Лекция 4

Центральная догма молекулярной биологии

ДНК, виды РНК, репликация

Основы генетики

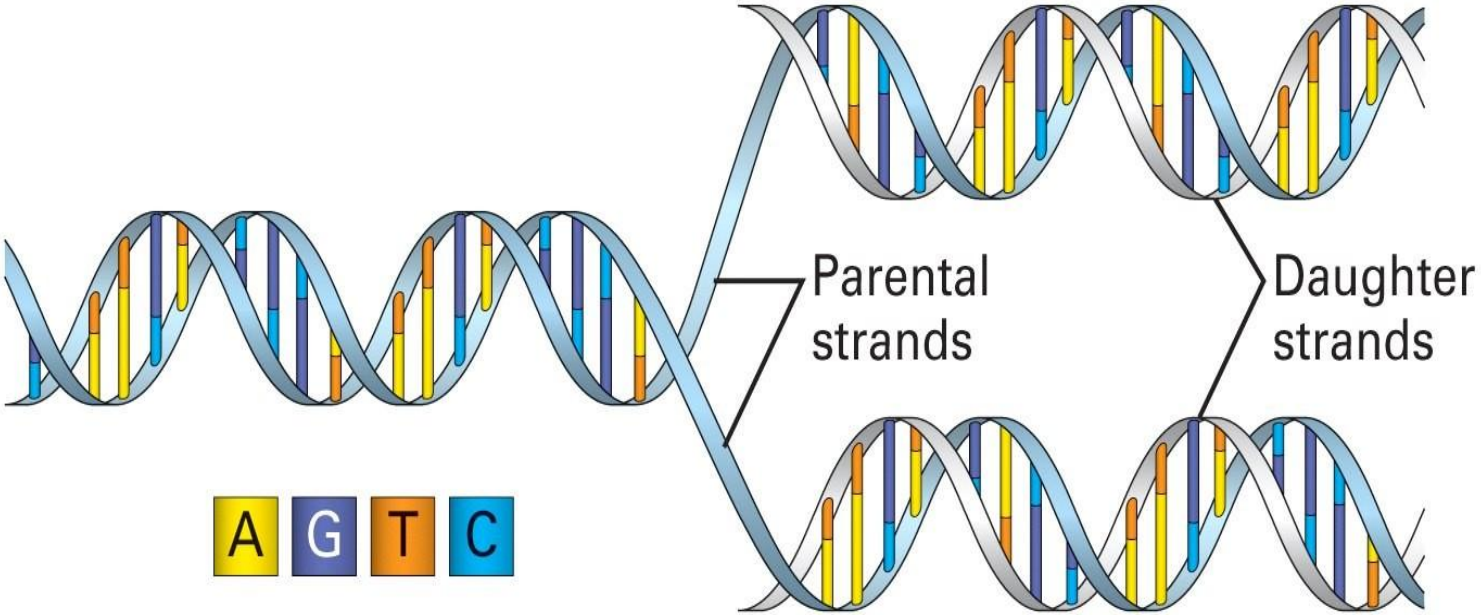
Альбертс

- Глава 4 и 5

Жизнь зависит от 3 молекул

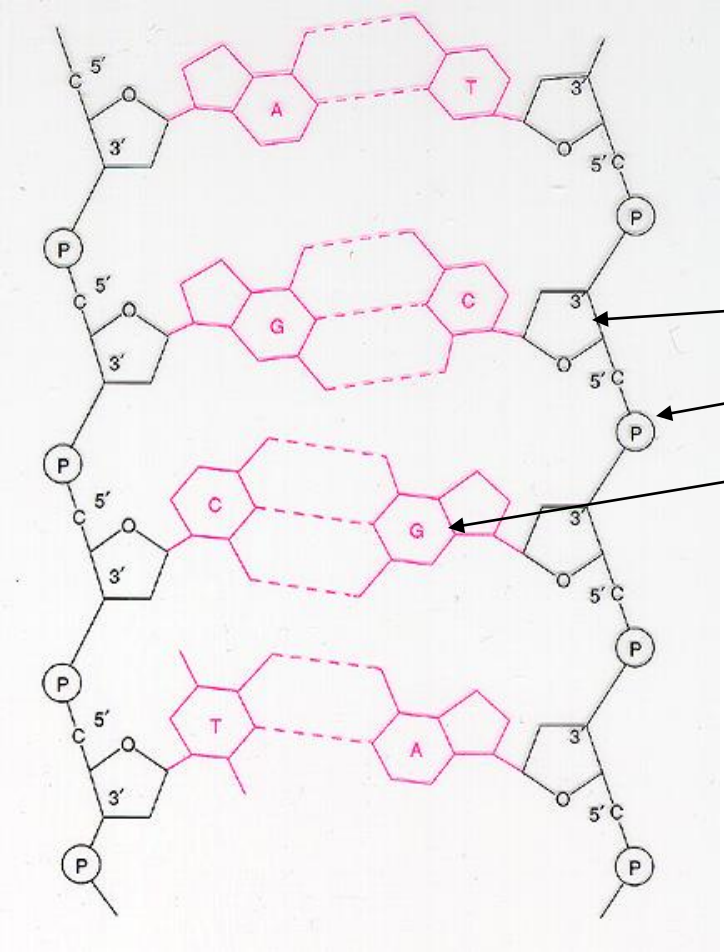
- ДНК
  - Содержит информацию о работе клетки
- РНК (мРНК)
  - Передает эту информацию в различные части клетки
  - Служит матрицей для синтеза
- Белки
  - Образуют ферменты, катализирующие различные процессы в клетке
  - Образуют основные структурные компоненты живого организма

ДНК: код жизни



- Структура ДНК и 4 «буквы» генетического кода – одинаковые для всех организмов
- Аденин, Тимин, Гуанин и Цитозин, которые образуют пары А-Т и Ц-Г на комплементарных цепях ДНК

ДНК



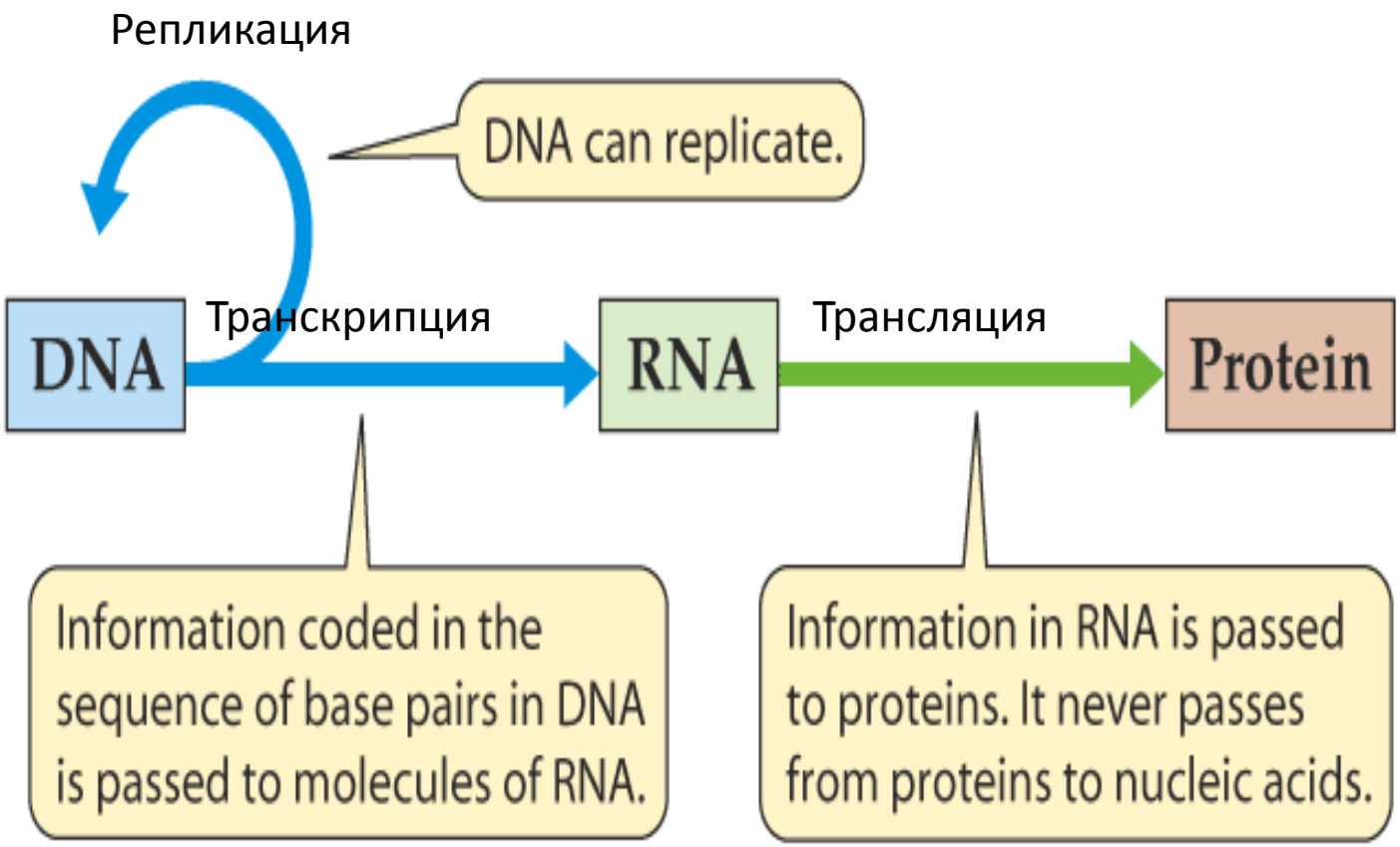
- ДНК представляет собой двойной хеликс (в природе эта спираль, чаще всего, правозакрученная)
  - Молекула углевода
  - Фосфатная группа
  - Азотистое основание (A, T, C, G)

