Лекционный курс

по биологии

для студентов специальности «Лечебное дело».

Профессор кафедры биологии, д.б.н.
Корытина Гульназ Фаритовна

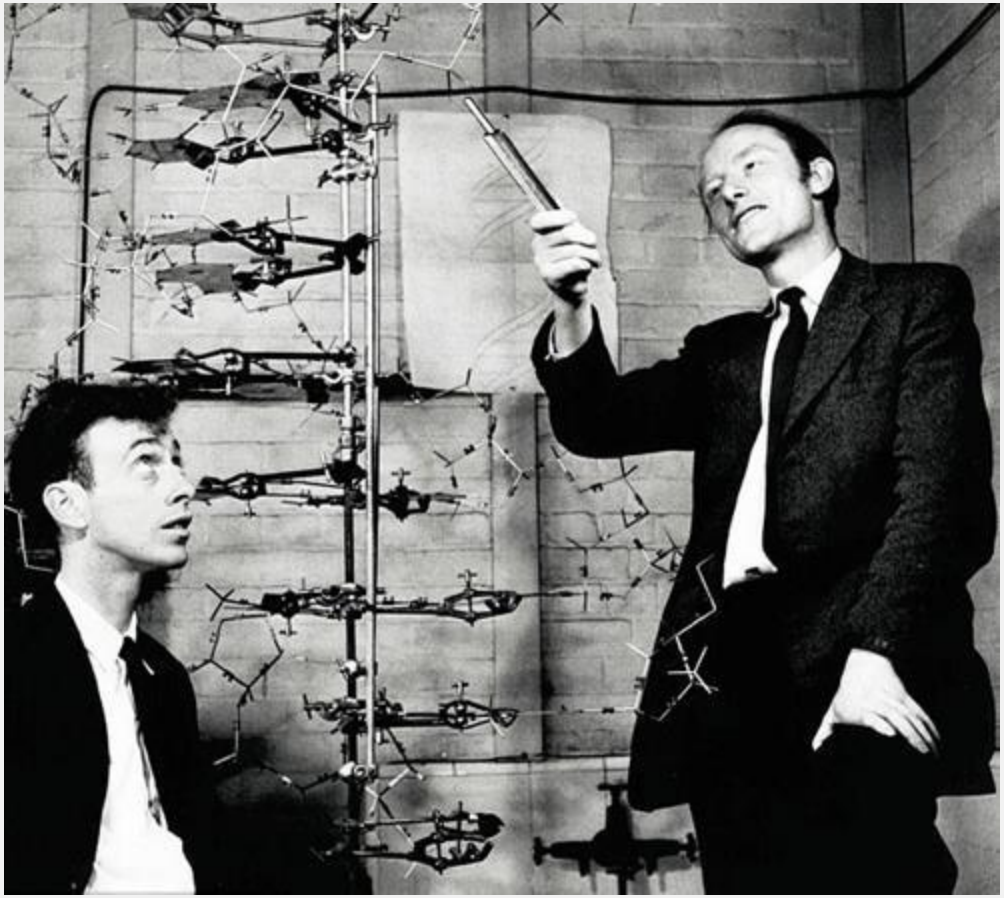
Лекция № 3

Тема: «Молекулярные основы наследственности. Структурная и химическая организация ДНК и РНК. Ген как единица наследственности. Этапы биосинтеза белка»

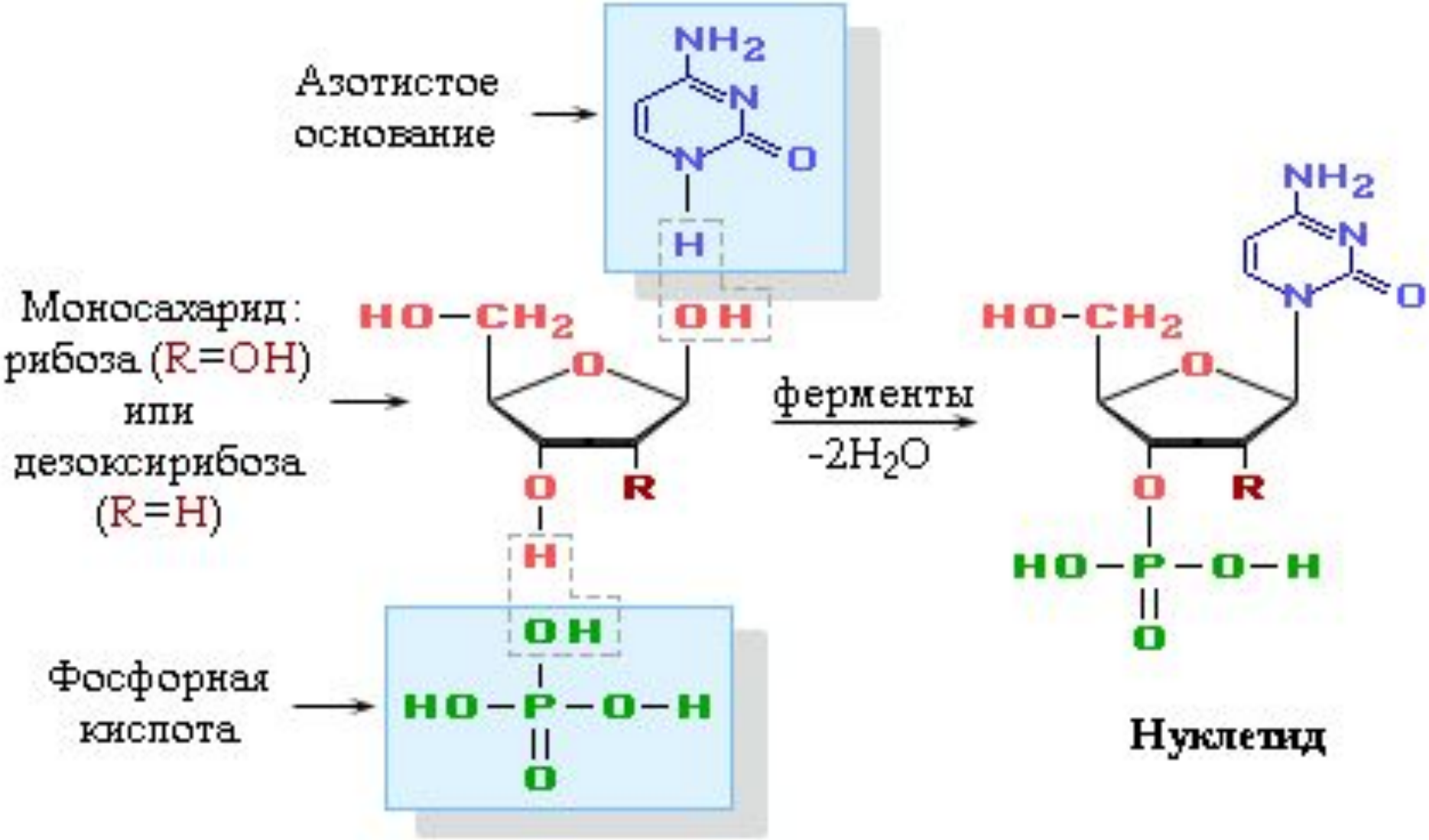
План

- Структурная и химическая организация ДНК
- Структурная и химическая организация РНК
- Строение генов прокариот и эукариот
- Этапы биосинтеза белка
- Регуляция экспрессии генов у прокариот и эукариот

В 1953 г. молодые ученые из Кембриджского университета Джеймс Уотсон и Фрэнсис Крик представили трехмерную модель молекулы ДНК – двухцепочечная правозакрученная спираль



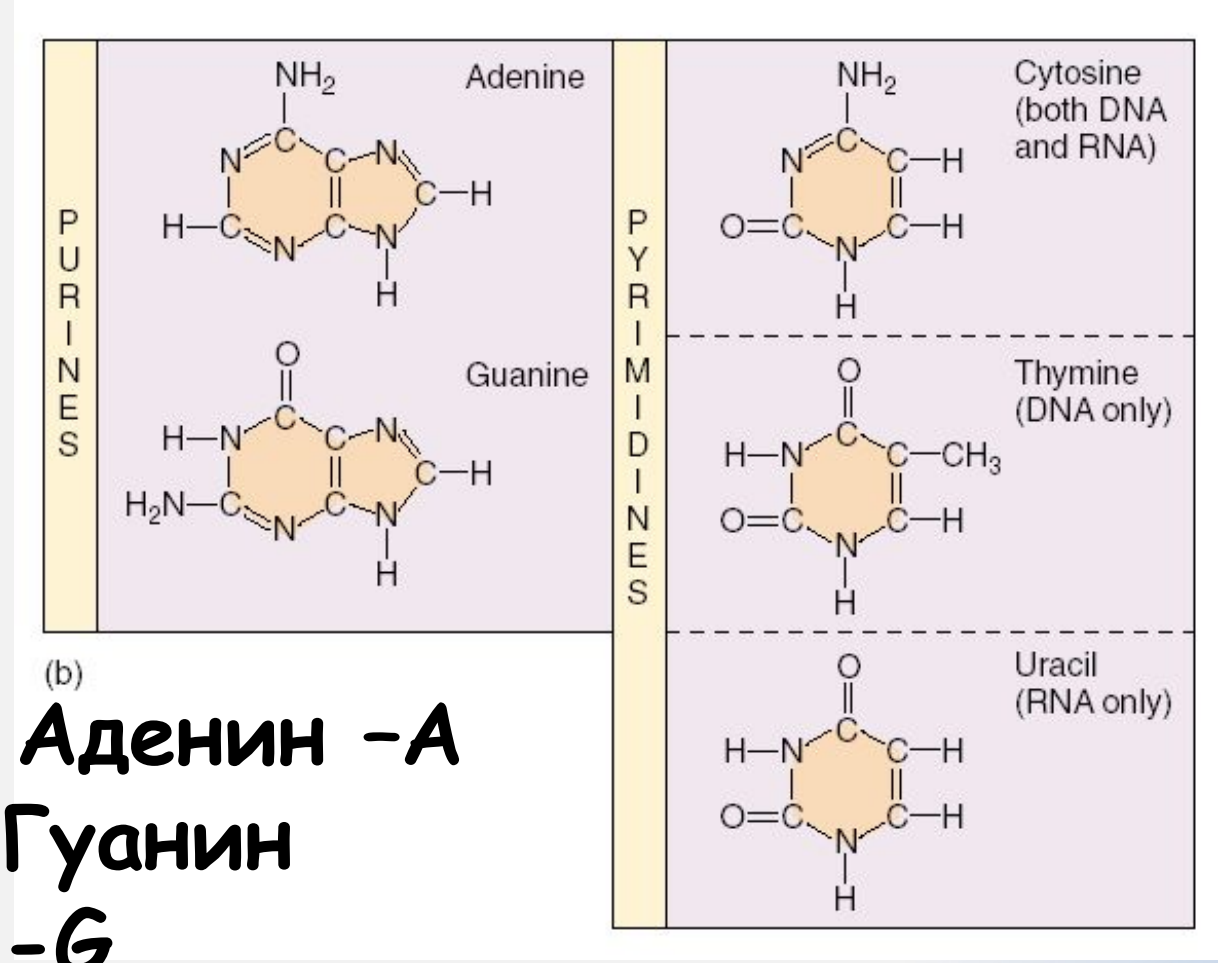
Строение и составные части нуклеотида



Нуклетиды

Пурины

Пиримидины

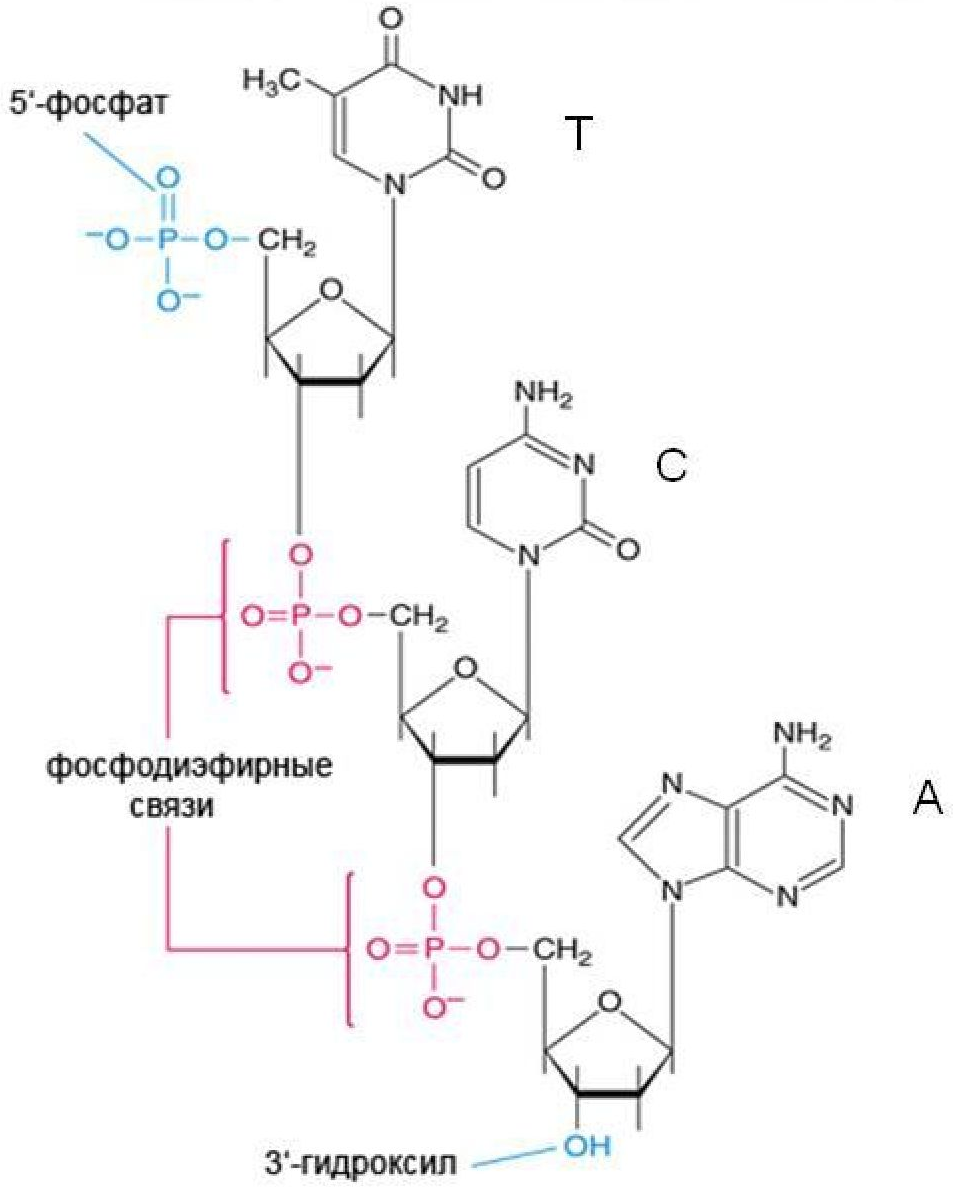


Аденин –A
Гуанин –G

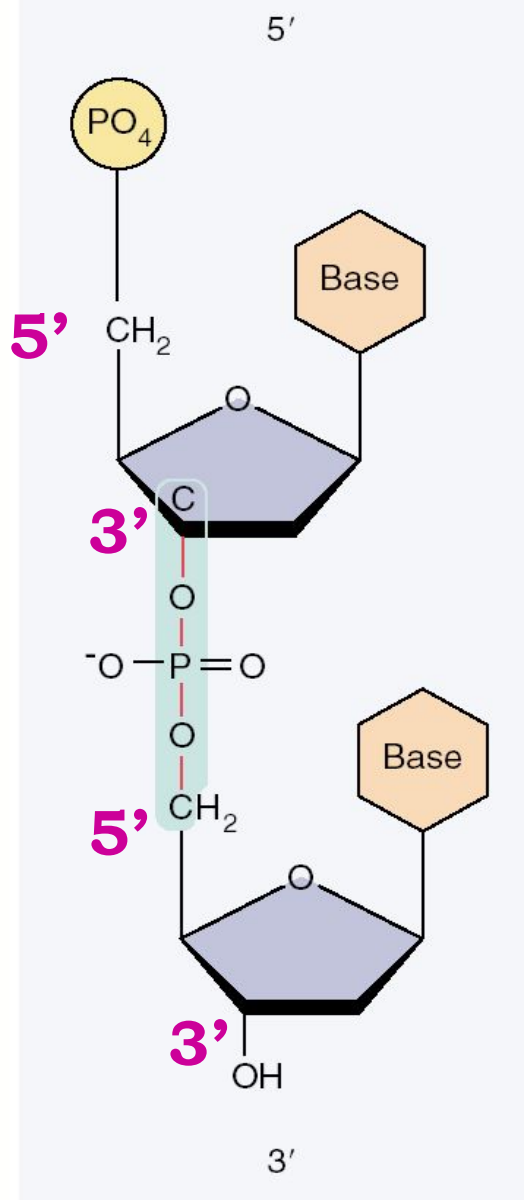
Цитозин –C
Тимин –T
Урацил –U (в РНК вместо T)

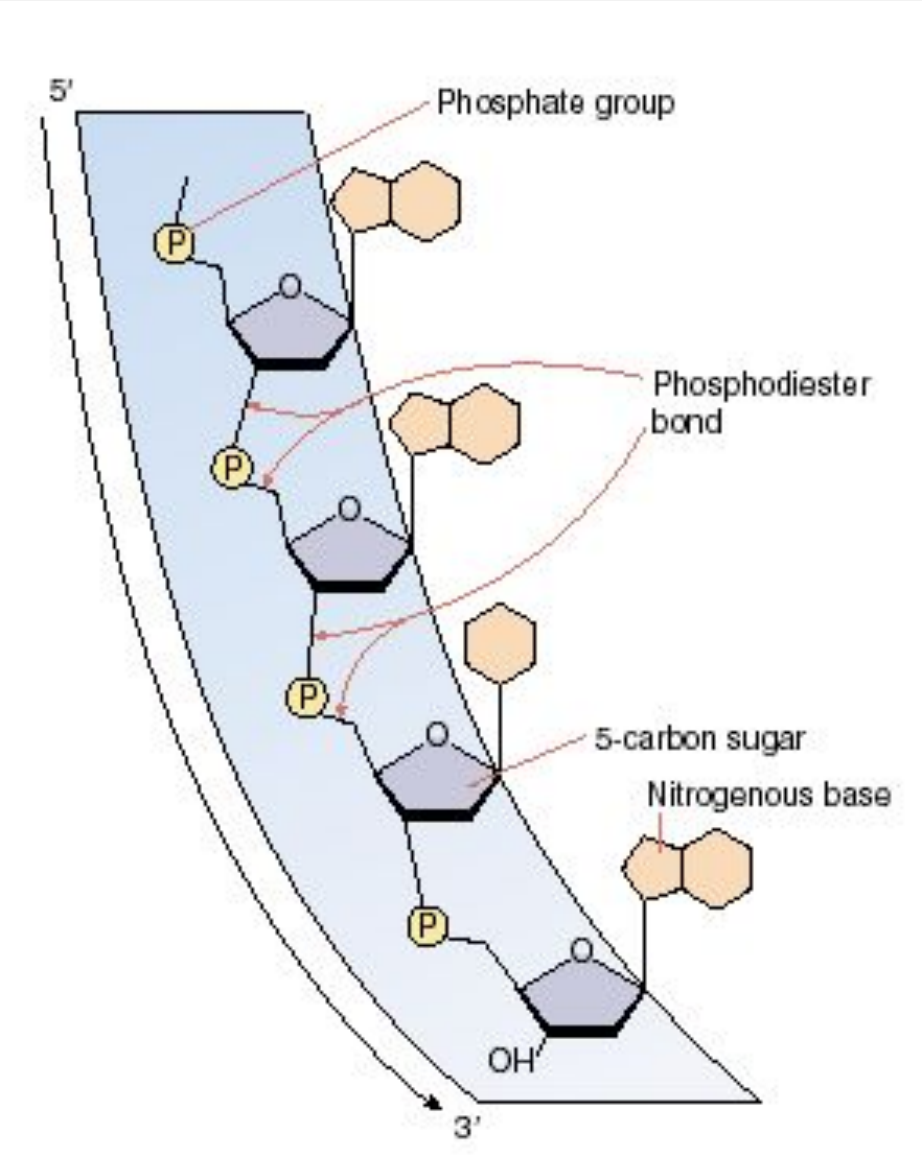
Структура ДНК

Каждая цепь ДНК имеет направление



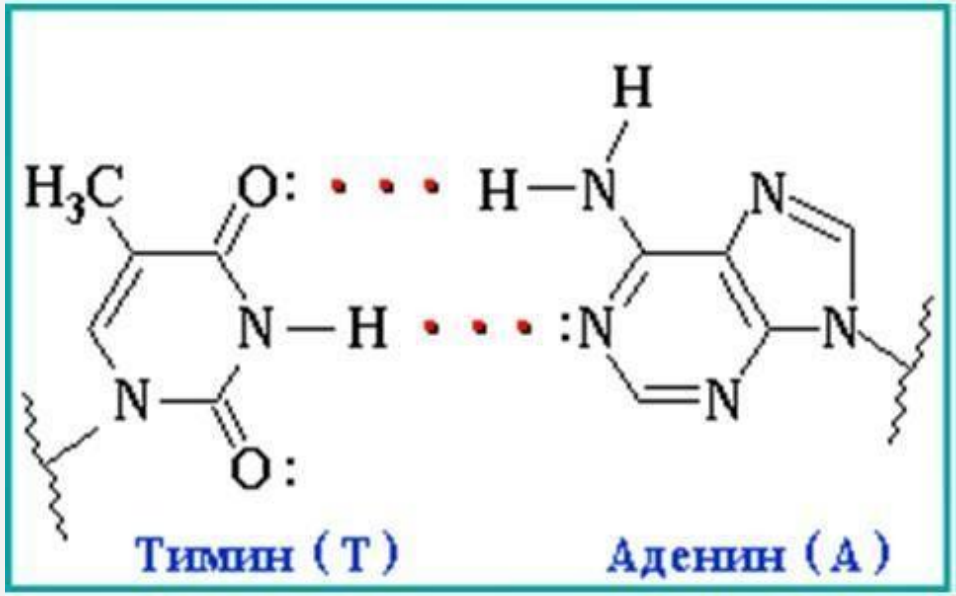
Первичная структура ДНК – полинуклеотидная цепь

