Молекулярные основы наследственности.

1. Нуклеиновые кислоты. Строение. Синтез. Биологическая роль.
2. Реализация наследственной информации. Генетический код, и его свойства.
3. Генные мутации.
4. Строении генетического материала у бактерий и вирусов. Особенности их размножения.
5. Обмен генетической информации у бактерий.

1. Вследствие незнания наследственных свойств ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) ***биохимия развивалась относительно независимо от генетики до середины 1940-х гг.*** Скачок в направлении их тесного взаимодействия произошел после того, как биология перешла от белковой к нуклеиновой трактовке природы гена (вначале 1940-х гг. впервые появился термин «***молекулярная биология***».)

Молекулы ДНК были выделены в **1868** г. швейцарским врачом Ф. **Мишером** из ядер лейкоцитов. Выделенное вещество было названо «**нуклеином**» (лат. nucleus ядро). В 1899 г. немецкий химик *Р. Альтман* предложил назвать нуклеин – ***нуклеиновой кислотой*.**

В 1928 г. американский ученый *Ф.* ***Гриффит*** первым предположил, что генетическим материалом является ДНК, а не молекулы белков.

Ф. Гриффит проводил исследования на культурах пневмококка. Одна культура была вирулентной (лат. virulentus ядовитый) и мыши, которым ее вводили, гибли. Другая культура была авирулентной и гибели животных не вызывала. Ф. Гриффит показал, что если убитые вирулентные бактерии вводились мышам вместе с живыми авирулентными, то некоторые животные погибали. Более того, хотя эти мыши и не получали живых вирулентных бактерий, в их трупах были обнаружены живые вирулентные клетки. Этот результат, по мнению Ф. Гриффита, свидетельствовал о том, что часть генетического материала из вирулентных бактерий проникла в авирулентные и сделала их вирулентными (рис. 33).

В **1941** г. американские генетики **Дж. Бидл и Э. Тейтум** установили прямую связь между состоянием генов и синтезом ферментов (белков). Отсюда известное выражение «**Один ген – один белок**».

Вскоре было установлено, что ***кодирование белка – основная функция генов***. За это открытие, сделанное вместе с Дж. **Ледербергом**, все трое были удостоены Нобелевской премии 1958 г.

В 1944 г. американские микробиологи **О. Эвери, К. Маклеод и М. Маккарти** установили, что молекула *ДНК* ***может переносить свойства одного организма к другому*.**

В **1948** г. английский химик-органик **А. Тодд** подробно изучал структуру ДНК и выяснил, как связываются между собой четыре азотистых основания –

аденин, гуанин, цитозин и тимин – с сахаром (рибоза или дезоксирибоза) и молекулой фосфорной кислоты (рис.).

В 1949–1951 гг. были проведены исследования в разных странах по выявлению структуры ДНК:

1) американский биохимик **Э. Чаргафф** сформулировал правило, названное его именем: общее количество гуанина и аденина в молекуле ДНК равно количеству цитозина и тимина. Он установил, что отношения А/Т и Г/Ц приблизительно равны единице.

2) английский биофизик **М. Уилкинс** и др. получили рентгенограммы молекулы ДНК и подготовили почву для расшифровки в 1953 г. структуры ДНК.

В 1953 г. ***Ф. Крик и Дж. Уотсон*** установили, что молекула ***ДНК состоит из двух правозакрученных комплементарных*** **(лат. complimentum дополнение)** ***полинуклеотидных цепей – модель двойной спирали*** (рис.). Две цепи молекулы ДНК образуют подобие «веревочной лестницы», в которой роль «веревок» играют сахарно-фосфатные части нуклеотидов, а роль «перекладин» – основания нуклеотидов.

Каждая цепочка молекулы ДНК выступает в качестве ***матрицы*** для синтеза новых аналогичных цепей. Именно поэтому в хромосомах клеток молекула ДНК способна к ауторепродукции (самоудвоению).

