ТИХООКЕАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ

Молекулярные основы наследственности

Зенкина Виктория Геннадьевна, зав. кафедрой биологии, ботаники и экологии, к.м.н., доцент

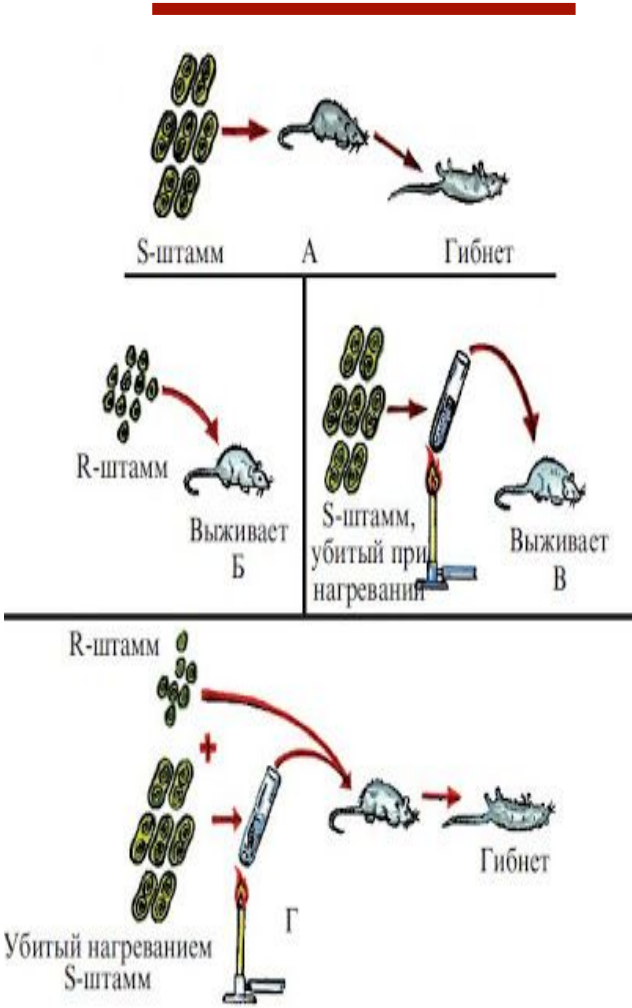
Содержание

1. Доказательства генетической роли ДНК
2. Химический состав хромосом, функции и свойства ДНК
3. Биологический код, его характеристика
4. Репликация ДНК
5. Особенности строения и виды РНК
6. Реализация наследственной информации: транскрипция, процессинг, трансляция. Особенности строения и виды РНК.
7. Репаративные процессы в ДНК
8. Цитоплазматическая наследственность

Доказательства генетической роли ДНК

1) Трансформация – включение чужеродной ДНК в бактериальную клетку (Гриффитс, 1928 г).

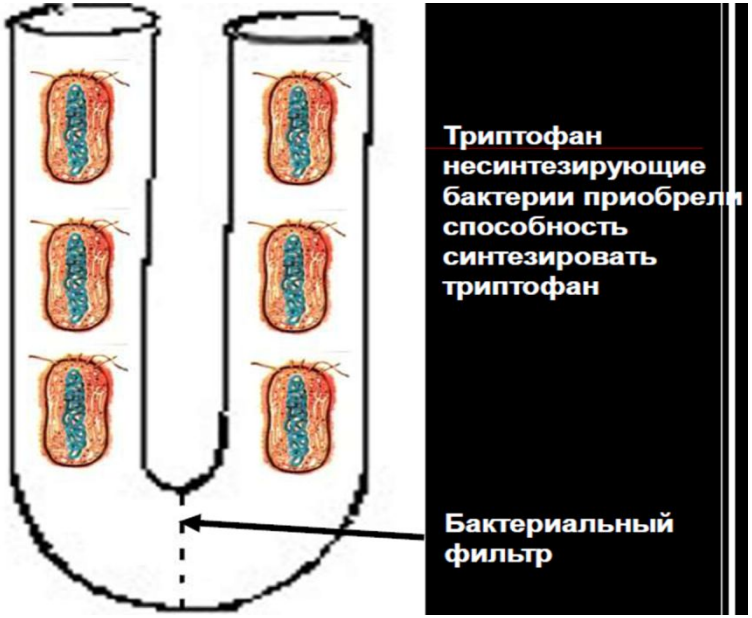
Он взял два штамма пневмококков S и R. Штамм S имеет капсульную оболочку и отличается особой вирулентностью (болезнетворностью). При введении этих бактерий мышам последние заболевали пневмонией и погибали. Бактерии штамма R не имеют капсульной оболочки (менее болезнетворны), при введении их животным гибели не наступает. При нагревании S штамма до 60 градусов, белковая оболочка распадается и бактерии не вызывают тяжелой пневмонии. Неожиданный результат получил Гриффитс, когда ввел мышам смесь из не вирулентного и убитого нагреванием вирулентного штаммов. Подопытные животные заболели пневмонией и погибли, а из крови этих мышей был выделен вирулентный S штамм. Таким образом, оказалось, что свойство убитых бактерий - наличие капсулы и вирулентность передались от убитых бактерий к живым, произошла трансформация R штамма в S. При нагревании погиб только белок капсулы, а ДНК вирулентного штамма встроилась в ДНК других бактерий, а в последствии эти бактерии стали синтезировать себе такую же капсулу как у вирулентного штамма.



Доказательства генетической роли ДНК

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

Ледеберг и Зиндер в 1952 г провели опыты по трансдукции. Вирус – бактериофаг добавили к бактериям, синтезирующим триптофан, находящимся в одной половине колбы. Во второй половине колбы находились бактерии, не умеющие синтезировать триптофан. Две половины колбы разделили полупроницаемой мембраной, бактериальным фильтром. Через некоторое время оказалось, что все бактерии синтезируют триптофан, т.к. вирус, захватывая часть ДНК бактерий, перенес другим эту генетическую информацию.



Доказательства генетической роли ДНК

3) изотопный способ: бактериофаги помечали радиоактивной серой и фосфором, в результате, вновь образованные фаги содержали только фосфор, которым была помечена ДНК

4) опыты по гибридизации вирусов, когда гибриды содержали белковый футляр одного вида, а нуклеиновую кислоту другого

5) конъюгационный перенос: две бактерии – кишечные палочки могут конъюгировать между собой и ДНК одной переходит к другой

6) клонирование клеток, метод соматической гибридизации

Химический состав хромосом

- Хромосомы состоят из ДНК (40%) и белка (60%)

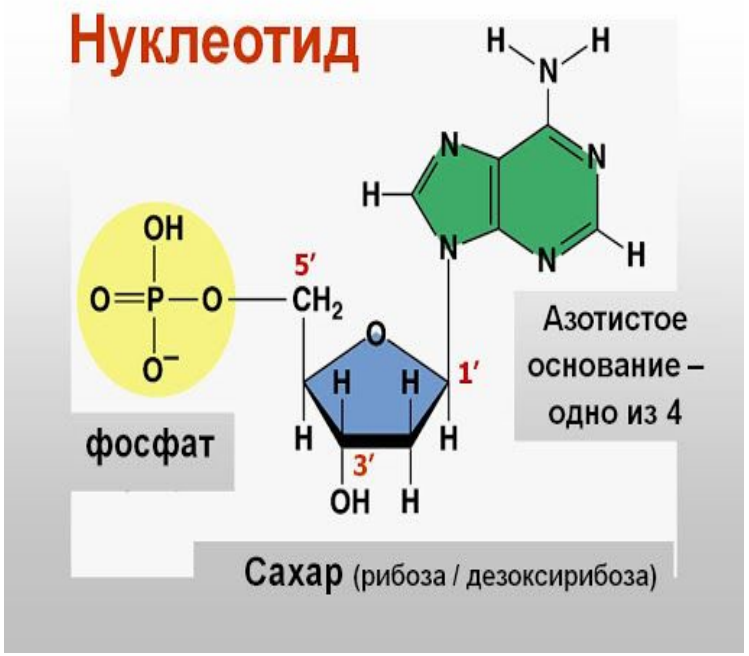
- Белков 2 вида: гистоновые (основные – 70%) и негистоновые (кислые – 30%)

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.



