

Молекулярная генетика – часть генетики, которая возникла на стыке ряда биологических (генетика, микробиология, биохимия и др.) и небиологических (химия, физика, математика) дисциплин.

Целью молекулярной генетики является

- познание материальных основ наследственности и изменчивости живых существ путём исследования протекающих на молекулярном уровне процессов передачи, реализации и изменения генетической информации, а также способа её хранения.

- Молекулярная генетика выделилась в самостоятельное направление в 40-х гг. 20 в. в связи с внедрением в биологию новых физических и химических методов, что позволило гораздо глубже и точнее, чем раньше, изучать строение и функции отдельных компонентов клетки и всю клетку как единую систему.
- За свою недолгую историю молекулярная генетика достигла значительных успехов, углубив и расширив представления о природе наследственности и изменчивости, и превратилась в ведущее и наиболее быстро развивающееся направление генетики.
- Достижения М. несомненно будут широко использованы в практике сельского хозяйства и медицины (замены вредных генов полезными, в том числе искусственно синтезированными; управление мутационным процессом; борьба с вирусными болезнями и злокачественными опухолями и т. д.).

- Несмотря на то, что молекулярная генетика выделилась в самостоятельное направление в 40-х гг. 20 в. история изучения нуклеиновых кислот началась намного раньше