- DNA всегда строится с 5’ конца до 3’ конца при транскрипции и репликации

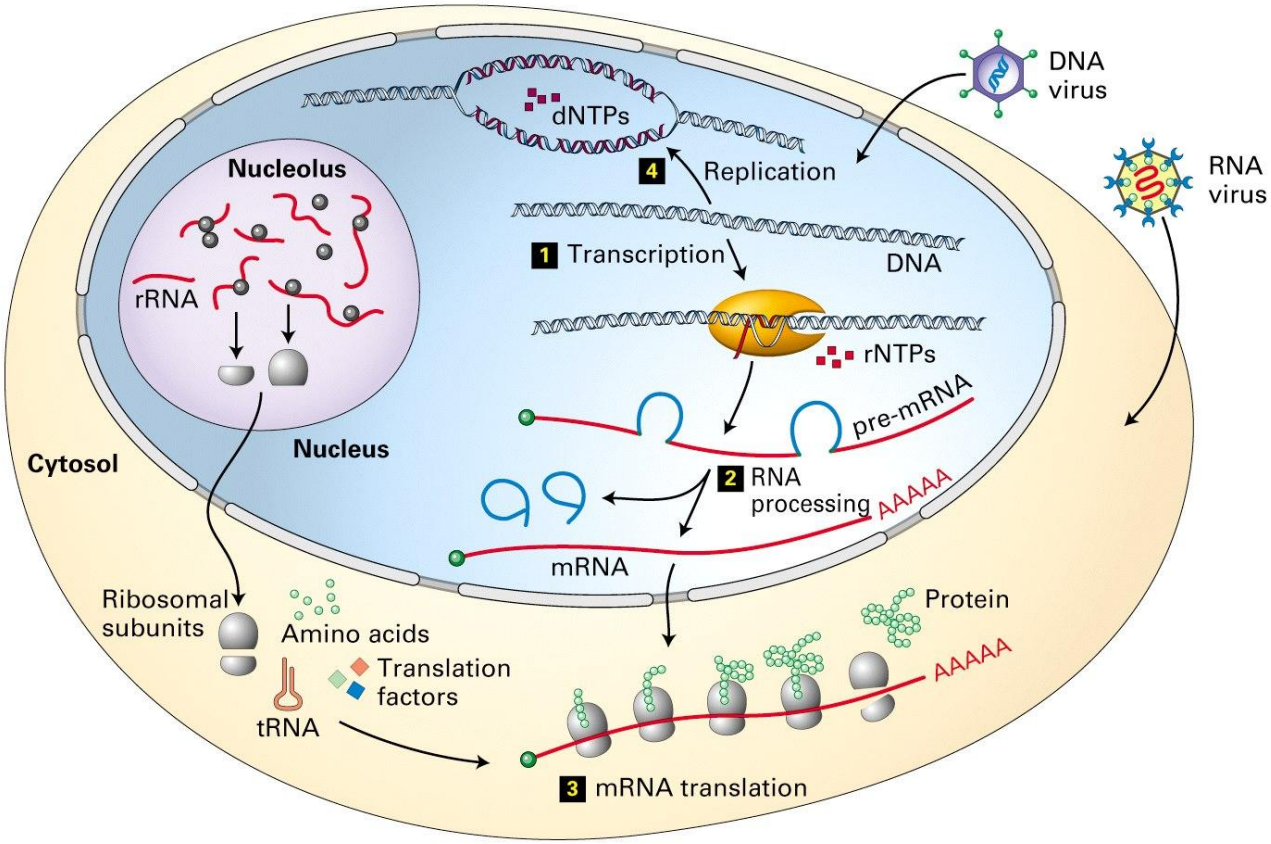
  5’ ATTTAGGCC 3’

  3’ TAAATCCGG 5’

Перенос генетической информации



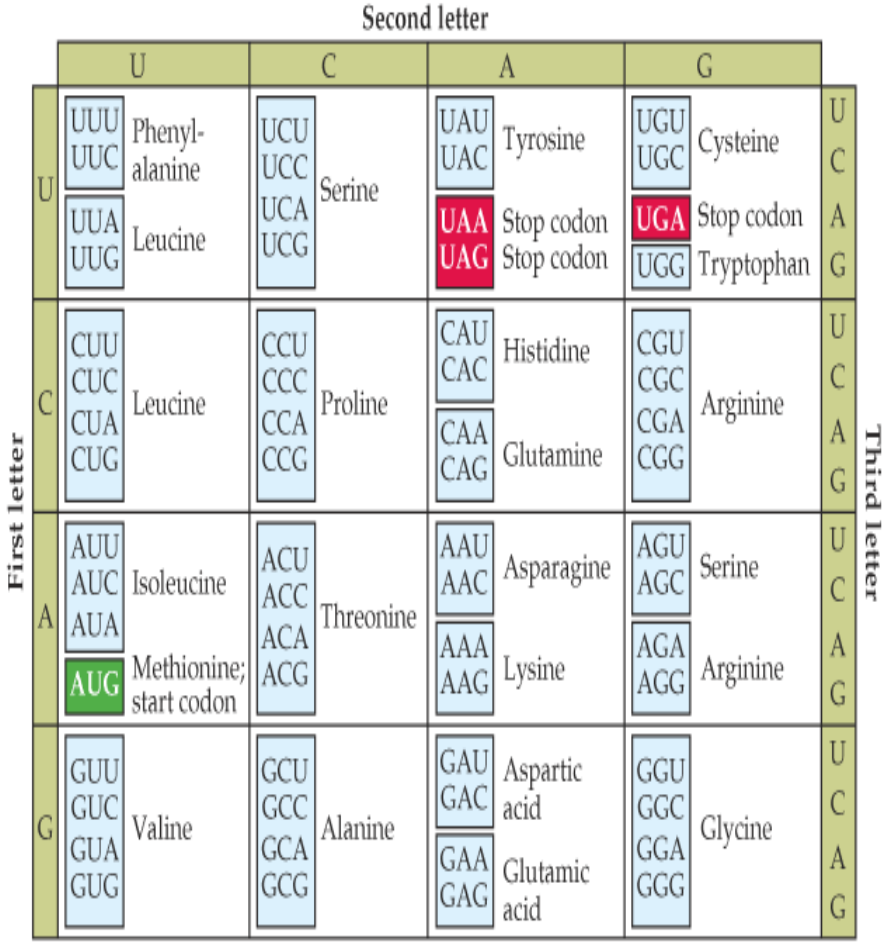
Центральная догма: ДНК-РНК-белок



- Экспрессия гена происходит в 2 этапа
  1) Транскрипция: синтез РНК
  2) Трансляция: синтез белка
  3) Исключения: некоторые вирусы, например ретровирусы

Генетический код

- ДНК, РНК и белки – последовательности мономеров (букв)
- 20 аминокислот. Каждая кодируется словом из 3 нуклеотидов (кодон)
- Исключения: например в митохондриях, и.т.д.
- http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/C/Codons.html



Введение в генетику

- Что такое гены?

  - физические и функциональные признаки, которые передаются от одного поколения к другому

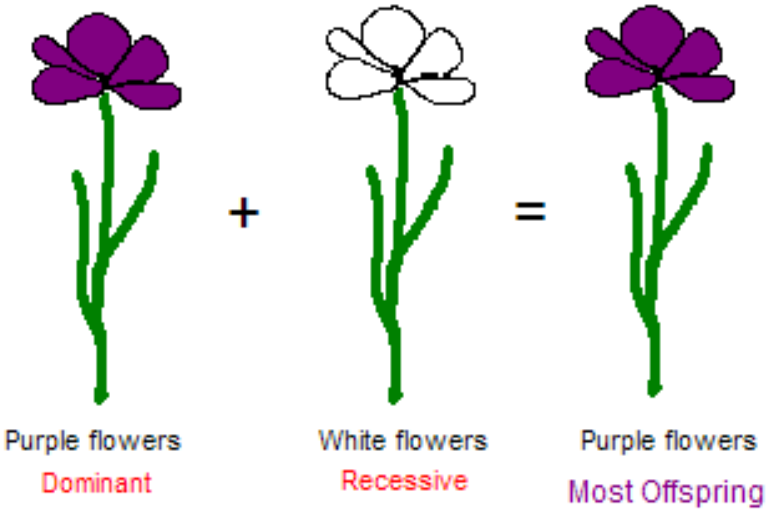
- Гены были открыты в 1860 годах словацкмим монахом Грегором Менделем. Он пытался ответить на след. вопрос:

Передются ли признаки от одного из родителеей или от обоих?