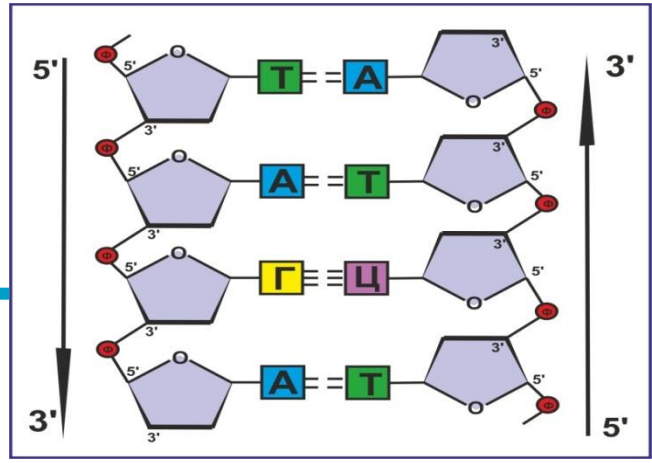
Соединение нуклеотидов в макромолекулу происходит путем взаимодействия фосфата одного нуклеотида с гидроксилом другого так, что между ними устанавливается фосфодиэфирная связь

Азотистые основания в ДНК: аденин, гуанин – пуриновые; тимин и цитозин - пиримидиновые

Правило Чаргаффа

- У всякого организма число адениновых нуклеотидов равно числу тиминовых, а число гуаниновых — числу цитозиновых: А=Т, Г=Ц
- Число пуриновых оснований равно числу пиримидиновых оснований: А+Г=Т+Ц
- Соотношение А+Т/Г+Ц = видовому индексу (у человека 1,53)
- Количество нуклеотидов в молекуле ДНК равно 100% или 1: А+Г+Т+Ц = 100%

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

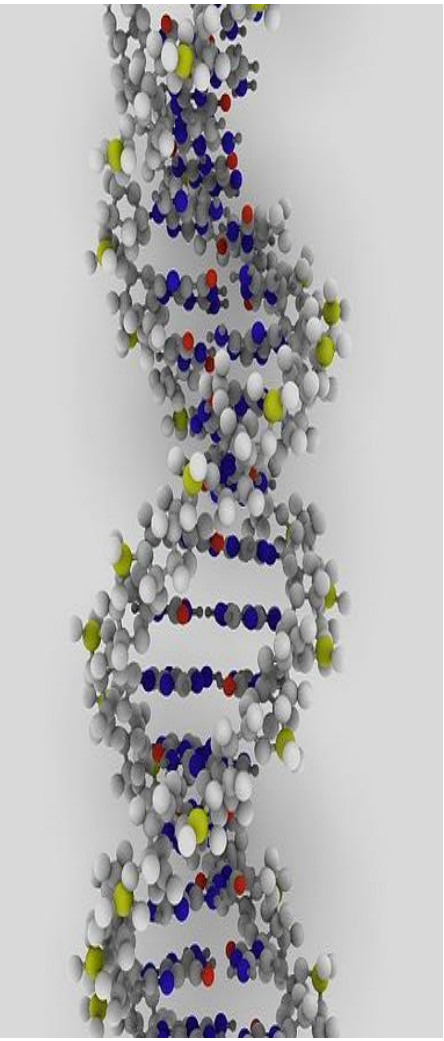


- **Принцип комплементарности:** аденин одной цепи соединяется двумя водородными связями с тимином другой цепи, а между гуанином и цитозином разных цепей образуются три водородные связи
- Полинуклеотидные цепи в молекуле ДНК **антипараллельны**, т.е. взаимнопротивоположны: 5’- конец одной цепи соединяется 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). Диаметр спирали – 2нм, длина шага – 3,4 нм, в каждый виток входит 10 пар нуклеотидов. Ген – участок ДНК, состоящий из нуклеотидов от нескольких десятков до тысяч, кодирующий какой-либо признак

Функции ДНК: хранение и воспроизводство генетической информации



Модель ДНК

В структурной организации молекулы ДНК можно выделить:

первичную структуру – полинуклеотидную цепь

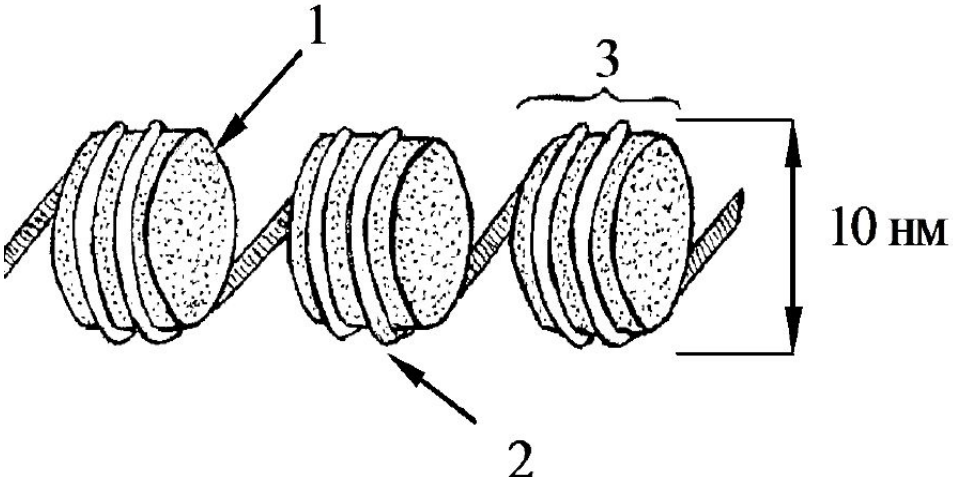
вторичную – две комплементарные друг другу и антипараллельные полинуклеотидные цепи, соединенные водородными связами

