010. Генетика с основами селекции**
- 5. Льюин Б. 1987. 2012. Гены.**
- 6. Дымшиц Г.М. и др. 2002. Введение в молекулярную биологию.**
- 7. Альбертс Б.и др. 1994. Молекулярная биология клетки.**

Дополнительная литература:

- 1.** Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот. 1990. (под ред. Спирина А.С.)
- 2.** Патрушев. 2000. Экспрессия генов.
- 3.** Спирин А.С. 1986. Молекулярная биология: Структура рибосом и биосинтез белка.
- 4.** Глик Б., Пастернак Дж. 2002. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение.
- 5.** Рис. Э., Стернберг М. 2002. Введение в молекулярную биологию (от клеток к атомам).
- 6.** Калинин В.Л. Транскрипция и регуляция экспрессии генов. Санкт-Петербург, изд-во СПбГТУ, 2001.
- 7.** Рыбчин В.Н. 1999. Основы генетической инженерии.

Молекулярная биология - это наука о механизмах хранения, воспроизведения, передачи и реализации генетической информации, о структуре и функциях нерегулярных биополимеров - нуклеиновых кислот и белков.



Фрэнсис Крик
(1916 – 2004),
англ., США

Молекулярная биология - это наука о механизмах хранения, воспроизведения, передачи и реализации генетической информации, о структуре и функциях нерегулярных биополимеров - нуклеиновых кислот и белков.

Основные открытия

1868—1872 гг. *Фридрих Мишер* (швейц.) выделил из ядер клеток гноя и спермы лосося новое фосфорсодержащее вещество, названное им нуклеином (от греч. nucleus — ядро).

1889 г. *Рихард Альтман* (герм.) впервые получил нуклеиновую кислоту, свободную от белков. Ввёл термин «нуклеиновая кислота» в биохимию.

1944 г. Доказательство генетической роли ДНК. *Освальд Эйвери, Колин Мак-Леод, Маклин Мак-Картти.*

1953 г. Установление структуры ДНК. *Джеймс Уотсон, Френсис Крик.*

Молекулярная биология - это наука о механизмах хранения, воспроизведения, передачи и реализации генетической информации, о структуре и функциях нерегулярных биополимеров - нуклеиновых кислот и белков.

Основные открытия

1961 г. Открытие генетической регуляции синтеза ферментов. Андре Львов, Франсуа Жакоб, Жак Моно

1962 г. Расшифровка генетического кода. Маршалл Нирнберг, Генрих Маттеи, Северо Очоа

1967 г. Синтез *in vitro* биологически активной ДНК. Артур Корнберг (неформальный лидер молекулярной биологии)

1970 г. Химический синтез гена. Гобинд Корана

1970 г. Открытие фермента обратной транскриптазы и явления обратной транскрипции. Говард Темин, Дэвид Балтимор, Ренато Дульбеко

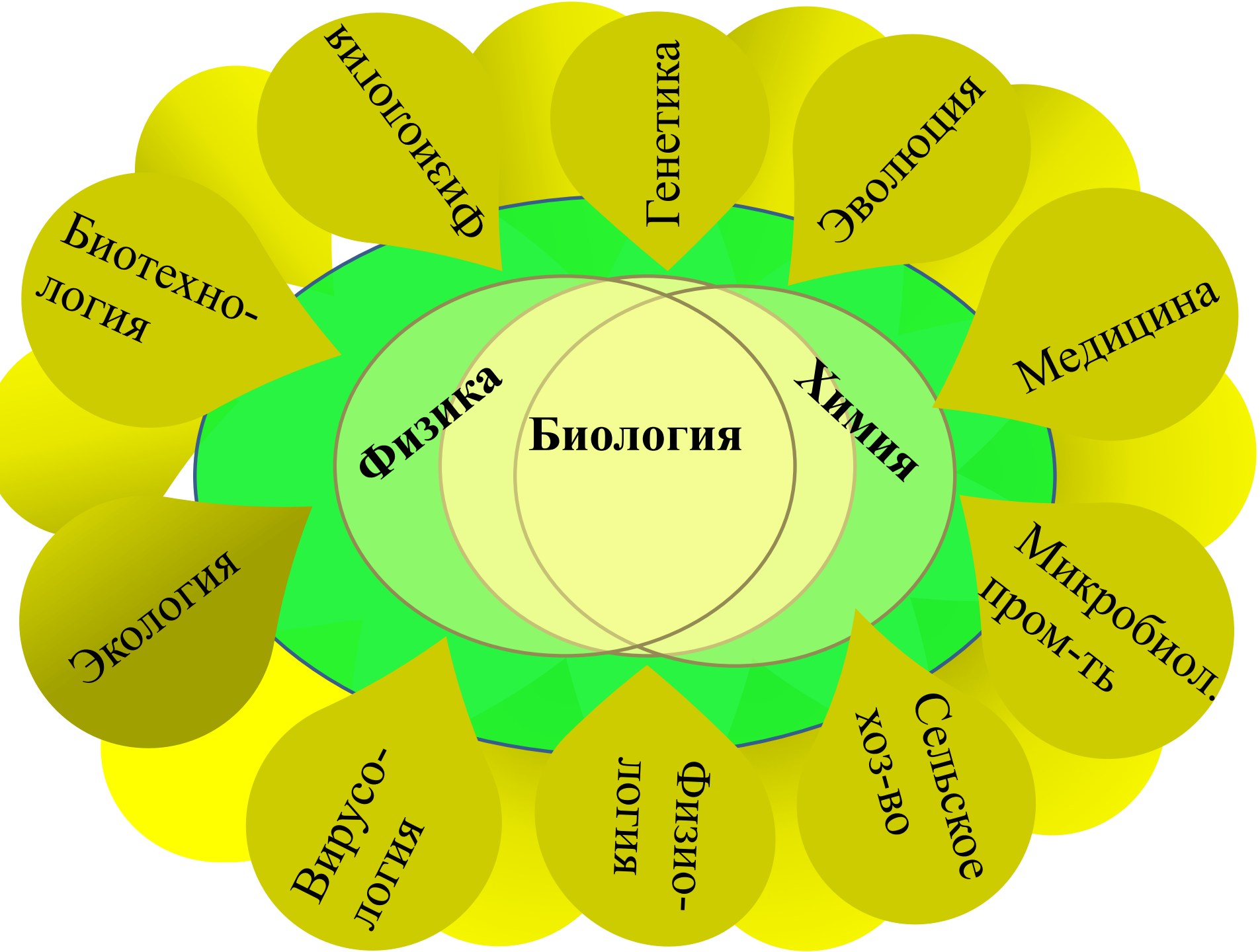
Молекулярная биология - это наука о механизмах хранения, воспроизведения, передачи и реализации генетической информации, о структуре и функциях нерегулярных биополимеров - нуклеиновых кислот и белков.

Основные открытия

1974 г. Открытие рестриктаз. Гамильтон Смит, Даниэль Натанс, Вернер Арбер

1978 г. Открытие сплайсинга. Филипп Шарп

1982 г. Открытие автосплайсинга. Томас Чек



Биология

Физика

Химия

Генетика

Эволюция

Медицина

**Микробиол.
пром-ть**

**Сельское
хозяйство**

**Физио-
логия**

**Вирусо-
логия**

Экология

**Биотехно-
логия**

Биогеограф

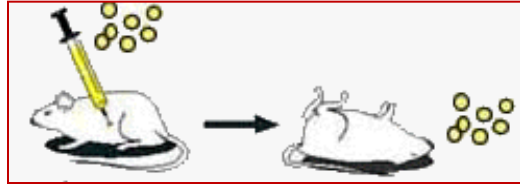
МОЛЕКУЛЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

1. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

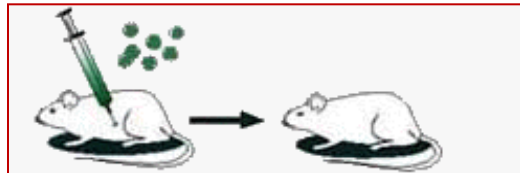
ДОКАЗАТЕЛЬСТВА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ РОЛИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

1) 1928 г. Опыты Фредерика Гриффита

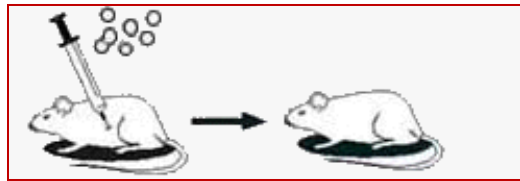
Пневмококки



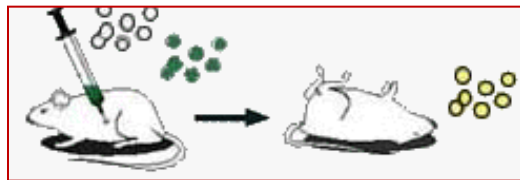
Бактерии бескапсульного штамма



Бактерии капсульного штамма



Убитые нагреванием бактерии капсульного штамма

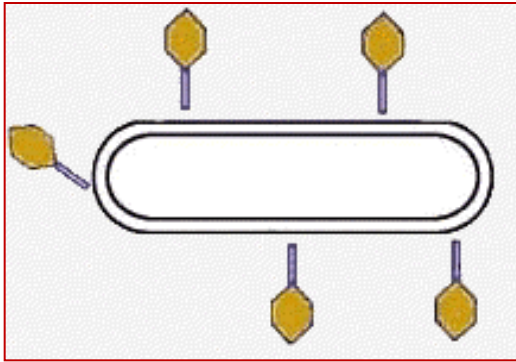


Убитые нагреванием бактерии капсульного штамма
+
Бактерии бескапсульного штамма

Трансформация - это приобретение одним организмом некоторых признаков другого организма за счет захвата части его генетической информации.

ДОКАЗАТЕЛЬСТВА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ РОЛИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

2. 1952 г. Эксперимент Альфреда Херши и Марты Чейз

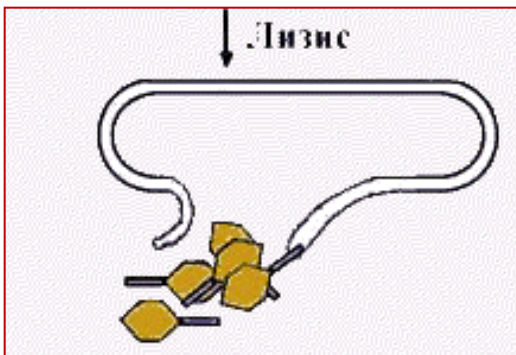


Бактериофаги с мечеными белковой оболочкой (S35) и (P32) инкубировали с бактериями.