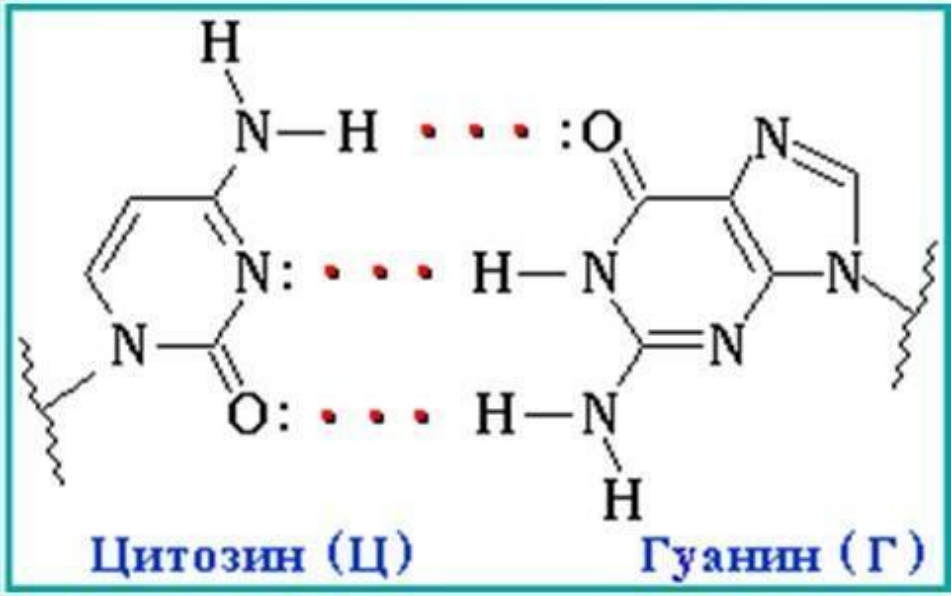




Комплементарность

Комплементарность - это принцип взаимного соответствия парных нуклеотидов или способность нуклеотидов объединяться попарно





Правила Чаргаффа

Количество пуриновых оснований равно количеству пиримидиновых оснований:

А + Г = Ц + Т или (А + Г)/(Ц + Т)=1

- Количество аденина и цитозина равно количеству гуанина и тимина:

  А + Ц = Г + Т или (А + Ц)/(Г + Т)=1

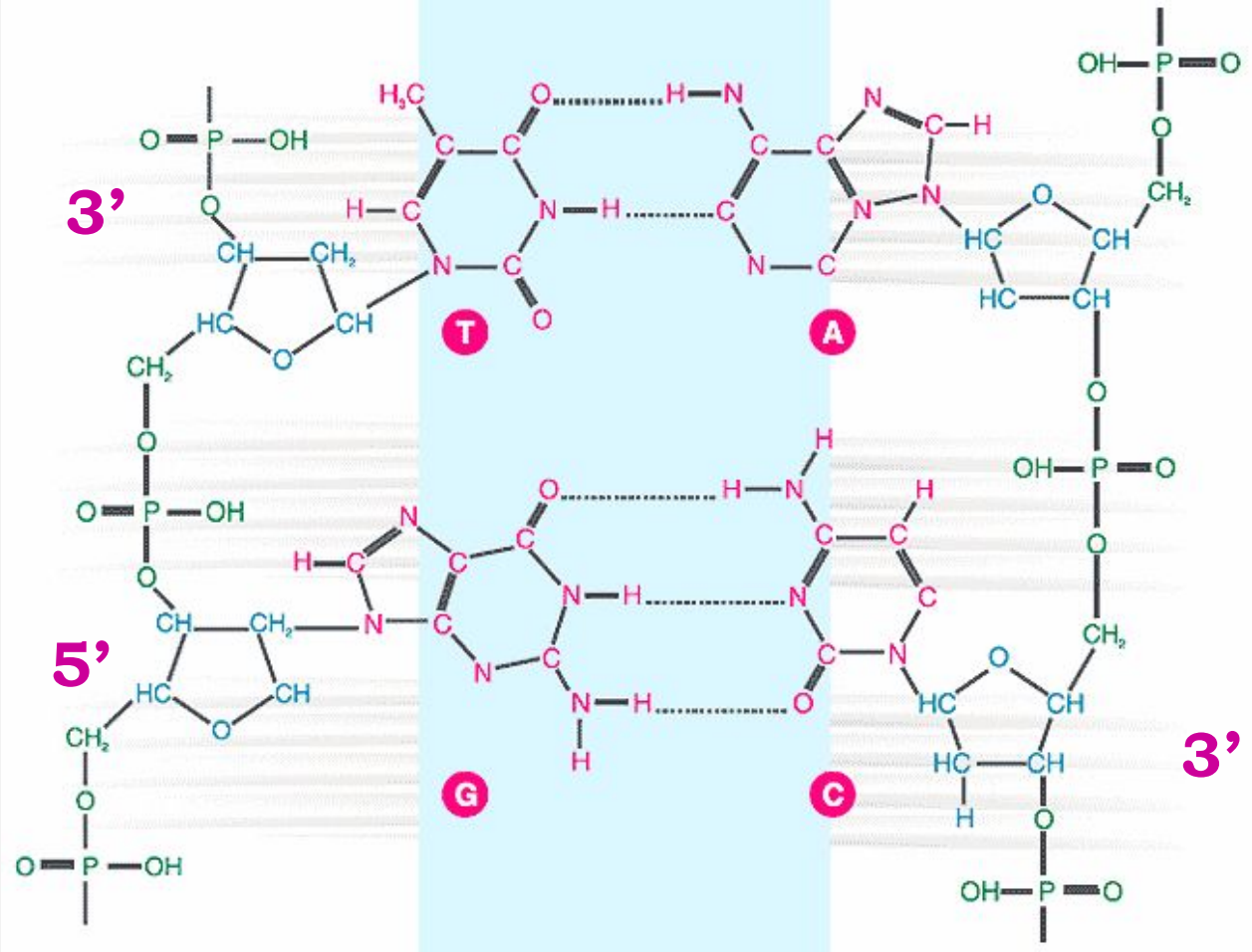
- Количество аденина равно количеству тимина, а количество гуанина равно количеству цитозина:

  А = Т и Г = Ц или А/Т=1; Г/Ц=1

- Коэффициент специфичности, который отражает для эукариот этот коэффициент ниже единицы (0,54 – 0,94), для прокариот – выше единицы.

Вторичная структура ДНК –

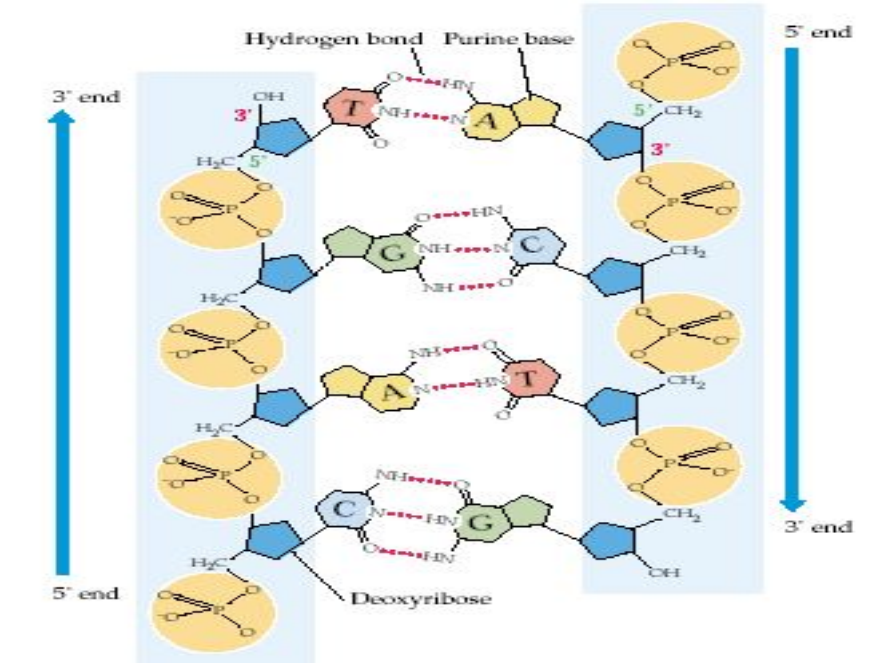
две комплементарные друг другу и антипараллельные полинуклеотидные цепи, связанные водородными связями между азотистыми основаниями

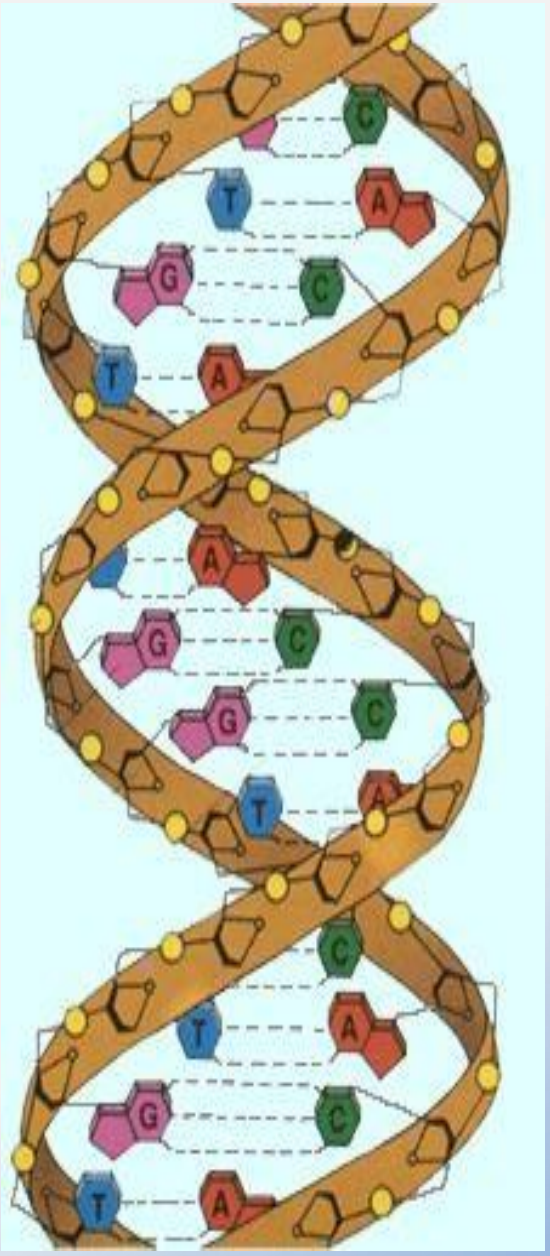


Правило Чаргаффа

A+G=T+C

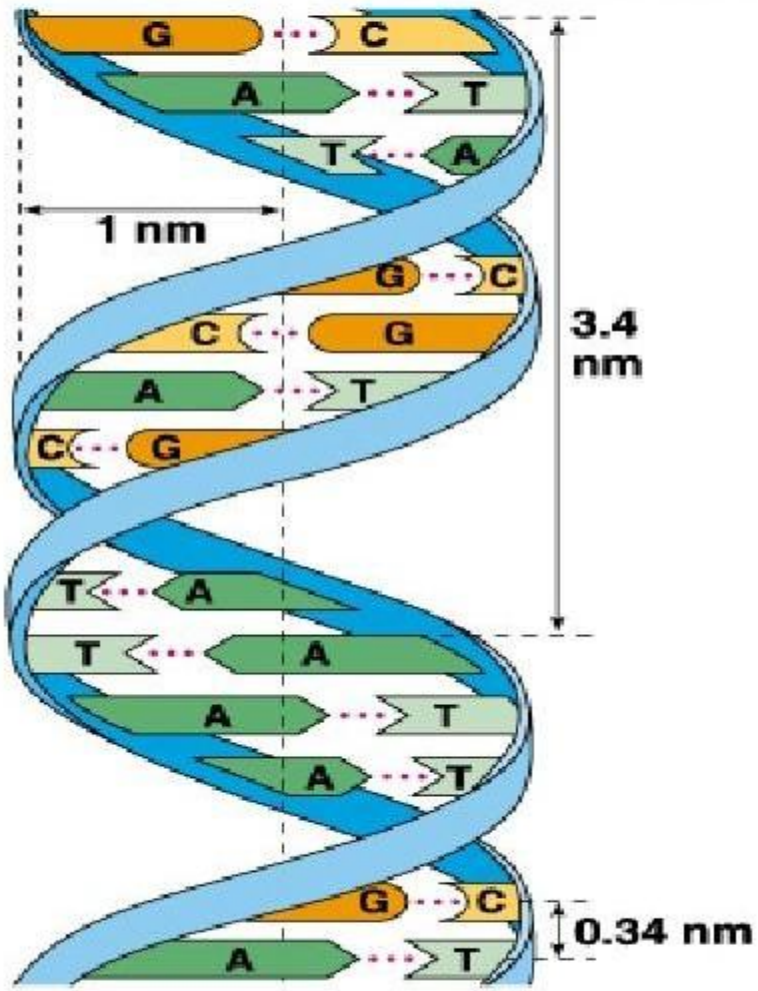
Структура ДНК – две комплементарные друг другу и антипараллельные полинуклеотидные цепи (5′ -3′ и 3′-5′), связанные водородными связями между азотистыми основаниями





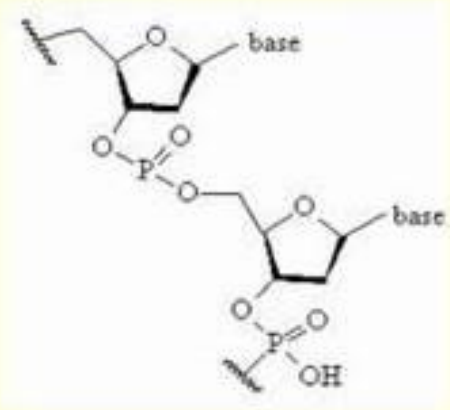
Третичная структура ДНК

- Каждая цепь закручена в спираль вправо
- Шаг спирали составляет 3,4 нм (по 10 пар оснований в витке)
- Размер пары нуклеотидов вдоль оси спирали составляет 0.34 нм
- Диаметр витка – 2 нм



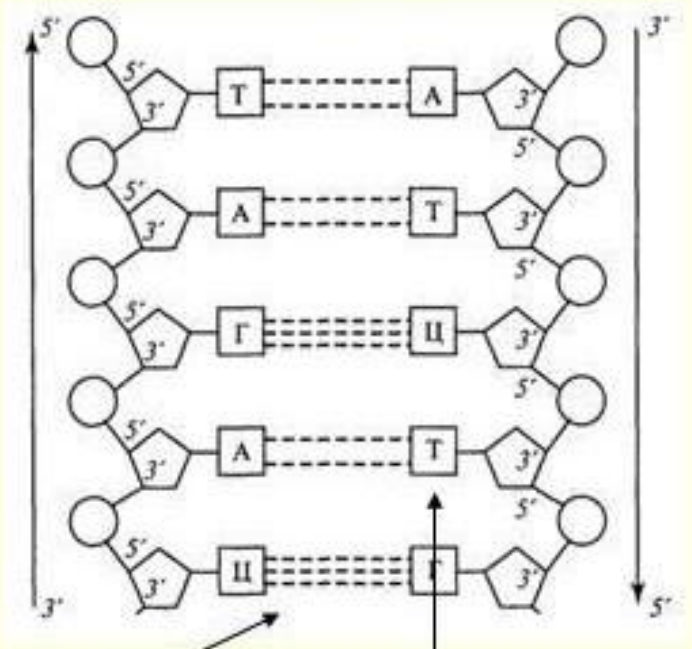
Структура ДНК

первичная



порядок следования нуклеотидов в антипараллельных полинуклеотидных цепях

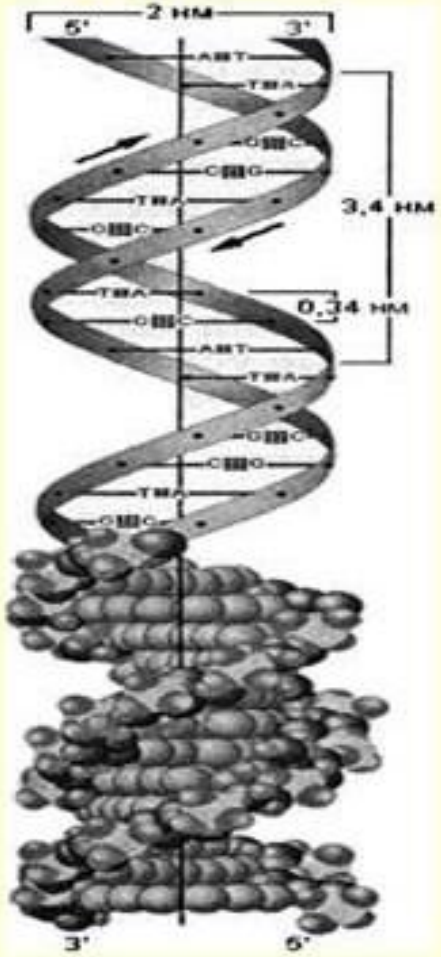
вторичная



водородные связи-стабилизация

водородные
+
гидрофобные
(стэкинг)

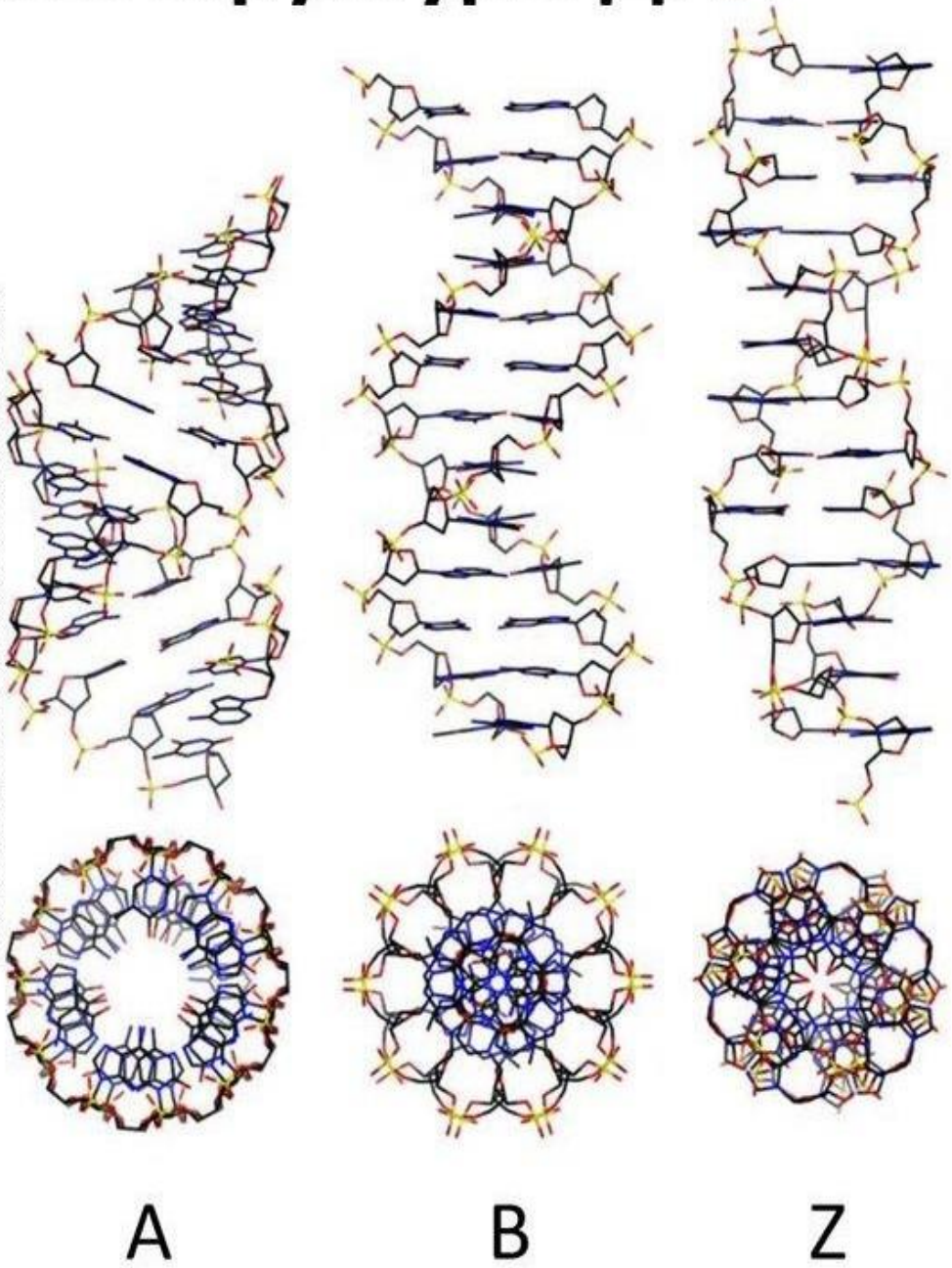
третичная



спирализация
суперспирализация

Формы вторичной структуры ДНК

Признак	A-форма	B-форма	Z-форма
Спираль	правая	правая	левая
Количество пар оснований на виток	11	10	12
Шаг спирали	28,6 Å	33,6 Å	45 Å
Диаметр спирали	23 Å	20 Å	18 Å
Угол между плоскостями оснований и осью спирали	70°	90°	100°