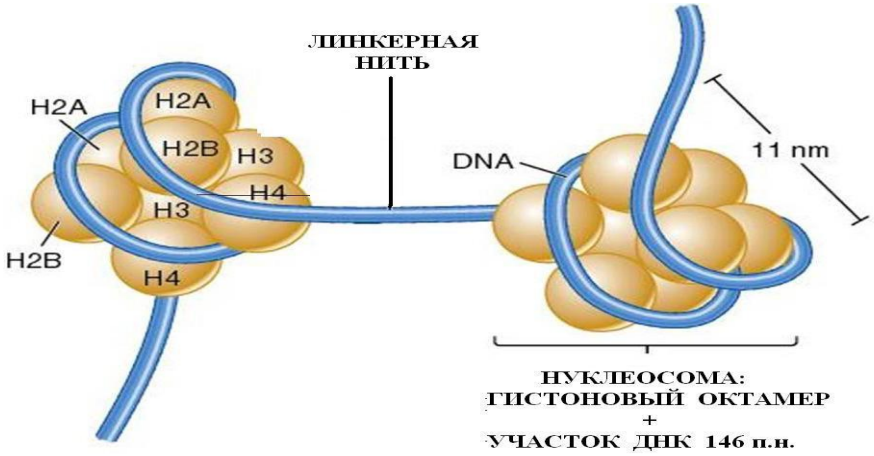
третичную – трехмерную спираль

Уровни упаковки генетического материала

- **Нуклеосомный уровень**

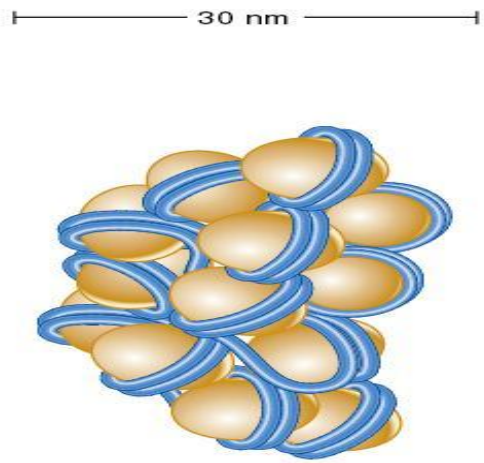
Нуклеосома – это белковая молекула (октаэдр), содержащая по 2 молекулы четырех гистонов H2A, H2B, H3, H4, вокруг которой двойная спираль ДНК образует 1,8 витка (200 пар нуклеотидов). Нуклеосомная нить имеет диаметр = 10-13 нм. **Такая структура обеспечивает компактизацию ДНК примерно в 6—7 раз.**

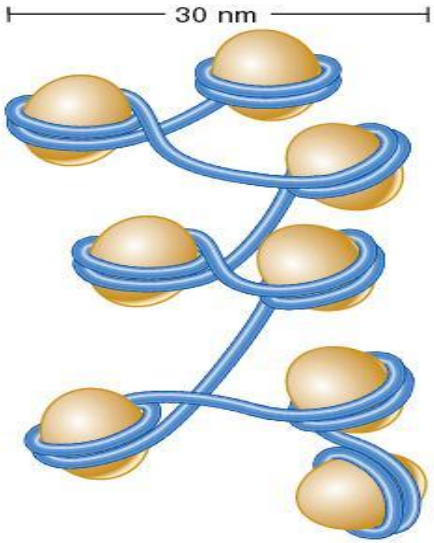




Второй уровень компактизации – соленоидный (супернуклеосомный)

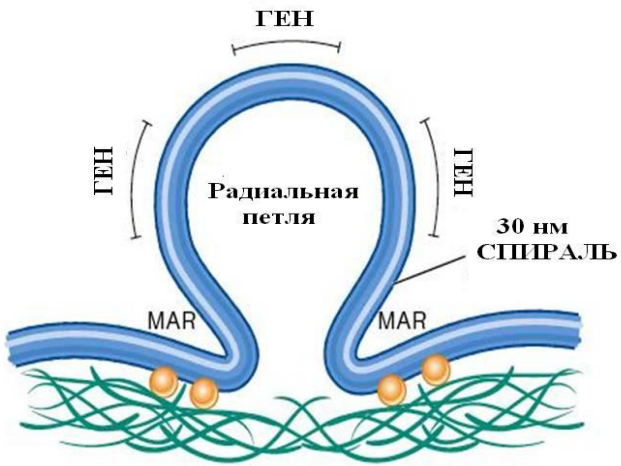
Формирование хроматиновой фибриллы диаметром 25-30 нм. В этом процессе участвует гистон H1, который связывается с линкерной ДНК между нуклеосомными корами и сворачивает нуклеосомную фибриллу в спираль, с шагом в 6-8 нуклеосом. Длина ДНК сокращается в 50 раз.

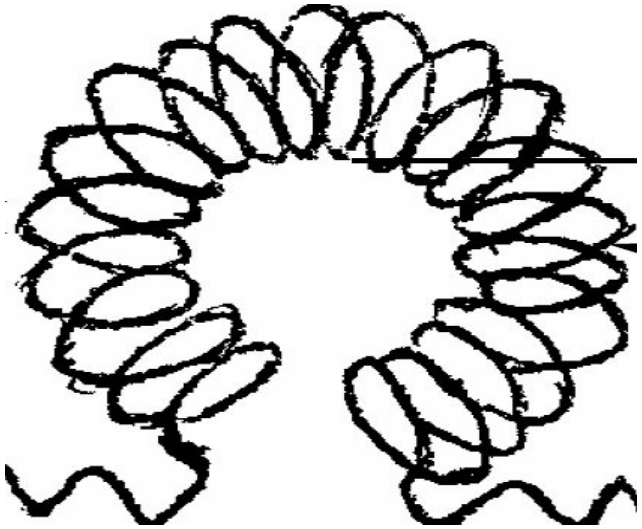




Третий уровень – петлевой

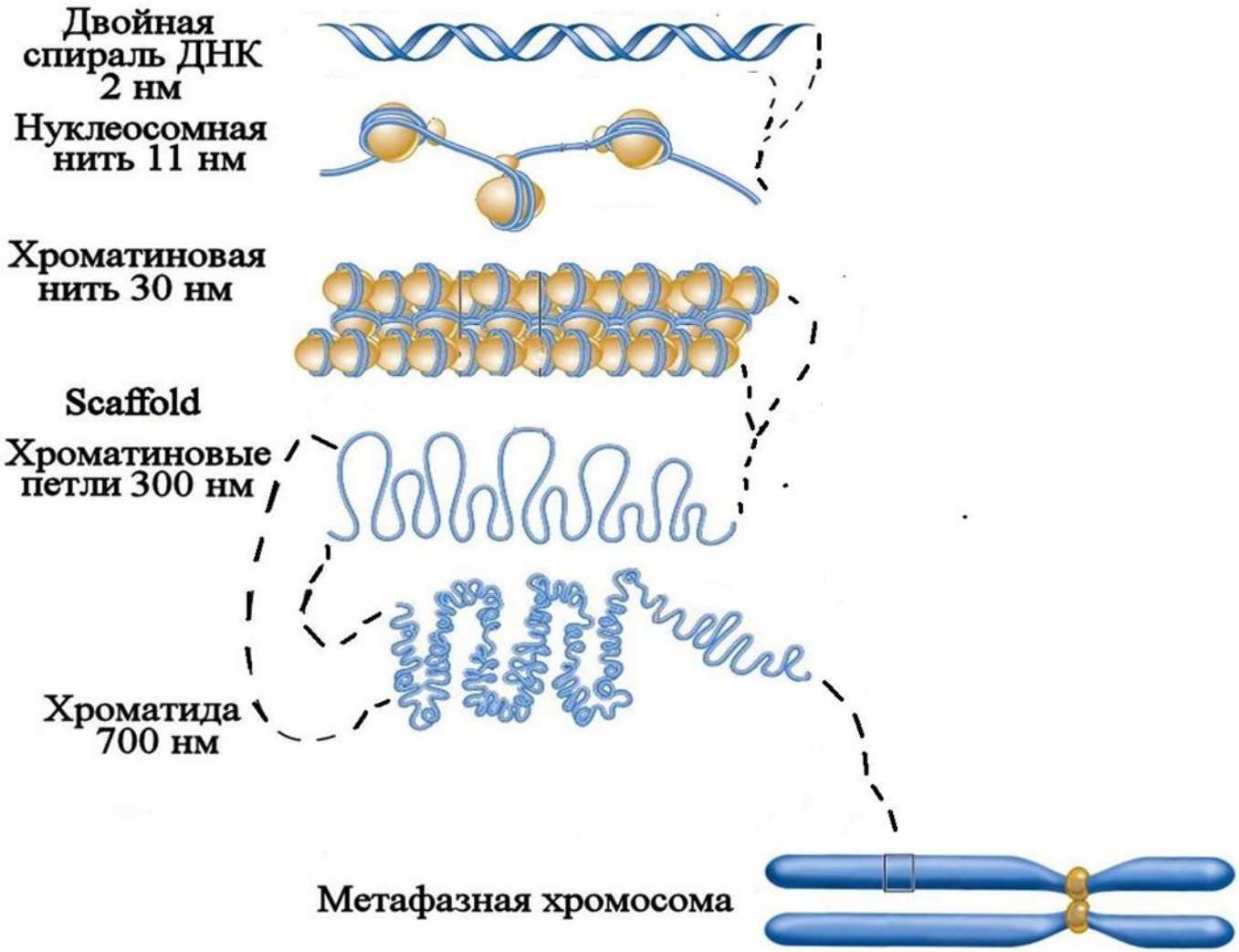
Соленоидная фибрилла складывается, образуя петли различной длины. Длина ДНК сокращается в 1000 раз. Диаметр структуры в среднем составляет 300 нм, типична для интерфазной хромосомы.