Бактерии отмывали. В смывных водах не обнаруживали P32, а в бактериях - S35

Внутри попала только ДНК

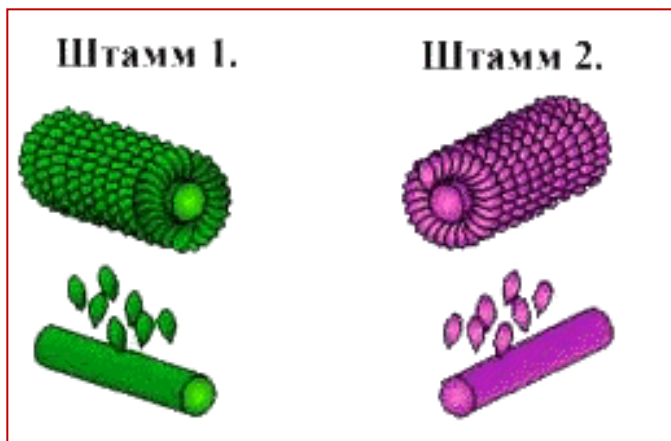


Из бактерии выходили десятки полноценных фагов.

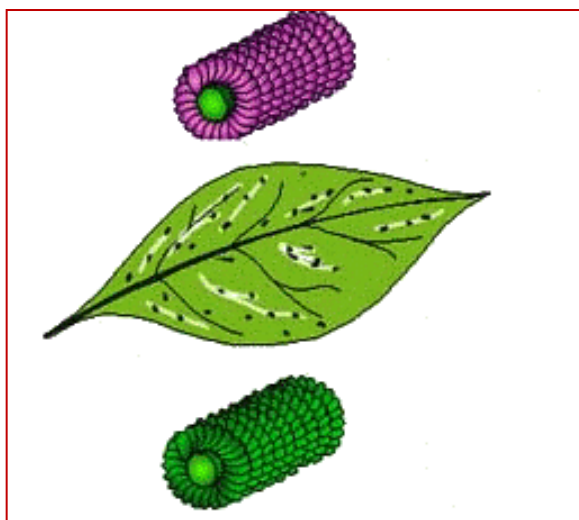
Именно ДНК выполняет генетическую функцию

ДОКАЗАТЕЛЬСТВА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ РОЛИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

3. 1957 г. Опыты Френкеля - Конрата



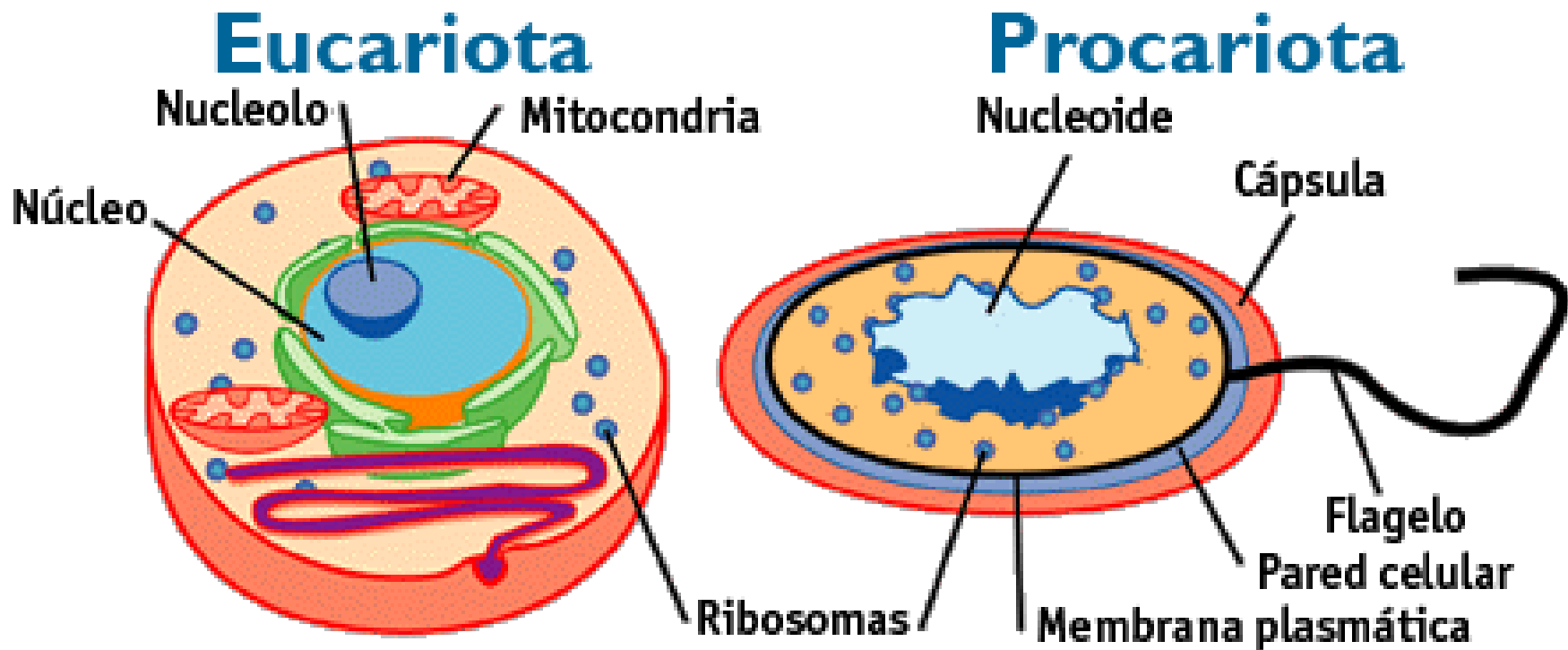
Разные штаммы вируса вызывают разную картину поражения листьев табака.



«Переодетые» вирусы вызывали картину поражения, характерную для того штамма, чья РНК была покрыта чужим белком.

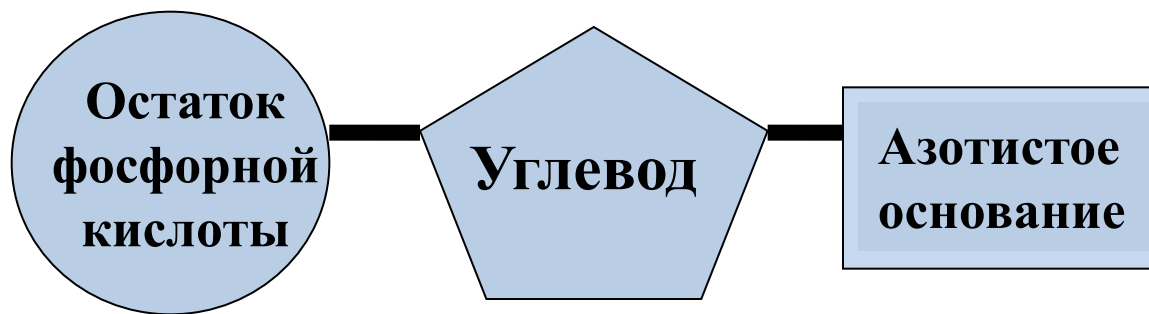
Не только ДНК, но и РНК может служить носителем генетической информации.

Схема строения прокариотической и эукариотической клеток

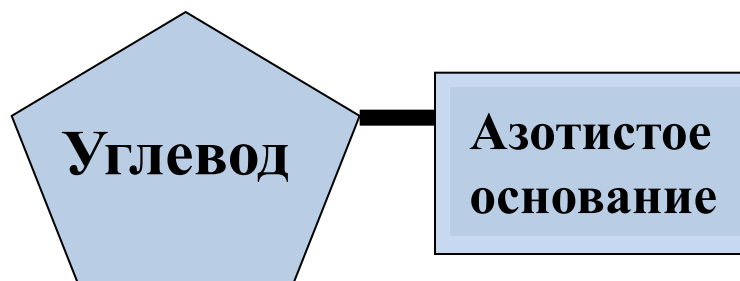


СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Нуклеиновые кислоты – полимеры, мономерами которых являются нуклеотиды



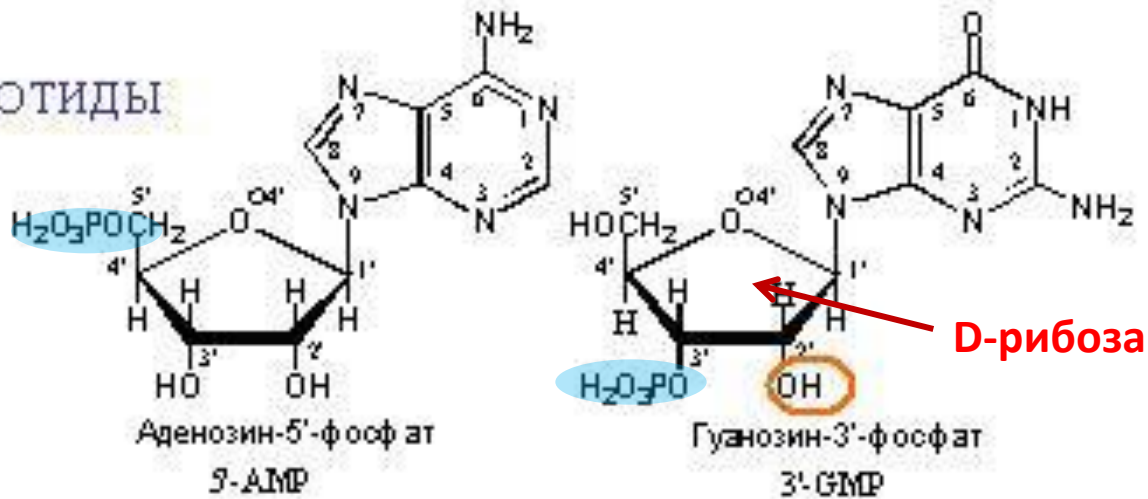
НУКЛЕОТИД
(нуклеозид монофосат)