Классы последовательностей ДНК

- ***Повторяющиеся последовательности*** (не транскрибируются) 45-50% генома.
- ***Умеренно повторяющиеся последовательности.***

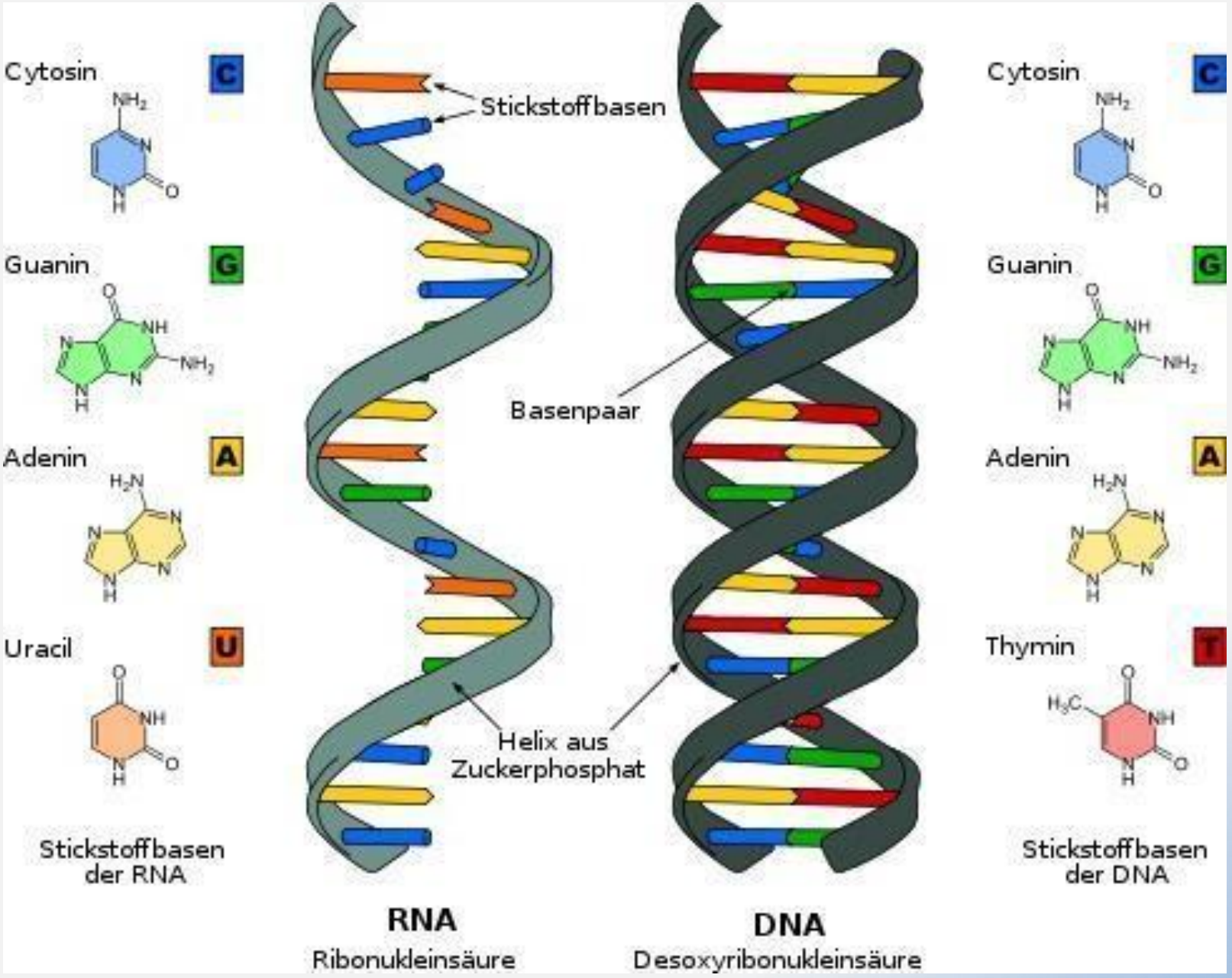
  Гены тРНК и белков, входящих в состав рибосом, гистонов и рРНК.
- ***Уникальные участки*** с неповторяющимися сочетаниями нуклеотидов.

РНК – рибонуклеиновая кислота

Линейные молекулы, построенные подобно одной из цепей ДНК.

В отдельных областях образуют комплементарные связи.

РНК образуется по матрице ДНК.

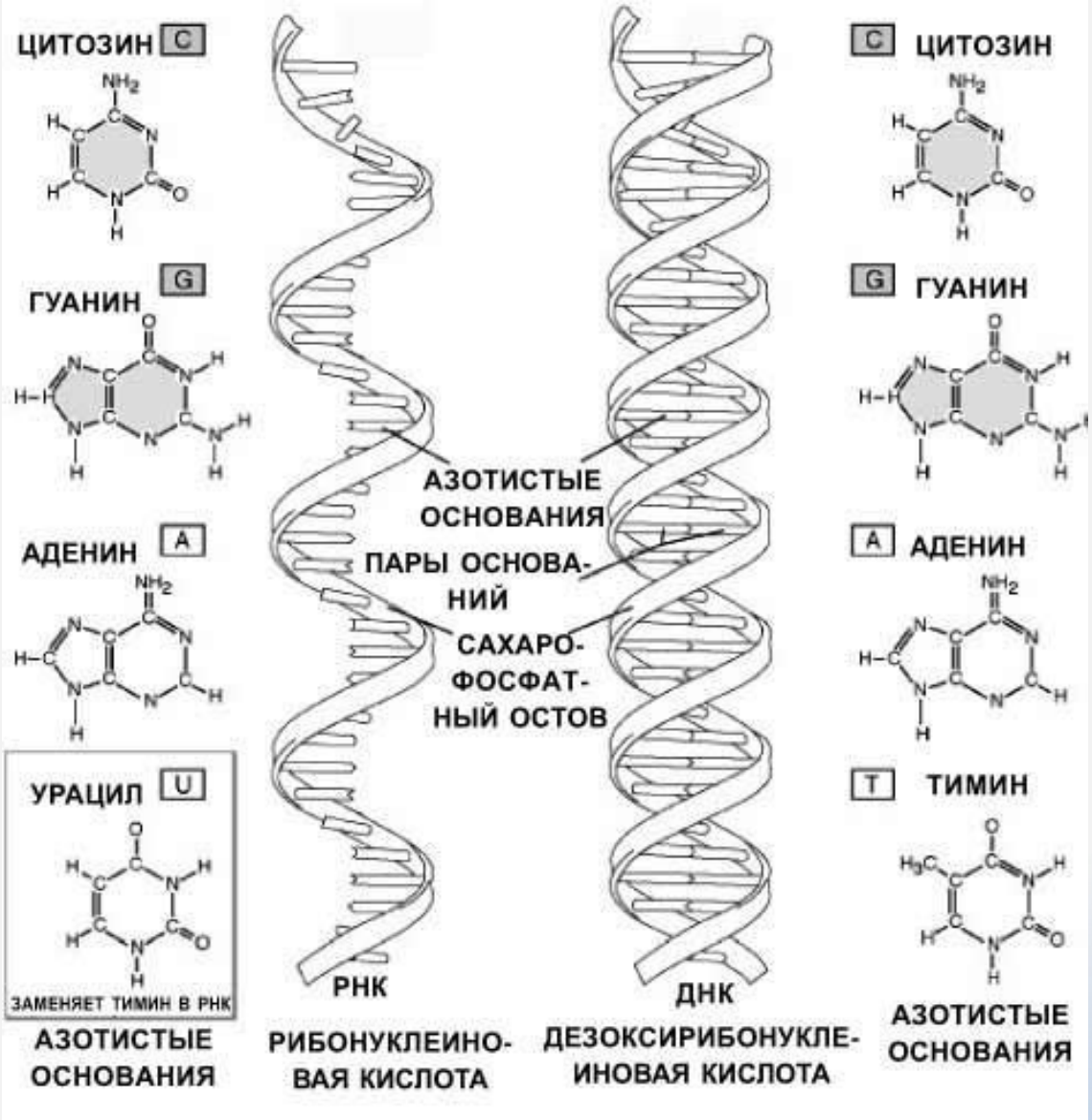

Cytosin
C
Guanin
G
Adenin
A
Uracil
U
Stickstoffbasen der RNA
Stickstoffbasen
Basenpaar
Helix aus Zuckerphosphat
RNA
Ribonukleinsäure
DNA
Desoxyribonukleinsäure
Cytosin
C
Guanin
G
Adenin
A
Thymin
T
Stickstoffbasen der DNA

Отличия ДНК от РНК

- РНК - ***одноцепочечная*** молекула.
- В нуклеотидах РНК вместо ***тимина*** присутствует ***урацил*** (пиримидин).
- Углеводом в РНК является ***рибоза***, а не дезоксирибоза.
- РНК ***распределены*** практически ***по всей клетке***, а ДНК сосредоточена ***в ядре***.
- Содержание РНК в клетке сильно ***колеблется*** и зависит от интенсивности синтеза белка, содержание ДНК практически постоянно.

Основные отличия ДНК от РНК

РНК



ДНК

Виды РНК

- - ***рРНК***. Содержат до 5000 нуклеотидов, имеют линейную, разветвленную и петлевую структуры, образуются в ядрышках на рРНК генах, входят в состав большой и малой субъединиц рибосом.

- - ***мРНК.*** Состоят из 300-3000 нуклеотидов. Переносят генетическую информацию из ядра в цитоплазму, где используются рибосомами для определения а.к. последовательности полипептида согласно генетическому коду.

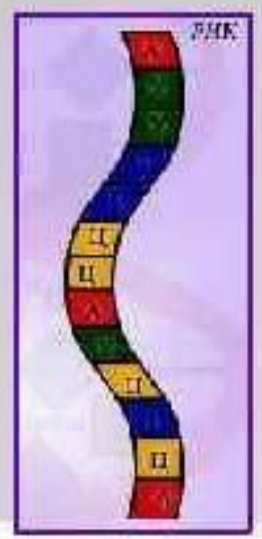
- - ***тРНК.*** Короткие, образуются на тРНК генах, формируют похожие на лист клевера структуры, служат для переноса а.к. к местам

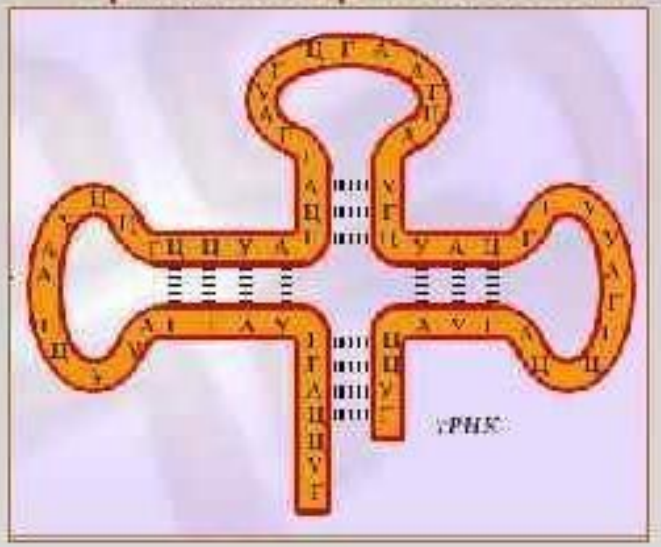
Виды РНК

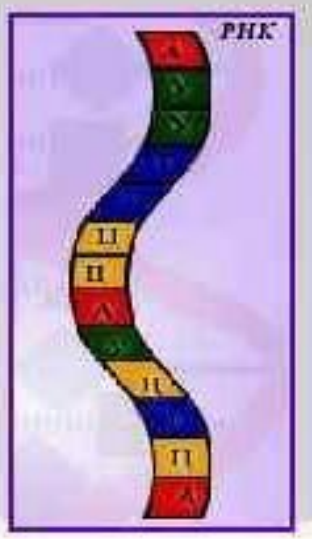
иРНК- информационная РНК

тРНК- транспортная РНК

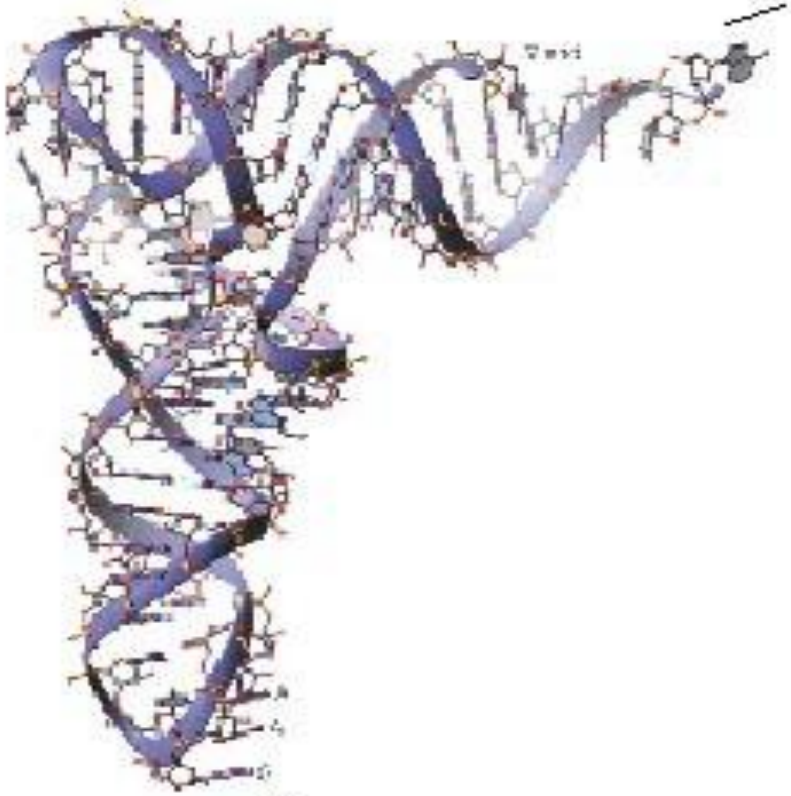
рРНК- рибосомная РНК

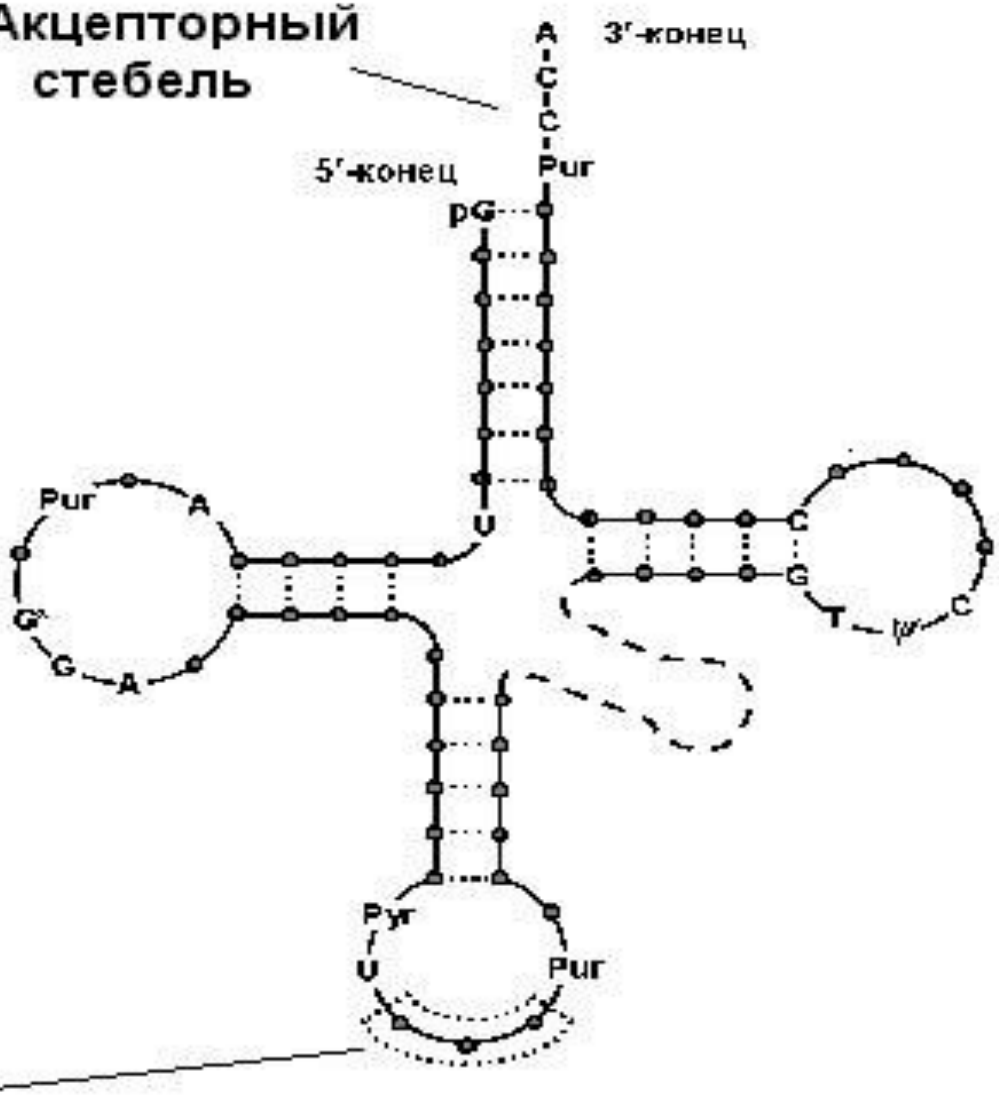




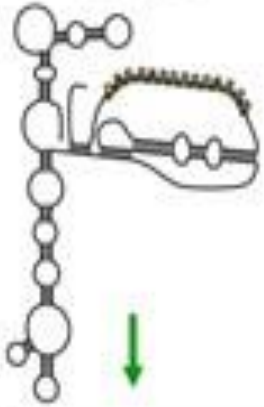


СТРУКТУРА тРНК





тРНК

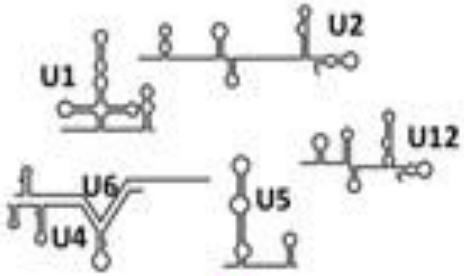


Трансляция

рРНК

Синтез белка

мяРНК



Созревание мРНК

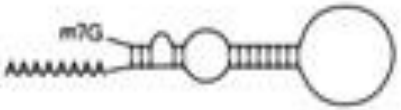
длинная нкРНК

Контроль транскрипции и трансляции

киРНК

Регуляция РНК

микроРНК



Регуляция РНК

Функции ДНК

- **Хранение** генетической информации
- **Передача** генетической информации
- **Реализация** генетической информации

Генетический код

Генетический (биологический) код – это способ кодирования информации о строении белков в виде нуклеотидной последовательности. Он предназначен для перевода четырехзначного языка нуклеотидов (А, Г, У, Ц) в двадцатизначный язык аминокислот. Он обладает характерными особенностями:

- **Триплетность** – три нуклеотида формируют кодон, кодирующий аминокислоту. Всего насчитывают 61 смысловой кодон.
- **Специфичность** (или **однозначность**) – каждому кодону соответствует только одна аминокислота.
- **Вырожденность** – одной аминокислоте может соответствовать несколько кодонов.