Эксперименты с растениями гороха

- Мендель открыл, что гены могут переданы в одной из 2 форм (аллелей)– доминантной или рецессивной

• Доминантная форма будет проявляться в фенотипе



ДНК – физический носитель генетической информации

- ДНК была открыта в 20 веке
- ДНК содержит те самые физические гены, открытые Менделем
- У каждого организма – 1 аллель наследуется от отца и 1 - от матери
- Гомозигота – АА или аа
- Гетерозигота – Аа
- 3:1, 9:3:3:1

.....ЦАГТ.....

Мутации

- ДНК – это последовательность нуклеотидов
- Что происходит когда эта последовательность изменяется
- Мутация
- Это и приводит

к образованию различных аллелей

Хорошие, плохие и молчащие

- Мутации могут быть нескольких видов

- Хорошие: Мутации могут улучшить выживаемость организма.

  Например мутации в гене серповидно-клеточной анемии приводят к устойчивости к малярии.

- Плохие: Мутации приводят к значительному вреду или даже гибели организма

  Например, гемофилия

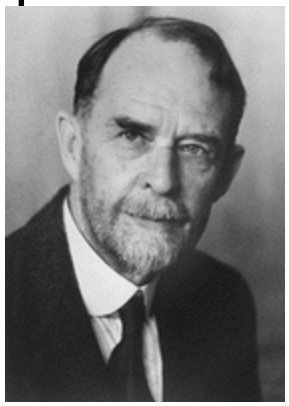
- Нейтральные: Мутации не оказывают никакого влияния

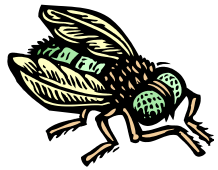
Campbell, Biology, 5th edition, p. 255

Гены организованы в хромосомы

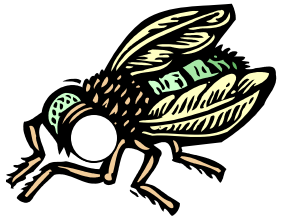
- Хромосомы – нитеподобные структуры, находящиеся в ядре клетки и содержащие 1 молекулу ДНК. Разные организмы могут иметь разное количество хромосом (парное – у организмов с половым размножением).

- Томас Морган (1920) – Нашел косвенное доказательство существования хромосом путем экспериментов с дрозофилой





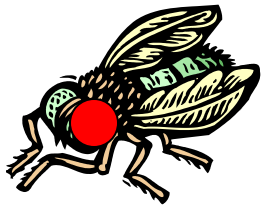
Цвет глаз



Белые глаза

Самец

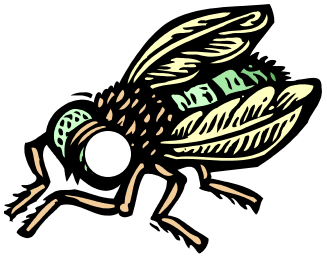
X



Красные глаза

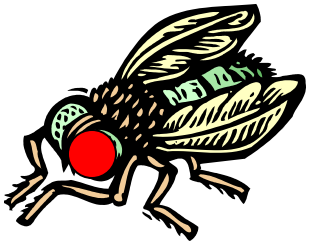
самка

Белые глаза



В основном самцы

Красные глаза



В основном самки

Следовательно гены, определяющие пол дрозофил и цвет глаз – сцеплены. Это значит что они расположены на одной хромосоме – Х-хромосоме.

Сцепленные гены и последовательность генов.

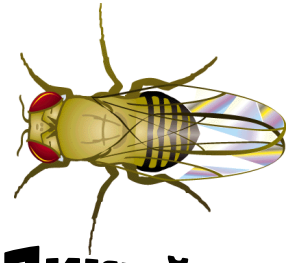
- Различные признаки (гены) могут быть сцеплены, т.е. расположены на одной хромосоме.
- Морган предположил, что чем ближе гены были расположены на одной хромосоме, тем более часто они наследовались совместно

Сцепленные гены и последовательность генов.

- Оценивая частоту сцепления генов, можно составить генетические карты
- Альфред Стюртевант изучил сцепление 3 генов:

cn-Цвет глаз

Fly pictures from: http://www.exploratorium.edu/exhibits/mutant_flies/mutant_flies.html



Дикий тип

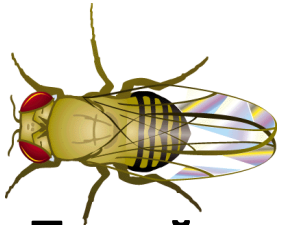
cn-Цвет глаз

b-Цвет тела

Желтое тело

Черное тело

Fly pictures from: http://www.exploratorium.edu/exhibits/mutant_flies/mutant_flies.html

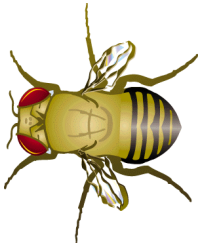


Дикий тип

cn -цвет глаз

b -цвет тела

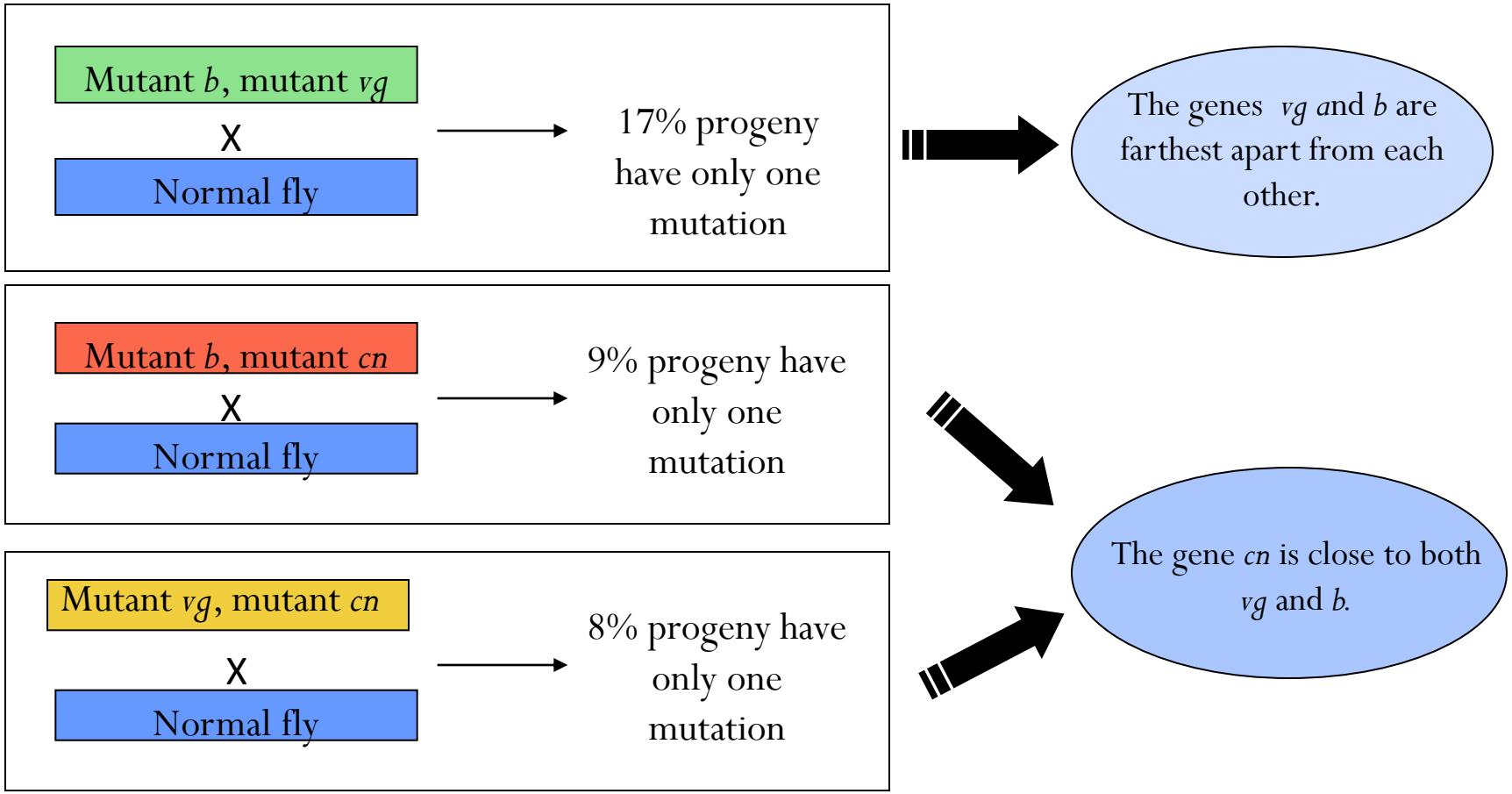
vg -размер крыльев



Короткие крылья

Fly pictures from: http://www.exploratorium.edu/exhibits/mutant_flies/mutant_flies.html

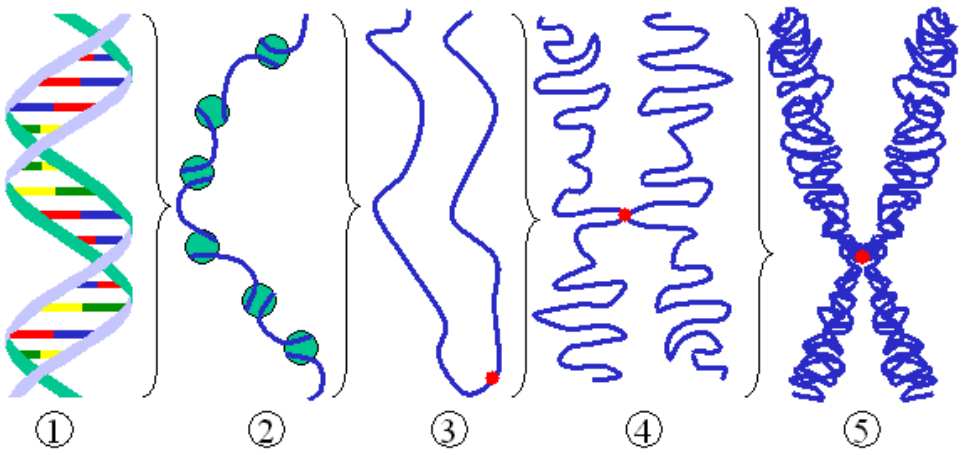
Порядок генов на хромосоме?