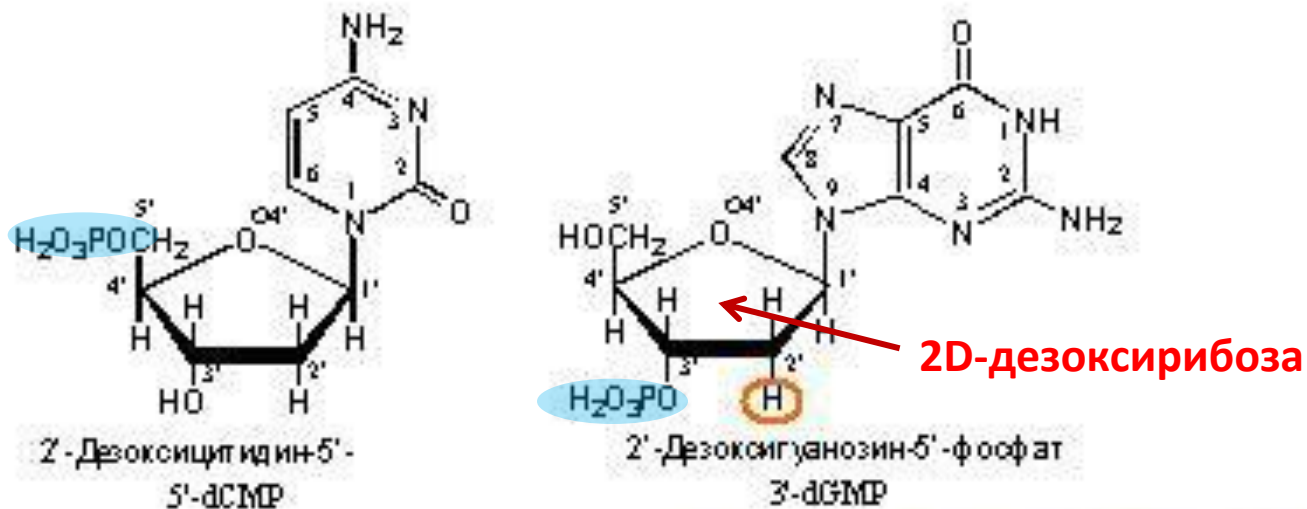
НУКЛЕОЗИД

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

РИБОНУКЛЕОТИДЫ



D-рибоза



2D-дезоксирибоза

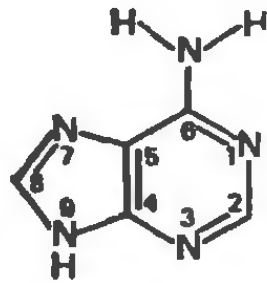
ДЕЗОКИРИБОНУКЛЕОТИДЫ

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

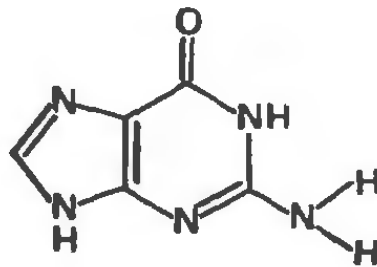
Азотистые основания

ПУРИНОВЫЕ

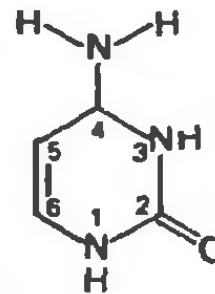
ПИРИМИДИНОВЫЕ



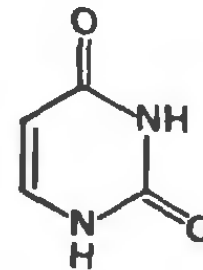
Аденин (А)



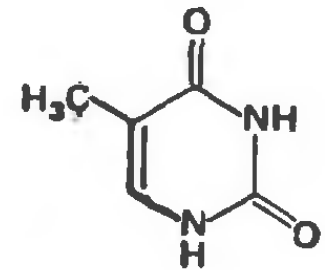
Гуанин (G)



Цитозин (С)



Урацил (U)

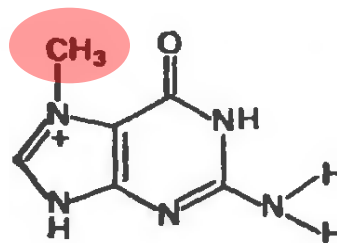


Тимин (Т)

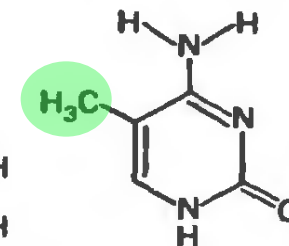
В ДНК : аденин, гуанин, цитозин, **тимин**

В РНК : аденин, гуанин, цитозин, **урацил**

Минорные основания



7-метилгуанин
(7 MeG)



5-метилцитозин
(5 MeC)

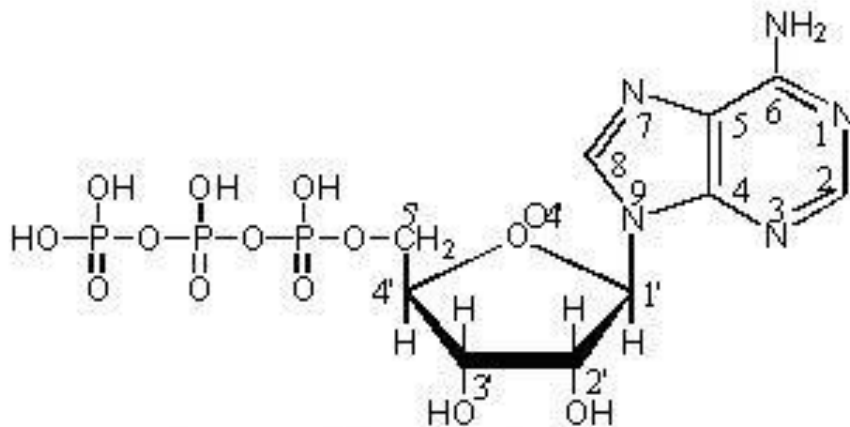
Номенклатура азотистых оснований и нуклеотидов

Основание	Рибонуклеотид	Рибонуклеозид
Аденин (А)	Аденилат (AMP)	Аденозин
Цитозин (С)	Цитидилат (CMP)	Цитидин
Гуанин (G)	Гунилат (GMP)	Гуанозин
Урацил (U)	Урацилат (UMP)	Уридин

Основание	Рибонуклеотид	Рибонуклеозид
Аденин (А)	Дезоксиаденилат (dAMP)	Дезоксиаденозин
Цитозин (С)	Дезоксицитидилат (dCMP)	Дезоксицитидин
Гуанин (G)	Дезоксигунилат (dGMP)	Дезоксигуанозин
Тимин (Т)	Дезокситимидилат (dTMP)	Дезокситимидин