История открытия генетического кода

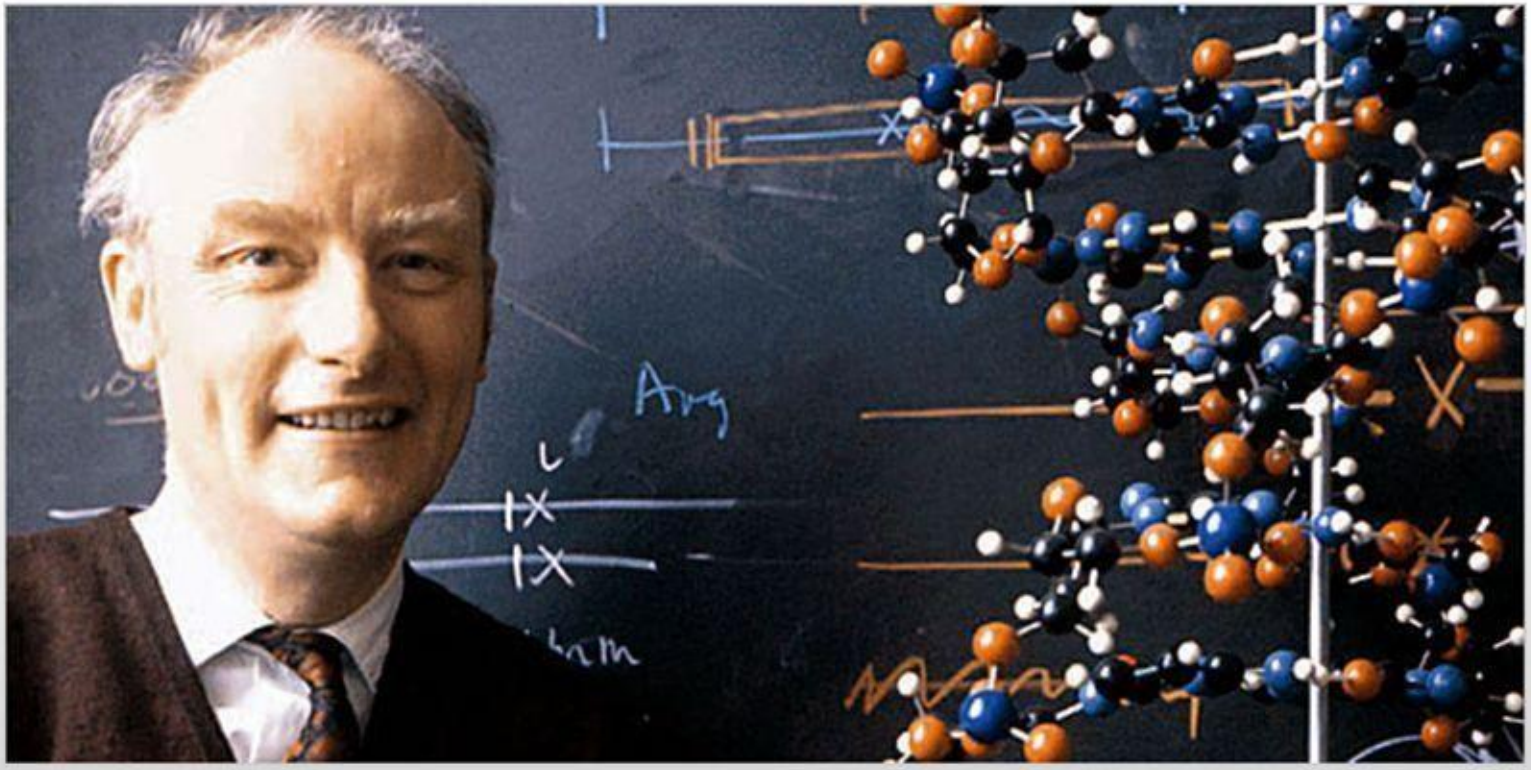
Георгий Антонович Гамов
(1904-1968)

Физик-теоретик

1954

Сформулировал **проблему кода** и предположил его **триплетность**.

MyShared



Симпозиум в Колд-Спринг-Харборе.

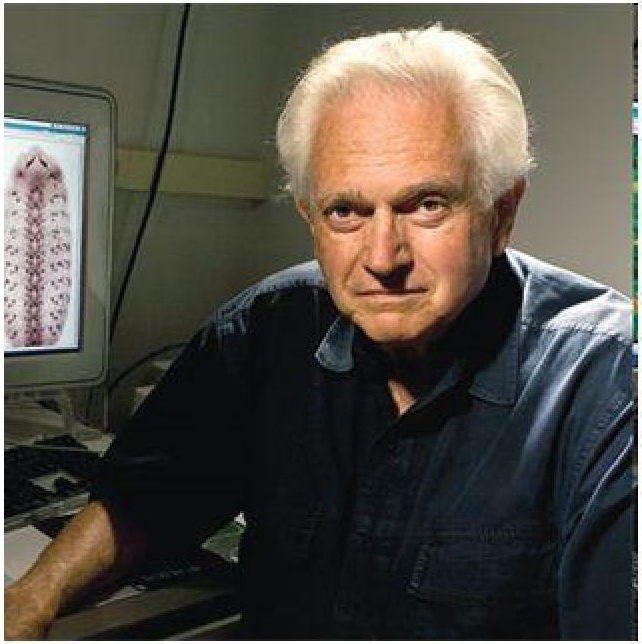
1966 Фрэнсис Крик представил результат коллективного труда нескольких лабораторий – таблицу генетического кода.

MyShared

В октябре 1968 года присуждена Нобелевская премия за расшифровку генетического кода и его функции в синтезе белка.

Роберту Холли
американскому биохимику

Хар Коране
индийско-американскому биофизику



Маршаллу Ниренбергу
американскому биохимику

MyShared

Генетический код. Триплетные кодоны мРНК и соответствующие им аминокислоты

Table 15.1 The Genetic Code

First Letter	Second Letter: U		C		A		G		Third Letter
U	UUU	Phenylalanine	UCU	Serine	UAU	Tyrosine	UGU	Cysteine	U
	UUC		UCC		UAC		UGC		C
	UUA	Leucine	UCA		UAA	Stop	UGA	Stop	A
	UUG		UCG		UAG	Stop	UGG	Tryptophan	G
C	CUU	Leucine	CCU	Proline	CAU	Histidine	CGU	Arginine	U
	CUC		CCC		CAC		CGC		C
	CUA		CCA		CAA	Glutamine	CGA		A
	CUG		CCG		CAG		CGG		G
A	AUU	Isoleucine	ACU	Threonine	AAU	Asparagine	AGU	Serine	U
	AUC		ACC		AAC		AGC		C
	AUA	Methionine; Start	ACA		AAA	Lysine	AGA	Arginine	A
	AUG		ACG		AAG		AGG		G
G	GUU	Valine	GCU	Alanine	GAU	Aspartate	GGU	Glycine	U
	GUC		GCC		GAC		GGC		C
	GUA		GCA		GAA	Glutamate	GGA		A
	GUG		GCG		GAG		GGG		G

Свойства генетического кода

- Код **триплетен** (три нуклеотида ДНК или РНК соотвтствуют 1 аминокислоте белка)
- Код **специфичен** (триплет кодирует определенную аминокислоту)
- Код **неперекрываем**
- Код **вырожден** (на одну аминокислоту приходится более одного триплета)
- Код **универсален** (одинаков у всех организмов на Земле)
- Есть **три стоп** (нонсенс) кодона (кодона терминатора)

Кодоны, которые надо знать

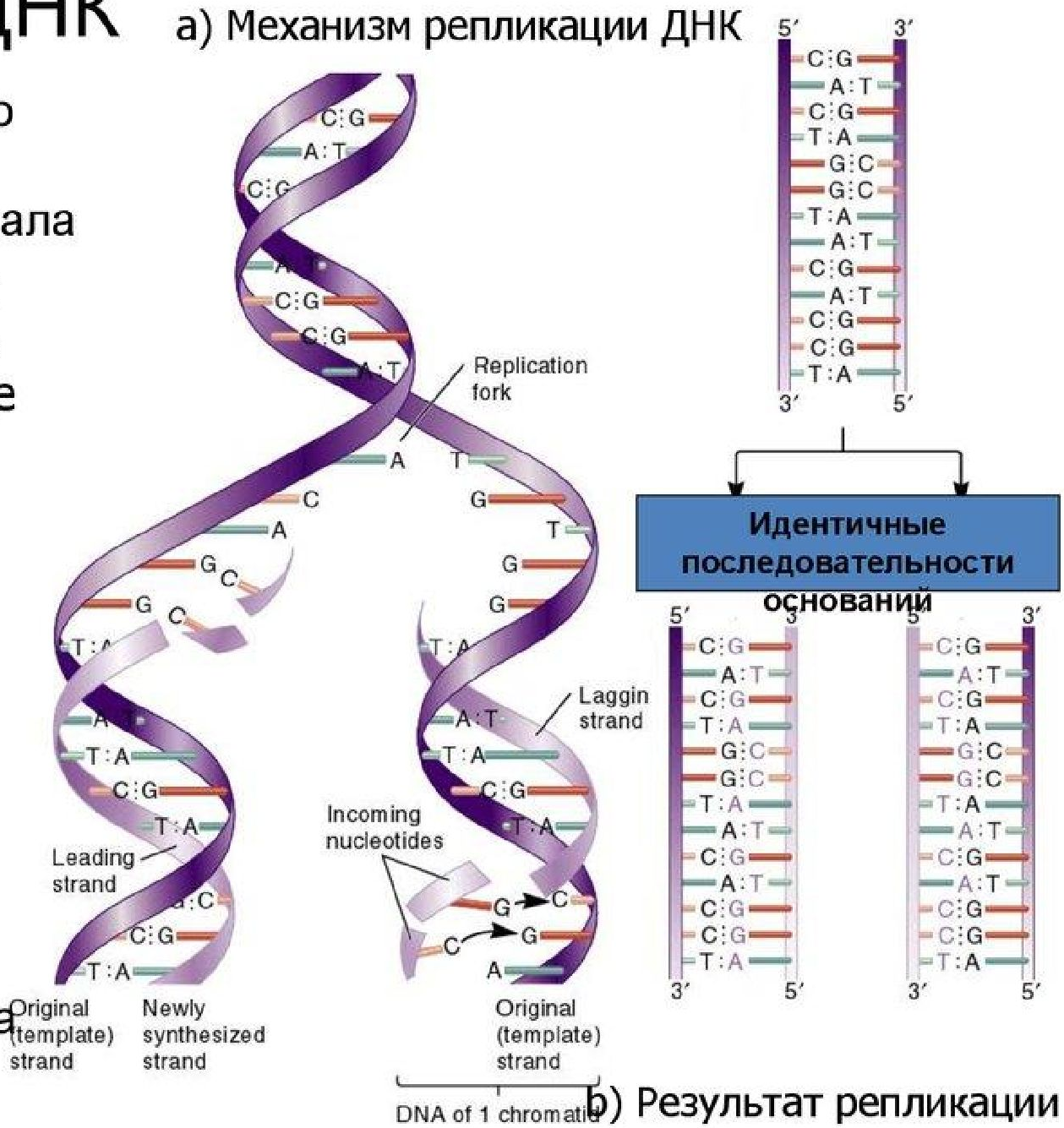
- Стартовый (инициаторный) ATG
- Дополнительные старт-кодоны GTG,TTG
- Стоп-кодоны

TGA TAG TAA

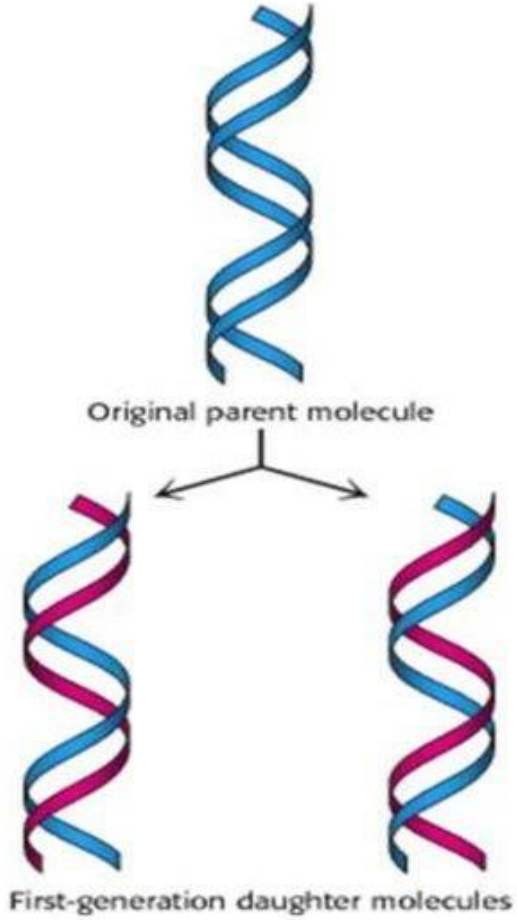
Репликация ДНК

- Репликация ДНК – это процесс удвоения генетического материала
- Репликация проходит очень быстро и очень аккуратно в S-периоде клеточного цикла
- Репликация основывается на комплементарности цепочек ДНК
  АТ/ГЦ правило Чаргаффа

Цепочки ДНК разъединяются, каждая цепь служит матрицей для синтеза новой цепи

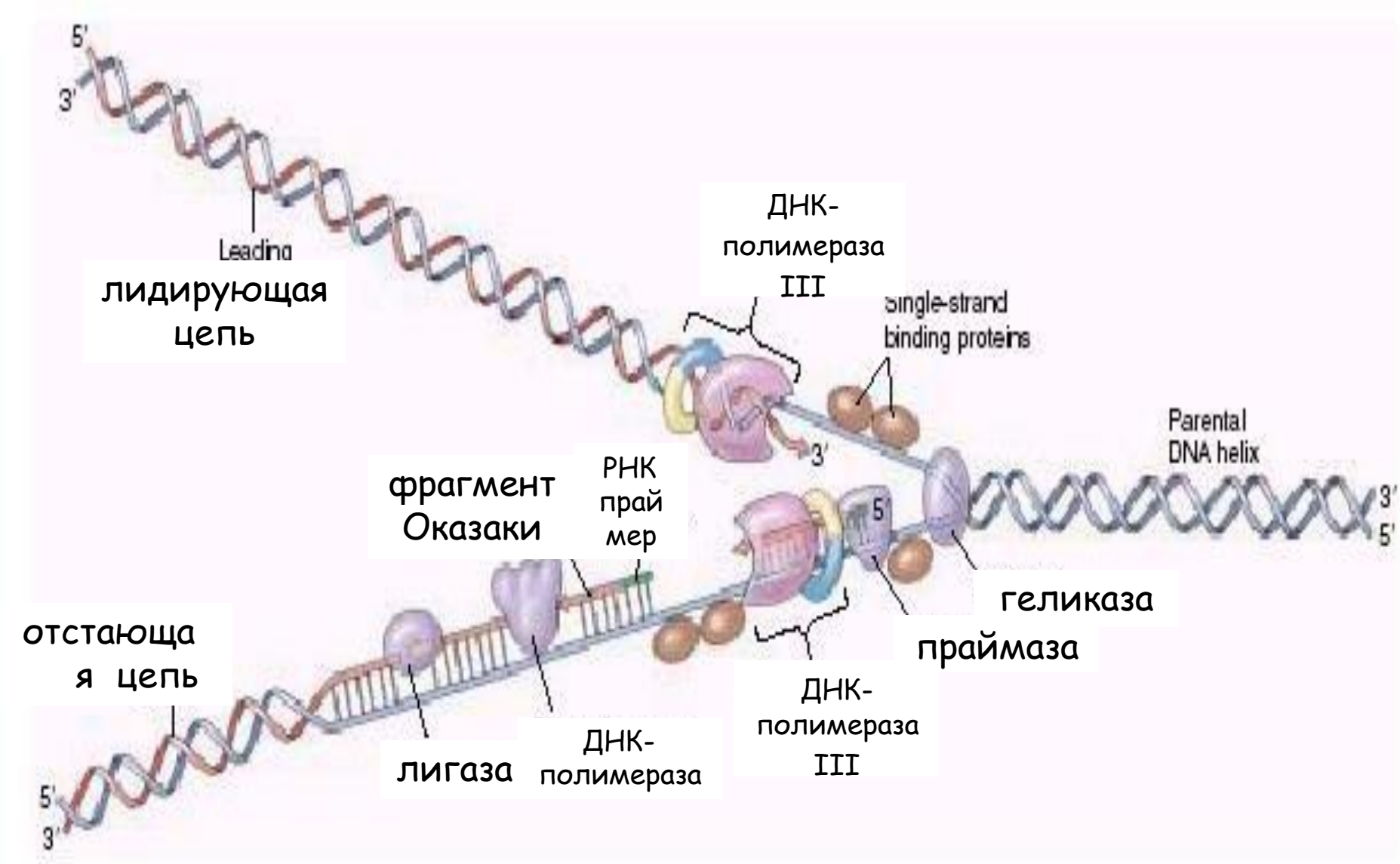


Полуконсервативный механизм репликации



- **В основе процесса репликации лежит принцип копирования материнской цепи ДНК с образованием 2-х одинаковых дочерних молекул ДНК**
- **Каждая дочерняя молекула ДНК содержит одну старую и одну новую полинуклеотидную цепь**

Механизм репликация ДНК



Ферменты репликации

В репликации молекулы ДНК принимают участие ферменты:

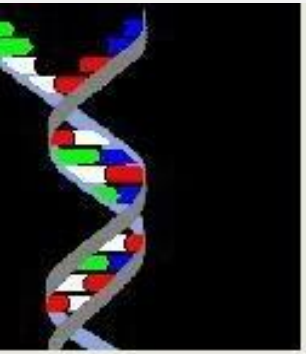
- *ДНК-топоизомеразы* - ферменты изменяющие степень сверхспирализации ДНК
- *ДНК-хеликаза (геликаза)* - фермент разделяющий цепи двухцепочечной ДНК на одинарные цепи.
- *ДНК-праймаза* - это фермент РНК-полимераза, синтезирующий короткий фрагмент РНК, называемый праймером, комплементарный одноцепочечной матрице ДНК.
- *ДНК-полимеразы* - ферменты катализирующие синтез дочерних цепей на матрице ДНК по принципу комплементарности.
- *ДНК-лигаза* - фермент катализирующий сшивание одноцепочечных фрагментов ДНК.

Необходимые условия для репликации ДНК

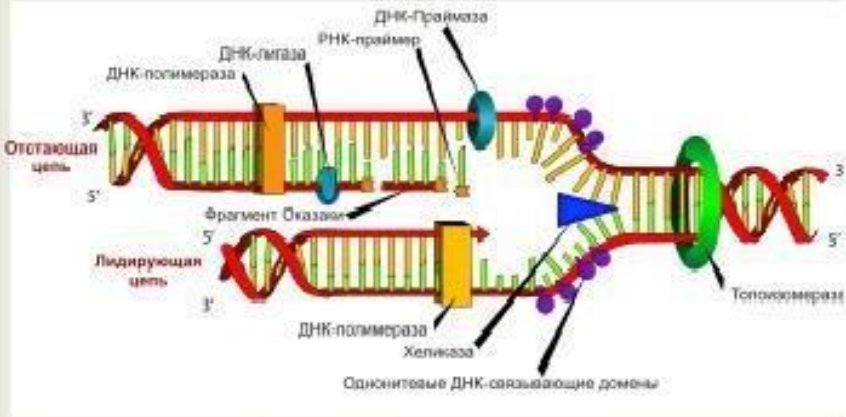
- Двухцепочечная матричная ДНК
- Дезоксирибонуклеозид трифосфаты (dАТФ, dГТФ, dЦТФ, dТТФ)
- Рибонуклеозид трифосфаты (АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ)
- Mg^{2+}
- Комплекс ферментов – ДНК-репликаза

Этапы репликации:

- **Инициация**
  - присоединение специальных белков к точке ORI
  - локальная денатурация и образования репликативного глазка
  - синтез праймера
  - присоединение первых dNTP к праймеру
- **Элонгация**
  - удлинение новых цепей за счет полимеризации нуклеотидов
  - выявление ошибок и их исправление
- **Терминация**
  - встреча соседних репликативных вилок
  - удаление праймеров
  - заполнение брешей
  - сшивание фрагментов Оказаки
  - ренатурация ДНК



Репликация ДНК



- Хеликаза, топоизомераза и ДНК-связывающие белки расплетают ДНК, удерживают матрицу в разведённом состоянии и вращают молекулу ДНК.
- Правильность репликации обеспечивается точным соответствием комплементарных пар оснований.
- Репликация катализуется несколькими ДНК-полимеразами, а транскрипция – ферментом РНК-полимеразой.
- После репликации дочерние спирали закручиваются обратно уже без затрат энергии и каких-либо ферментов.
- Матричная цепь всегда читается в направлении 3'→5' , только одна из цепей может считываться непрерывно-лидирующая
- Другая цепь (отстающая) считывается в направлении, противоположном движению репликативной вилки. В результате на матрице вначале синтезируются короткие фрагменты новой цепи ДНК, так называемые фрагменты Оказаки.