Порядок генов на хромосоме?

	b	*cn*	*vg*

Хромосомы

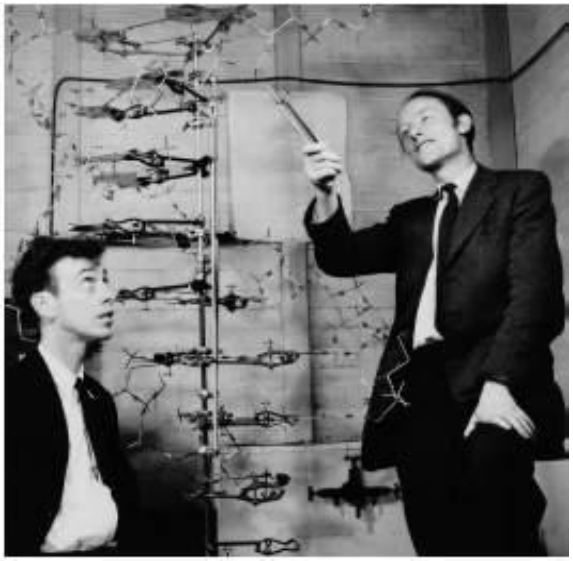


- (1) ДНК
- (2) Нить хроматина (ДНК и гистоны)
- (3) Конденсированный хроматин
- (4) Конденсированный хроматин во время репликации
- (5) Метафазные хромосомы

Уотсон и Крик– *“Двойная спираль ДНК”*

- Уотсон - зоолог, Крик – физик

- Использовали рентгеновский снимок структуры ДНК, сделанный Розалинд Франклин

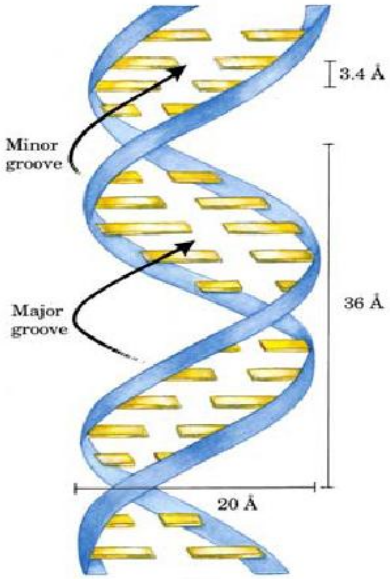


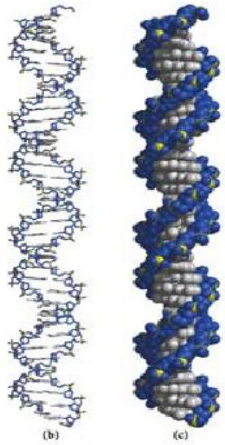
Watson & Crick with DNA model

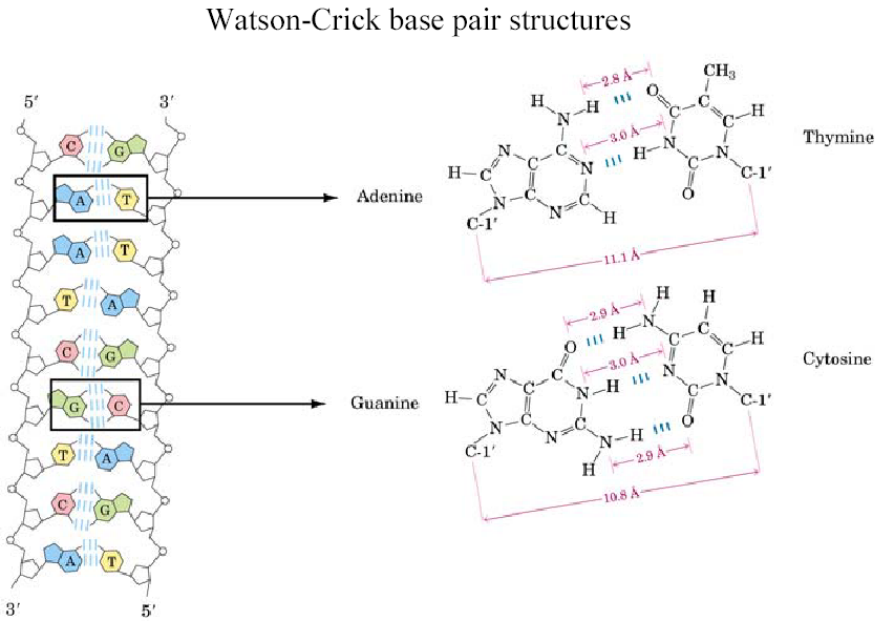
Rosalind Franklin with X-ray image of DNA

ДНК: основа жизни

- Деоксирибонуклеиновая кислота
- Полимерная молекула
  - Углеводно-фосфатный скелет
  - Основания одной цепи соединяются с другой цепью путем водородных связей







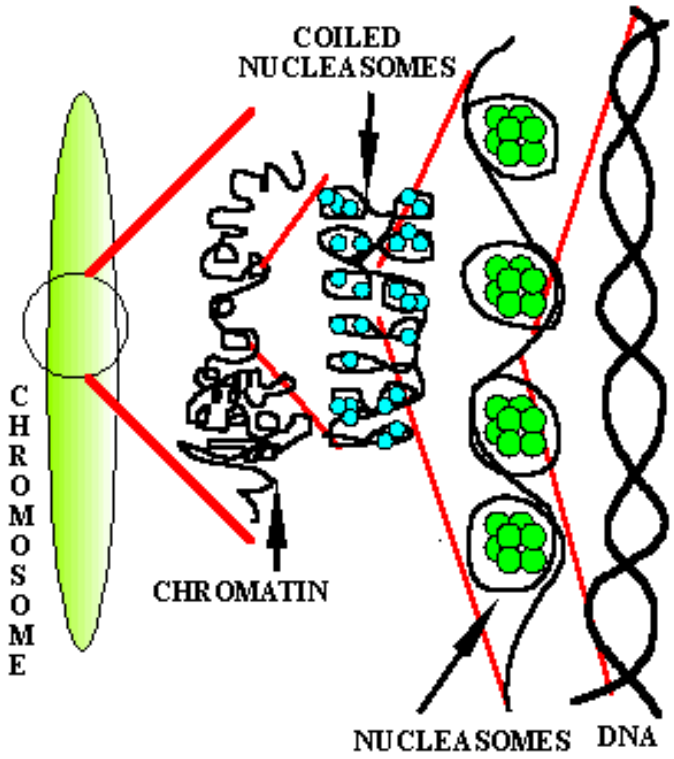
Двойная спираль ДНК

- Модель Уотсона-Крика
  - Используя рентгеновские снимки структуры ДНК
- В соответствии с этой моделью ДНК:
  - Спираль из 2 комплементарных анти-параллельных цепей
  - Правозакрученная
  - Стабилизованная водородными связями
  - Основания находятся внутри спирали
    - Пуриновые основания образуют водородные связи с пиримидиновыми.