Ф. Крик и Дж. Уотсон отметили, что двойная структура хорошо объясняет и процесс «воспроизводства» этой молекулы. При раскручивании цепей возможно присоединение новых нуклеотидов к каждой из них, тогда около каждой старой возникнет новая цепь, точно ей соответствующая. Так впервые пришли к структуре, которая способна к самовоспроизведению (рис.). Число два удовлетворило биологов, поскольку и клетки, и хромосомы воспроизводятся путем деления исходной на две. Этот процесс был назван ***репликацией*** (лат. replicare отражать). Свойство самоудвоения ДНК обеспечивает явление наследственности.

Модель же структуры ДНК была предложена в **1935** г. **Уотсоном и Криком**. Они составили из двух цепочек нуклеотидов, которые в свою очередь состоят из трех компонентов названых выше. Причем фосфорная кислота и сахар составляют остов. Внутри располагаются азотистые основания. Всего их 4. Каждый нуклеотид одной цепочки соединяется водородными связями нуклеотидом другой цепочки строго закономерно: аденин с тимином 2 водородной связи, цитозин с гуанином 3 водородные связи, которые труднее разорвать, чем 2 водородные связи. А = Т; Г = Ц принцип **комплементарности**.

Молекулы ДНК образует спираль, закручивающаяся вокруг своей оси. Диаметр спирали состоит 2 нм, длина шага 3,4 нм. Каждый виток входит 10 пар нуклеотидов. Чаще всего двойные спирали бывают правозакрученными.

Любое развитие организма начинается с одной единственный клетки – зиготы, которая имеет свой генетический материал и превращается в многоклеточный организм, каждая клетка которого имеет точно такой же

генетический материал, что и у зиготы. Это происходит благодаря удвоению молекулы ДНК.

Молекулы ДНК – единственной вещество в природе, которое может самокопироваться. Этот процесс самокопирования называется **репликация.**

Этот процесс начинается с определенного участка. В этом процессе участвуют топоизомераза, геликаза, ДНК-полимеразы, затравки, которая разрывают водородные связи между азотистыми основаниями, участок молекулы ДНК, где начали расплетаться комплементарной нити, , который называется **вилкой репликации.** У эукариот этих стартовых точек бывает несколько. Из свободных нуклеотидов, которые всегда находятся в клетке, эти остатки первичной цепи достраиваются по принципу комплементарности.

Этот процесс происходит перед делением клетки в интерфазе мейоза в синтетической период.

В результате такого процесса получаются две молекулы ДНК, точные копии др. др. Входя в состав хромосом, они расходиться в разные дочерние клетки, которые оказываются одинаковыми по генетическими материалам.

Реализация генетической информации происходит в цитоплазме, а молекулы ДНК в ядре. Поэтому между ядром и цитоплазмой существуют посредники, роль выполняют РНК.

РНК представляет собой одноцепочную структуру, так же состоящую из звеньев нуклеотидов, а состоят из сахара, остатки фосфорной кислоты и азотистых оснований: А, У, Г, Ц.

Существуют три класса РНК:

1) **рРНК (рибосомальные)**. Количество их 85 – 90% от всей общей массы РНК. Рибосома содержит 64% рРНК и 36% белка. Входит в состав рибосом – органоидов цитоплазмы, на а происходит синтез белка. Они как бы образую каркас рибосом. Рибосома состоит из малой и большой субъединиц.

2) **и-РНК (информационная или матричная)**. Она состоит из 150 - 200 нуклеотидов. Общие количество 3% от общей массы РНК. В 1978 году было обнаружено, что молекулы ДНК имеет только 10% от общей массы, которая несет генетический информацию, а 90% балласт или мусорная ДНК.