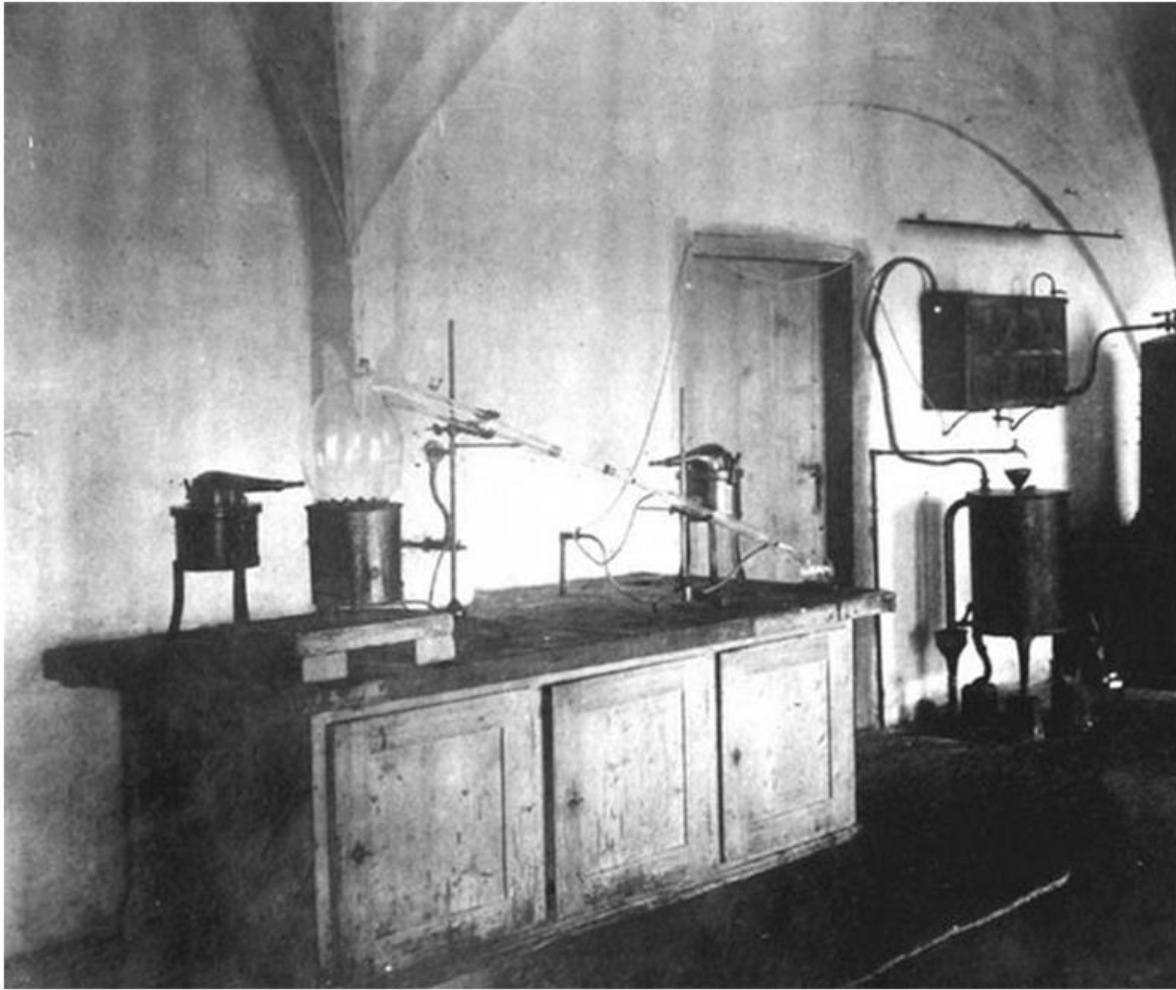
История изучения нуклеиновых кислот

- Открытие нуклеиновых кислот связано с именем молодого врача из города Базеля (Швейцария) Фридриха Мишера.
- После окончания медицинского факультета Мишер был послан в Тюбинген (Германия) в физиолого-химическую лабораторию. Ему было поручено заняться изучением химического состава гноя. Для получения материала пришлось связаться с хирургическим отделением местной больницы, где собирались бинты, снятые с больных при перевязках. Мишер вымачивал бинты в разбавленных солевых растворах, и гнойные клетки (лейкоциты) осаждались на дно сосуда.
- Из ядер лейкоцитов Мишер выделил новое вещество, которое содержало большое количество фосфора.
- Ввиду ядерного происхождения Мишер предложил для выделенного им вещества название «нуклеин» (лат. «нуклеус» – ядро).

Фридрих Мишер



Сейчас в замке расположен музей Тюбингского университета, а недавно была открыта для посетителей и бывшая лаборатория, в которой работал ученый



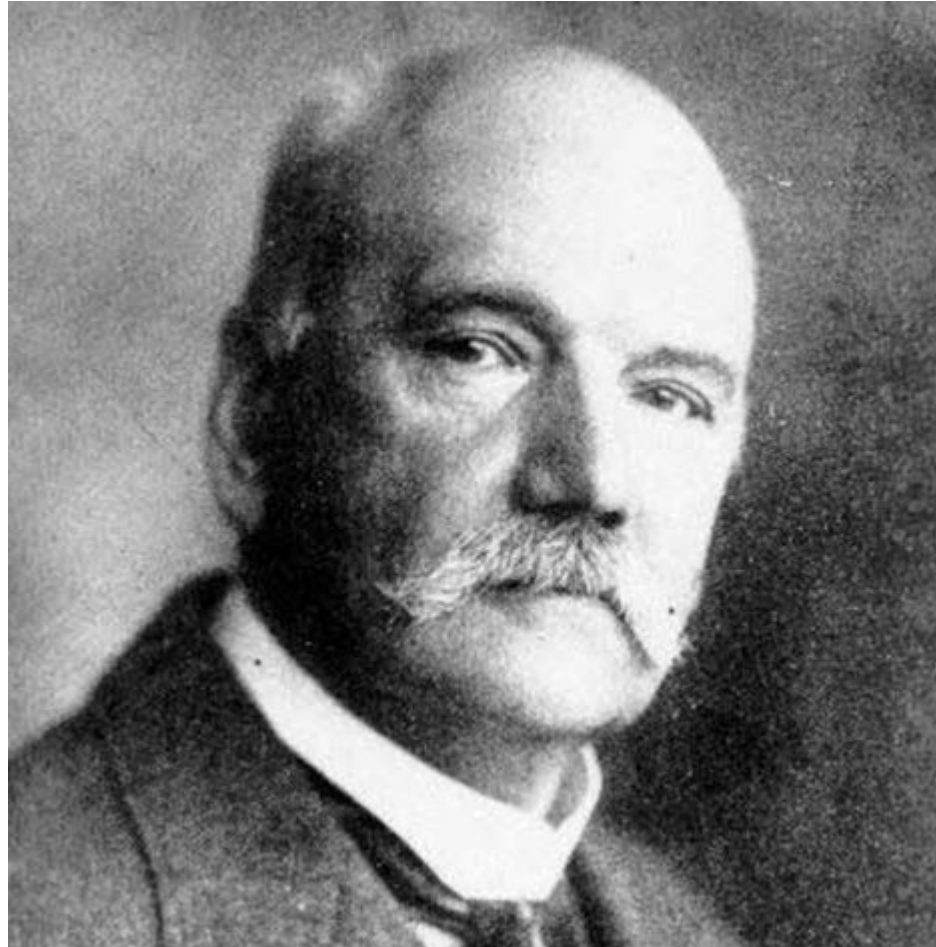
Среди экспонатов здесь можно увидеть, например, пробирку, подписанную собственноручно ученым, в которую он в 1871 году всыпал препарат ДНК. Надпись на пробирке с розоватым порошком гласит: "Нуклеин"