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

АТФ - нуклеотид



Аденозин-5'-трифосфат
5'-АТФ

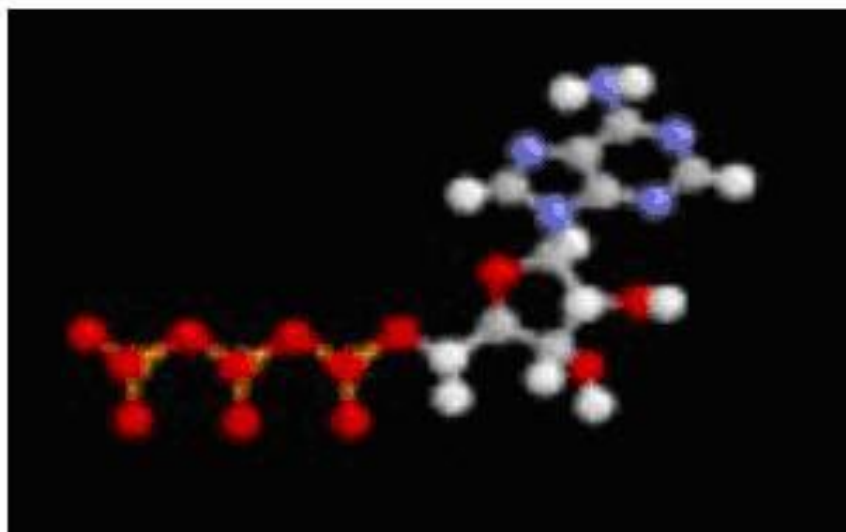
основание - аденин

нуклеозид - аденозин

нуклеотид - АТФ

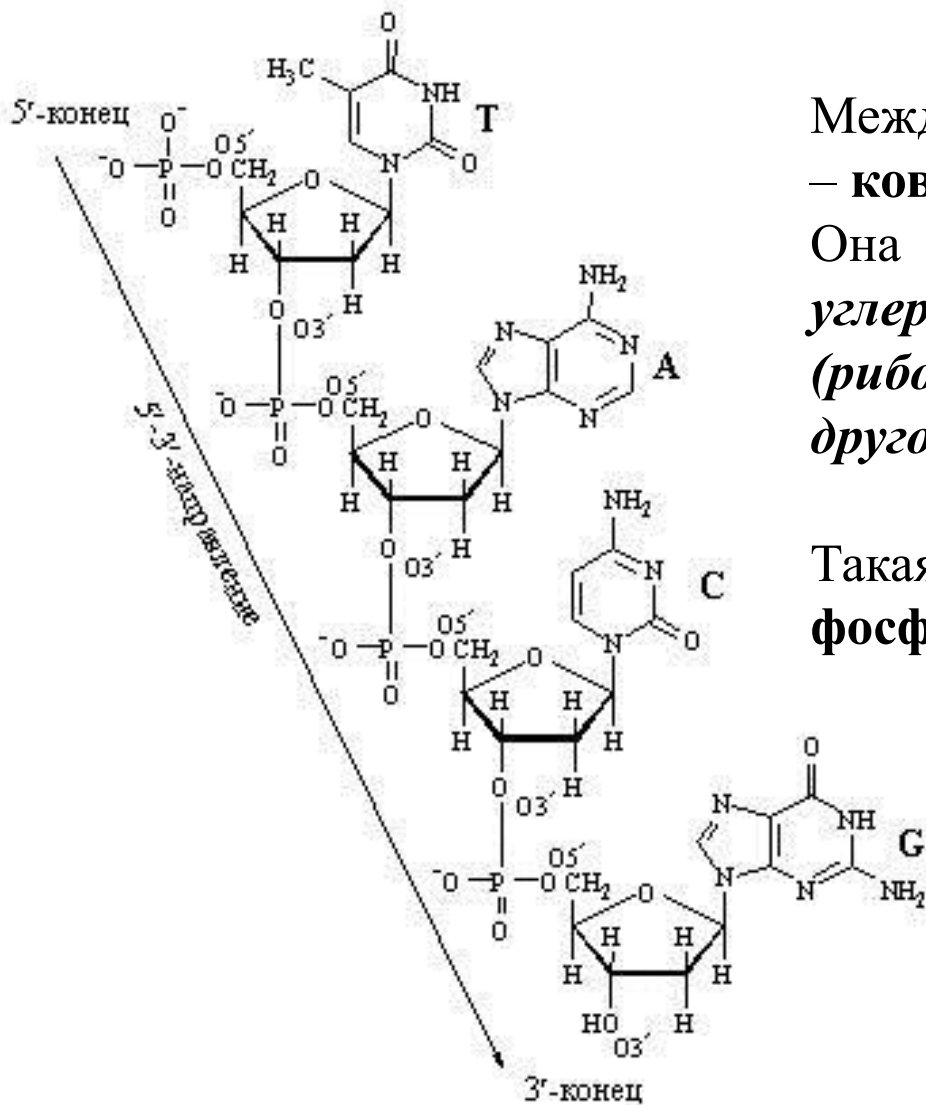
АДФ

АМФ



СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Полинуклеотидная цепочка



Между соседними нуклеотидами – ковалентная связь .

Она образуется *между пятым углеродом одной дезоксирибозы (рибозы) и третьим углеродом другой дезоксирибозы (рибозы).*

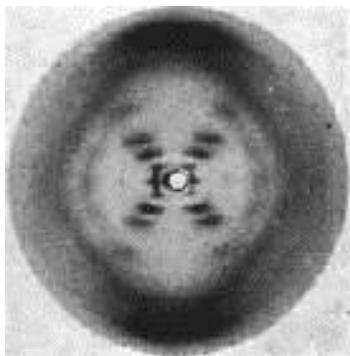
Такая связь называется **фосфодиэфирной.**

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

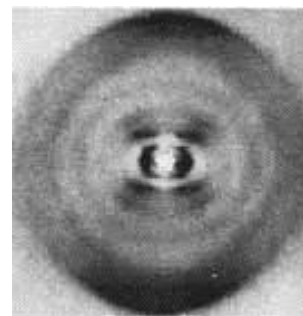
Макромолекулярная структура

1953 г. С помощью кислотного гидролиза ДНК с последующей хроматографией и количественным анализом установлены закономерности: $A/T=1$; $G/C=1$; $(G+C)/(A+T)=K$ - коэффициент специфичности, постоянен для каждого вида. Эрвин Чаргафф

Правило Чаргаффа. В любой молекуле ДНК количество аденина равно количеству тимина, а количество гуанина — количеству цитозина.



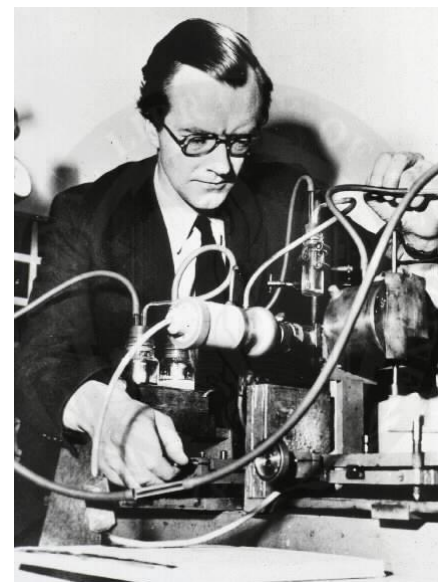
Рентгенограмма натриевой соли ДНК в В-форме, полученная Розалинд Франклин



Рентгенограмма ДНК кишечной палочки, полученная Уилкинсом



Френсис Крик и Джеймс Уотсон



Морис Уилкинс
(1916 — 2004), Нов. Зел., Англ.



Розалинд Франклин
(1920 — 1958)



Джеймс Уотсон (род. 1928)

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

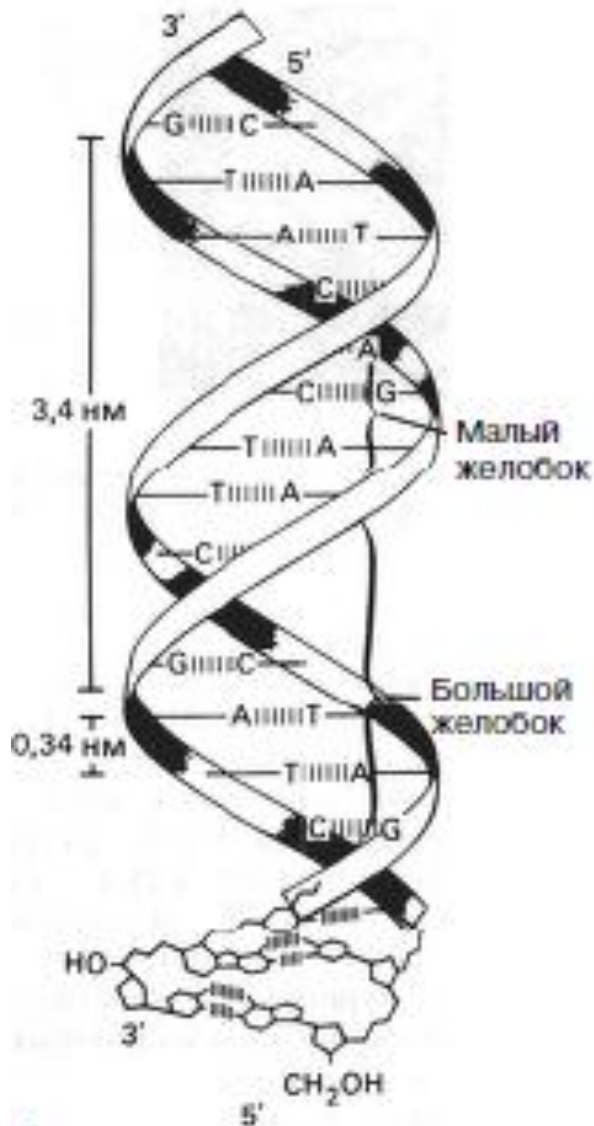
Двойная спираль ДНК. Модель Уотсона и Крика

Правозакрученная двойная спираль

Водородные связи образуются между **комплементарными** азотистыми основаниями :

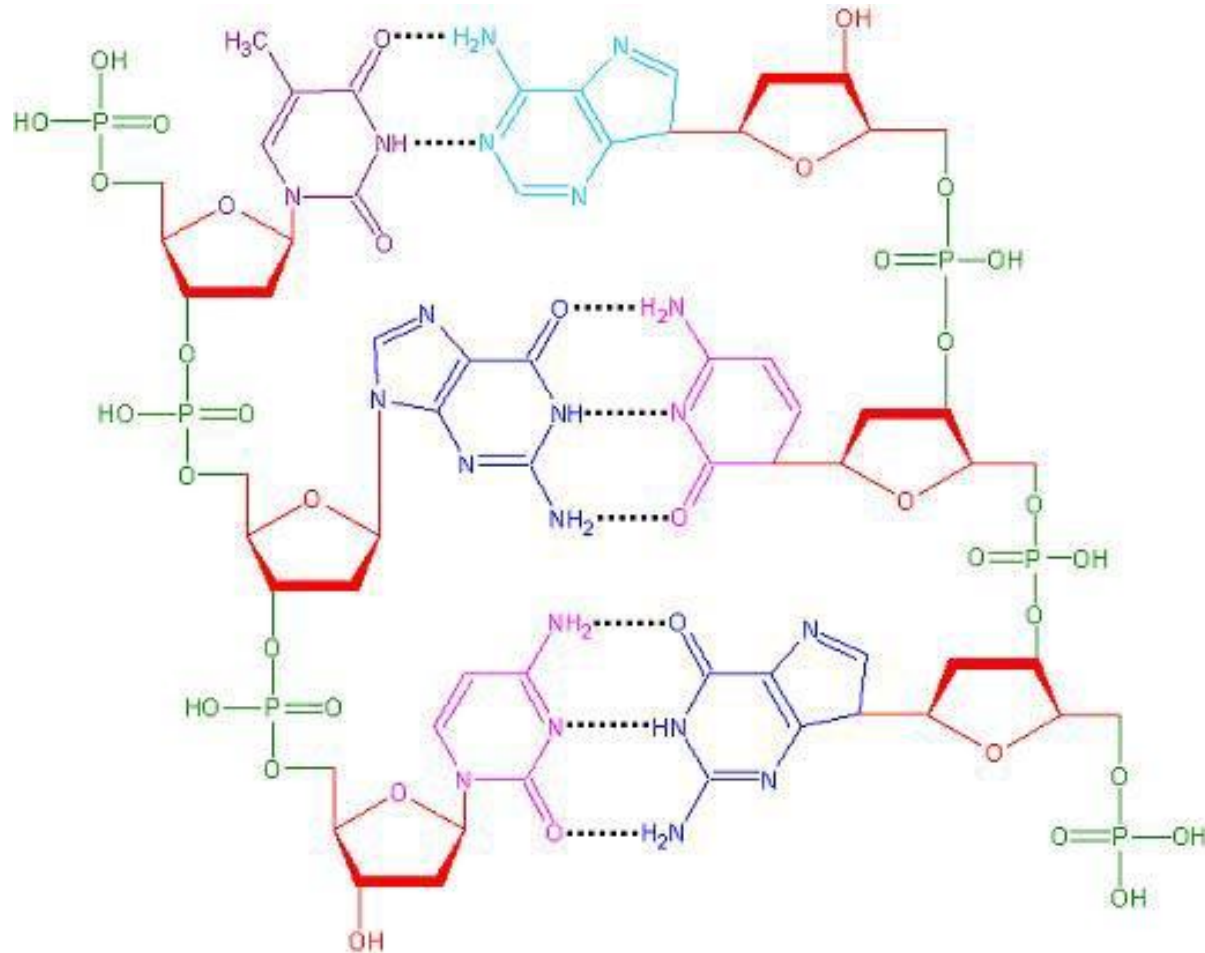


Полинуклеотидные цепи **антипараллельны**



СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Образование двухцепочечной структуры



СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Таблица 1.2. Нуклеотидный состав различных ДНК

Источник	A ¹⁾	G	C	T	$\frac{A+T}{G+C}$	$\frac{A+G}{T+C}$	G+C, мол. %
Бактериофаг λ	26,0	23,8	24,3	25,8	1,08	0,99	48
Бактериофаг T2	32,5	18,2	16,7 ²⁾	32,6	1,86 ²⁾	1,03 ²⁾	35 ²⁾
<i>Escherichia coli</i>	23,8	26,0	26,4	23,8	0,91	0,99	52
<i>Bacillus subtilis</i>	29,0	20,7	21,3	29,0	1,38	0,99	42
Вирус папилломы Шоупа	26,6	24,5	24,2	24,7	1,05	1,04	49
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	31,3	18,7	17,1	32,9	1,79	1,00	36
<i>Chlamydomonas</i>	19,6	30,2	30,0 ³⁾	19,7	0,65 ³⁾	0,99 ³⁾	60 ³⁾
Цыпленок	27,9	21,2	21,5 ³⁾	29,4	1,34 ³⁾	0,96 ³⁾	43 ³⁾
Мышь	28,9	21,1	20,3 ³⁾	30,0	1,44 ³⁾	1,00 ³⁾	41 ³⁾
Корова	27,3	22,5	22,5 ³⁾	27,7	1,22 ³⁾	0,99 ³⁾	44 ³⁾
Пшеница	27,2	22,6	22,8 ³⁾	27,4	1,20 ³⁾	0,99 ³⁾	45 ³⁾

¹⁾ Используются общепринятые сокращенные обозначения пуринов и пиридинов.

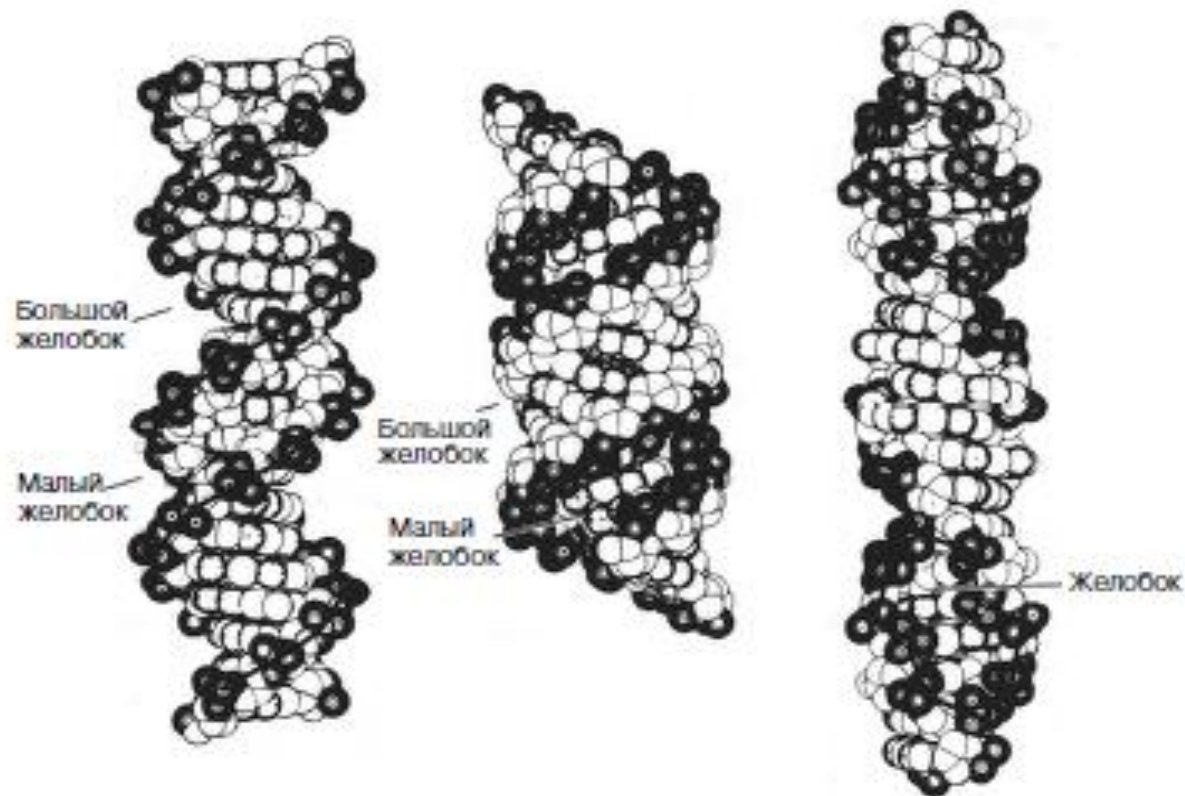
²⁾ 5-гидроксиметилцитозин.

³⁾ Включая 5-метилцитозин.

(Сингер, Берг, 1996)

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

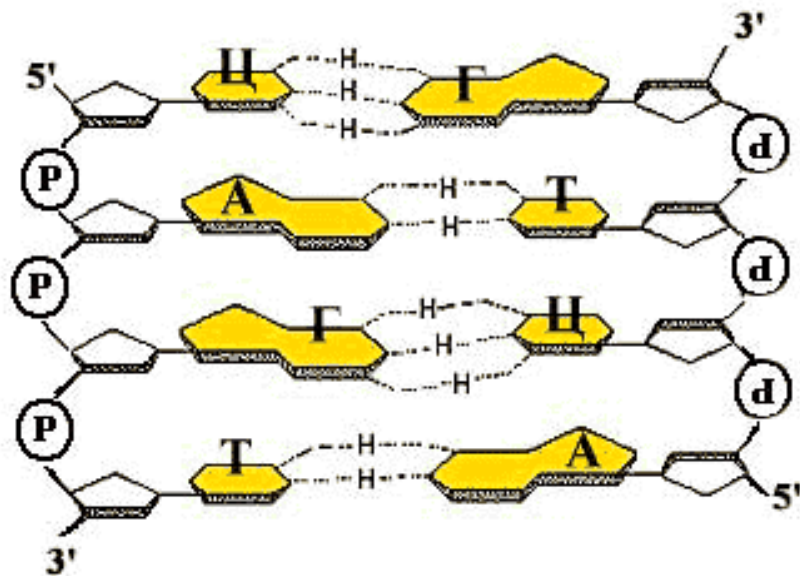
Изомерные типы двойной спирали



Тип	А-ДНК	В-ДНК	Z-ДНК
Форма	правозакрученная	правозакрученная	левозакрученная
Шаг	3,4 нм	2,9 нм	7,7 нм
Виток	10 п. н.	11-12	12
Диаметр	1,8 нм		

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Принципы строения ДНК



1. Нерегулярность.
2. Антипараллельность.
3. Комплементарность
4. Наличие регулярной вторичной структуры

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Формы и размеры ДНК

Таблица 1.3. Молекулярная масса, длина и тип структуры ДНК различного происхождения

Источник	Мол. масса	Длина	Число пар оснований	Тип структуры
Бактериофаг φX174	$1,6 \cdot 10^6$	1,6 мкм	$5 \cdot 10^{21}$	Кольцевая одноцепочечная
SV40	$3,5 \cdot 10^6$	1,1 мкм	$5,2 \cdot 10^5$	Кольцевая двухцепочечная
Бактериофаг T2	$1,2 \cdot 10^7$	50 мкм	$2 \cdot 10^5$	Линейная двухцепочечная
Хромосома <i>Neisseria meningitidis</i>	$7,9 \cdot 10^8$	300 мкм	$1,2 \cdot 10^6$	Неизвестен
Хромосома <i>Escherichia coli</i>	$2,6 \cdot 10^9$	1 мм	$4 \cdot 10^6$	Кольцевая двухцепочечная
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>				
Хромосома I	$1,4 \cdot 10^7$	50 мкм	$2,1 \cdot 10^5$	Линейная двухцепочечная
Хромосома 12	$1,5 \cdot 10^8$	500 мкм	$2,2 \cdot 10^6$	То же
<i>Drosophila melanogaster</i>				
Хромосома 2	$4 \cdot 10^8$	15 мм	$6,0 \cdot 10^7$	» »
Хромосома 3	$4,2 \cdot 10^8$	16 мм	$6,3 \cdot 10^7$	» »
Хромосома 4	$4 \cdot 10^9$	1,5 мм	$6 \cdot 10^6$	» »

¹ В данном случае указано число оснований, а не пар оснований.

(Сингер, Берг, 1996)

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

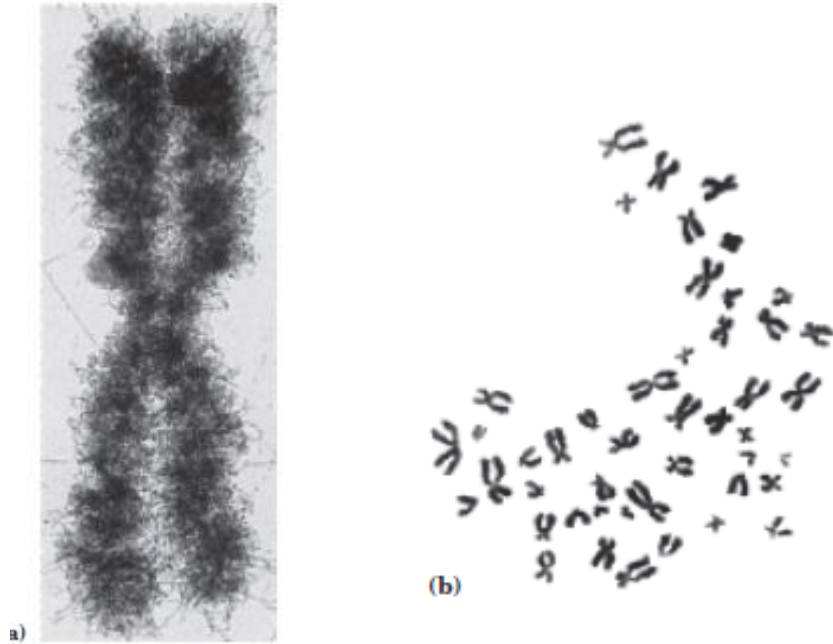


FIGURE 24-5 Eukaryotic chromosomes. (a) A pair of linked and condensed sister chromatids from a human chromosome. Eukaryotic chromosomes are in this state after replication and at metaphase during mitosis. (b) A complete set of chromosomes from a leukocyte from one of the authors. There are 46 chromosomes in every normal human somatic cell.