Мусорная ДНК - последовательности геномной ДНК, функции которых пока не установлены. Термин был впервые предложен Сусуми Оно в 1972 году. Ранее считалось, что около 95 % последовательностей ДНК генома человека можно отнести к мусорной ДНК. Такие последовательности включают в себя последовательности интронов и участки ДНК между генами, а также повторенные участки. Однако в 2012 году в публикациях проекта «Энциклопедия элементов ДНК» (ENCODE) было показано, что доля мусорной ДНК сильно завышена, и до 80 % генома имеет биохимические функции.

ENCODE международный исследовательский консорциум, организованный и финансируемый американским Национальным институтом исследований генома человека (англ. *National Human Genome Research Institute, NHGRI*) в сентябре 2003 года. Цель его работы –произвести полный анализ функций элементов генома человека, это один из самых важных проектов NHGRI после успешного завершения проекта «Геном человека».

Все данные, полученные в ходе реализации проекта, будут опубликованы в общедоступных базах данных.

5 сентября 2012 года первые результаты проекта были опубликованы в виде 30 взаимосвязанных публикаций на сайтах журналов Nature, Genome Biology и Genome Research. Эти публикации показывают, что по крайней мере 80 % генома человека является биологически активным, до этого господствовало представление, что большая часть ДНК является «мусорной».

Роль и-РНК это перенос генетической информации, зашифрованной в молекуле ДНК в виде последовательности азотистых оснований к месту синтез белка к рибосомам. Этот процесс переписывания генетической информации с молекулой ДНК на м РНК называется **транскрипцией**. При транскрипции с молекулой ДНК переписываются как конкретные гены, отвечает за определенные признаки, так и балласт в виде пустых азотистых оснований. Эти пустые участки не отвечают за генетическую информацию называется **интронами.** А те участки, которые в виде генов называется **экзонами.**

Процесс вырезания, уничтожения балласта называется **процессингом** или **созреванием и-РНК.**

Процессинг состоит из вырезания интронов, а называется сплайсингом, специальными ферментами и сшиванием в одну цепь экзонов. В головной части и-РНК образуется «шапочка» состоящая из нескольких молекул метилированного гуанина, а концевая часть – к ней присоединяется аденин, аденин и т.д..

Кэпирование представляет собой присоединение к 5'-концу транскрипта 7-метилгуанозина через необычный для РНК 5',5'-трифосфатный мостик, а также метилирование остатков рибозы двух первых нуклеотидов. Процесс кэпирования происходит во время синтеза молекулы пре-и-РНК. Кэпирование защищает 5'-конец первичного транскрипта от действия рибонуклеаз, специфически разрезающих фосфодиэфирные связи в направлении 5’→3'.

Функции кэпа и связанных с ним белков:

- участие в сплайсинге;
- участие в процессинге 3'-конца и-РНК;
- экспорт и-РНК из ядра;
- защита 5'-конца транскрипта от экзонуклеаз;
- участие в инициации трансляции.

Полиаденилирование Фермент поли(А)-полимераза присоединяет 3'-концу транскрипта (молекула РНК, образующаяся в результате транскрипции и-РНК, рРНК, тРНК, малые или некодирующие РНК Последовательность ДНК, на которой транскрибируются некодирующие РНК, часто называют РНК-г*е*ном.) от 100 до 200 остатков адениловой кислоты. Полиаденилирование осуществляется при наличии сигнальной последовательности 5'- AAUAAA-3' на 3'-конце транскрипта, за которой следует 5'-CA-3'. Вторая последовательность является сайтом разрезания

3) **тРНК (транспортная).** Общее количество – 10% от общей массы РНК. Состоит из 75 – 95 нуклеотидов. Основная функция – перенос АМК. Каждой АМК соответствует своя тРНК. Есть особый участок, который называется **антикодоном,** состоит из трех азотистых оснований, он комплементарен определенному участку и-РНК, и называется **кодоном.**

При помощи антикодона тРНК узнает соответствующий кодон и-РНК, т.е. определенное место, куда должна быть поставлена определенные молекулы АМК в молекуле белка.