- Осенью 1869 г. Мишер вернулся в Базель. Он решил выделить нуклеин из ядер других клеток..
- Мишер изолировал из молок рейнского лосося высокоочищенный нуклеин, который ему удалось разделить на составные части: белковоподобный компонент, обладающий щелочными свойствами, и остаток, не содержащий белка.
- Этот остаток содержал высокий процент фосфора и обладал кислотными свойствами.
- Белковоподобный компонент нуклеина исследователь назвал протамином.
- Свободный от белка остаток нуклеина был назван в 1889 г. нуклеиновой кислотой. Это название оказалось удачным и сохранилось до настоящего времени.

- Так как хромосомы находятся в ядре, было высказано предположение, что они содержат нуклеин. Далее можно было предполагать, что нуклеин является веществом, ответственным за передачу наследственных признаков от клетки к клетке.
- Ботаник Захариас в 1881 г. экспериментально показал, что нуклеин действительно содержится в хромосомах.

Исследованием химического состава нуклеина, полученного Мишером, занялся Альбрехт Коссель.

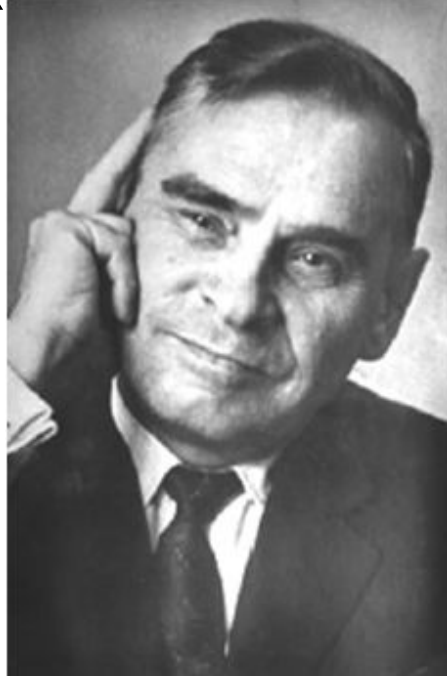


- Коссель выделил из продуктов гидролиза нуклеиновых кислот ранее неизвестные химикам вещества — азотистые основания аденин и гуанин.
- Затем Косселем и его учениками были выделены азотистые основания тимин и цитозин, относящиеся к пиримидинам.
- Коссель был первым ученым, получившим за работы в области нуклеиновых кислот Нобелевскую премию.
- Важная заслуга Косселя состоит в открытии белка со щелочными свойствами в ядрах клеток разных тканей. Белки, выделенные Косселем из ядер многих тканей, играли, по-видимому, ту же роль, что и протамин.
- Ученый предложил для обнаруженного им белка название «гистон» (от «histos» — ткань, греч.).

- В лаборатории Косселя нуклеиновые кислоты научились выделять из многих источников. Их легко получали из зубной железы (тимуса) телят и из дрожжей.
- Нуклеиновая кислота зубной железы телят – тимонуклеиновая кислота – содержала тимин, а дрожжевая нуклеиновая кислота – урацил вместо тимина.
- Поскольку тимонуклеиновая кислота была выделена из животных клеток, распространилось убеждение, что она характерна для объектов животного происхождения, в то время как дрожжевая нуклеиновая кислота — для объектов растительного происхождения.
- Таким образом, возникло представление о химическом различии в составе ядерного материала растительной и животной клеток. Эта точка зрения впоследствии оказалась неверной.

- Дальнейшее исследование состава и структуры нуклеиновых кислот проводилось в лаборатории уроженца России **Петра Левена** в США и в ряде других лабораторий.
- Первые работы Левена и сотрудников были посвящены изучению состава и строения углеводного компонента нуклеиновой кислоты.
- Сначала был выделен в кристаллическом виде углеводный компонент дрожжевой нуклеиновой кислоты. Он оказался пентозой, которую называли D-рибозой. Этот сахар был неизвестен к тому времени химикам, он встречался только в нуклеиновой кислоте.
- Затем выделили углеводный компонент тимонуклеиновой кислоты - дезоксирибозу.
- После идентификации рибозы и дезоксирибозы нуклеиновые кислоты получили новые названия. Те, которые содержали рибозу, стали называть рибонуклеиновыми кислотами или, сокращенно, РНК, а те, которые содержали дезоксирибозу, стали называть дезоксирибонуклеиновыми кислотами, или ДНК.