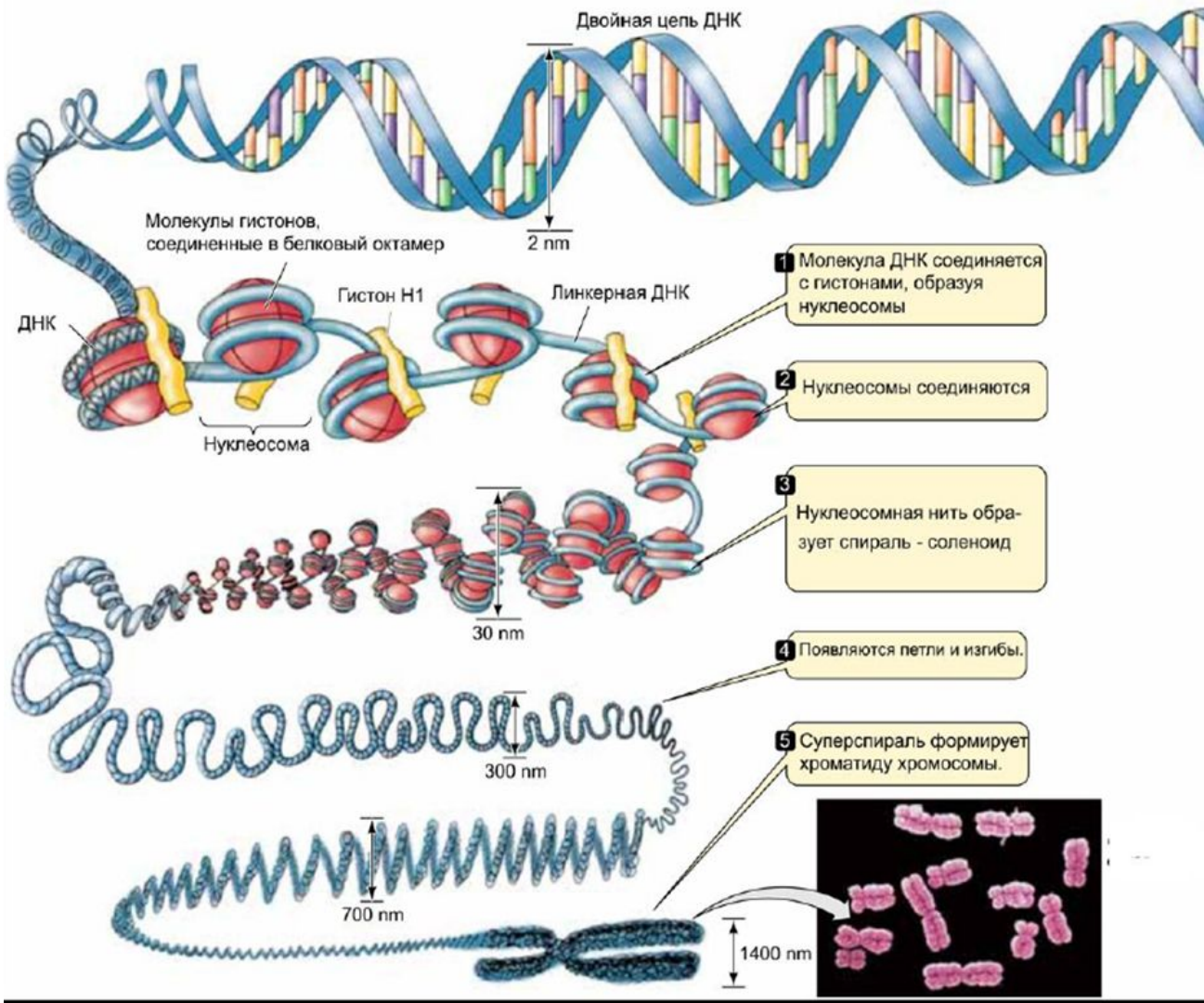
Четвертый уровень – хроматидный

Образуются хроматиды диаметром примерно 600-700 нм.



Пятый уровень – метафазной хромосомы

Степень компактизации (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

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

Свойства кода:

- триплетность
- коллинеарность (линейность)
- неперекрываемость
- однозначность
- избыточность (выражденность)
- универсальность
- непрерывность

В 1968 г. за открытие генетического кода Нобелевская премия была присуждена Р. Холли, Х. Хорано и М. Ниренбергу

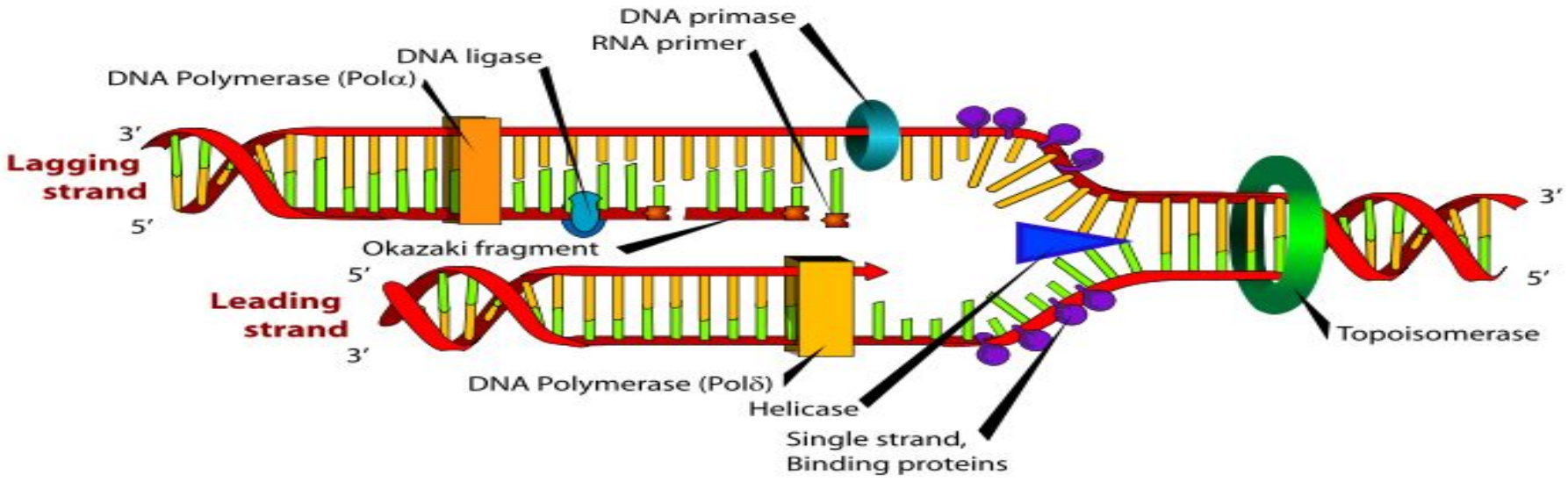
Генетический код – это последовательность нуклеотидов в цепи ДНК, которая определяет последовательность аминокислот в белке