2. Реализация генетической информации осуществляется в процессе биосинтеза белка. Для этого процесса необходимы следующие компоненты: ДНК, и-РНК, тРНК, рибосомы, ферменты, которую должен активировать АМК, которые регулируют начало и конец синтеза белка и АМК.

Процесс биосинтеза белка состоит из двух частей транскрипции и трансляции.

Транскрипция – каждых ген ДНК является матрицей для синтеза и-РНК, а точно переписывает порядок расположения нуклеотидов в гене (ДНК). Считывание наследственной информации начинается с определенного участка молекулы ДНК, а называется **промотором.**

Промотор располагается перед **структурным геном** и включает в себя где-то 80 нуклеотидов. Структурный ген – это участок молекулы ДНК, а кодирует определенной молекулы белка, определяющая признак.

В этом процессе участвует особый фермент РНК-полимераза, которая узнает промотор, связывается с ним и разъединяет цепи ДНК. Затем этот фермент начинает двигаться, вдоль гена и по мере разъединения цепей ДНК на одной из них ведется синтез и-РНК по принципу комплементарности.

Те участки гена, на которых РНК- полимераза образовала и-РНК, вновь соединяются, а синтезированная молекулы и-РНК постепенно отделяется от ДНК. Затем происходит процесс созревания и-РНК.

Трансляция: непосредственно синтез белка. Трансляция начинается с того, что м РНК подходит к малой субчастице рибосомы. В это время малая и большая субчастицы разъединены между собой. Затем происходит объединение субъединиц в целую рибосому. После этого и-РНК перемещается в большую субчастицу. У большой субчастицы имеются два центра: аминоацильный и пептидильный.

Механизмы трансляции прокариот и эукариот существенно отличаются, поэтому многие вещества, подавляющие прокариотическую трансляцию, в значительно меньшей степени действуют на трансляцию высших организмов, что позволяет использовать их в медицинской практике как антибактериальные средства безопасные для организма млекопитающих.

Процесс трансляции разделяют на

- **инициацию** –узнавание рибосомой стартового кодона и начало синтеза.
- **элонгацию** –собственно синтез белка.
- **терминацию** –узнавание терминирующего кодона (стоп-кодона) и отделение продукта.

Процесс трансляции состоит из трех этапов:

1. *инициация,* который заключается в перемещении и-РНК из одного центра в другой центр рибосомы;

2. *элонгация* – заключается в том, что к первому центру подходит 2-я т – РНК со своей аминокислотой. Затем вместе с кодоном и-РНК перемещается

ко 2-му центу. Первая АМК отделяется от т-РНК и присоединяется ко второй АМК. К 2-му центру подходит третья т-РНК и процесс повторяется;

3.*терминация* – завершение синтеза белка, когда в и- РНК остается 1 из 3-х кодонов, которые не шифруют АМК, то происходит завершение синтеза белка (УАА, УАГ, УГА).

В 1961 году Ф. Крик с сотрудниками расшифровали *генетический код* – это свойственный всем живым организмам способ кодирования аминокислотной последовательности белков при помощи последовательности нуклеотидов.

В ДНК используются четыре нуклеотида: *аденин* (А), *гуанин* (Г), *цитозин* (Ц), *тимин* (Т). *Эти буквы составляют алфавит генетического кода.* В РНК используются те же нуклеотиды, за исключением тимина, он заменен похожим нуклеотидом – *урацилом*, который обозначается буквой У. В молекулах ДНК и РНК нуклеотиды выстраиваются в цепочки и, таким образом, получаются последовательности генетических букв.

Для построения белков в природе используется 20 различных аминокислот. Каждый белок представляет собой цепочку или несколько цепочек аминокислот в строго определенной последовательности. Эта последовательность определяет строение белка, а, следовательно, все его биологические свойства. Набор аминокислот также универсален почти для всех живых организмов.

Генетический кодом (кодом наследственности) называется процесс перевода триплетной последовательности нуклеотидов молекулы ДНК в последовательности АМК в молекуле белка, который открыт в 1953 году (Крик, Гамов, Бреннер, Витман и др.).