ДНК: основа жизни

- Имеет примерно 3 млрд bp у человека
  - Как это можно упаковать в клетку?
  - Как клетка знает где начинается один ген и где начать транскрипцию?
    - Специальные регуляторные последовательности
- Различные типы ДНК у эукариот
    - Уникальные последовательности
    - Повторяющиеся последовательности – junk DNA

  http://www.psrast.org/junkdna.htm



Состав генома человека

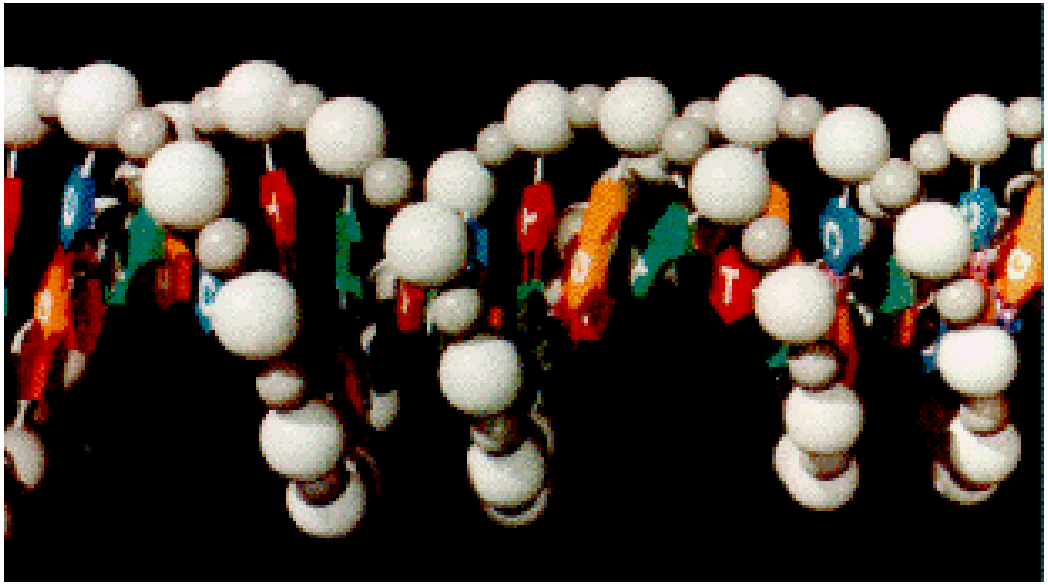
TABLE 10-1 Major Classes of Eukaryotic DNA and Their Representation in the Human Genome

Class	Length	Copy Number in Human Genome	Fraction of Human Genome, %
Protein-coding genes			
Solitary genes	Variable	1	≈15* (0.8)†
Duplicated or diverged genes in gene families	Variable	2–≈1000	≈15* (0.8)†
Tandemly repeated genes encoding rRNAs, tRNAs, snRNAs, and histones	Variable	20–300	0.3
Repetitious DNA			
Simple-sequence DNA	1–500 bp	Variable	3
Interspersed repeats			
DNA transposons	2–3 kb	300,000	3
LTR retrotransposons	6–11 kb	440,000	8
Non-LTR retrotransposons			
LINEs	6–8 kb	860,000	21
SINEs	100–300 bp	1,600,000	13
Processed pseudogenes	Variable	1–≈100	≈0.4
Unclassified spacer DNA	Variable	n.a.‡	≈25

*Complete transcription units, including introns.
†Protein-coding exons. The total number of human protein-coding genes is estimated to be 30,000–35,000, but this number is based on current methods for identifying genes in the human genome sequence and may be an underestimate.
‡Not applicable.

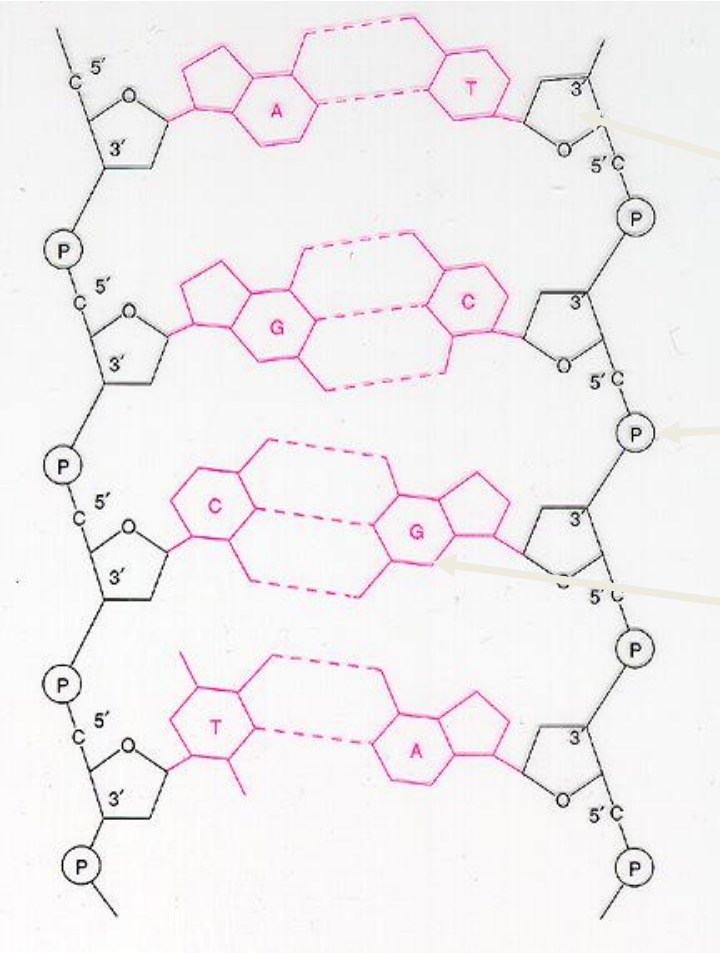
SOURCE: E. S. Lander et al., 2001, *Nature* **409**:860.

ДНК



http://www.lbl.gov/Education/HGP-images/dna-medium.gif

ДНК



Деоксирибоза

Фосфат

Азотистое основание (A,T, C or G)

http://www.bio.miami.edu/dana/104/DNA2.jpg

ДНК

- Структура двойной спирали является асимметричной. 5’ and 3’определяют направление.

5’ AATCGCAAT 3’

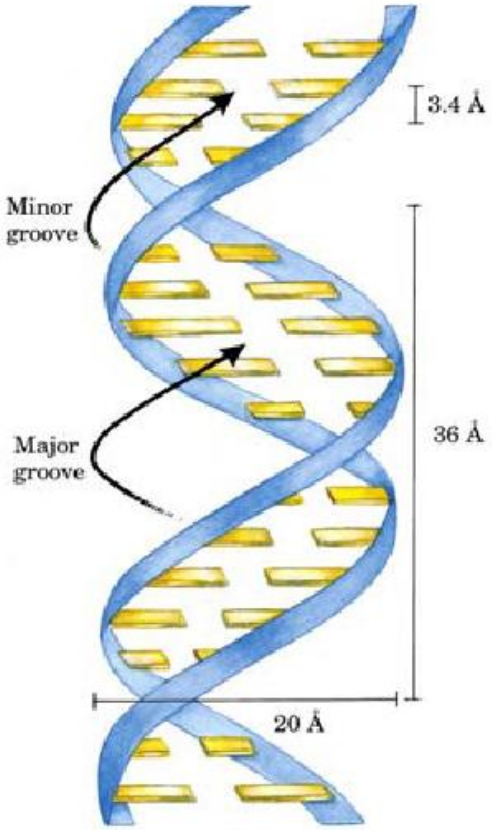
3’ TTAGCGTTA 5’

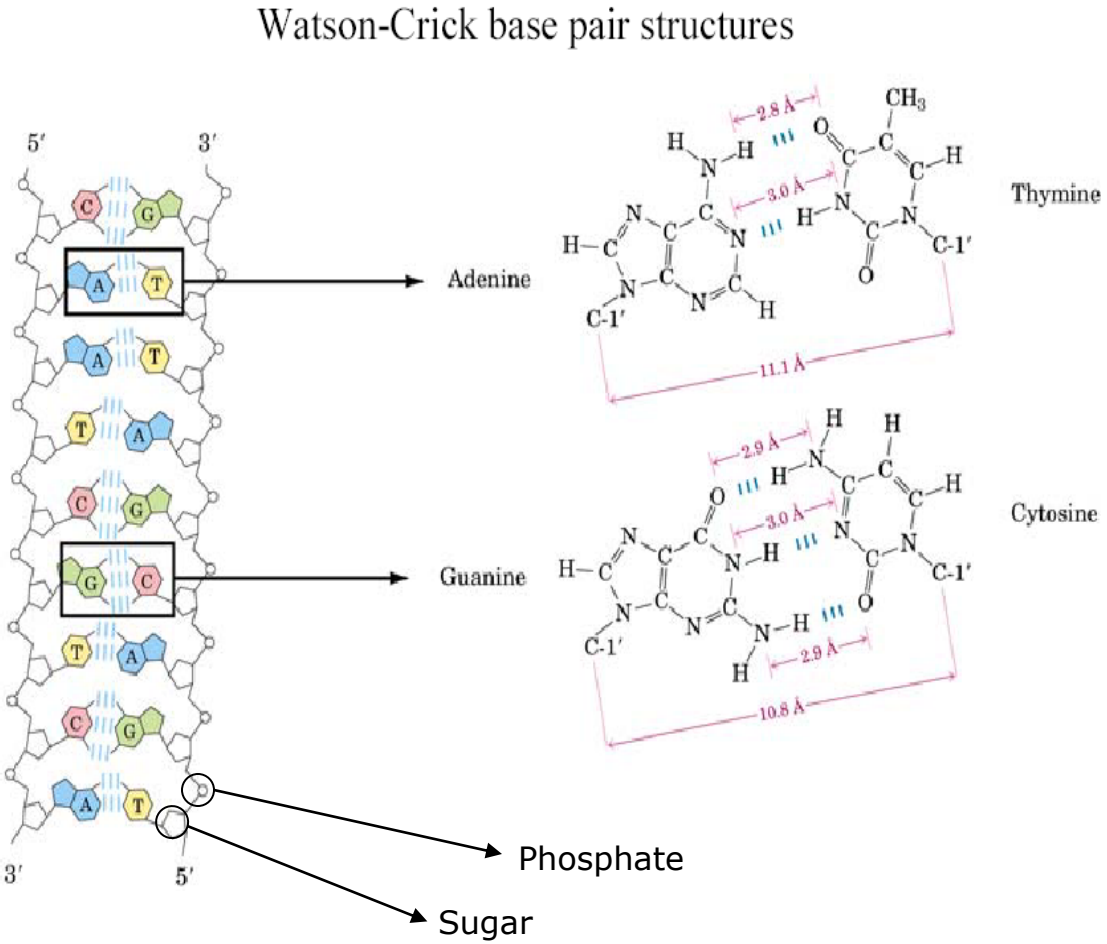
Направление транскрипции и репликации – 5’-3’