Свойства кода:

1. триплетность – три нуклеотида (кодон) кодируют одну аминокислоту
2. коллинеарность (линейность) – свойство, обуславливающее соответствие между последовательностями кодонов в гене и последовательностью аминокислот в белке
3. неперекрываемость – один нуклеотид может входить только в один триплет.(по три)
4. однозначность – каждый кодон специфичен для определенной аминокислоты.
5. избыточность (выражденность) – одна аминокислота может кодироваться несколькими триплетами. Некоторые гены у эукариот многократно повторены, следовательно геном избыточен.
6. универсальность –код един для всех живых существ
7. непрерывность — между триплетами нет знаков препинания, то есть информация считывается непрерывно

В 1968 г. за открытие генетического кода Нобелевская премия была присуждена Р. Холли, Х. Хорано и М. Ниренбергу

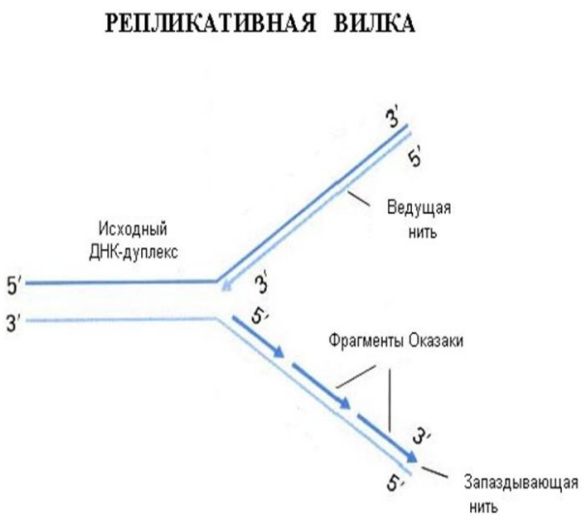
Репликация ДНК



Синтез ДНК (самокопирование) называется репликацией или редупликацией. Редупликация происходит в S периоде интерфазы в несколько этапов (принципов).

В 1959 г. Артуру Корнбергу была присуждена Нобелевская премия за открытие механизма биосинтеза ДНК.

Репликация ДНК



1 принцип - раскручивание

- Геликаза разрывает водородные цепи между азотистыми основаниями, двойная спираль ДНК разделяется на две цепи
- Топоизомераза стабилизирует раскрученную спираль ДНК

2 принцип – синтез дочерних цепей

- ДНК-полимераза с 3 ’ конца одной из цепей начинает синтезировать дочернюю цепь (лидирующая цепь) по принципу комплементарности
- В противоположном направлении (с 3 ’конца) синтезируется отстающая цепь с помощью z-РНК отдельными фрагментами Оказаки **(принцип антипараллельности)**

3 принцип – полуконсервативным способом (в состав дочерней молекулы ДНК входит одна цепь материнской молекулы – «старая», а другая синтезированная вновь – «новая»)

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

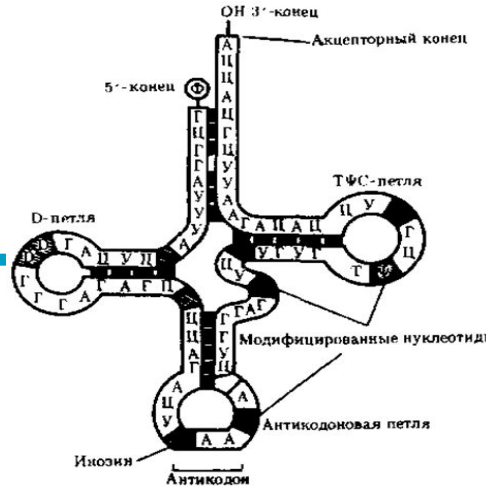
И – РНК (М-РНК)

- образуется при считывании информации с ДНК,1-10% от всех РНК, т.е. является матрицей для синтеза белка
- в молекулу входит от 300-3000 нуклеотидов

Р-РНК

- до 80-90% от всех РНК
- 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



- около 10%
- 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.

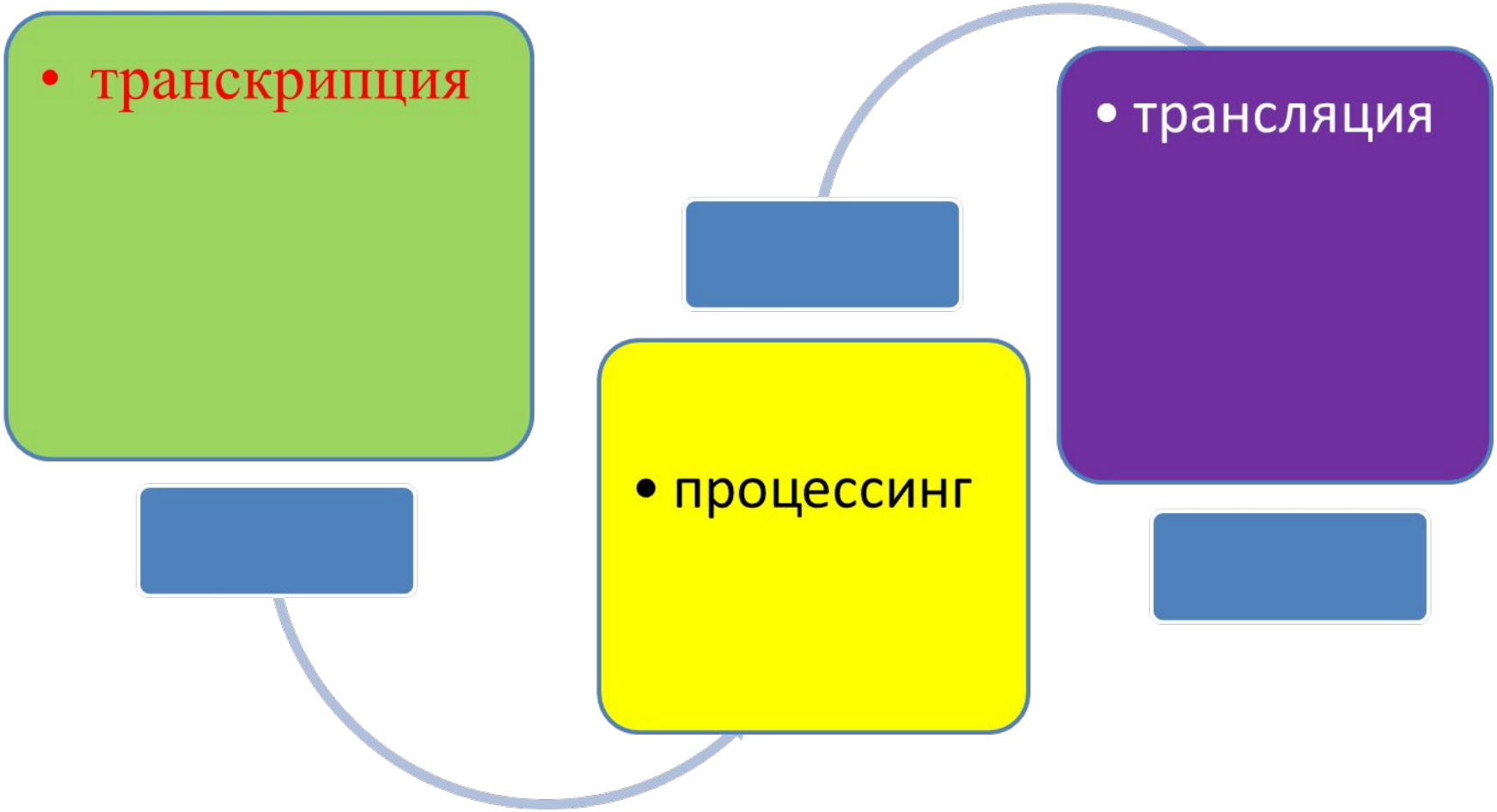
Z-РНК

- (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.