В 1936 г. молодой советский ученый, ставший впоследствии академиком, А. Н. Белозерский впервые препаративно выделил ДНК в чистом виде из растительного материала – из ростков конского каштана



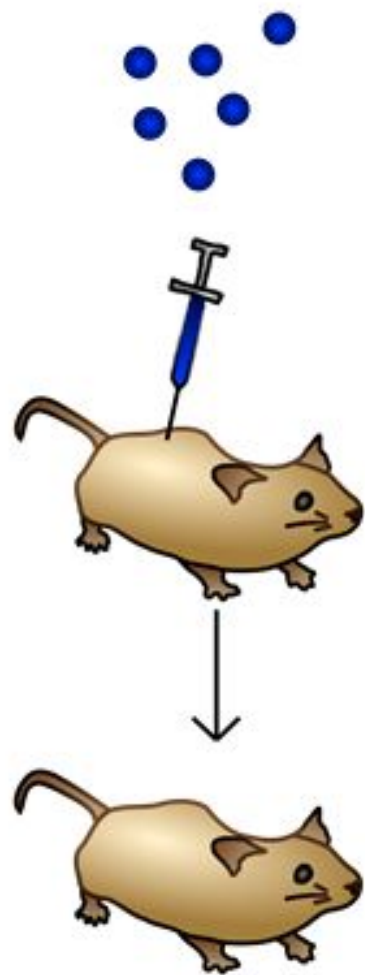
Работами Браше, Дэвидсона и других исследователей в то же время было показано, что РНК всегда встречается в животных клетках. Таким образом, оба вида нуклеиновых кислот оказались присущими как животным, так и растительным организмам.

- Явление трансформации было открыто в 1928 году микробиологом Гриффитсом (Англия). Гриффитс работал с пневмококками и пытался понять природу их вирулентности. Гриффитс обнаружил, что один штамм пневмококка утратил способность к синтезу своего полисахарида и был авирулентным (R-форма), а другой, имеющих капсулы, (S-форма) был вирулентным.
- Открытие Гриффитса состояло в том, что прибавление к бескапсульным формам бактерий экстракта из капсульных форм вызывало трансформацию (превращение): R-формы пневмококков превращались в S-формы.
- Он вводил мышам небольшое количество живых R-форм и большие дозы S-форм, убитых нагреванием.
- В результате мыши погибали, причем из погибших животных удалось выделить жизнеспособные S-формы пневмококков.
- Таким образом, стало ясно, что от одного штамма бактерий к другому возможна передача наследственного начала, однако химическая природа

Ф.Гриффитс

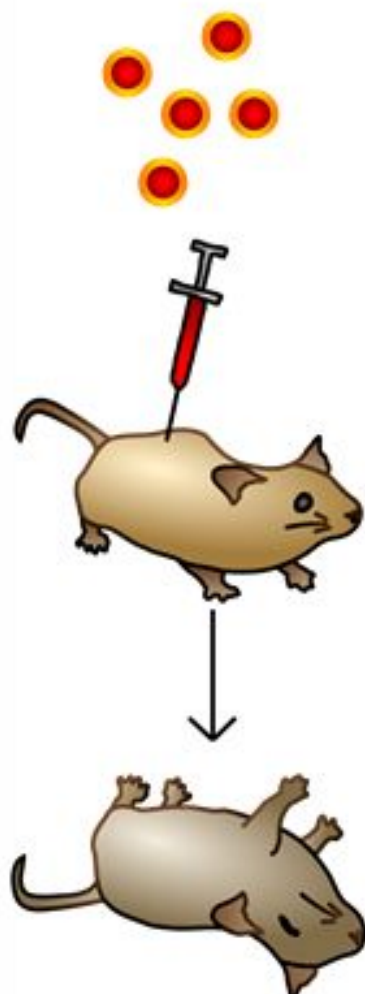


живые бактерии
R-штамма
(невирулентный)