Реализация генетической информации

Центральная догма молекулярной биологии:

ДНК

↓

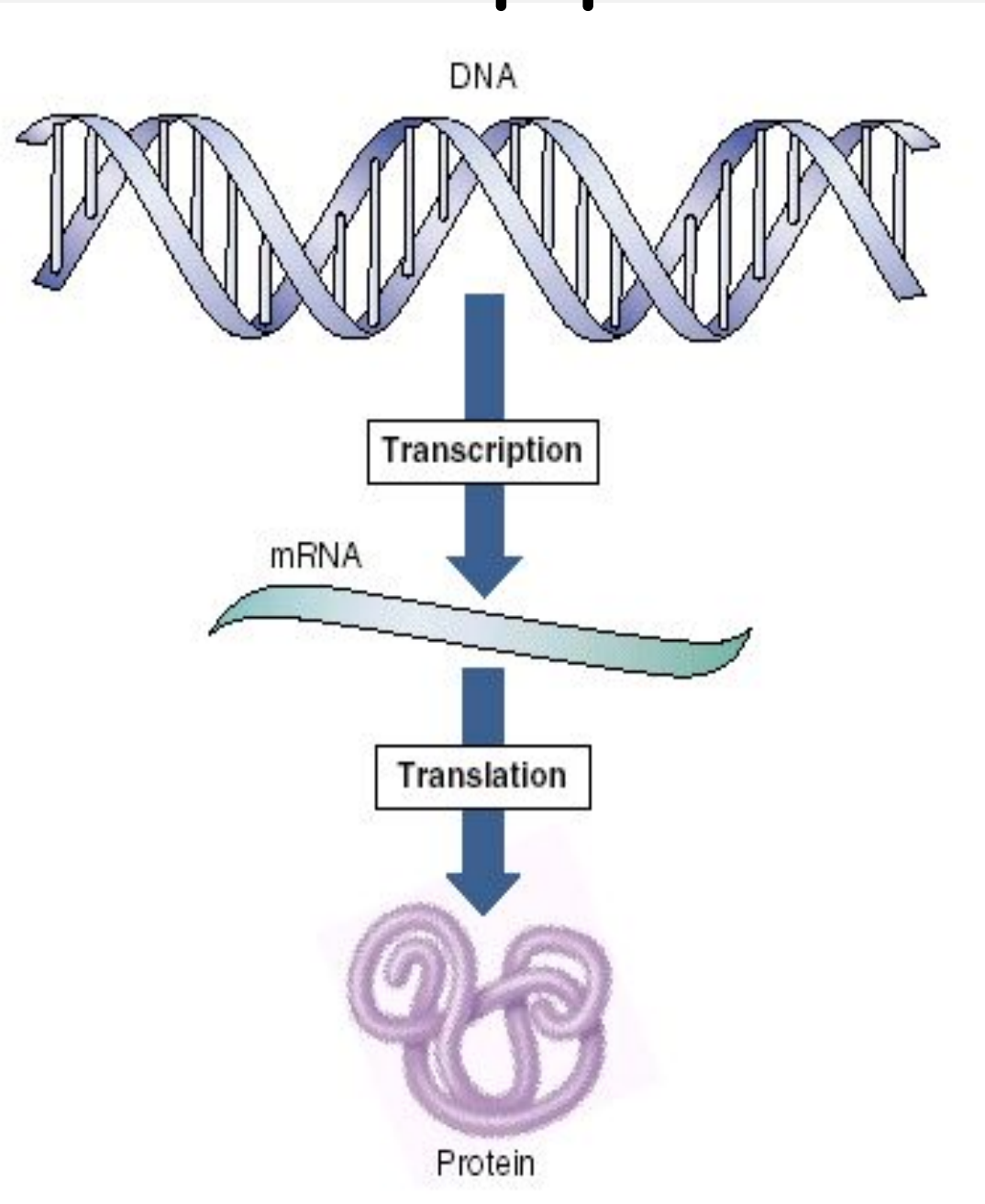
РНК

↓

Белок

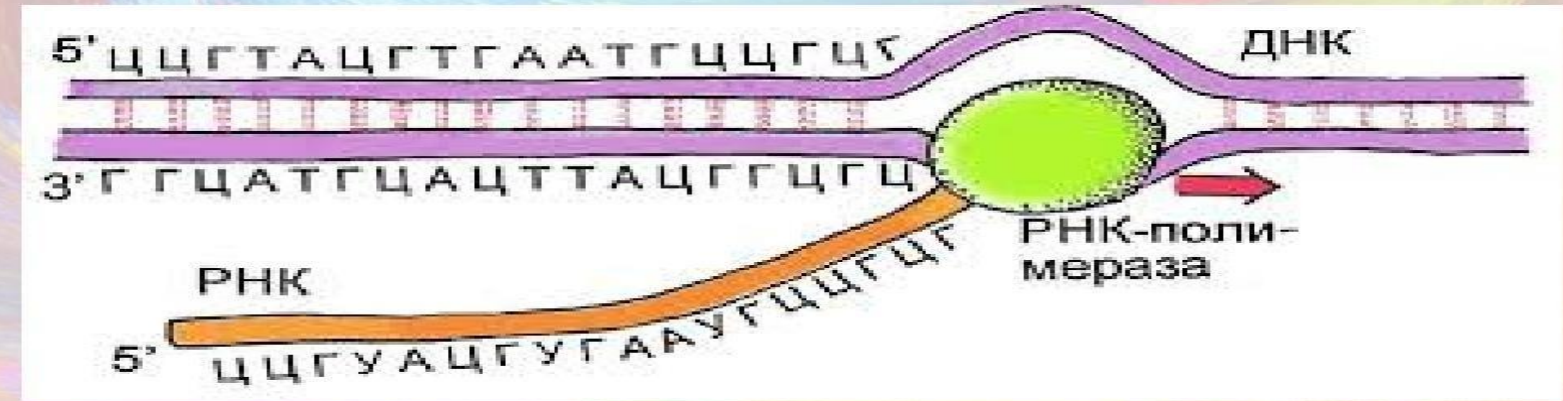
↓

Признак

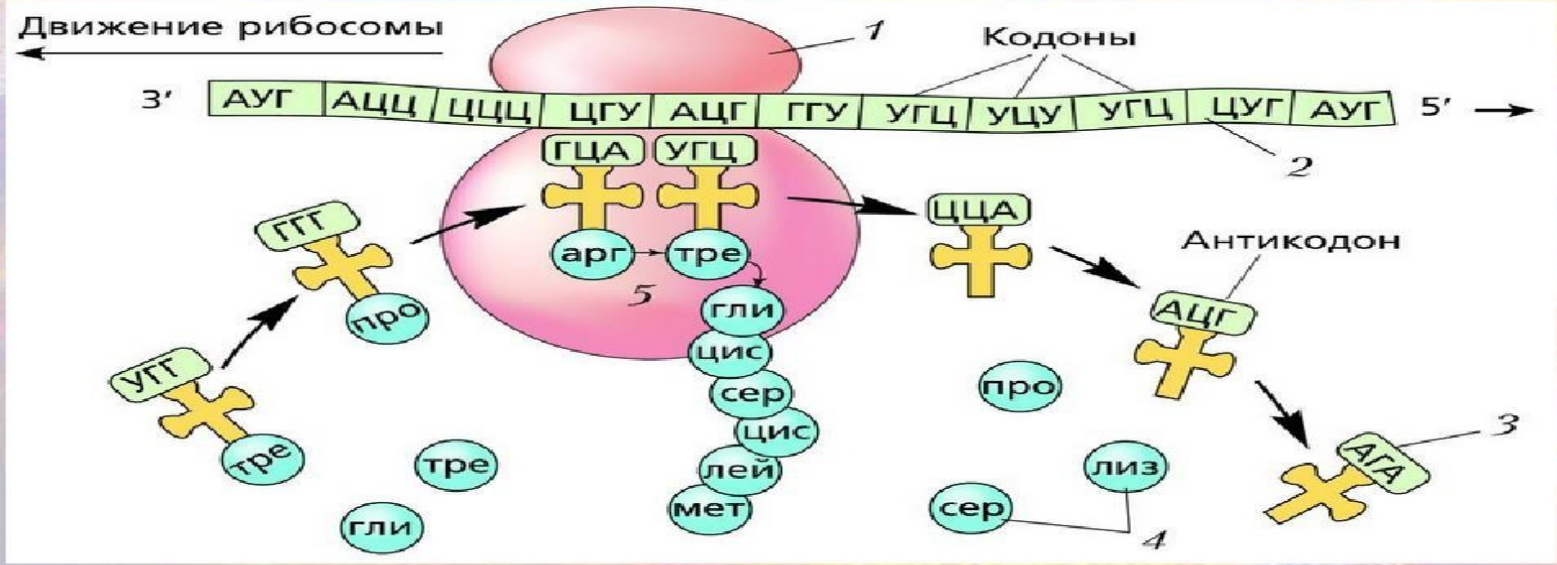


Биосинтез белка

I этап: Транскрипция



II этап: Трансляция



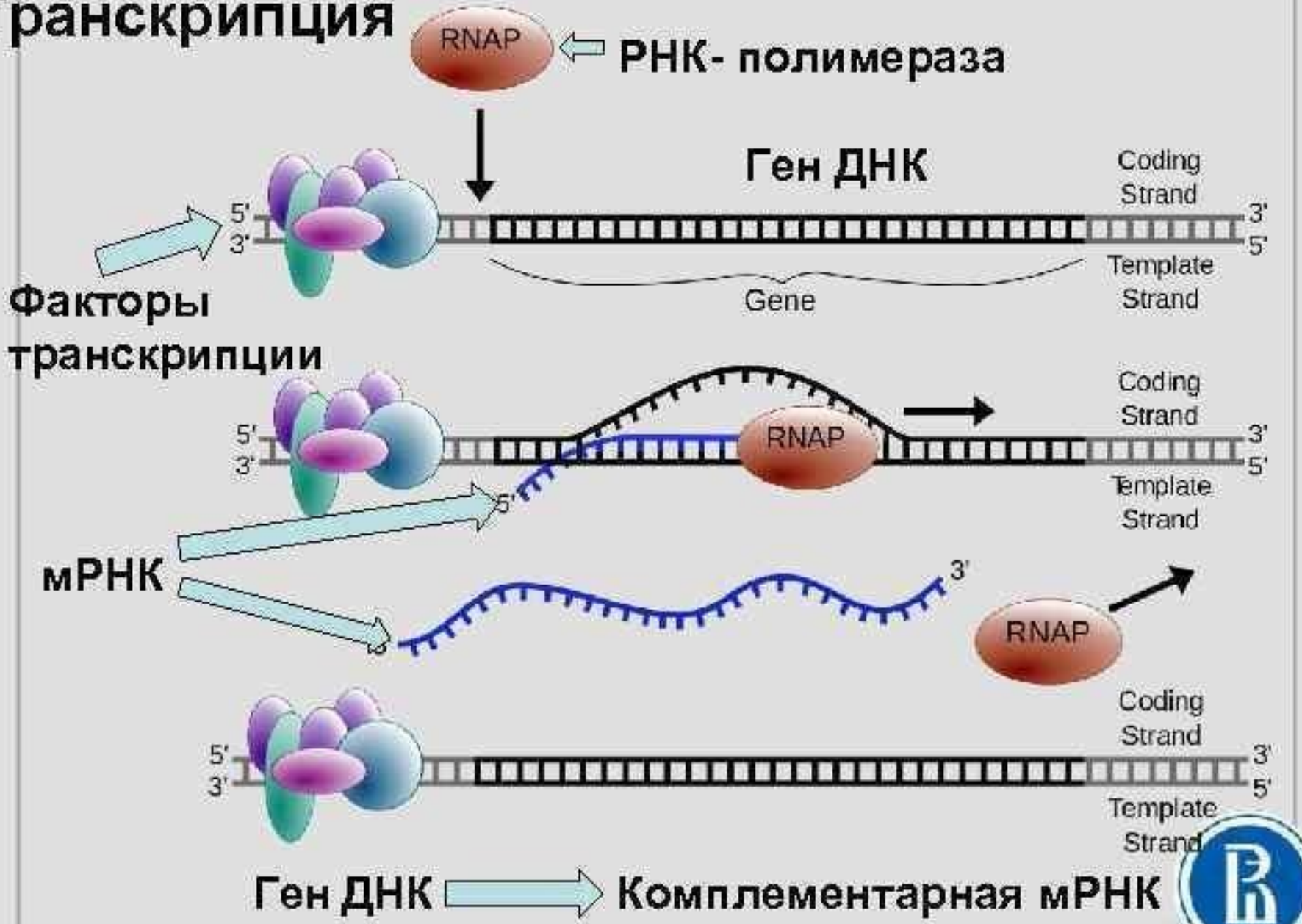
Стадии транскрипции

Биосинтез РНК происходит в участке ДНК, который называется **транскриптон**, с одного края он ограничен **промотором** (начало), с другого – **терминатором** (конец).

Выделяют три стадии транскрипции:

- инициация,
- элонгация,
- терминация.

Транскрипция



https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/th
umb/e/e1/Simple_transcription_termination1.svg/12

Особенности транскрипции у эукариот

Ген эукариот состоит из экзонов и интронов. Интроны – не кодируют белок. Они вырезаются из иРНК.

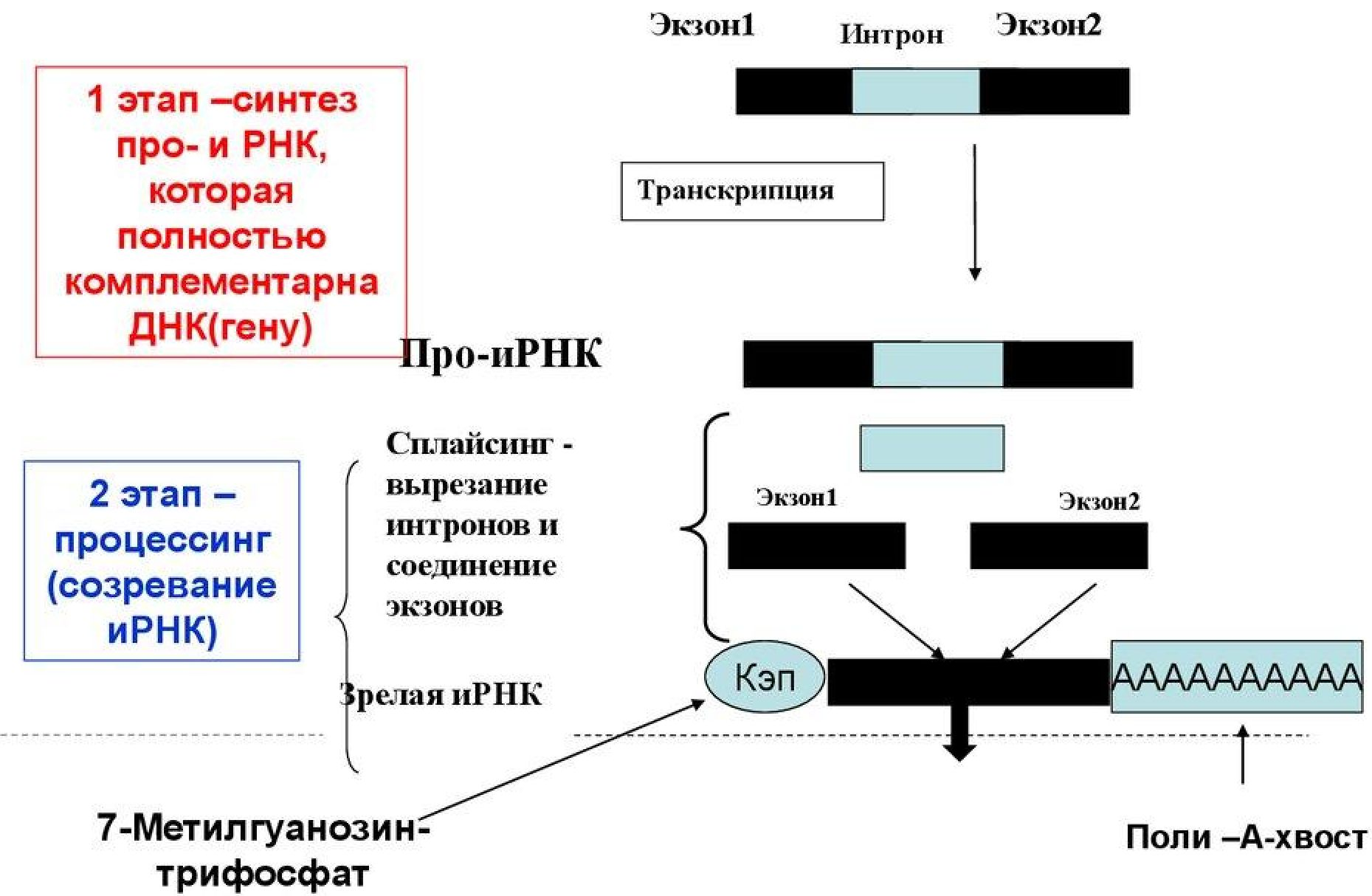
Транскрипция включает два этапа:

1) **Синтез про-иРНК (незрелой иРНК), которая полностью комплементарна гену.**
2) **Процессинг-созревание иРНК.**

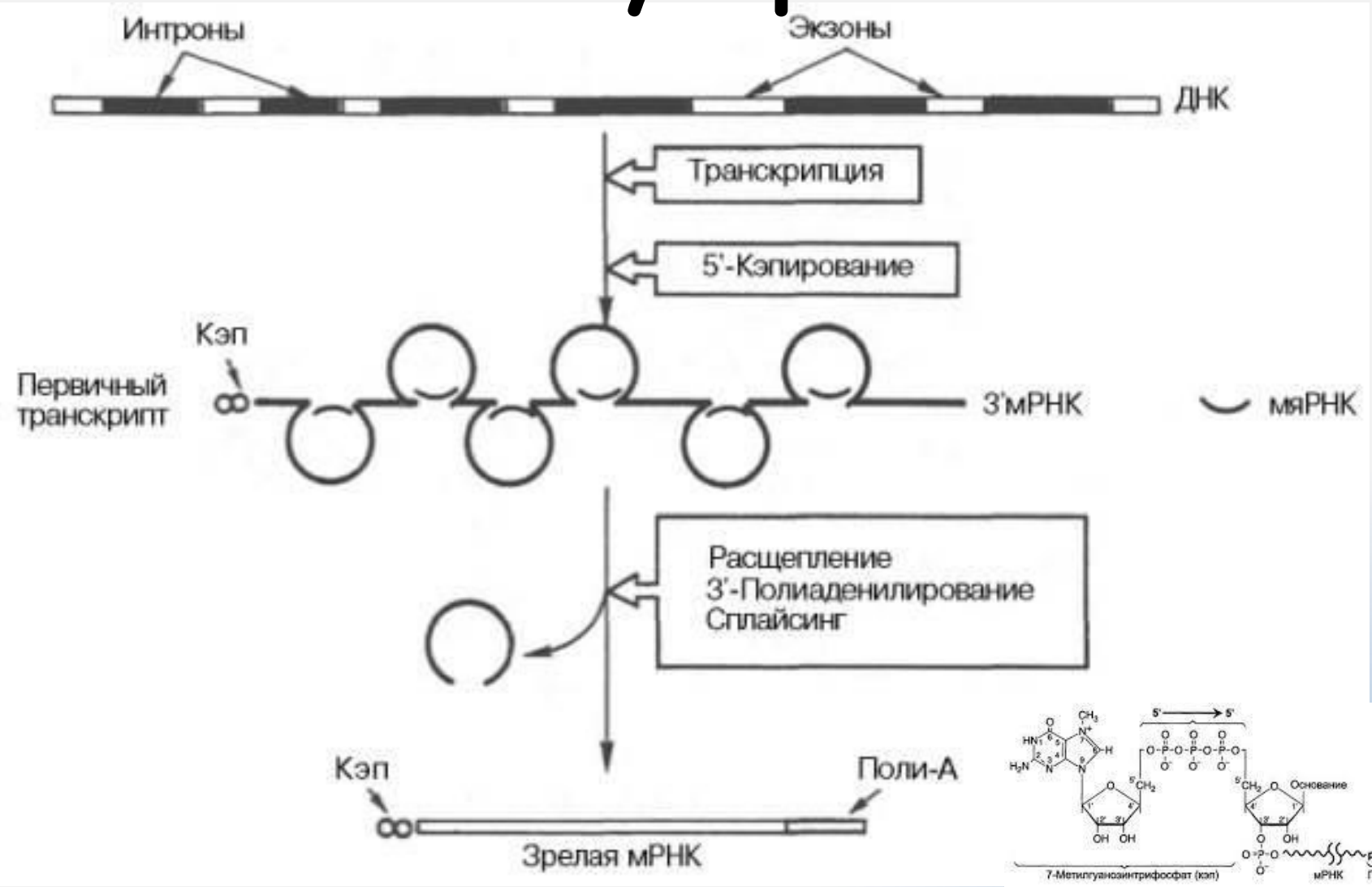
Процессинг включает:

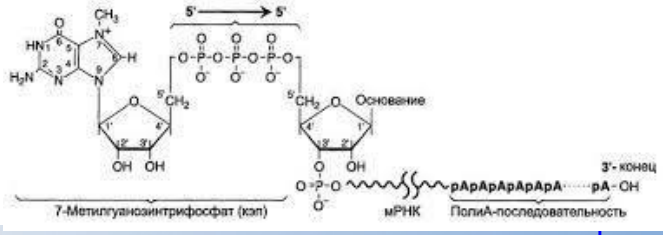
- **сплайсинг (вырезание интронов и сшивание экзонов),**
- **образование кэпа и поли-А-хвоста. Кэп (модифицированный гуанин) прикрепляется к начальному концу иРНК, поли-А-хвост – большое количество А-нуклеотидов прикрепляются к концу иРНК. Кэп и хвост обеспечивают стабильность иРНК в цитоплазме.**