1. *Триплетность* – значащей единицей кода является сочетание трех нуклеотидов (триплет, или кодон), которые определяют одну аминокислоту.
2. *Непрерывность* – между триплетами нет знаков препинания, т. е. информация считывается непрерывно.
3. *Неперекрываемость* – один и тот же нуклеотид не может входить одновременно в состав двух или более триплетов. (Не соблюдается для некоторых перекрывающихся генов вирусов, митохондрий и бактерий, которые кодируют несколько белков, считывающихся со сдвигом рамки).
4. *Однозначность или специфичен* – определённый кодон соответствует только одной аминокислоте.
5. *Вырожденность (избыточность)* – одной и той же аминокислоте может соответствовать несколько кодонов (1-6). Только 2 АМК кодироваться одним триплетом – метионин АУГ и триптофан УГГ. Кодом АУГ является инициатором синтеза полипетидой цепи, если он находится в начале цепи.
6. *Универсальность* – генетический код работает одинаково в организмах разного уровня сложности: от вирусов до человека (на этом основаны методы генной инженерии). Однако из этого свойства есть ряд исключений.

3. Генные мутации связаны связны с изменениями, возникающими в молекуле ДНК.

При этом различают несколько видов генных мутации:

1) замена пар нуклеотидов

А Т Г Ц Ц Г Т А Т
Т А Ц Г Г Ц А Т А
нормы А У Г Ц Ц Г У А У

мутация типа Замена

А А Г Ц Ц Г Т А Т
Т Т Ц Г Г Ц А Т А
А А Г Ц Ц Г У А У

2) добавлении или выпадение пар нуклеотидов

мутация А Г Ц Ц Г Т А Т
выпадение Т Ц Г Г Ц А Т А
А Г Ц Ц Г У А У

мутация А Т Г Г Ц Ц Г Т А Т
добавление Т А Ц Ц Г Г Ц А Т А
А У Г Г Ц Ц Г У А У

Мутации типа замены пар нуклеотидов в молекуле ДНК приводит к замене всего одной АМК в молекулы белка. Это приводит к заболеваниям, связанных с обменов веществ.

Мутации типа добавления и выпадения приводят к сдвигу в считывании информации, в результате чего в белковой молекуле появляются совершенно другие АМК или те же самые АМК, но в другой последовательности. В результате чего образуется вещество совершенно другими свойствами, что так же приводят к различного рода заболеваниям или к изменению технологических свойств вещества.

4. Химический состав класса у **бактерий** в основном такой же, как и у высших организмов. Но по строению класса, ее содержимое отличается от класса высших организмов (эукариот), а бактерии – прокариот.

Бактерии имеют ядро, у которых отсутствует ядерная оболочка. Оно называется **нуклеоидом.** В нем всего одна хромосома, т.е. 1 молекула ДНК, как правило, замкнутая в кольцо. По строению молекула ДНК бактерий такая же, как у высших организмов (азотистых основания, H_3PO_4, дезоксирибоза).

На основании этого, английский генетик установил свои правила Чаргаффа:

1) сумма нуклеотидов, содержащих пуриновые азотистые основания равна сумме пиримидиновых азотистых оснований А + Г = Т +Ц

2) содержание А = содержанию Т, а Г = Ц, А = Т, Г = Ц

3) соотношения пуриновых на пиримидиновых равно **1.**

(А + Г)/(Т + Ц) = 1

4) соотношения (А +Т)/(Г + Ц) никогда не будет равный **1.**

Для каждого вида животных имеется свое соотношение азотистых оснований.

В цитоплазме бактерий отсутствуют митохондрии, ЭПС, аппарат Гольджи, но присутствуют рибосомы. Поэтому бактерии способны сами синтезировать АМК.