Компоненты ДНК

- **Азотистое основание :**
  ATCG
- **Сахар:**
  деоксирибоза
- **Фосфат:**
  отрицательно заряженный

Структура ДНК





Последствия структуры ДНК

- **ДНК заряжена отрицательно:**

  электрофорез

- **Водородные связи между основаниями:**

Репликация, транскрипция, трансляция

гибридизация

блоты

Микрочипы

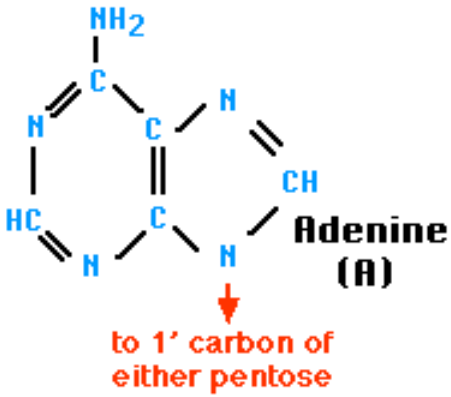
Ц-Г связи 6олее прочные чем А-Т

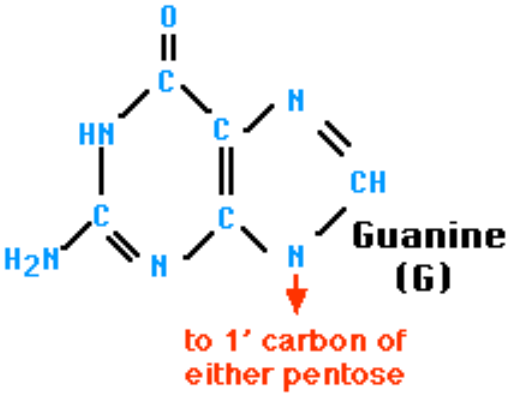
- **Взаимодействия с белками :** регуляция транскрипции

- **Полимеризация ДНК**

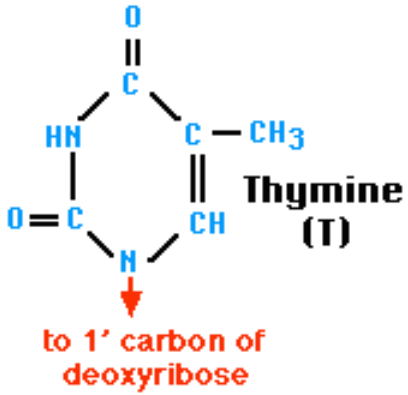
  5’ - 3’ – между 5’ фосфатом и 3’ ОН

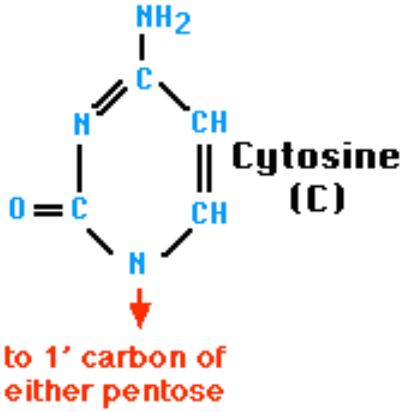
Пурины





Пиримидины

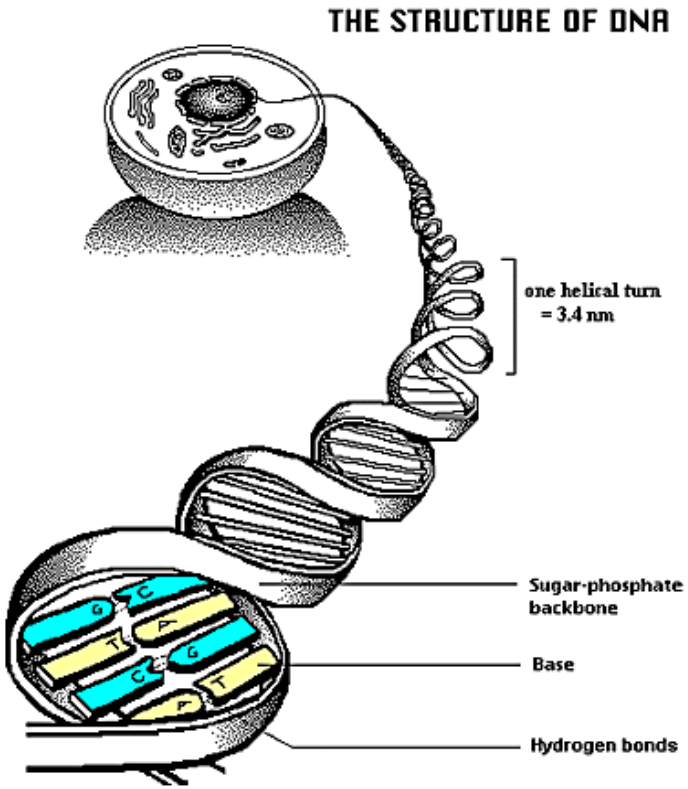




Двойная спираль ДНК

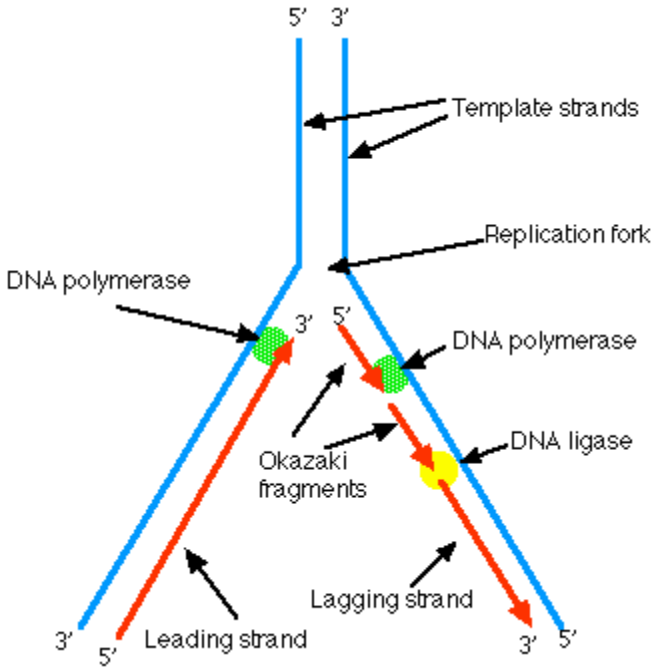
- А=Т, Ц=Г - внутри
- А и Т – 2 водородных связи
- Ц и Г - 3 водородных связи
- Пары оснований
- Деоксирибоза и фосфат - снаружи

Двойная спираль ДНК



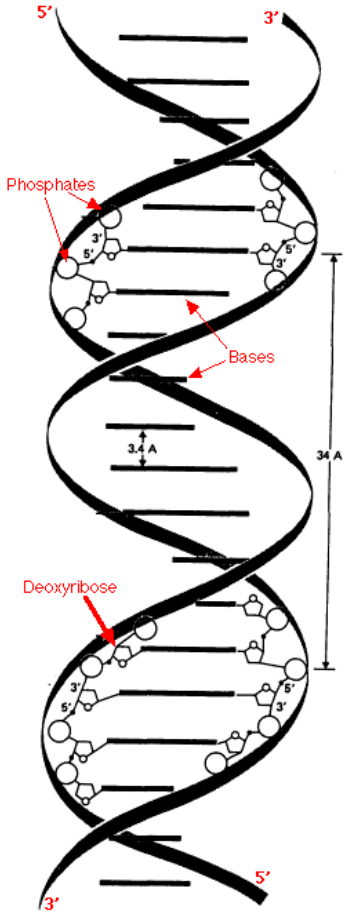
Репликация ДНК

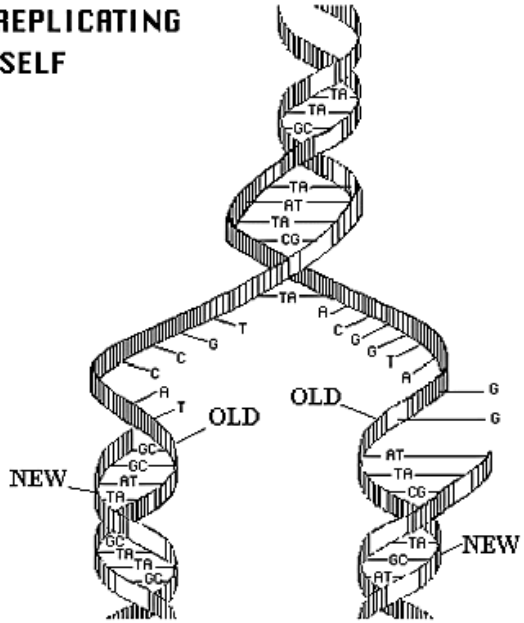
- Происходит путем разрыва и восстановления двойной спирали
- Репликация 2х цепей отличается по механизму