Схема транскрипции у эукариот



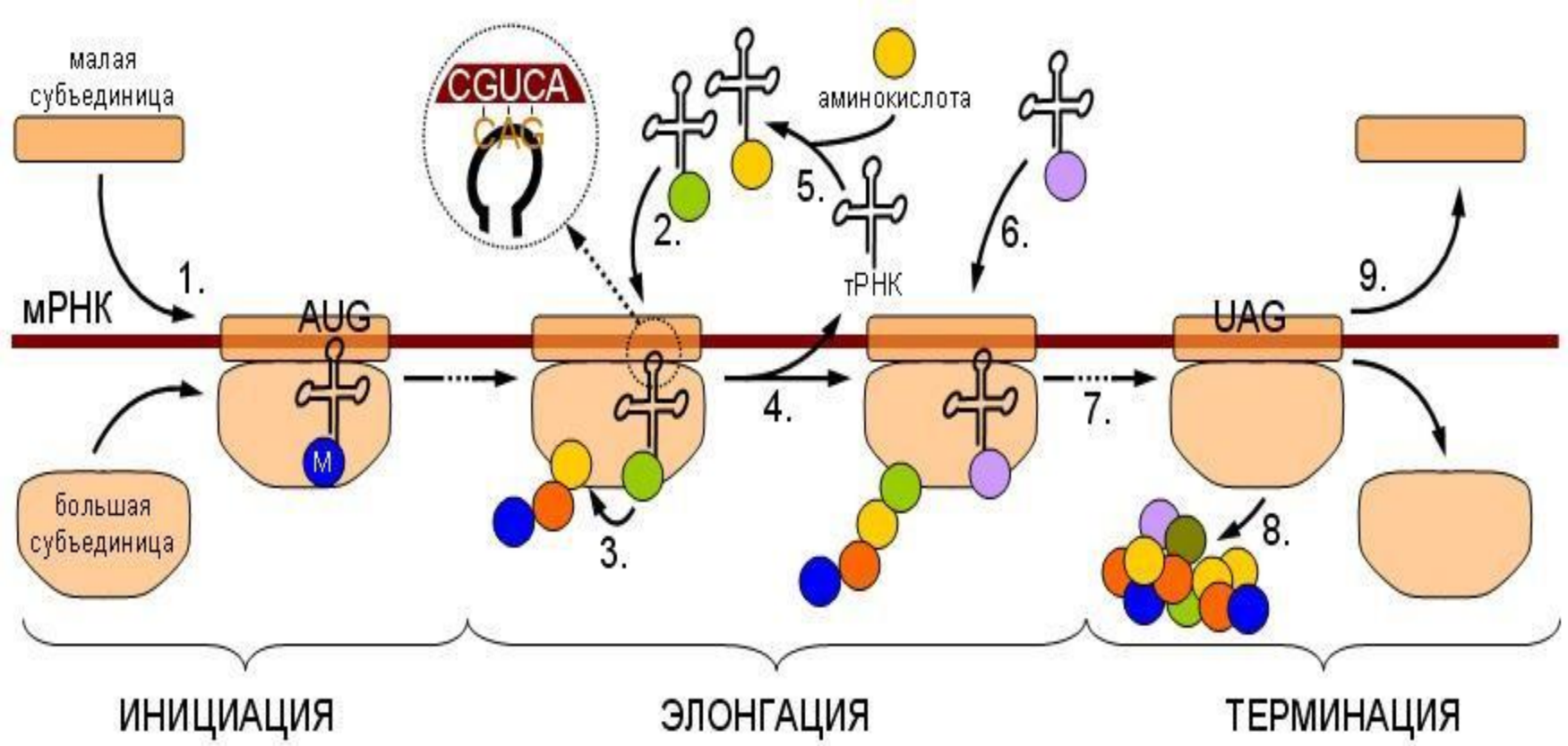
Этапы созревания мРНК у эукариот



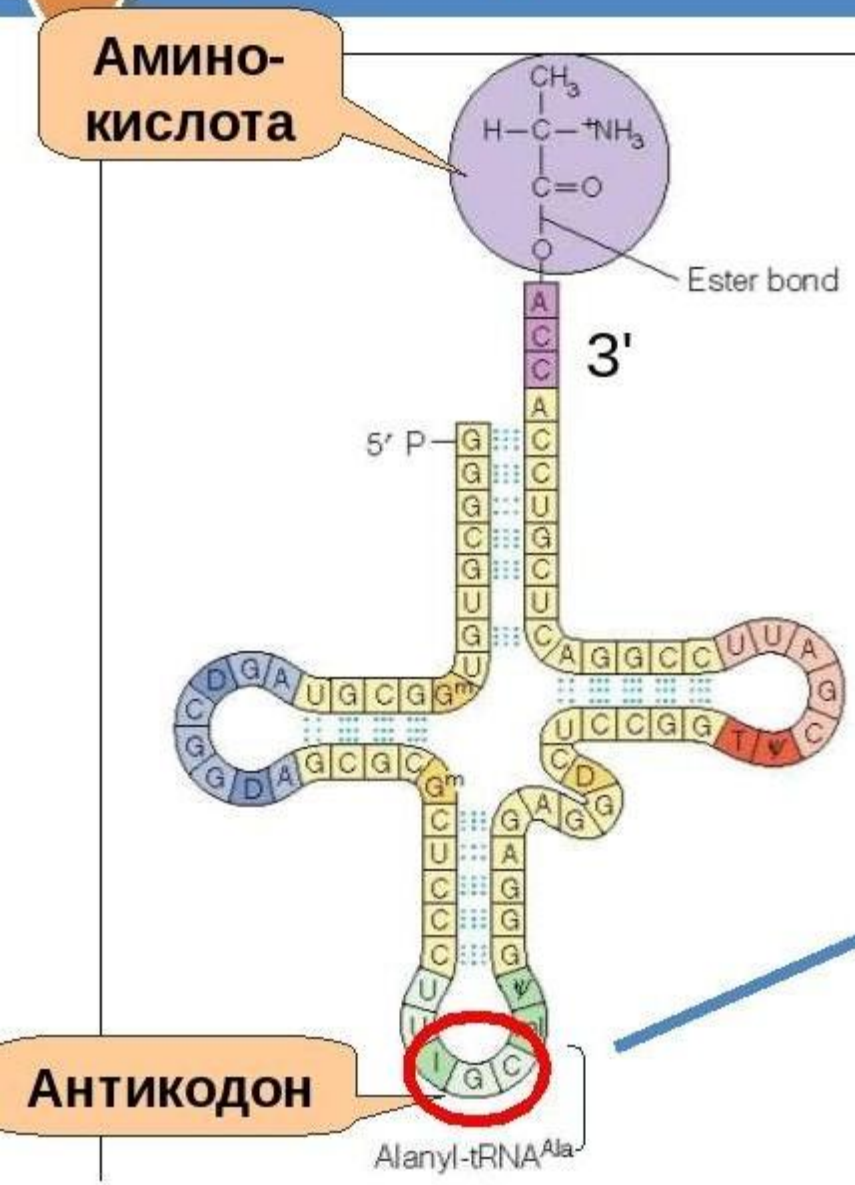


www.xumuk.ru

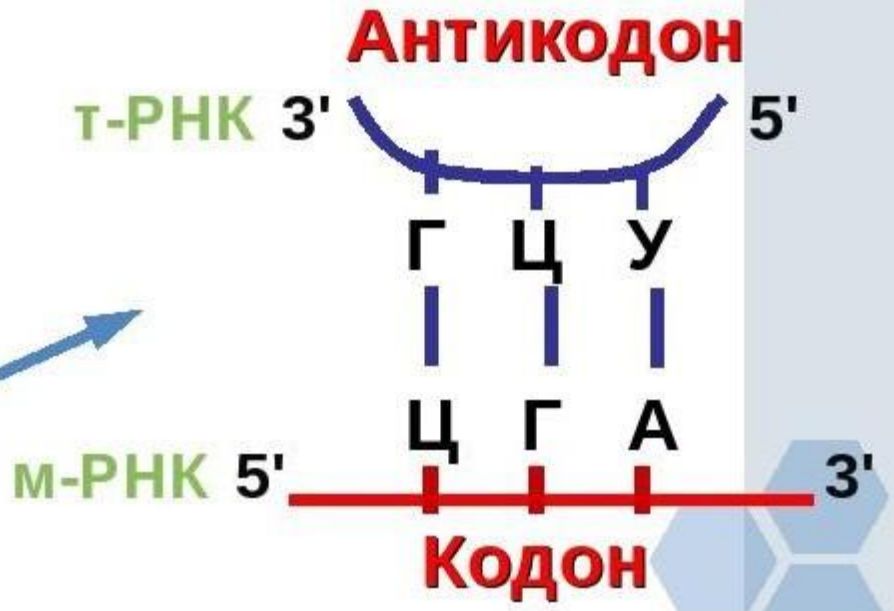
Этапы трансляции



Транспортные РНК



- Молекула-адаптор.
- Один ее конец узнает кодон в м-РНК, а другой – несет аминокислоту.



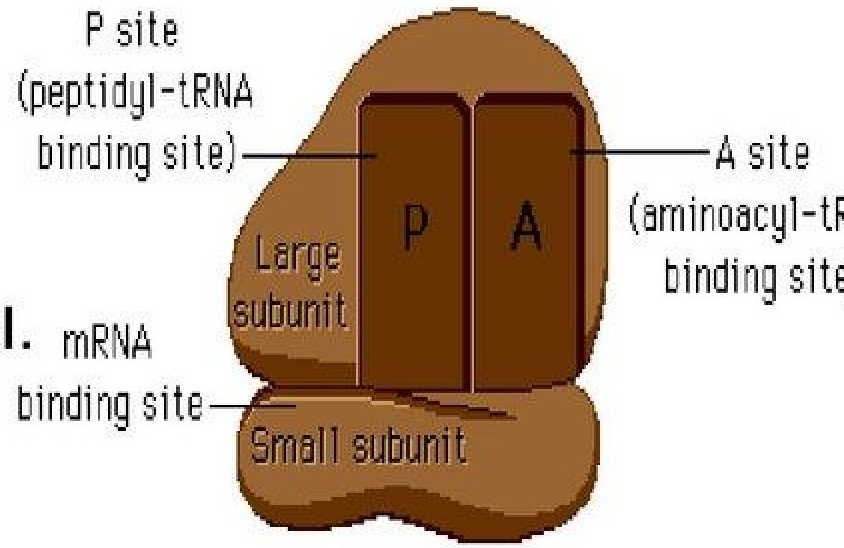
www.themegallery.com

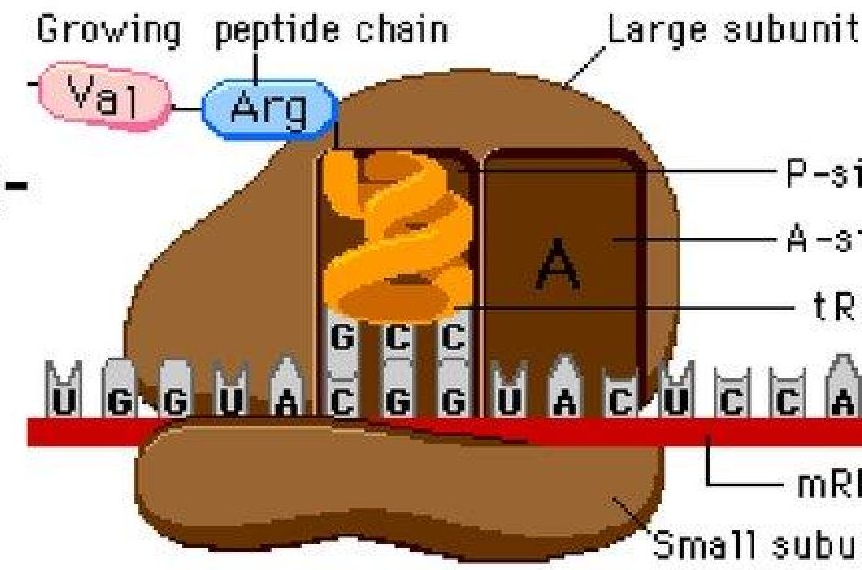
Центры рибосомы

- Аминоацильный – А.
- Пептидильный – Р.

Формируют обе субъединицы.

- Оба центра включают участок мРНК равный двум кодона.
- А – центр связывает аа-тРНК.
- Р – центр занимает пептидил-тРНК.





Стадии трансляции

- **Активация аминокислот** (связывание **АМК** с **тРНК** в цитоплазме с помощью **аминоацил-тРНК синтетаз.**
- **Синтез белка (в рибосомах):**

1) Инициация (АУГ или **ГУГ – метионил-тРНК,** факторы инициации F1,F2, F3.

2) Элонгация (**5’ ⟶ 3’, с N ⟶С конец**)

3) Терминация (стоп-кодоны УАА, УГА, УАГ).

Этапы биосинтеза белка

Этап	Место	Процессы
Транскрипция	Кариоплазма	Фермент РНК-полимераза расщепляет двойную цепь ДНК и на одной из цепей по принципу комплементарности синтезирует молекулу про-иРНК. С помощью специальных ферментов про-иРНК превращается в активную форму иРНК, которая из ядра поступает в цитоплазму клетки
Активация аминокислот	Цитоплазма	Присоединение аминокислот с помощью ковалентной связи к определенной тРНК. тРНК транспортирует аминокислоты к месту синтеза белка
Трансляция	Рибосомы	Во время синтеза белка рибосома надвигается на нитевидную молекулу иРНК таким образом, что иРНК оказывается между ее двумя субъединицами. В рибосоме есть особый участок — функциональный центр. Его размеры соответствуют длине двух триплетов, поэтому в нем одновременно находятся два соседних триплета иРНК. В одной части функционального центра антикодон тРНК узнает кодон иРНК, а в другой — аминокислота освобождается от тРНК. Когда рибосома достигает стоп-кодона, синтез белковой молекулы завершается
Образование природной структуры белка	Эндоплазматическая сеть	Белок приобретает определенную пространственную конфигурацию. При участии ферментов происходит отщепление лишних аминокислотных остатков, введение фосфатных, карбоксильных и других групп и т.п. После этих процессов белок становится функционально активным

Вещества и структуры клетки, участвующие в биосинтезе белка:

ДНК	Содержит информацию о структуре белка. Служит матрицей для синтеза белка.
и-РНК	Переносчик информации от ДНК к месту сборки белковой молекулы. Содержит генетический код.
т-РНК	Кодирующие аминокислоты и переносящие их к месту биосинтеза на рибосоме. Содержит антикодон.
Рибосомы	Органоид, где происходит собственно биосинтез белка.
Ферменты	Катализирующие биосинтез белка.
Аминокислоты	Строительный материал для построения белковой молекулы.
АТФ	Вещество, обеспечивающее энергией все процессы.

Ген

Ген - это участок молекулы ДНК, включающий регуляторные последовательности и соответствующий одной единице транскрипции, в которой находится информация о структуре одной полипептидной цепи или молекулы РНК.

Классификации генов

- **РНК-кодирующие**
- **Белок-кодирующие**
- **Митохондриальные**

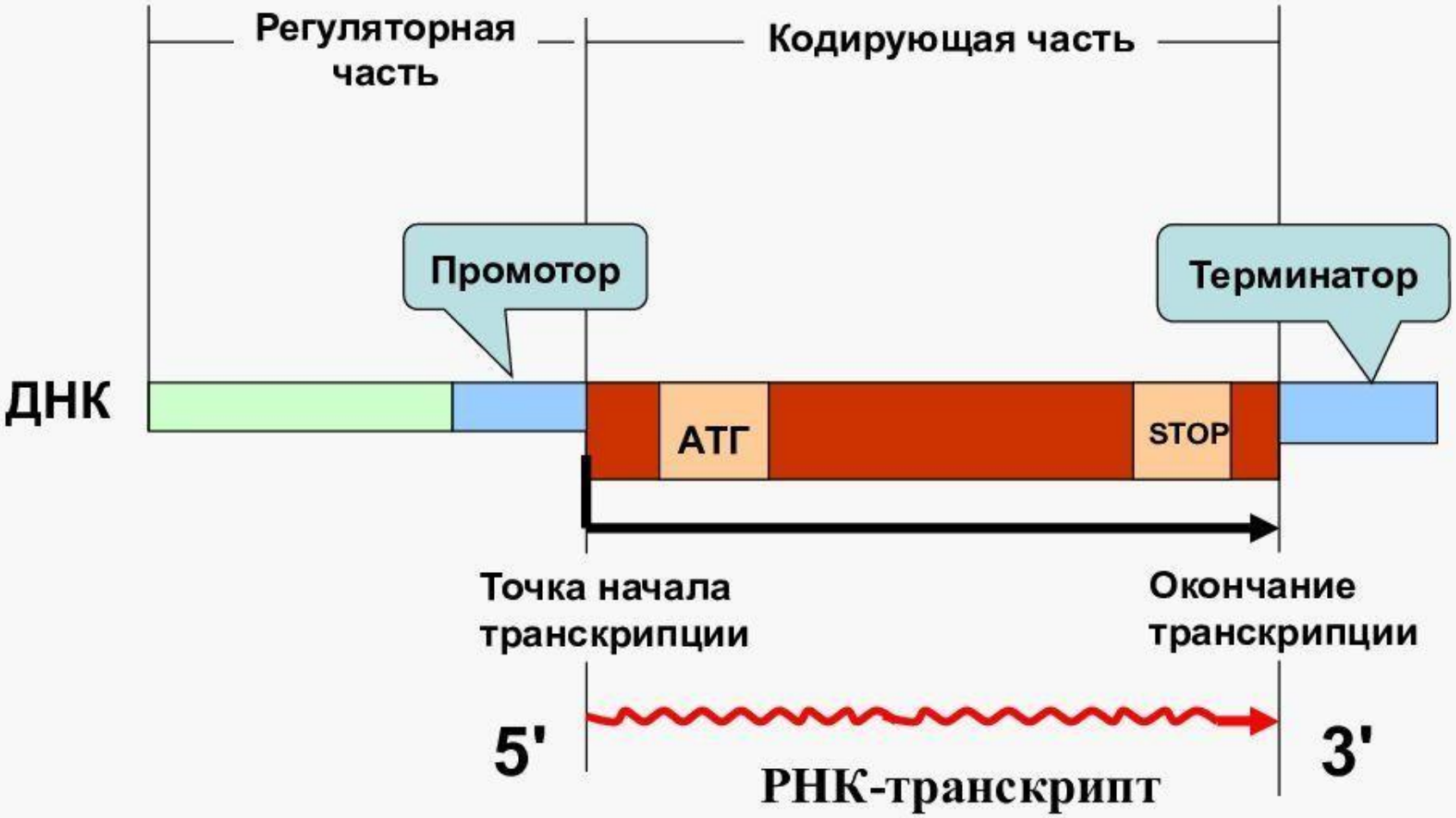
- **Конститутивные**
- **Регулируемые (индуцибельные)**

- **Структурные**
- **Функциональные:**

-модуляторы (супрессоры, активаторы, модификаторы)