(Lehninger, 2004)

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

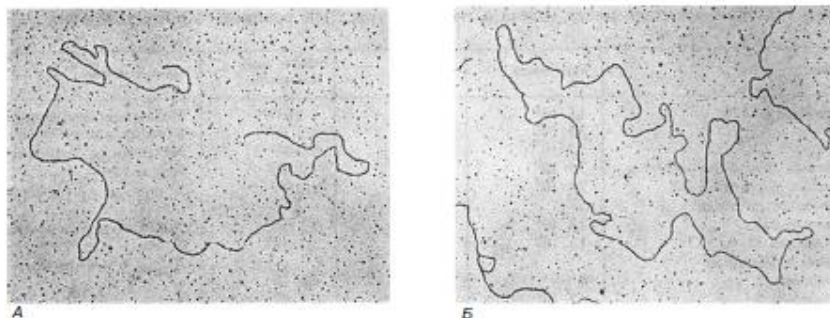


РИС. 1.9.

Схематическое представление и электронные микрофотографии линейной (А) и кольцевой (Б) двухцепочечной ДНК фага λ . (Электронные микрофотографии любезно предоставлены L. Chow.) ДНК изображена в виде двойной спирали; такое же изображение для двухцепочечной ДНК будет использоваться повсюду в этой книге.

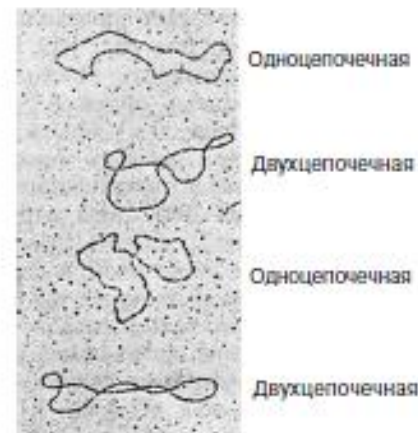
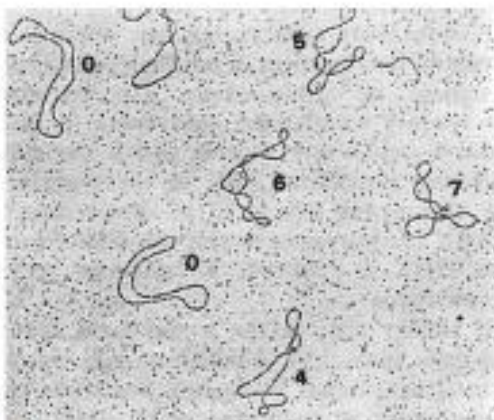


РИС. 1.11.

Электронные микрофотографии одно- и двухцепочечных кольцевых ДНК фага М13. Двухцепочечная ДНК выглядит более гладкой и вытянутой и ее легче визуализировать, чем одноцепочечную. (С любезного разрешения L. Chow.)



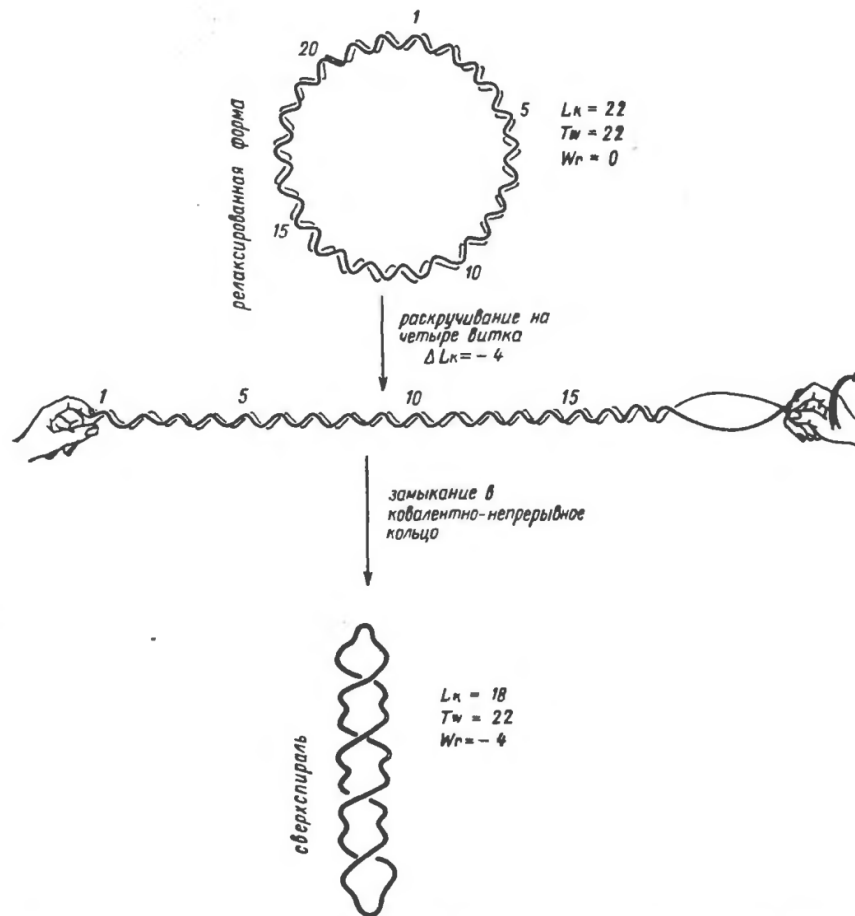
Б

Б. Двухцепочечная кольцевая ДНК фага М13 с разной степенью сверхспиральности. Цифрами обозначено число сверхвитков в каждой молекуле. (С любезного разрешения L. Chow.)

(Сингер, Берг, 1996)

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

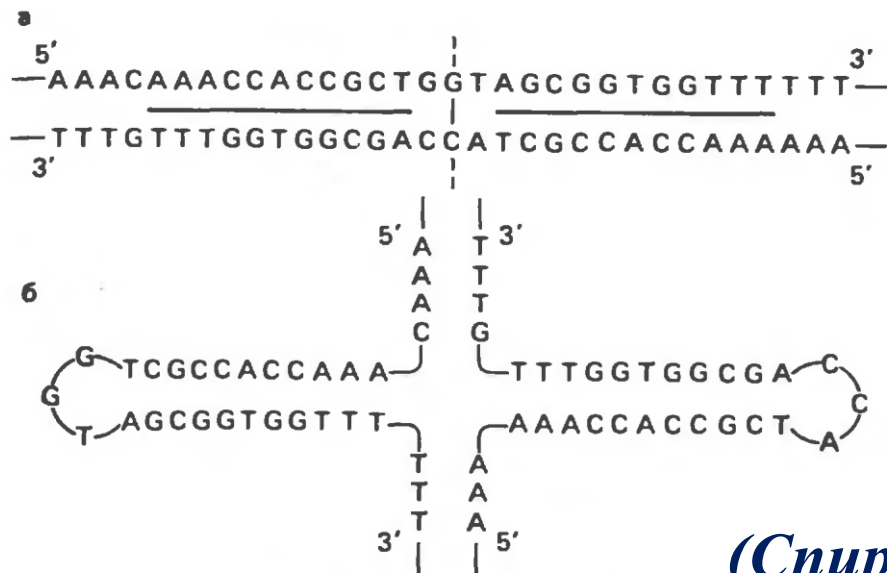
Сверхспирализация ДНК



(Спирин, 1990)

Схема, иллюстрирующая образование отрицательно сверхспирализованной кольцевой ковалентно замкнутой ДНК

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ



Образование крестообразных структур в палиндромных участках

(Спирин, 1990)

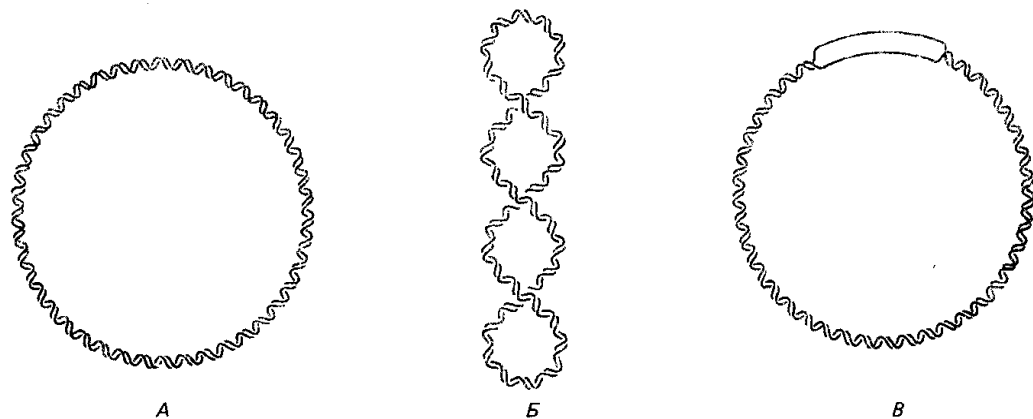


Рис. 2.12. При суперспирализации двуспиральная молекула ДНК закручивается сама на себя. Разделение оснований снимает отрицательную суперспирализацию (сверхскручивание).

А. Кольцевая ДНК без суперспирализации. Б. Отрицательно суперспирализованная ДНК. В. Отрицательная суперспирализация может привести к разделению цепей.