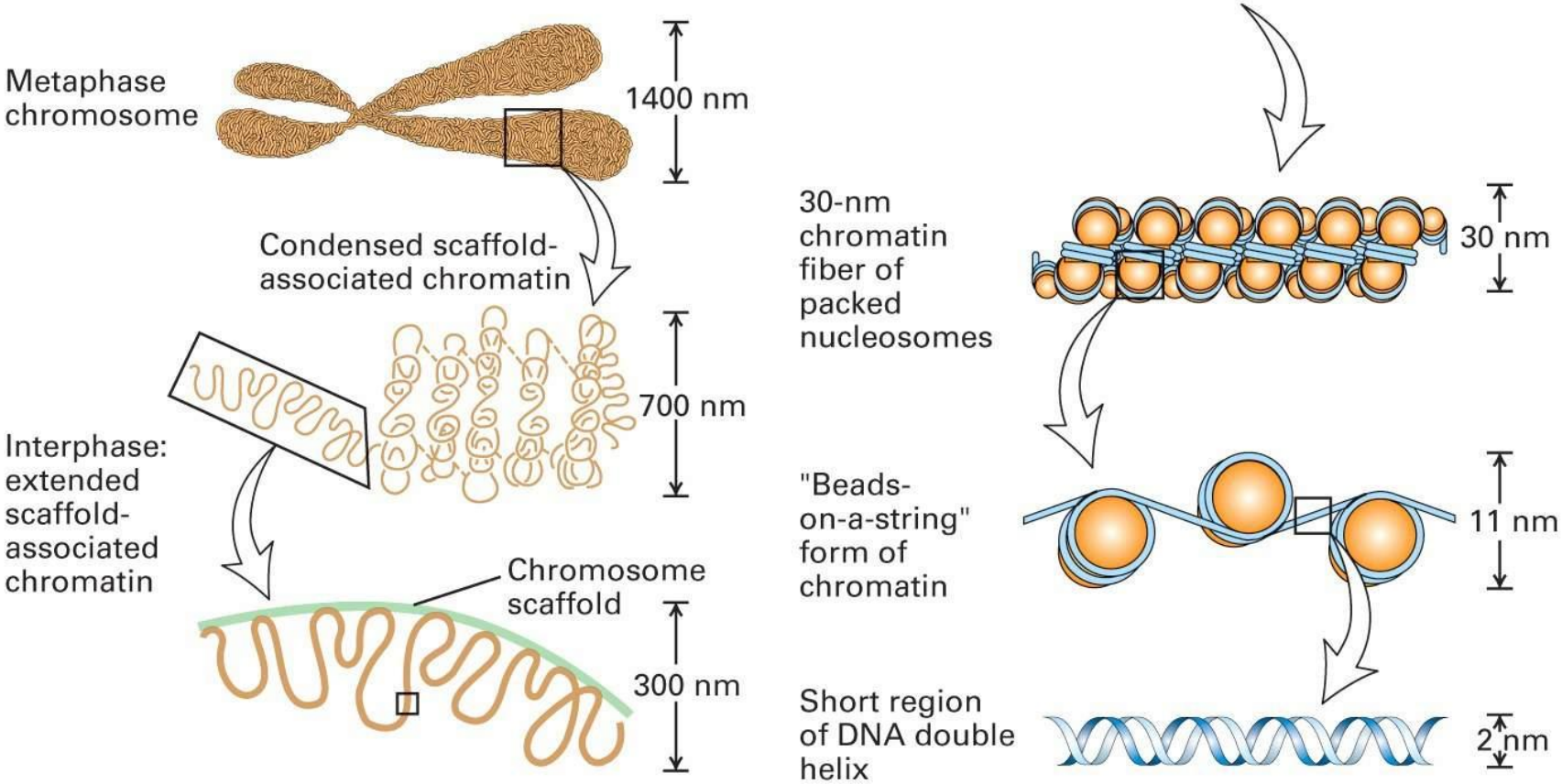
http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/D/DNAReplication.html

Репликация ДНК





Суперскрученность ДНК



Lodish et al. *Molecular Biology of the Cell* (5th ed.). W.H. Freeman & Co., 2003.

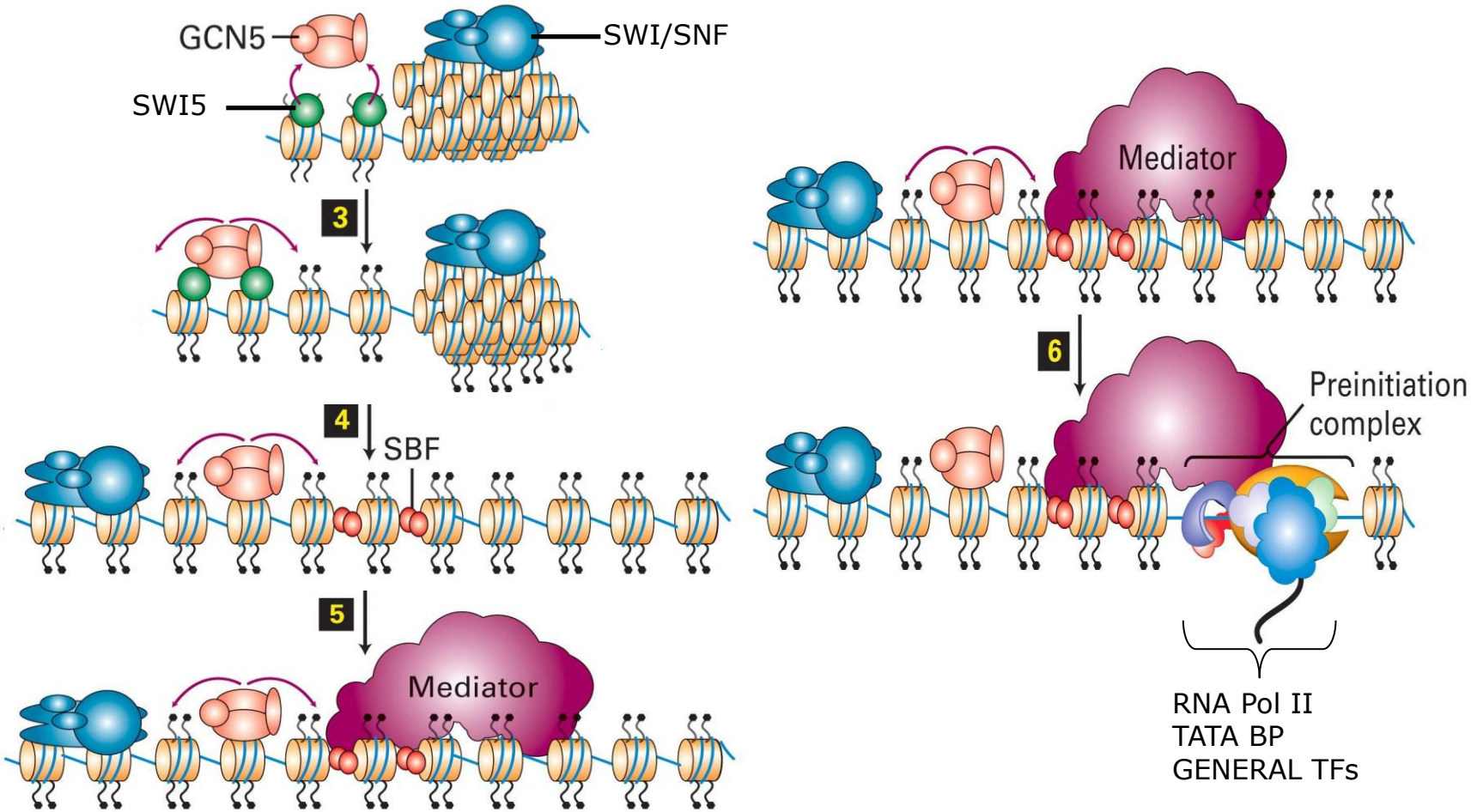
Суперскрученность ДНК

- ДНК в клетке находится в суперскрученном состоянии

- Транскипцирнные факторы и РНК полимеразы должны иметь **доступ** к ДНК

- Транскрипция зависит т.о. от степени доступности ДНК

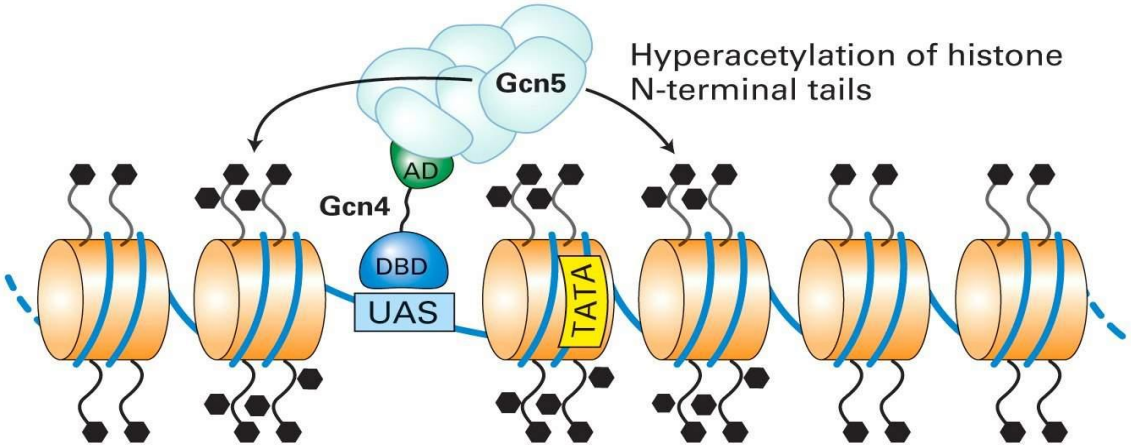
Регуляция транскрипции



Lodish et al. *Molecular Biology of the Cell* (5th ed.). W.H. Freeman & Co., 2003.