-регуляторы и операторы

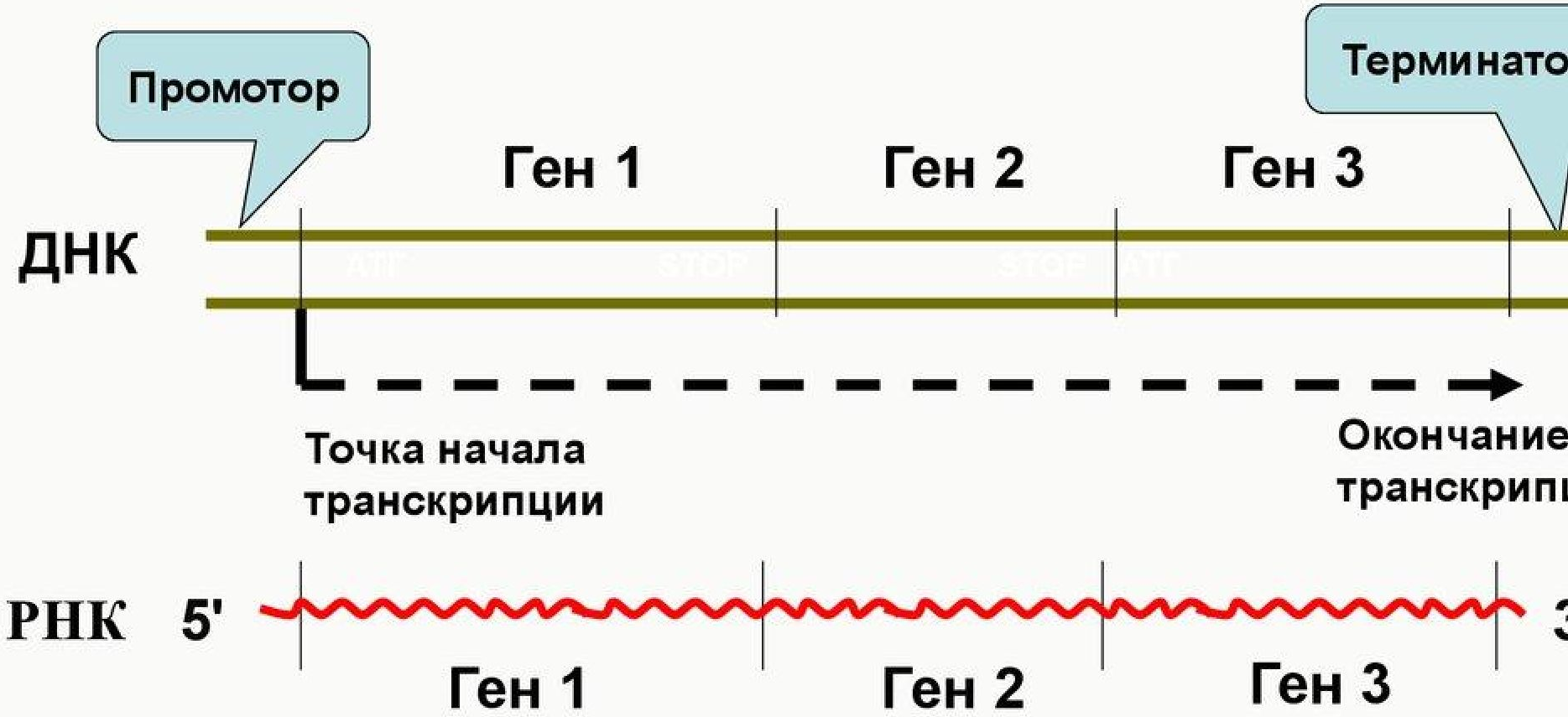
Строение гена

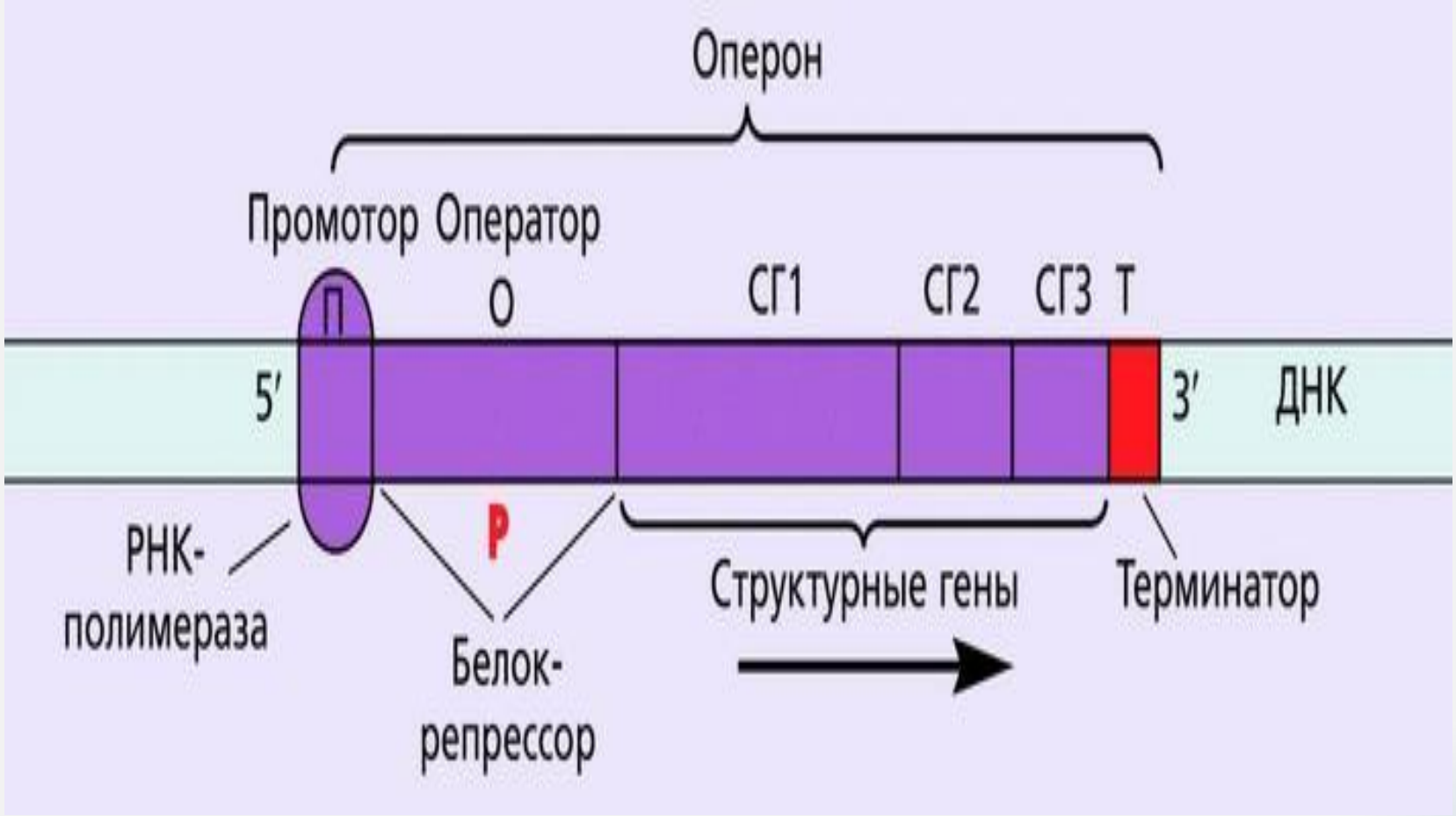


- **Оперон** — функциональная единица генома у прокариот, в состав которой входят цистроны (гены, единицы транскрипции), кодирующие совместно или последовательно работающие белки и объединенные под одним (или несколькими) промоторами.
- Такая функциональная организация позволяет эффективнее регулировать транскрипцию этих генов.
- Концепцию оперона для прокариот предложили в 1961 году французские ученые Жакоб, Моно, Львов за что получили Нобелевскую премию в 1965 году.

Оперон прокариот

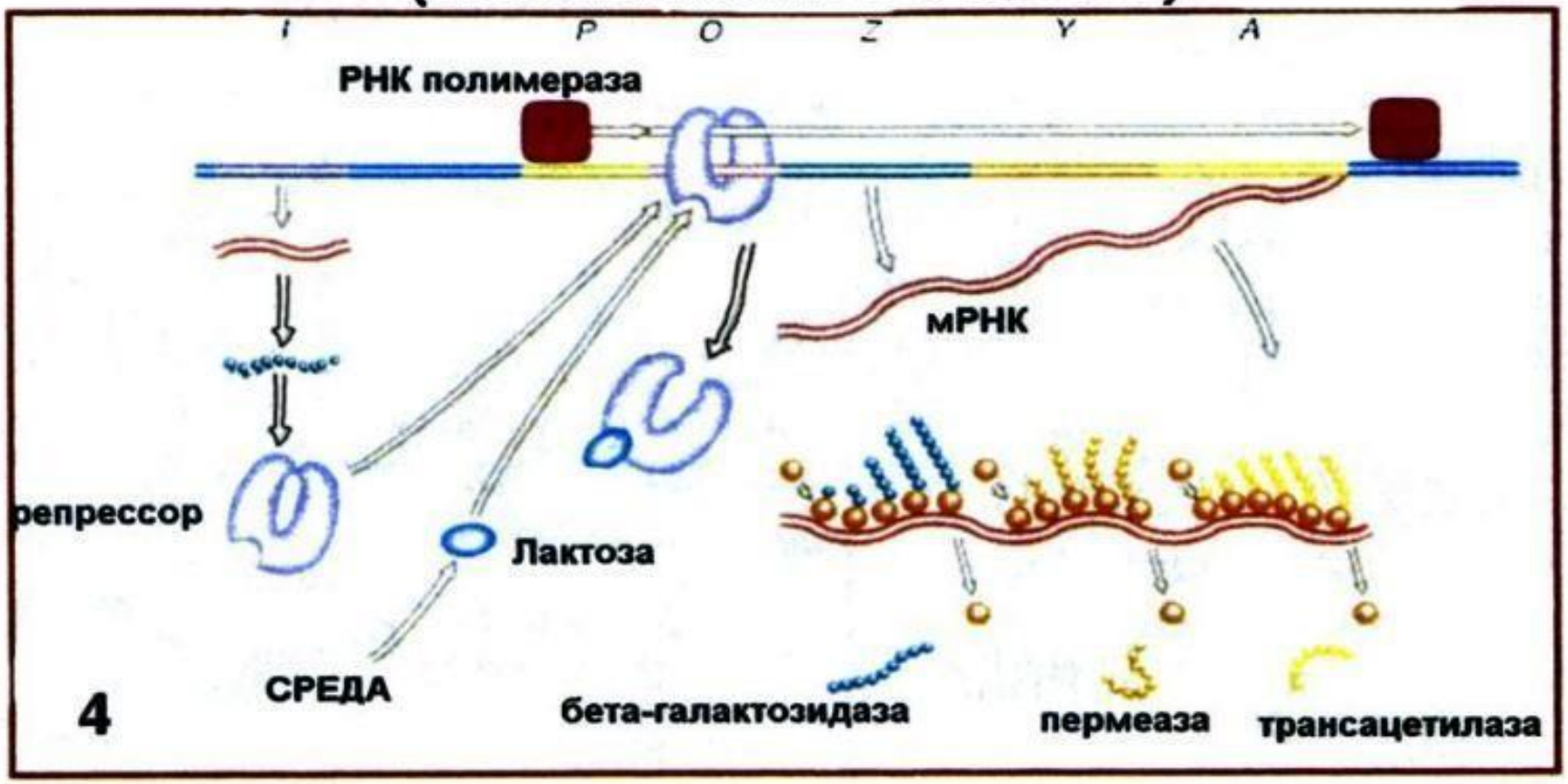
Несколько генов под одним промотором





Начинается и заканчивается оперон регуляторными областями — промотором в начале и терминатором в конце, кроме этого, каждый отдельный цистрон может иметь в своей структуре собственный промотор и/или терминатор.

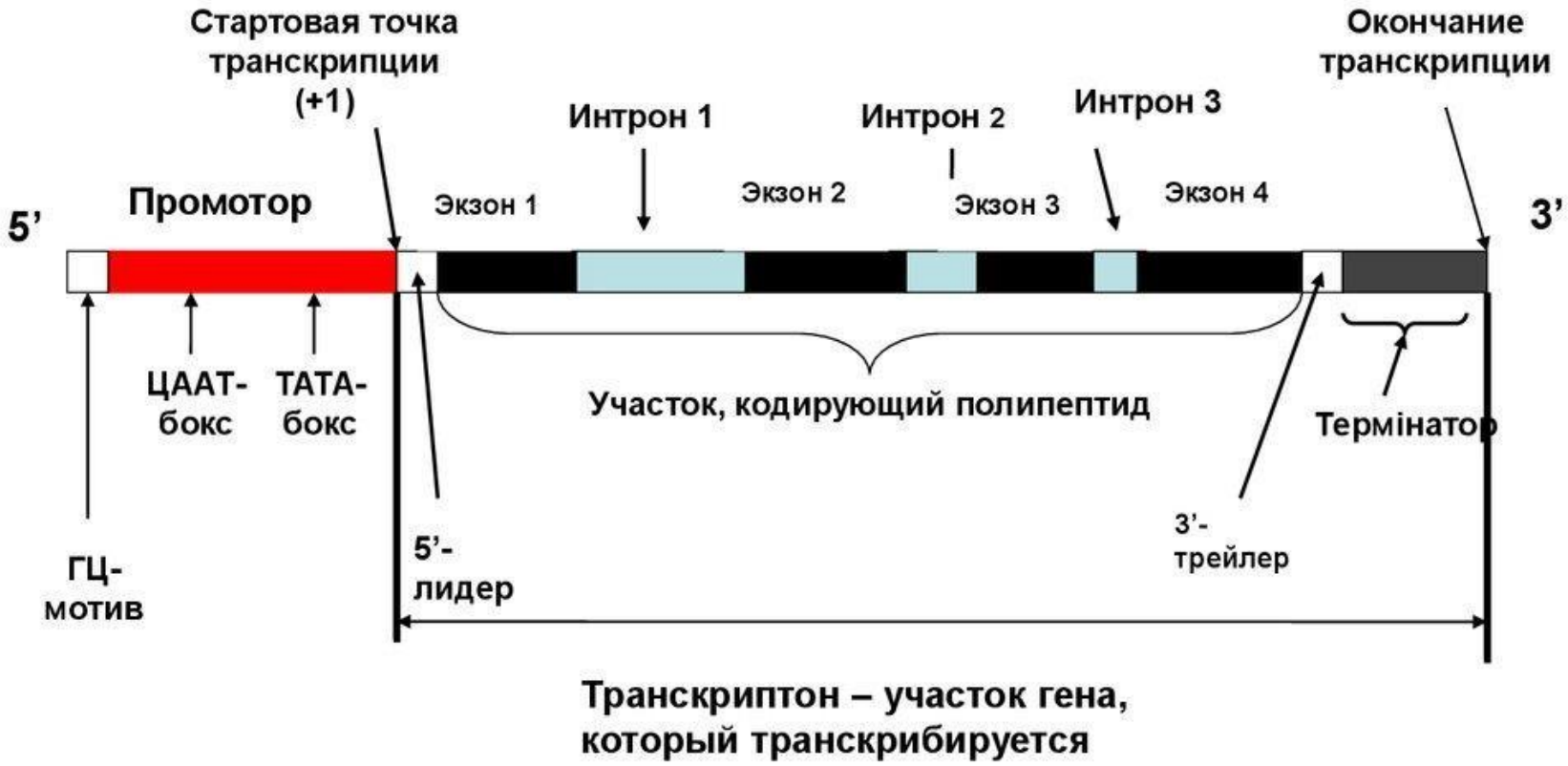
Схема регуляции *Lac-оперона* (схема Жакоба-Моно)



Модель оперона была предложена Франсуа Жакобом и Жаком Моно в 1961 г. для объяснения регуляции генов у E.coli (Нобелевская премия по физиологии и медицине, 1965 г.)

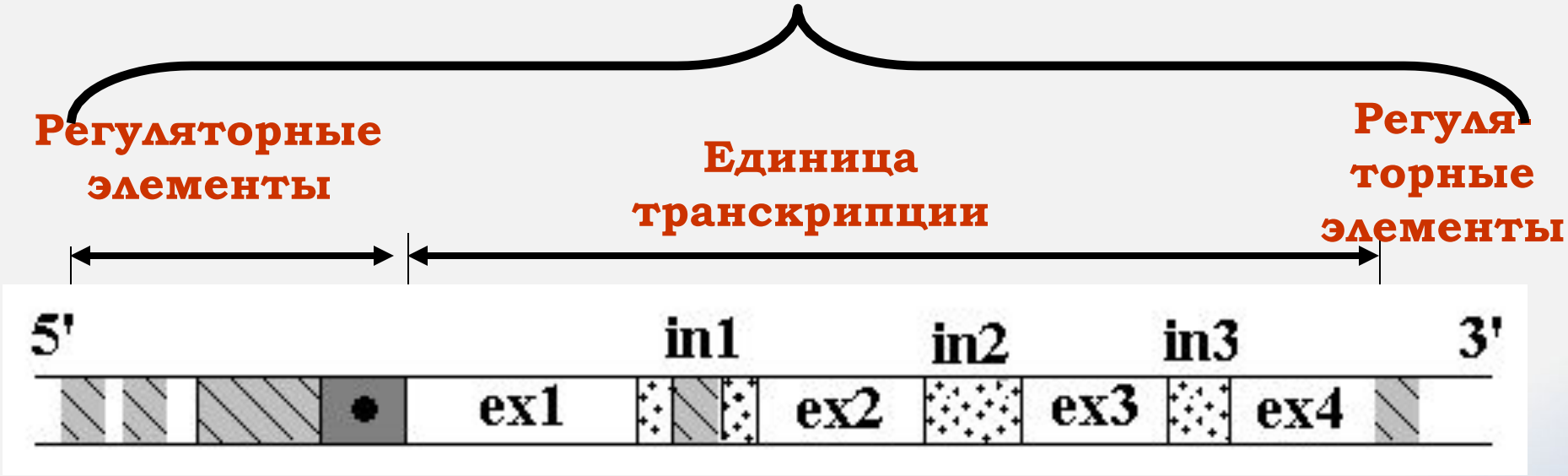
***I* — ген белка-репрессора; P — промотор; O — оператор; *Z, Y, A* – структурные гены.**

Строение гена эукариот, кодирующего белок



Генетическая система эукариот

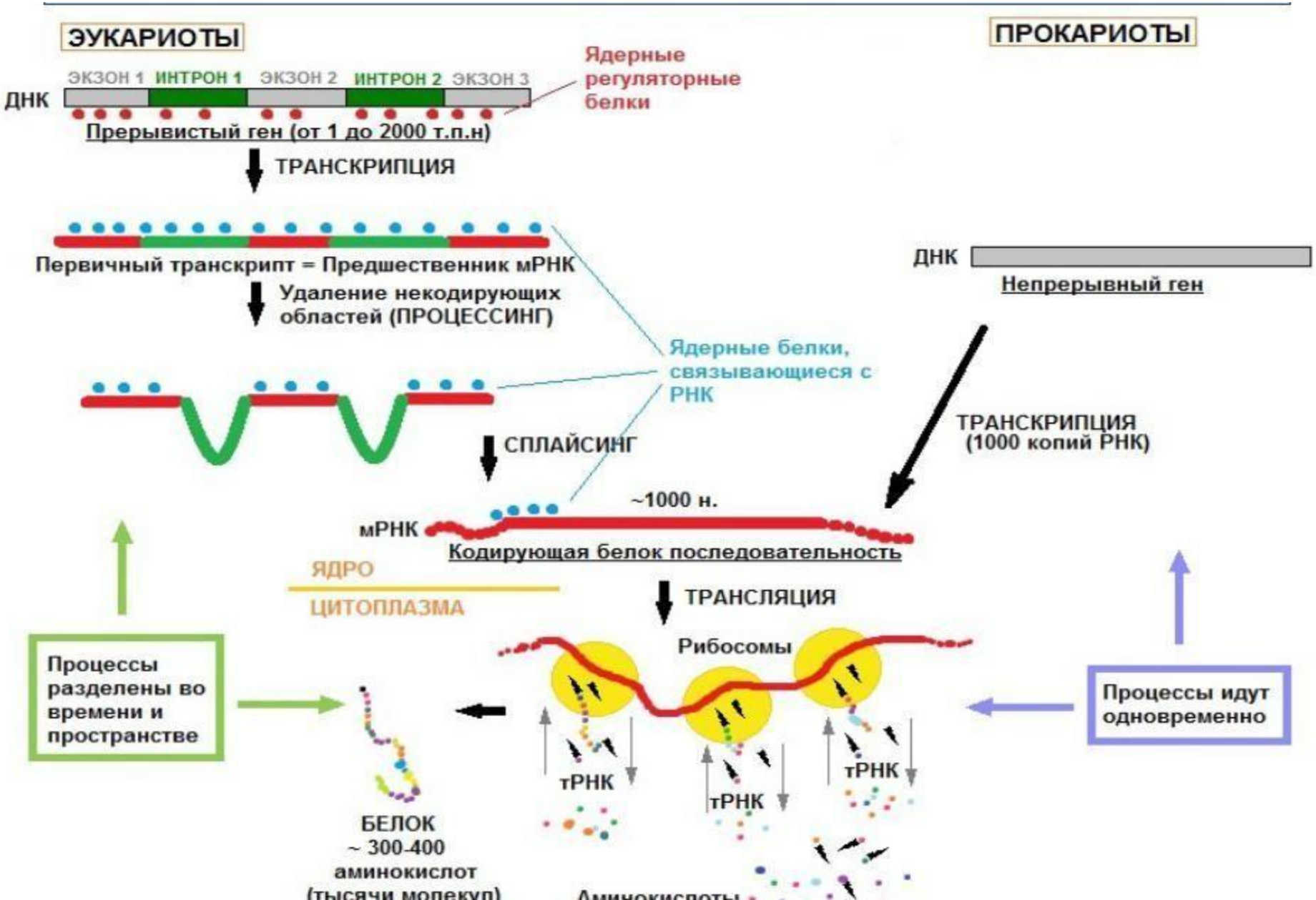
транскриптон



промоторы

Гены эукариот имеют прерывистую структуру (кодирующий фрагмент – экзон, некодирующий фрагмент – интрон) и кодируют только один белок

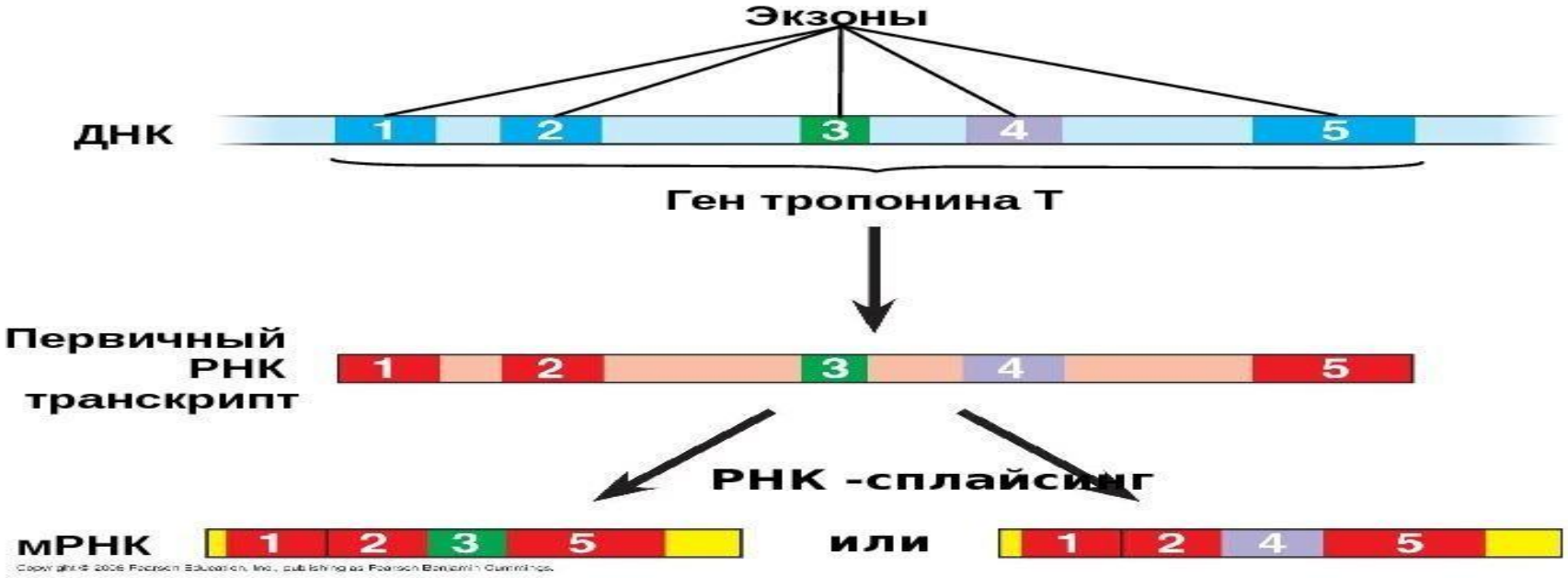
Особенности реализации генетической информации у прокариот и эукариот



Пример

Альтернативный сплайсинг:

при этом различные мРНК-молекулы продуцируются из одного и того же транскрипта в зависимости от какие последовательности «обрабатываются» как интроны, а какие как экзоны.



Регуляция экспрессии генов

- Активность многих генов может быстро меняться под действием специальных регуляторов – стероиды, факторы роста, нейромедиаторы; они передают сигналы внутрь клетки от рецептора, которые контролируют активность регуляторных белков, действующих на ДНК

Почему должны регулироваться экспрессия генов?