В жизни бактерий наиболее ответственным моментом является синтез молекулы ДНК. Один конец ДНК прикреплен к клетке мембране происходит полуконсервативным способом. Участвуют ДНК – полимеразы также как и у эукариот. Репликацию идет только на одной из комплементарных цепей. Она называется лидирующей. Во второй (запаздывающей) синтез ДНК идет на коротких фрагментах Оказаки. Каждый фрагмент инициируются коротким полирибонуклеотидом. Эти РНК служат затравкой для дальнейшего роста цепи ДНК. Затем РНК удаляется брешь заполнена. При помощи ДНК – полимераз и фрагмент Оказаки соединение при помощи лигаз.

Вирусы – это тоже микроорганизмы, хотя отличаются от всех известных клеточных функции жизни. Частицы вирусов очень малы (от 20 до 30 НМ. Вирусы могут жить только внутри клетки, размножаться, используя своей жизни **органоиды** хозяина.

Вирусы, заражающие бактерии, называются **бактериофагами** или **фагами.**

По характеру взаимодействия вируса с клетками, вирусы делятся на:

- вирулентные
- умеренные

Вирулентные всегда убивают клетку хозяина клетка лизирует

Умеренные может вызвать лизис, но и может перейти в неинфекционную форму. В этом случае ДНК вируса прикрепляются к ДНК клетки и передаются вместе с ней в дочерние клетки. Вирусная частица в такой формы называется **профагом.**

Вирусы у которых генетическая информация записана на РНК называется **ретровирусами.** Когда они проникают в клетку, при участи фермента обратной транскрипции синтезируются ДНК – копии РНК вирусы. ДНК внедряется в различные локусы генома клетки и становятся составной частью молекулы ДНК. Такую ДНК называют **провирусом.** Например**:** полиомиелит, клещевой энцефалит или желтой лихорадки, вирус табачной мозаики, гриппа, кори, бешенства.

По способу питания бактерии делятся на:

- прототрофные
- аутотрофные

Прототрофнные могут жить на минимальных питательных средах, которая включает в себя углеводы и минеральные вещества.

Аутотрофные не могут синтезировать ту или иную АМК в отличие от прототрофных, поэтому в питательную среду добавляя необходимых компонентов – ту АМК, которая нужна для размножения.

5. Бактериям присуща большая изменчивость:
Модификационная, мутационная, комбинативная.

У бактерий отсутствует половое размножение, и новые комбинации генов у них возникают путем переноса генетической информации, генетического материала из клетки донора в клетку реципиента.

Различают 3 способа передачи генетической информации у бактерий:

1) **трансформация.** Открыта в 1928году Гриффитом. Английский ученый, он работал с возбудителями пневмонии – пневмококками.

Вирулентный S – штамм; Умеренный R – штамм.

S – штамм образует гладкие колонии

R – штамм образует шероховатые колонии

При заражении мышей инфицируют бактериями R – штамма вместе с инактивированными нагреванием бактериями S, животные погибают от пневмококковой инфекции. Ткани погибших животных содержит вирулентные бактерии S.

2) **трандукция** – перенос генов из одной бактериальной клетки в другую при помощи бактериофага.

В 1954 году Циндлер и Леденберг открыли способ генетический обмен у тифозных бактерий.

В U – образную трубку, разделенную посредине бактериальным фильтром, были помещены бактерии штамма 22А, не способные синтезировать АМК триптофан (Т-), и бактерии штамма 2А, способные синтезировать данную АМК (Т+). В среду был вынесен бактерифаг, и после совместного культивирования некоторых клеток штамма 22А приобрели способность синтезировать триптофан. Таким образом, было доказано, что бактериофаги может являться переносчиками наследственного от бактерий одного штамма к бактериям другого штамма.

3) **конъюгация** называется процесс переноса генетического материала из бактерии донора в бактерию-реципиента при контакте клеток (образование цитоплазматического мостика).

В 1946 Леденберг и Татум. В 1952 году Хейс установил, что один штамм является донором (мужской), другой (женский).