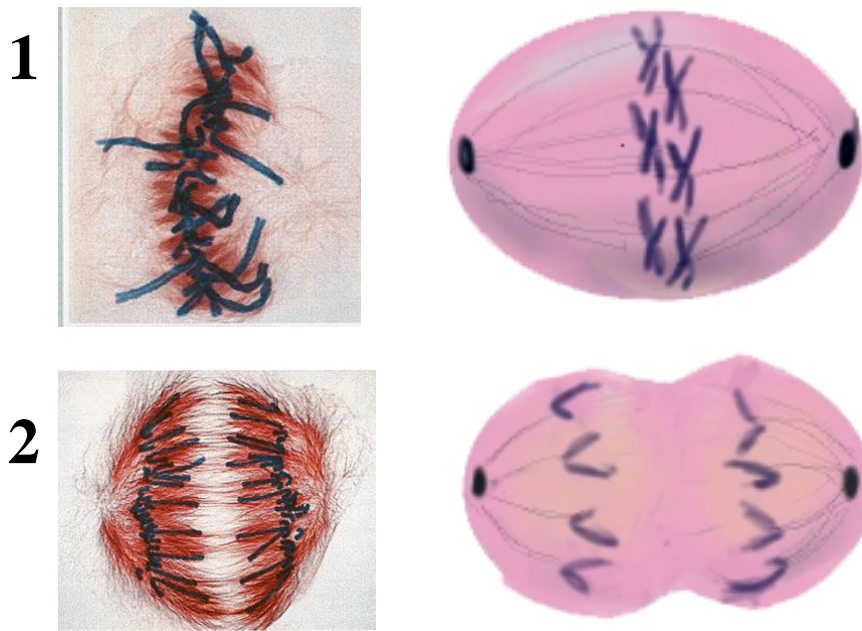
(Льюин, 1997)

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

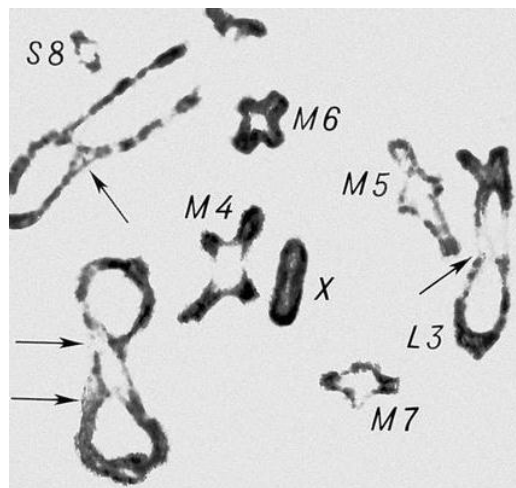
Топоизомеразы

Топоизомеразы контролируют в клетках уровень суперскрученности ДНК

ДНК-топоизомеразы I	Мономерные белки	Релаксируют ДНК без затраты энергии путем внесения одноцепочечных разрывов.	
		ДНК-топоизомеразы IA	ДНК-топоизомеразы IB
		У прокариот и эукариот, включая клетки человека (ДНК-топоизомеразы III)	Только у эукариот (исключение - вирус вакцины)
		Релаксируют только ДНК с отрицательными супервитками	Релаксируют ДНК как с полож., так и отр. супервитками.
		Работают в присутствии ионов Mg^{2+} и ковалентно соединяются с 5'-концами ДНК	Не нуждаются в присутствии ионов металлов и взаим. ковалентно с 3'-концами ДНК.
ДНК-топоизомеразы II	Димеры	Осуществляют АТФ-зависимое расщепление обеих цепей ДНК с последующим переносом цепей через разрыв и его лигированием	
Гиразы бактерий		Создают свехвитки в кольцевых молекулах ДНК.	



Метафаза (1) и анафаза (2) митоза



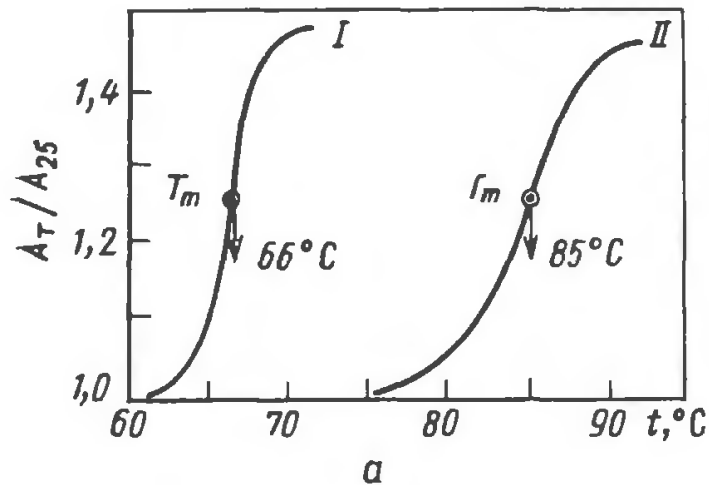
Хиазмы в диплотене у кузнечика

ДНК-топоизомераза II:

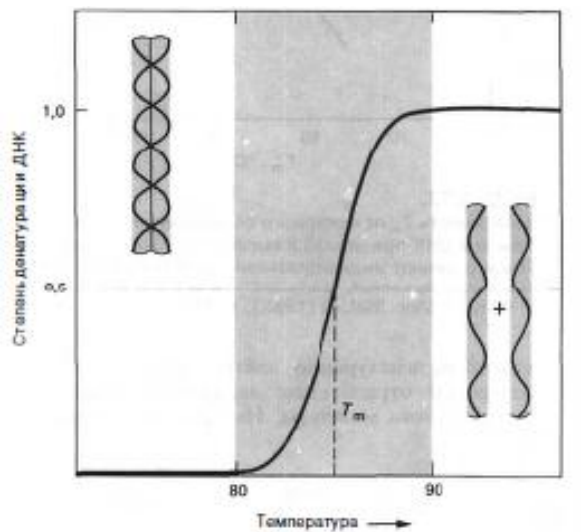
- участвует в разделении катенанов сестринских хроматид хромосом в анафазе митоза
- необходима для сегрегации хромосом в мейозе
- необходима для конденсации хроматина в процессе формирования метафазных хромосом

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Денатурация и ренатурация ДНК



Кривая плавления ДНК



Нуклеотиды поглощают свет в УФ области с максимумом близким к 260 нм.

Но поглощение ДНК почти на 40% меньше смеси нуклеотидов того же состава (**гипохромный эффект**).

Поэтому по поглощению можно изучать степень денатурации.

В физиологических условиях денатурация происходит при 85-95° С.

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Денатурация и ренатурация ДНК

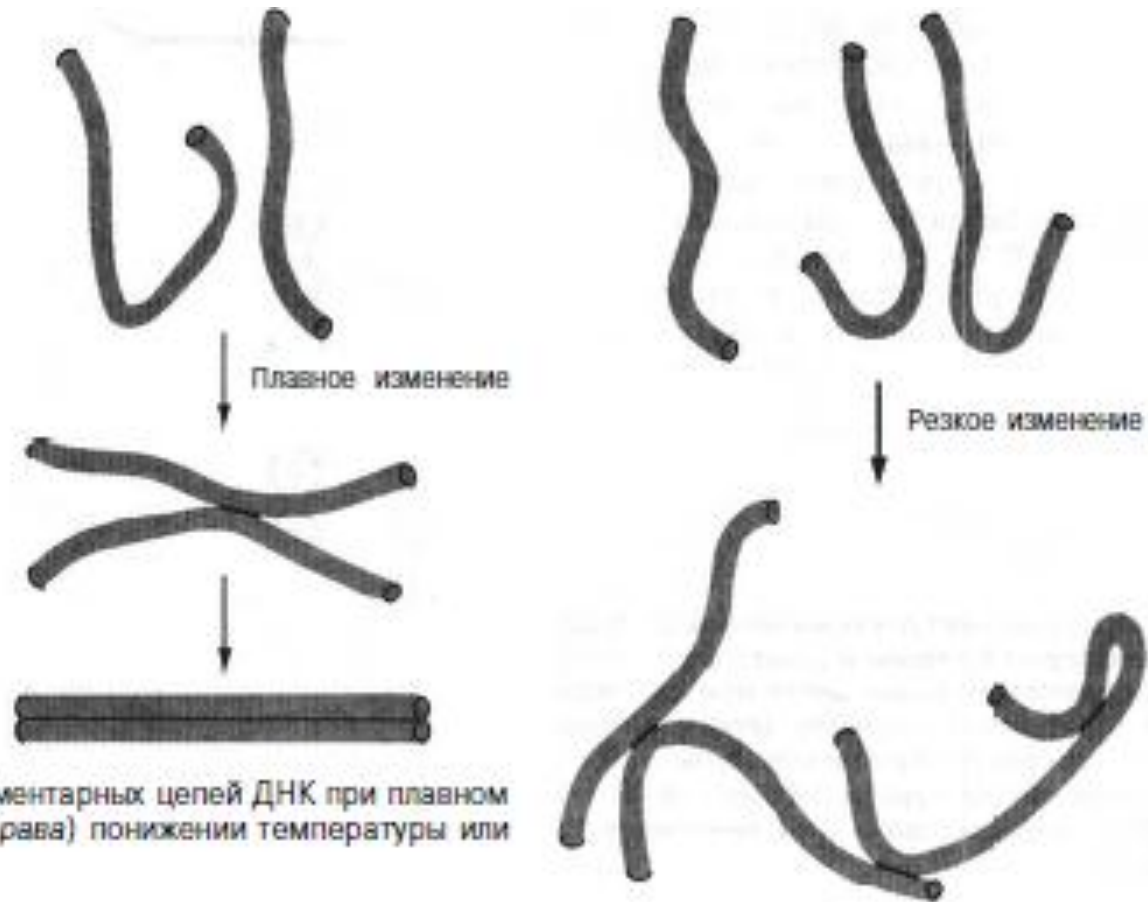


РИС. 1.14. Ренатурация комплементарных цепей ДНК при плавном (слева) и резком (справа) понижении температуры или рН раствора.

(Сингер, Берг, 1996)

Функции ДНК

1. ДНК является носителем генетической информации.

Функция обеспечивается фактом существования генетического кода.

2. Воспроизведение и передача генетической информации в поколениях клеток и организмов.

Функция обеспечивается процессом репликации.