Биосинтез белка



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.

Транскрипция

И-РНК образовавшаяся в результате транскрипции называется **незрелой (про-И-РНК),** т.к. имеет в своем составе интроны и экзоны.

Процессинг - созревание (вырезание неинформативных участков – интронов) и-РНК, происходит с помощью рестриктаз.

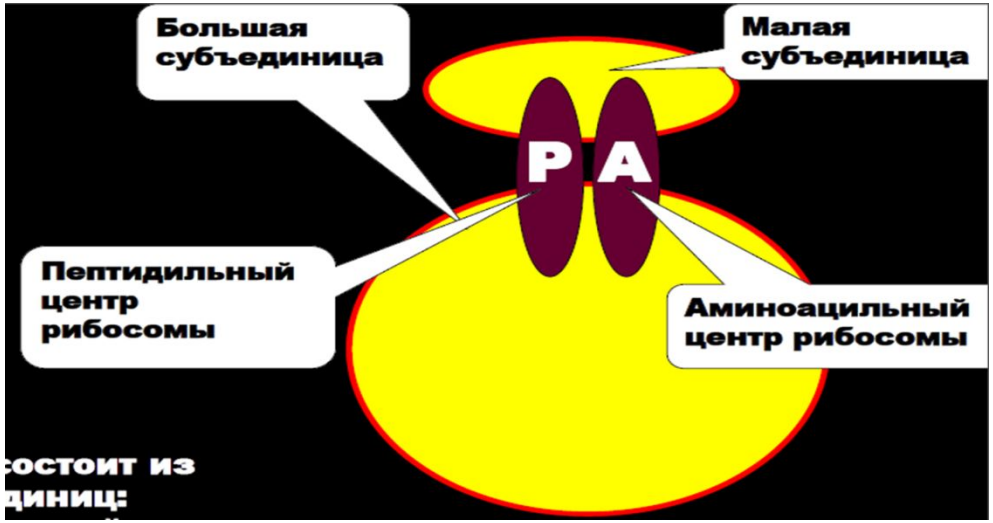
Сплайсинг - сшивание экзонов – происходит с помощью лигаз.

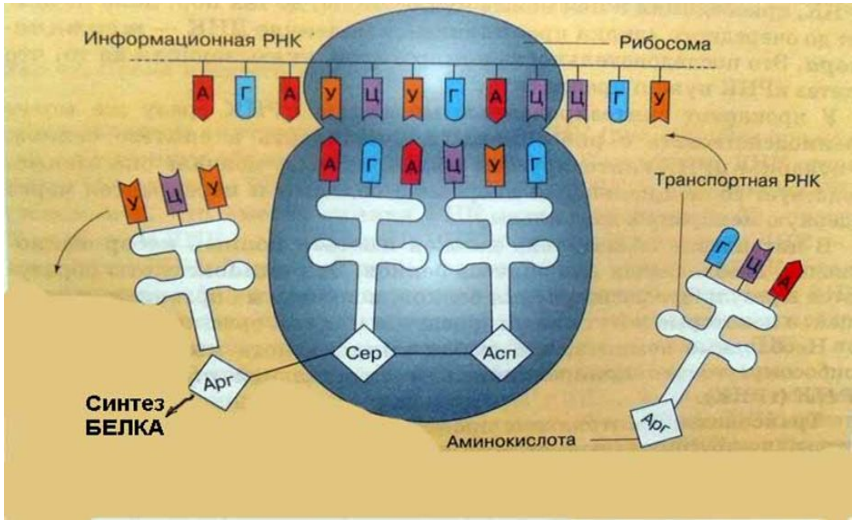
В структуре зрелой и-РНК выделяют

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

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

Идет в цитоплазме клеток, на рибосомах, имеющих пептидный центр (образуются пептидные связи между аминокислотами) и аминоацильный центр (фиксация т-РНК с аминокислотой)





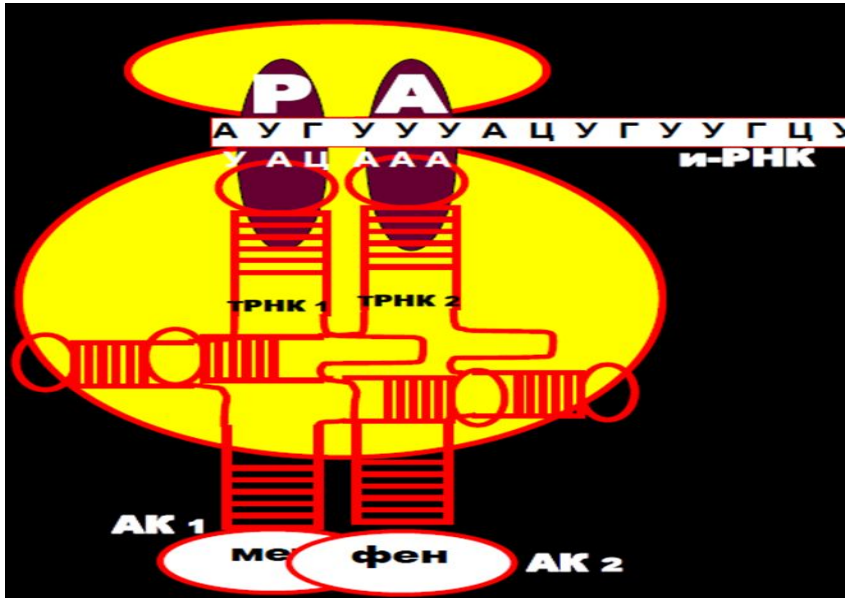
Этапы трансляции:

Инициация – начало синтеза пептида, объединение двух субъединиц рибосомы на определенном участке и-РНК и присоединение к ней первой т-РНК с метионином, что определяет рамку считывания информации

Этапы трансляции:

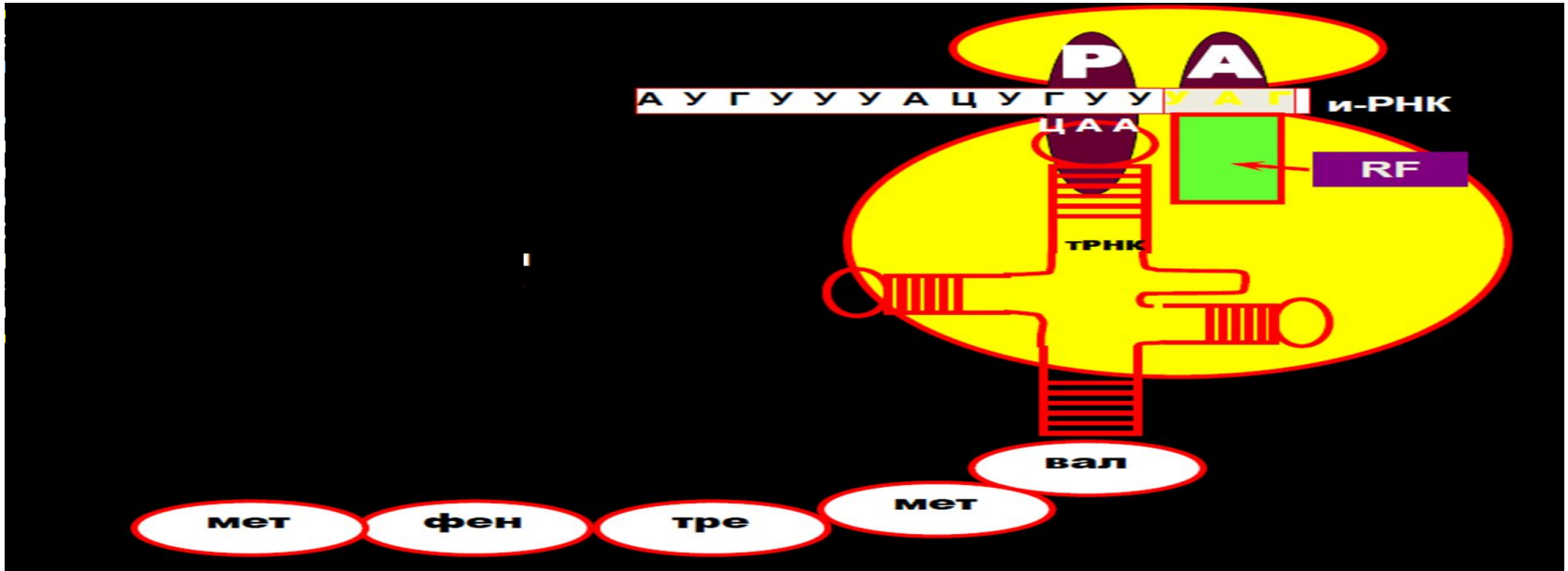
Элонгация – удлинение полипептида, включает в себя все реакции от момента образования первой пептидной связи до присоединения последней аминокислоты

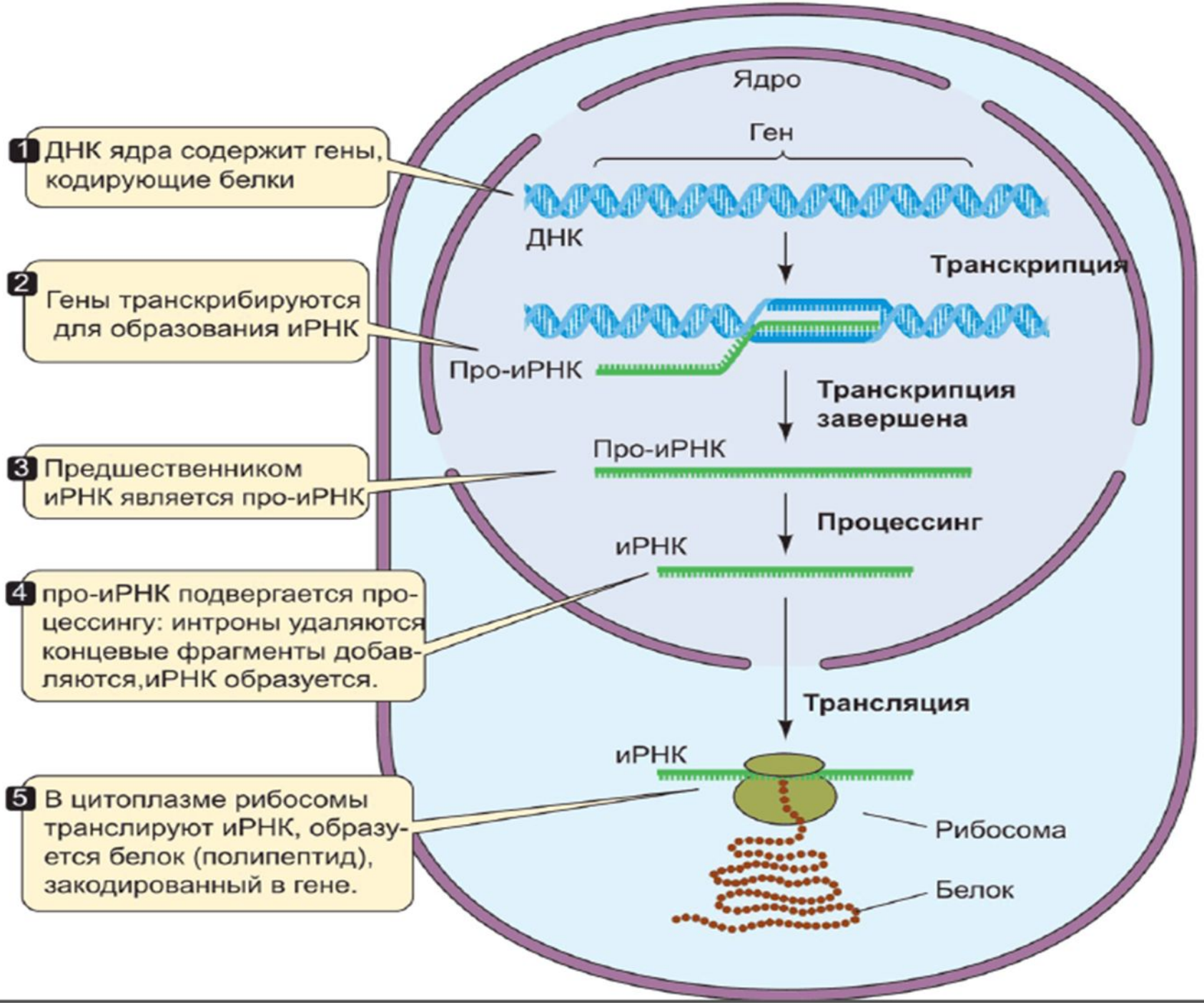
Элонгация состоит из трех повторяющихся процессов: связывание новой т-РНК, транспептидации и транслокации



Этапы трансляции:

Терминация – завершение синтеза полипептида связано с узнаванием специфическим рибосомным белком одного из терминирующих кодонов (УАА, УАГ, УГА)




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.
Ядро
Ген
ДНК
Транскрипция
Про-иРНК
Транскрипция завершена
Про-иРНК
Процессинг
иРНК
Трансляция
иРНК
Рибосома
Белок

РЕПАРАЦИЯ

❖**РЕПАРАЦИЯ** — функция клеток, заключающаяся в способности исправлять повреждения в молекулах ДНК (была обнаружена в 1949 г. А. Кельнером, Р. Дюльбекко и И.Ф. Ковалевым независимо друг от друга)

❖ФОТОРЕАКТИВАЦИЯ или ❖СВЕТОВАЯ репарация.

В результате УФ - облучения целостность молекул ДНК нарушается, т.к. в ней возникают димеры (сцепленные между собой пиримидиновые основания)

Фотореактивация катализируется ферментом фотолиазой, который активируется фотоном света и расщепляет димер на исходные составляющие

РЕПАРАЦИЯ

❖ТЕМНОВАЯ или ЭКСЦИЗИОННАЯ репарация

❖ Осуществляется в пять этапов:

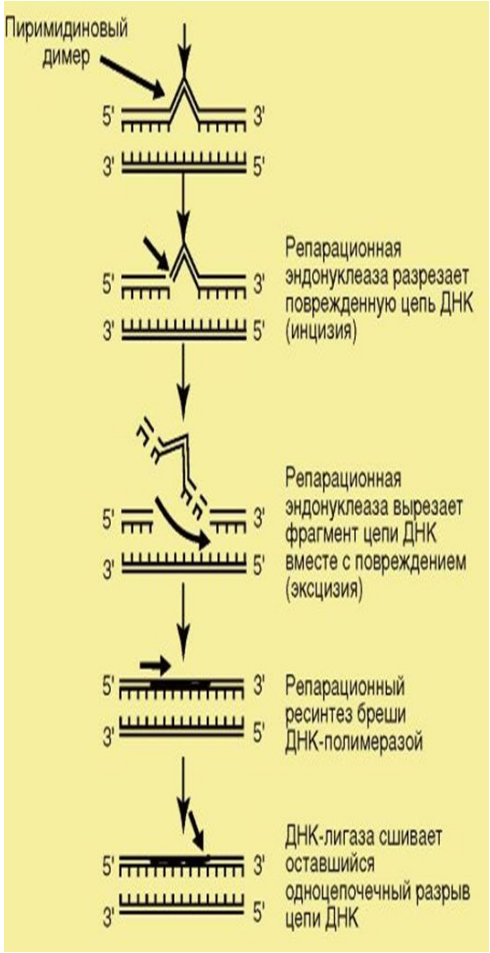
1 - нарушения узнаются специфическими белками;

2 - эндонуклеазы делают надрезы в поврежденной цепи;

3 - экзонуклеазы осуществляют вырезание поврежденного участка;

4 - синтез нового участка по принципу комплементарности с помощью ДНК-полимеразы;

5 - ДНК-лигаза соединяет концы старой цепи и восстановленного участка.

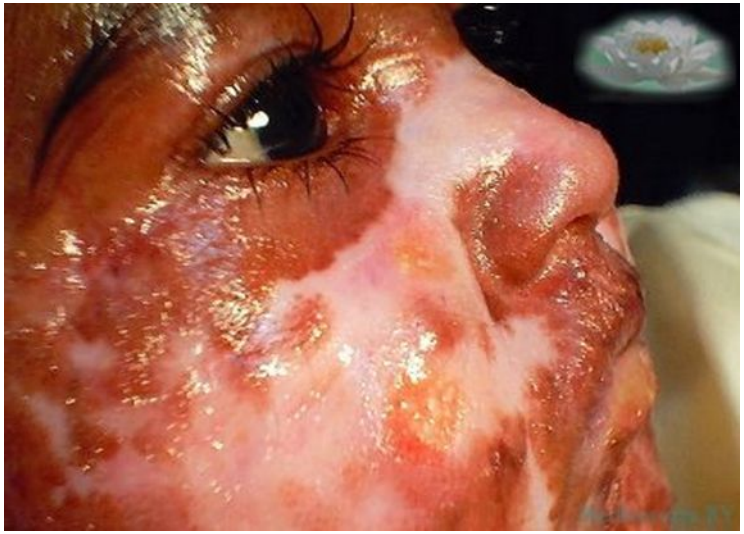


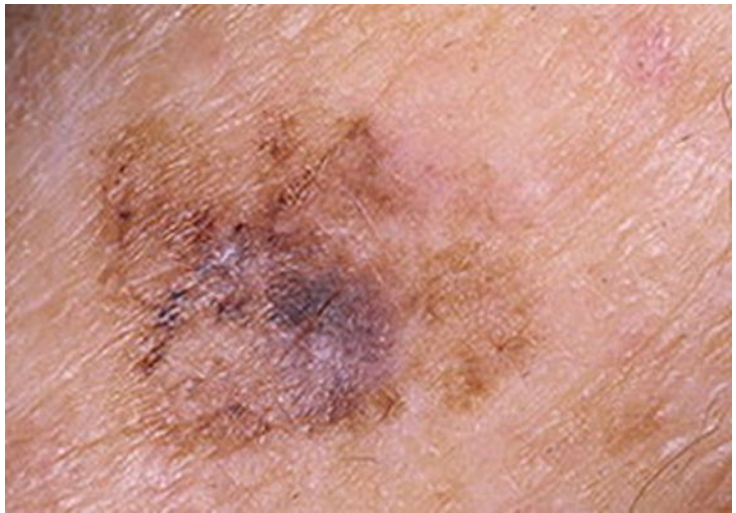
Пигментная ксеродерма

Наследственное заболевание кожи, проявляющееся повышенной чувствительностью к ультрафиолетовому облучению, проявляется в возрасте двух-трех лет

В результате мутации неактивны белки, репарирующие ДНК

Повреждения накапливаются и со временем приводят к раку кожи





Синдром Блума

Аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся телеангиэктатической эритемой лица, повышенной фоточувствительностью, задержкой роста

Культура лимфоцитов и фибробластов больных отличается высокой частотой хромосомных аберраций и повышенной чувствительностью к УФ-облучению, отмечена недостаточность фермента ДНК-лигазы I

Синдром Коккейна

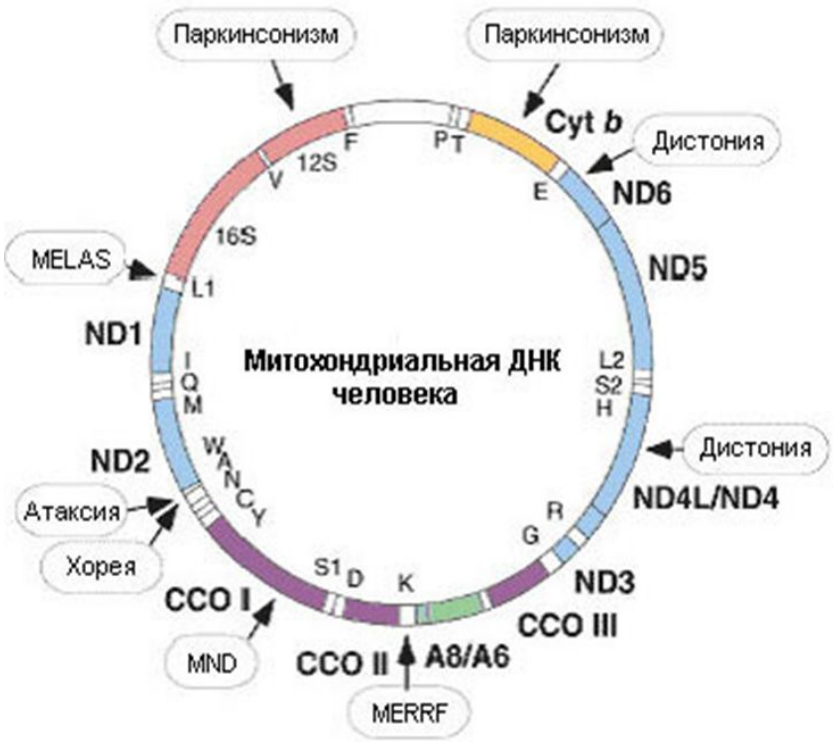
- Наследственное заболевание, с поражением кожи и её придатков, органов зрения, слуха и нарушением репарации
- Синдром обусловлен мутациями в генах, кодирующие белки, ответственные за эксцизионную репарацию
- Ребенок имеет вид «старика», волосы быстро седеют, повышенная фоточувствительность может стать причиной появления на лице пигментации

Цитоплазматическая наследственность

- Собственную ДНК имеют пластиды, митохондрии.
- Пластидная наследственность обнаружена у декоративных цветов львиного зева, ночной красавицы.
- Фактор R встречается у ряда патогенных бактерий, с ним связана устойчивость к ряду лекарственных

Митохондриальная наследственность

Каждая митохондрия обладает набором генов, отличающимся от ядерных. Митохондриальная ДНК человека представляет собой двухцепочечную кольцевую молекулу, содержащую **16569** пар оснований. Она кодирует
22 молекулы тРНК,
2 - рРНК
13 полипептидов ферментов дыхательной цепи.



Резюме

Молекулярная генетика – постоянно развивающееся направление генетики, сложными механизмами и достижениями которой научное сообщество пытается излечить огромное количество наследственных болезней