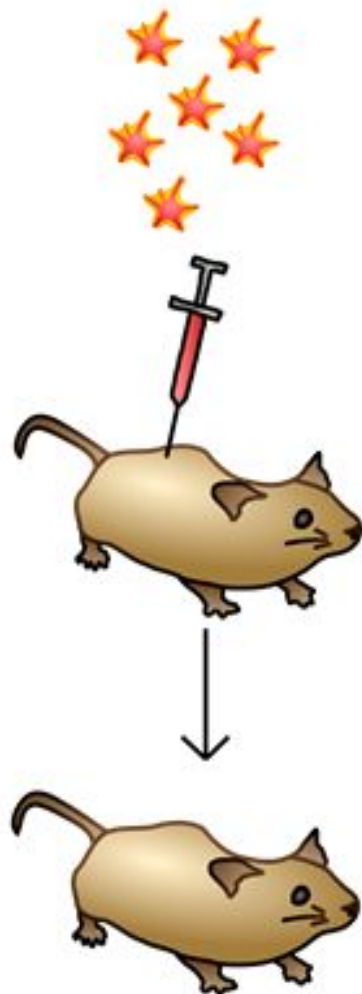
мышь выжила

живые бактерии
S-штамма
(вирулентный)



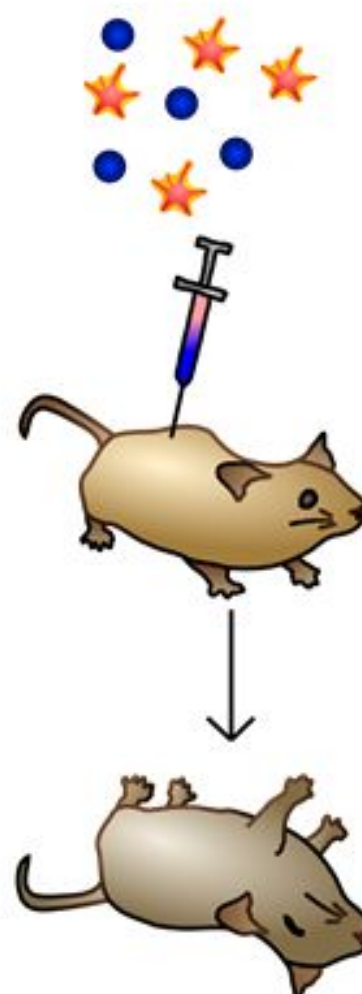
мышь погибла

термически
инактивированные
бактерии S-штамма



мышь выжила

живые бактерии
R-штамма и термически
инактивированные
бактерии S-штамма



мышь погибла

Эксперимент Эвери, Маклеода и Маккарти

- Сотрудники поставили перед собой задачу выяснить химическую природу трансформирующего агента.
- Они разрушали суспензию пневмококков дезоксихолатом и удаляли из экстракта белки, капсульный полисахарид и РНК, однако трансформирующая активность экстракта сохранялась.
- Трансформирующая активность препарата не терялась при его обработке кристаллическим трипсином или химотрипсином, панкреатической рибонуклеазой. Было ясно, что препарат не являлся ни белком, ни РНК.
- Однако трансформирующая активность препарата полностью утрачивалась при обработке его панкреатической дезоксирибонуклеазой, причем ничтожные количества фермента вызывали полную инактивацию препарата.
- Таким образом, было установлено, что трансформирующий фактор у бактерий является чистой ДНК.

Опытами Эвери, МакЛеода и МакКарти была установлена генетическая роль ДНК



Освальд ЭВЕРИ
(1877 – 1955)



Колин МакЛеод
(1909 – 1972)



Маклин МакКарти
(1911 – 2005)

Опыты А.Херши и М.Чейз

- Новым доказательством прямой генетической роли ДНК явились опыты вирусологов Херши и Чейз.
- Им удалось включить в состав ДНК и белка бактериофага Т2, который заражает бактерию *Escherichia coli* (кишечную палочку), радиоактивные изотопы фосфора и серы. При этом ДНК фага метилась Р, а белок фага – S.
- Используя такой фаг с двойной меткой, они показали, что при фаговом заражении клеток *E. coli* внутрь бактериальной клетки проникает в основном только фаговая ДНК и лишь ничтожное количество белка фага. Основная масса вирусного белка остается снаружи бактериальной клетки.
- Эта ДНК фага Т2 затем обеспечивает синтез себя самой, а также синтез белков фага Т2 в больших количествах внутри клетки-хозяина. Из полученных ДНК и белков вновь собираются характерные фаговые частицы.