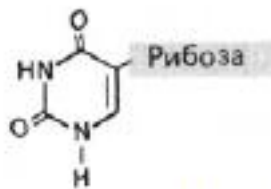
3. Реализация генетической информации в виде белков, а также любых других соединений, образующихся с помощью белков-ферментов.

Функция обеспечивается процессами транскрипции и трансляции.

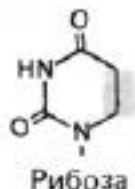
СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Виды РНК

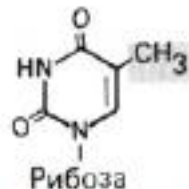
Виды РНК	Размер в нуклеотидах	% от массы клеточных РНК
gРНК - геномные РНК	10000-100000	
mРНК - информационные (матричные) РНК	100-100000	5 (несколько тысяч)
tРНК - транспортные РНК	70-90	15 (100 видов)
rРНК - рибосомные РНК	несколько дискретных классов от 100 до 500000	80 (4 вида)
sРНК - малые РНК (ядерные и цитоплазматические)	100-300	менее 2



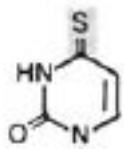
Псевдоуридин (ψ)



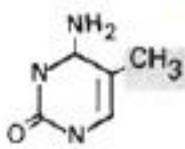
5,6-Дигидроуридин (DHU)



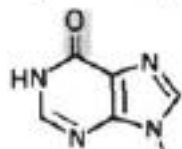
5-Метилуридин-риботимидин (rT)



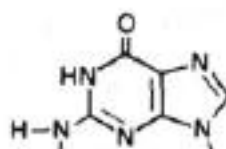
4-Тиоуридин (4-thio U)



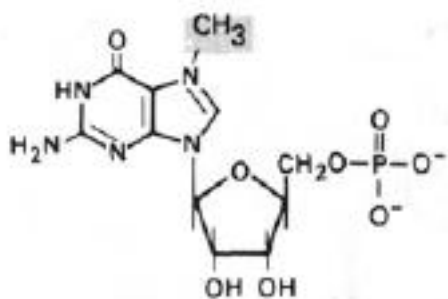
5-Метилцитидин (5-meC)



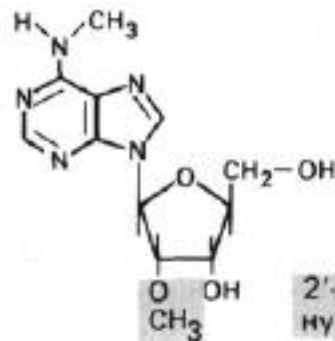
Инозин (I)



²N-Метилгуанозин (²meG)



⁷N- Метилгуаниловая кислота



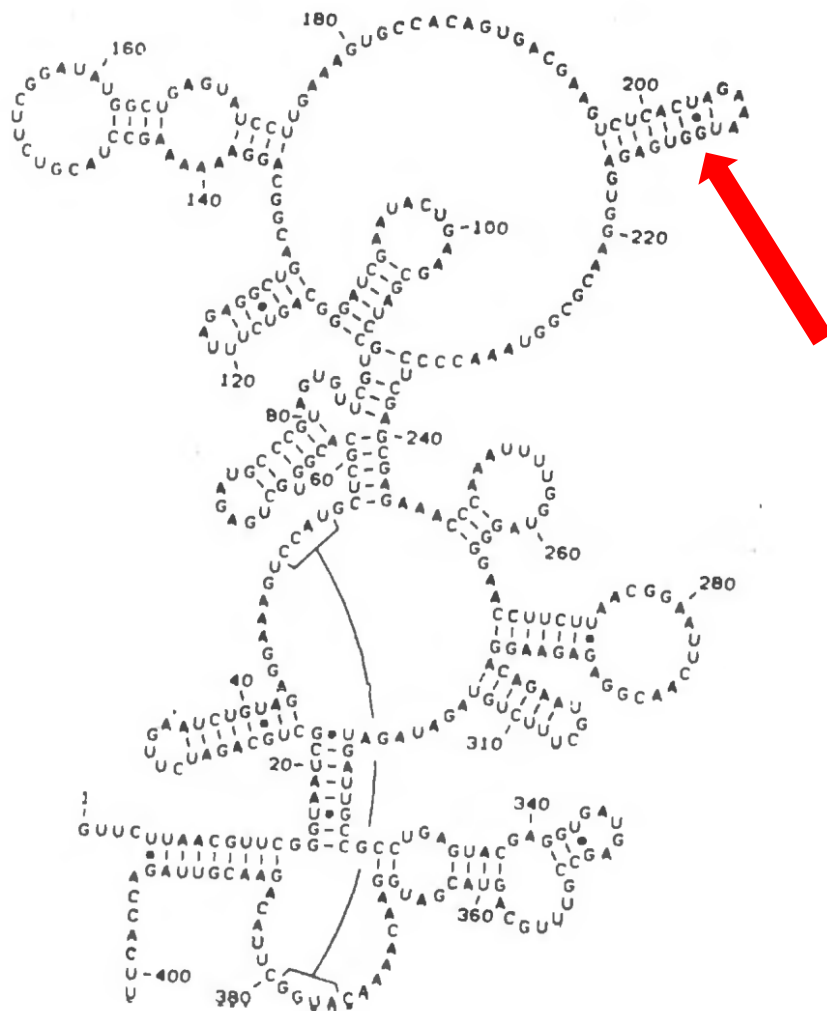
⁵N-Метиладениловая кислота

Модифицированные нуклеозиды РНК

(Сингер, Берг, 1996)

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Вторичная структура РНК



Вторичная структура РНК-компонента рибонуклеазы из кишечной палочки

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

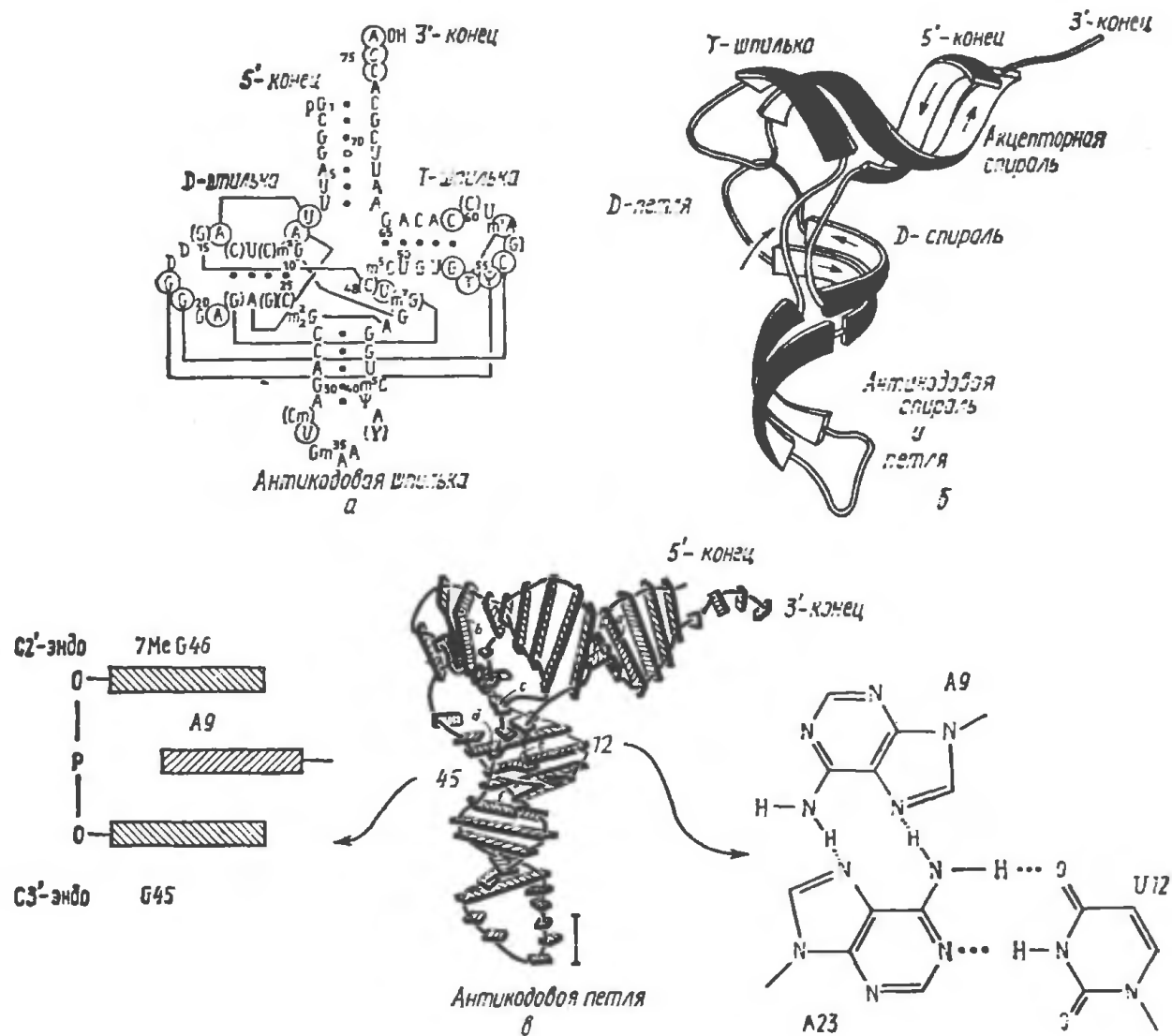


Рис. 24. Вторичная и третичная структуры фенилаланиновой транспортной РНК дрожжей:

(Спирин, 1990)

Литература

- Структура и биосинтез нуклеиновых кислот. 1990. (под ред. Спирина А.С.)
- Зенгер В. 1987. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот .
- Иванов А. В. 1998. А-ДНК // Соросовский образовательный журнал, №1: 2-7.
- Кнорре Д. Г. 1996. Биохимия нуклеиновых кислот // Соросовский образовательный журнал, №3. С.: 11-16.
- Бугреев Д. В. , Невинский Д. А. 2009. Структура и механизм действия ДНК-топоизомераз IA-типа // Успехи биологической химии, т 49.: 129–158.
- <http://humbio.ru>