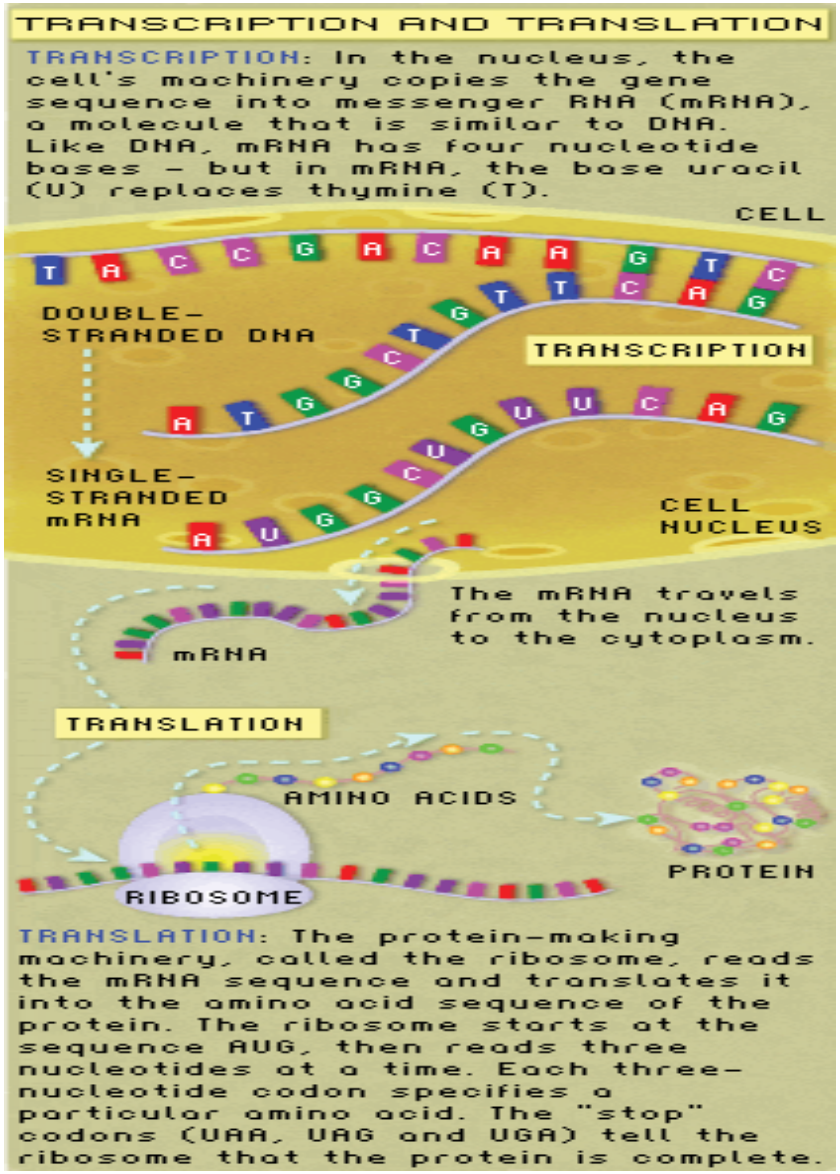
Гистоновый код

- Модификация гистонов определяет доступ к ДНК
- Метилирование ДНК тоже



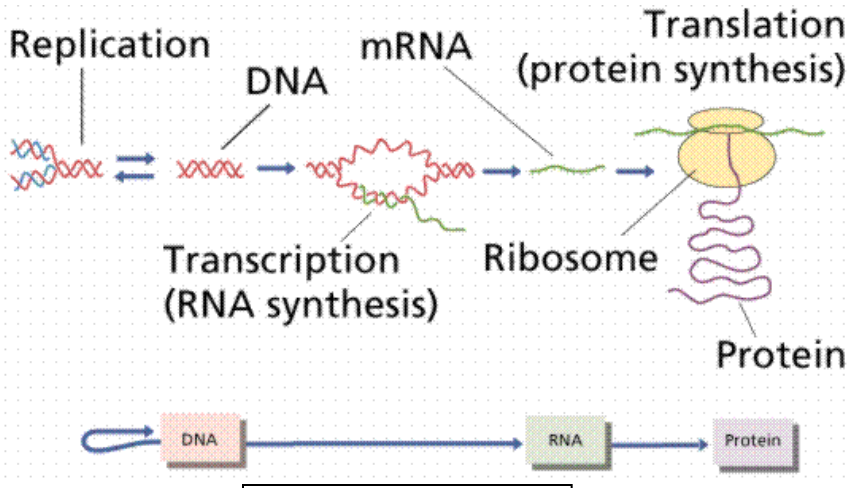
Lodish et al. *Molecular Biology of the Cell* (5th ed.). W.H. Freeman & Co., 2003.

- **Центральная догма** (ДНК→РНК→белок)
- **Транскрипция** ДНК→РНК
- **Трансляция** РНК→белок



Центральная догма

Assembly



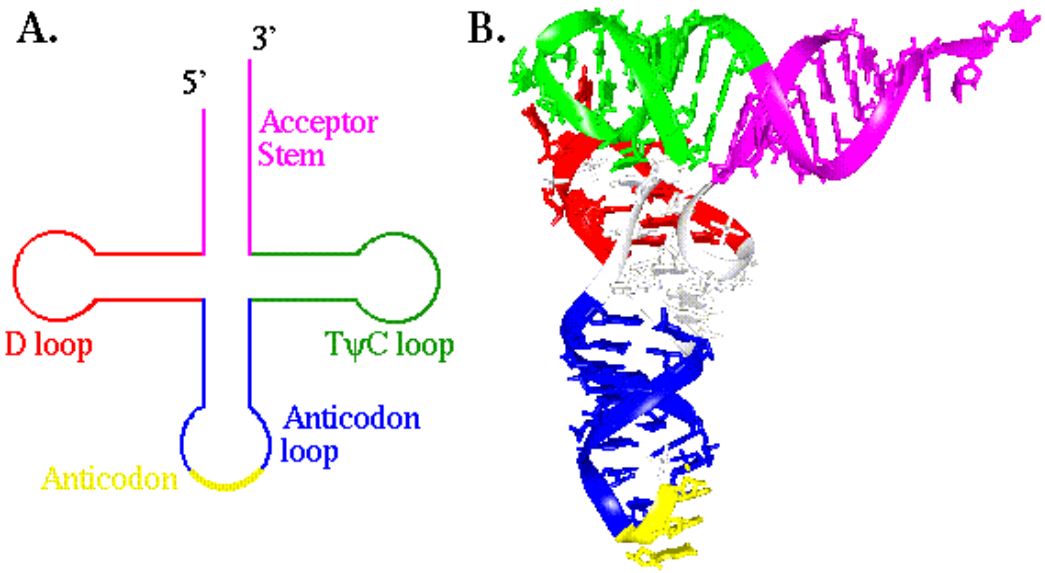
Sequence analysis

Gene Finding

Protein
Sequence
Analysis

РНК

- РНК содержит рибозу. Состоит из 1 цепи. Т заменена на У – урацил.
- Вторичные структуры в РНК.



tRNA linear and 3D view: http://www.cgl.ucsf.edu/home/glasfeld/tutorial/trna/trna.gif

РНК

- мРНК – матричная
- tRNA- транспортная
- rRNA –рибосомная

http://highered.mcgraw-hill.com/sites/0072507470/student_view0/chapter3/

Рибозимы

- Многие рибозимы естественного происхождения катализируют расщепление самих себя или других молекул РНК, кроме того образование пептидной связи в белках происходит при помощи рРНК рибосомы

Интерференция РНК

Процесс подавления экспрессии гена на стадии транскрипции, трансляции, деаденилирования или деградации мРНК при помощи малых молекул РНК.

Одноцепочечный фрагмент РНК соединяется с комплементарной последовательностью молекулы мРНК и вызывает разрезание мРНК белком Argonaute либо ингибирование трансляции и/или деаденилирование мРНК. Эти события приводят к подавлению экспрессии (сайленсингу) соответствующего гена, эффективность которого ограничена концентрациями молекул малых РНК — siRNA и микроРНК

В начале было... РНК

- РНКовый мир
- РНКовые вирусы

Задание

- Читаем генетический код

Подготовка к экзамену

- Вопросы