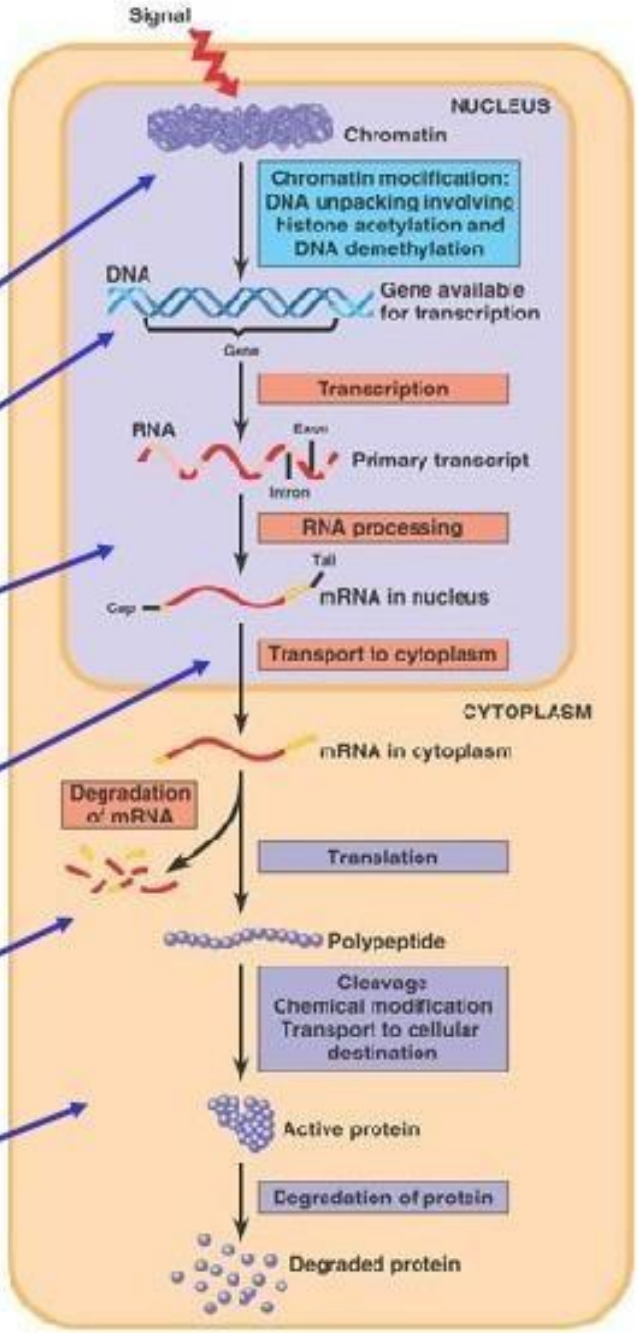
- Различные типы клеток должны синтезировать различные белки

- На разных стадиях развития, и даже времени суток, необходимы разные белки и метаболиты

- Программы онтогенеза и многие физиологические процессы связаны с работой целых генетических программ и экспрессией больших групп генов (кластеров из 100 и более генов)

Как регулируется экспрессия?

Основные точки регуляции экспрессии генов



Распаковка хроматина

Инициация транскрипции

РНК-процессинг

Транспорт РНК в цитоплазму

Устранение зрелой мРНК вследствие РНК-интерференции

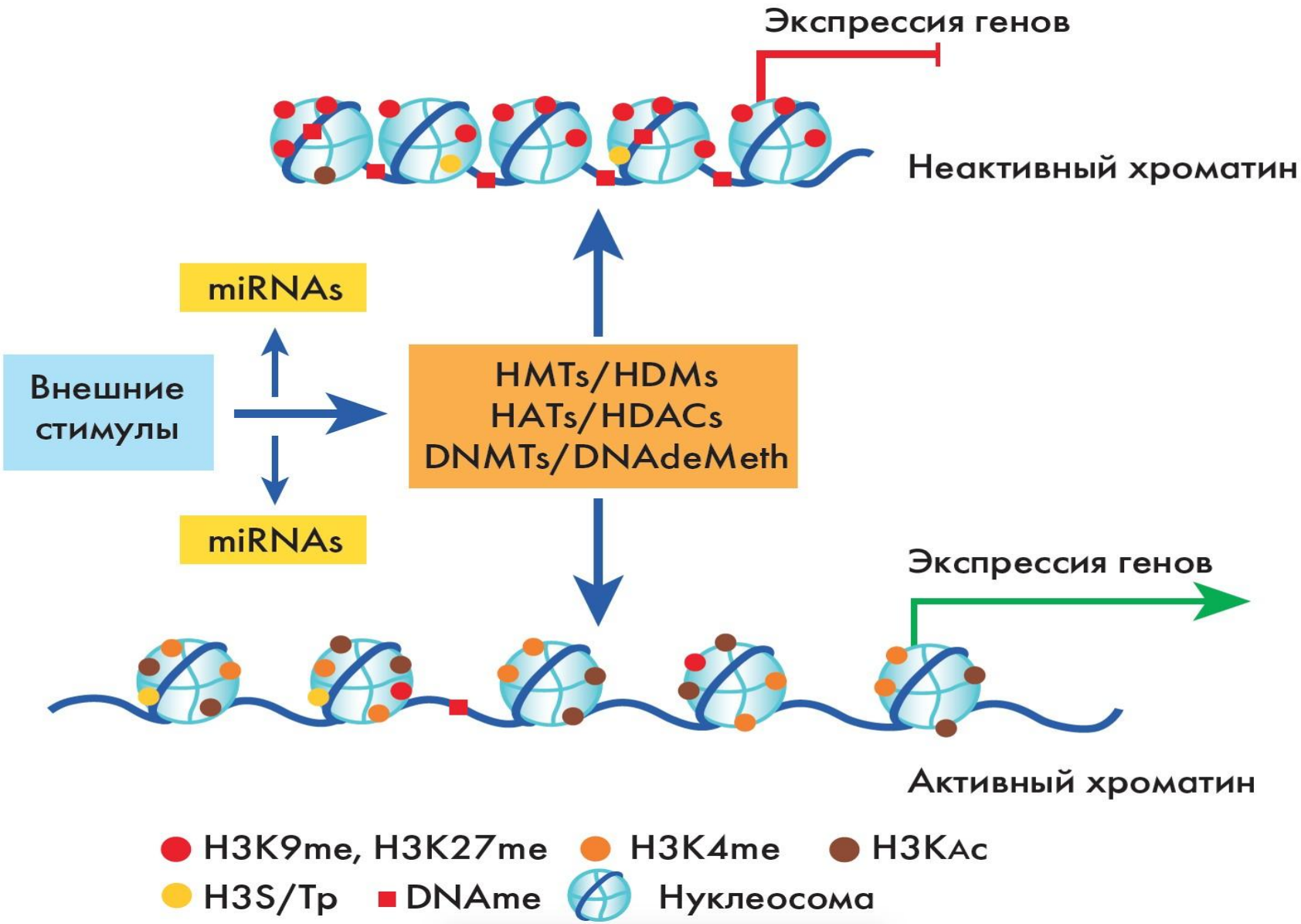
Контроль синтеза белка

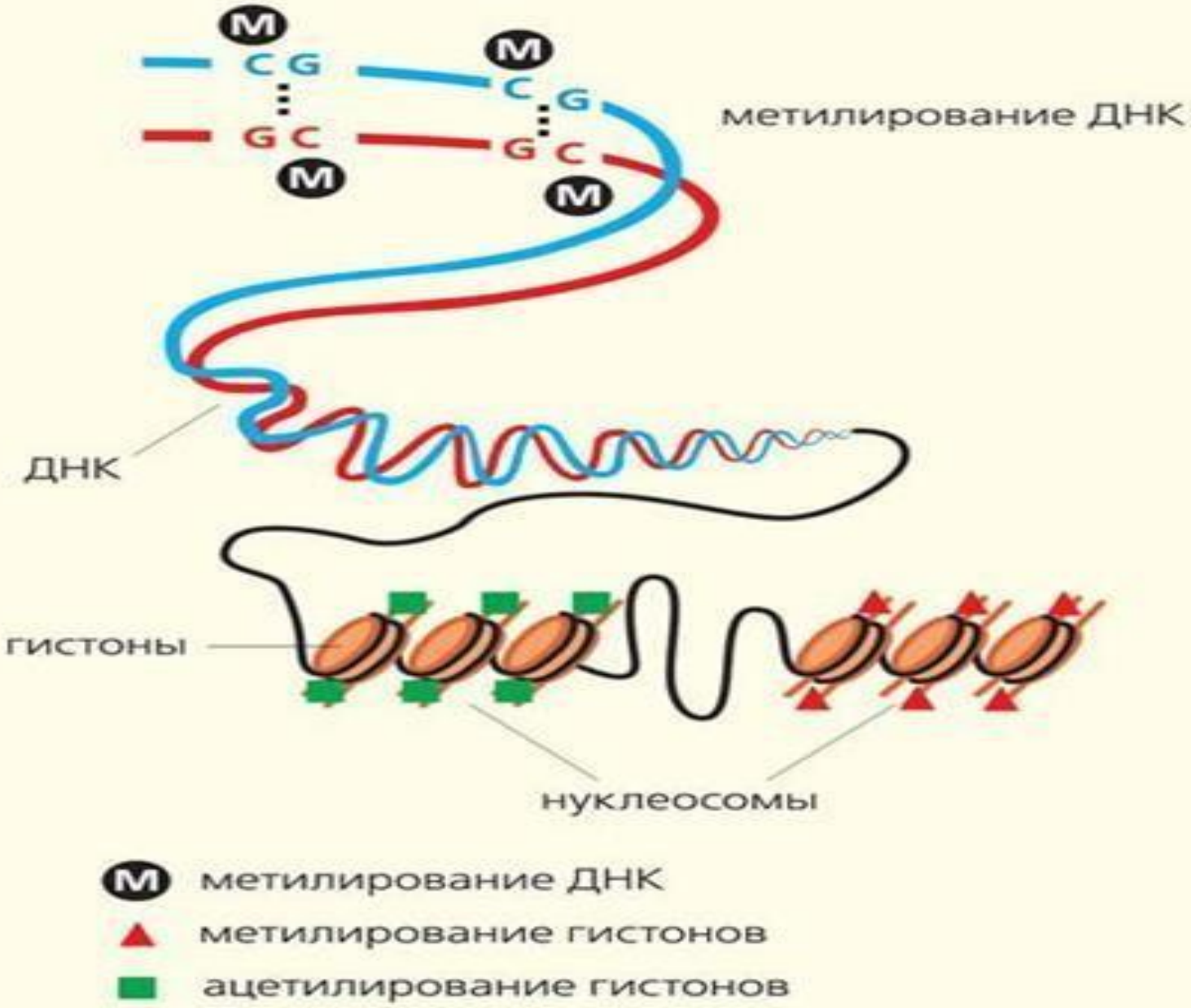
present5.com

РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА

MyShared

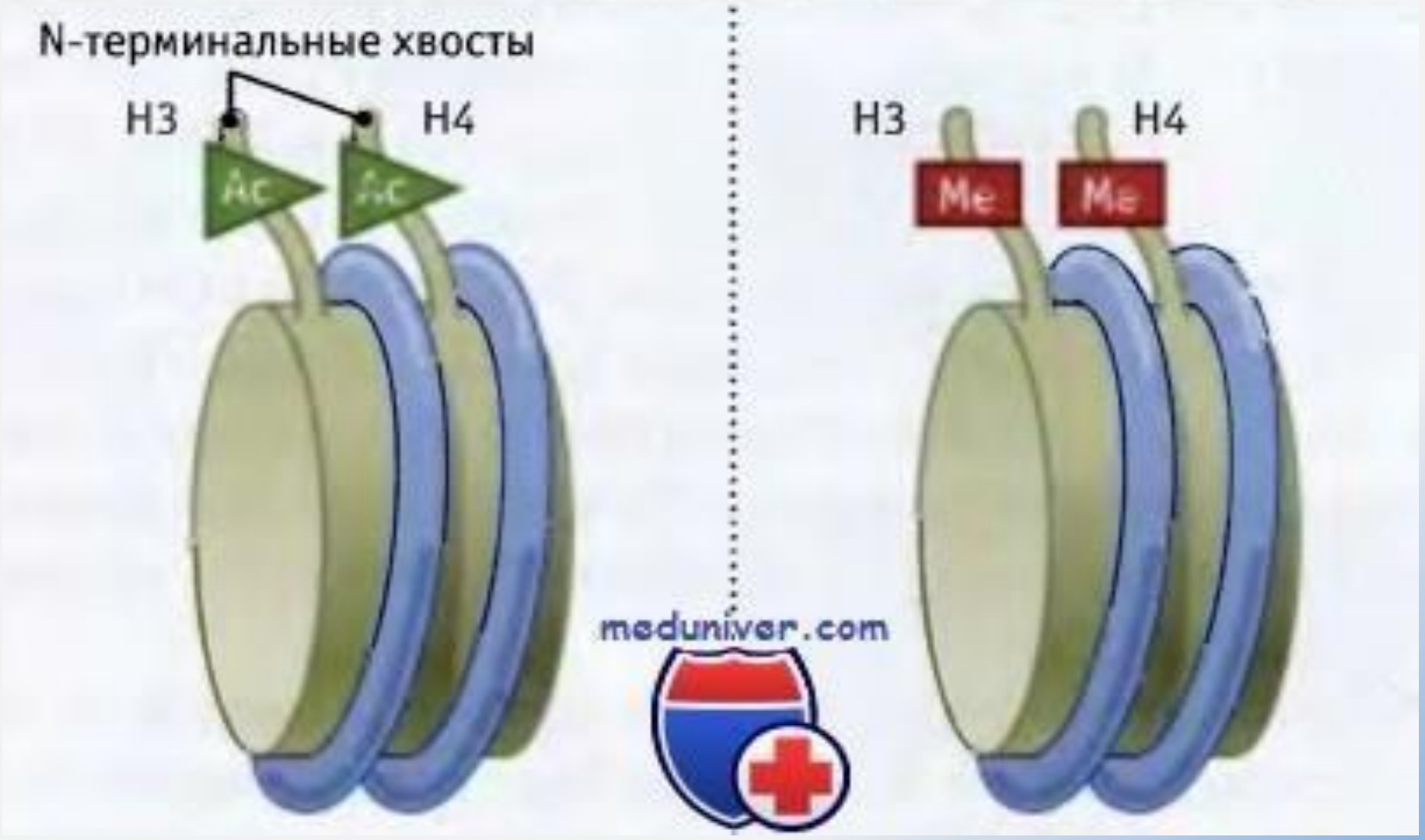
Модификация хроматина




M
C G
G C
M
M
C G
G C
M
метилирование ДНК
ДНК
гистоны
нуклеосомы
M метилирование ДНК
метилирование гистонов
ацетилирование гистонов

Модификации гистонов контролируют активность генов

Активный хроматин	Неактивный хроматин
хвосты ацетилированы	хвосты метилированы



Регуляция биосинтеза

- **Энхансеры** – участки ДНК, присоединение к которым регуляторных белков усиливает транскрипцию
- **Сайленсеры** – участки ДНК, присоединение к которым регуляторных белков уменьшает транскрипцию

Инсулятор

Инсулятор (insulator) — фрагмент ДНК, способный блокировать взаимодействие между энхансером и промотором, если находится между ними

- **Активатор** - это белок, который связывается с энхансером и стимулирует транскрипцию гена
- Связанные активаторы вызывают взаимодействие белков-посредников с белками промотера

Деградация мРНК

- Время жизни мРНК в цитоплазме является ключевым регулятором продолжительности синтеза белка
- Эукариотическая мРНК живет дольше прокариотической
- Время жизни мРНК частично регулируется строением последовательности в начале и в конце мРНК (leader and trailer regions)
- Более половины актов деградации РНК приходится на РНК-интерференцию

Некодирующие РНК играют множественные роли при контроле экспрессии генов

- Только небольшая фракция ДНК кодирует белки, рибосомальные РНК или тРНК (25% или меньше)
- Большая часть генома (dark genome) транскрибируется в некодирующие молекулы
- Некодирующие РНК регулируют экспрессию генов на на уровне мРНК-трансляции и конфигурации хроматина, но главное при помощи микроРНК (РНК-интерференции).

Некодирующие РНК:

- Английский: non-protein-coding DNA
- Известны более 50 лет
- Главным образом это микроРНК, рибозимы и длинные некодирующие РНК (long ncRNA)

The Encyclopedia of DNA Elements (ENCODE) project reported in September 2012 that over 80% of DNA in the human genome *«serves some purpose, biochemically speaking»*

- **Феномен ингибирования экспрессии при помощи короткоцепочных молекл РНК называется РНК-интерференцией (RNA interference, RNAi)**
- **это явление связано с синтезом так-называемых коротких интерферирующих РНК (siRNAs) или микроРНК (miRNAs)**
- **siRNAs и miRNAs имеют схожую функцию, но разные источники синтеза**

Некодирующие РНК:

Типы некодирующих ДНК:
1.Некодирующая функциональная РНК (рибосомальная РНК, транспортная РНК, Piwi-РНК – 26-31, microRNA – 21-24).
2.Цис- и транс-регуляторные элементы
3.Интроны
4.Псевдогены
5.Повторые последовательности, транспозоны и вирусные элементы
6.Теломеры

Функции:
- Регуляция экспрессии генов, Защита генома, генетические переключатели, факторы транскрипции, операторы, энхансеры,

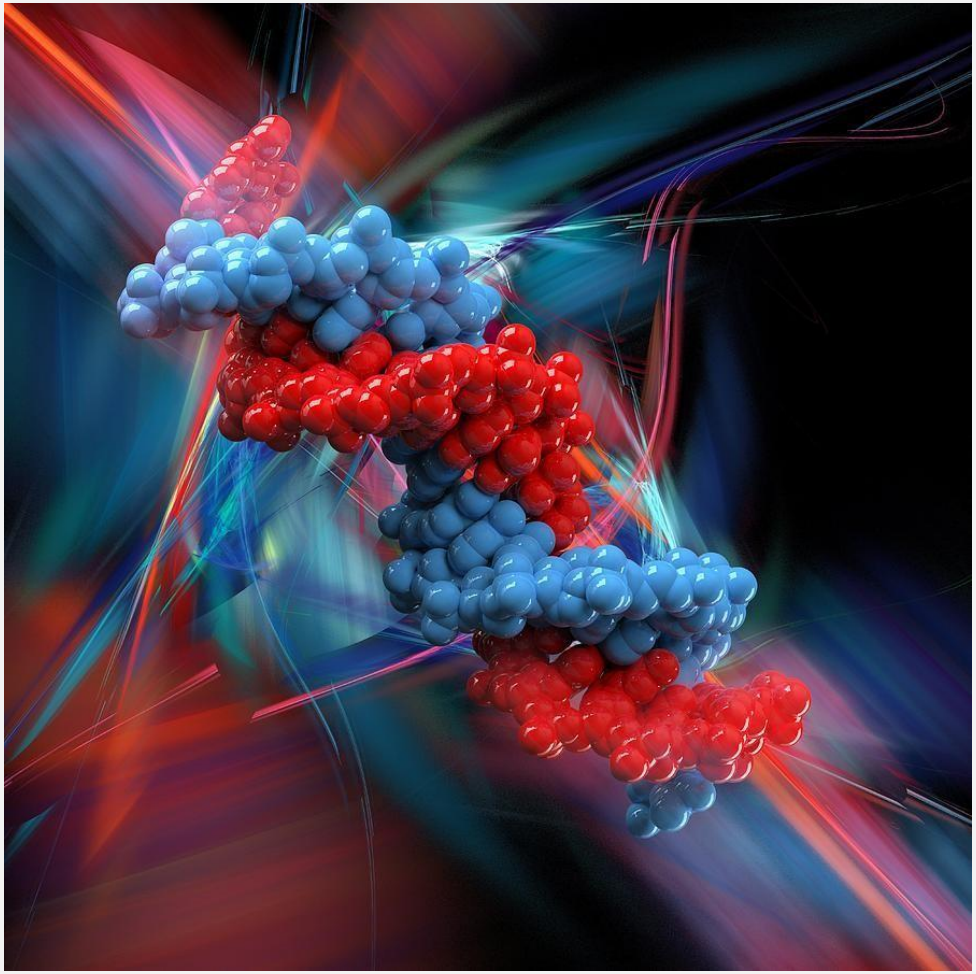
МикроРНК

- МикроРНК - MicroRNAs (miRNAs) – 21-24 нуклеотидов
- Они вызывают деградацию РНК или блокируют ее трансляцию

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ:

1. Назовите основные принципы организации нуклеиновых кислот.
2. Чем молекула ДНК отличается от РНК?
3. Опишите основные виды и функции РНК.
4. Перечислите и охарактеризуйте основные свойства генетического кода.
5. Каким образом осуществляется передача наследственной информации? Какие ферменты участвуют в репликации ДНК?
6. Каковы сходства и различия в структурной организации генов прокариот и эукариот?
7. Как осуществляется регуляция экспрессии генов прокариот и эукариот?
8. Что такое центральная догма молекулярной биологии?
9. Назовите основные этапы транскрипции и трансляции. Перечислите и охарактеризуйте сходства и отличия у прокариот и эукариот.
10. Регуляция экспрессии генов: основные точки.

Благодарю за внимание! ☺



Dna Molecule, Artwork
Artwork of a DNA (deoxyribonucleic acid) molecule showing the double helix (spiral) structure. This genetic molecule found in all living cells is responsible for inherited genetic traits.