Альфред Херши и Марта Чейз



Доказательство генетической роли РНК Х.Л.Френкель-Конратом, Г. Шраммом, 1956 г. Объект – вирус табачной мозаики (ВТМ)

- В 1956 году Х. Френкель-Конрат (США) и Г. Шрамм (ФРГ) установили, что РНК вируса табачной мозаики обладает инфекционностью.
- Разрушив белковый компонент вирусных частиц фенолом, они выделили РНК и очистили ее.
- Полученная РНК не содержала даже следов белка. Тем не менее введение ее в листья здоровых растений вызвало развитие типичной мозаично

Вирус табачной мозаики и его схема строения



Правила Чаргаффа

- **Первое правило Чаргаффа:** $A/T = G/C = 1$.
- **Второе правило Чаргаффа:** $A+G=C+T$, т. е. количество пуринов в ДНК равно количеству пиримидинов.
- **Третье правило Чаргаффа:** $A+C=G+T$, т. е. количество оснований с аминогруппами в положении 6 равно количеству оснований с 6-кетогруппами.



Модель двойной спирали ДНК построили Д. Уотсон и Ф. Крик

Джеймс Уотсон (р. 1928)
Френсис Крик (1916-2004)



1952 г
работа над моделированием ДНК

Основа: правило Чаргаффа
и рентгенограммы Р. Франклин
и М. Уилкинса

1953 г – публикация результатов
1962 г – Нобелевская премия

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

Нобелевская премия



Жак Люсьен Моно
биохимик и микробиолог

1965 г

**Концепция
оперона**



Франсуа Жакоб
микробиолог

**Генетический контроль синтеза ферментов
(схема регуляции экспрессии генов)**

1962 г. Расшифровка генетического кода.



Нобелевская премия



Роберт Уильям
Холли (США)



Хар Гобинд
Корана (США)



Маршалл Уоррен
Ниренберг (США)

За расшифровку генетического кода и его функции в синтезе белков.

1967 г. Синтез *in vitro* биологически активной ДНК. Артур Корнберг открыл ДНК-полимеразу I



*Нобелевская премия по физиологии или медицине 1959 года (1/2 премии, совместно с Северо Очоа).
Формулировка Нобелевского комитета: «За открытие механизмов биологического синтеза рибонуклеиновой и дезоксирибонуклеиновой кислот»*

- С развитием технологий молекулярных исследований, начавшихся в начале 70-х годов прошлого века:
 - введения быстрых методов секвенирования ДНК;
 - генно-инженерных приемов клонирования фрагментов ДНК;
 - разработкой методов гибридизации нуклеиновых кислот;
 - полимеразной цепной реакции (ПЦР) и др.

темпы развития генетики приняли стремительный характер. Началась структурно-функциональная расшифровка генов и геномов не только **прокариотических**, но и огромного числа **эукариотических организмов**, включая **геномы людей**.

- **Основные события 2-го и 3-го этапов:**

- 1970 г. – В. Арбер, Х. Смит, Д. Натан выделили первую рестрицирующую эндонуклеазу (НП)
- 1972 г. – Хар Гобинд Корана с соавторами синтезировали полноразмерный ген тРНК
- 1973 г. – Герберт Бойер, Стэнли Коэн, начало технологии рекомбинантных ДНК (НП)
- 1975 г.- Георг Кёлер, Сезар Мильштейн, получение моноклональных антител (НП)
- 1976 г. – Волтер Гилберт и Алан Максам, Фредерик Сенгер разработали методы определения нуклеотидных последовательностей нуклеиновых кислот (НП)
- 1978 г. - первый выпуск человеческого инсулина, полученного с помощью *E. coli*
- 1988 г. - создан метод ПЦР, Кэри Мюллис (НП)
- 1990 г. - официально начат проект "Геном человека"
- 1994-95 гг. - опубликованы подробные генетические и физические карты хромосом человека
- 1996 г. - определена нуклеотидная последовательность всех хромосом эукариотического микроорганизма *Saccharomyces cerevisiae*
- 1997 г. - клонировано млекопитающее из дифференцированной соматической клетки

Достижения молекулярной генетики легли в основу новых современных научных направлений:

1. Геномики
2. Генной инженерии
3. Эпигенетики
4. Генной терапии
5. Биоинформатики
6. Молекулярной генетики человека и его заболеваний
7. Молекулярной и практической генетики растений и животных
8. Спортивной генетики
9. Фармакогенетики и нутригенетики и др.
10. Синтетической биологии

Создание высоко технологичных методологий исследования генетического аппарата различных организмов послужило базой для начала новой эры развития молекулярной генетики, характерной чертой которой является решение глобальных генетических задач, в том числе связанных с происхождением и здоровьем человека.