

ПЕРЕДАЧА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ



Строение ДНК (РНК).

- **ДНК** - полимер.
- **Мономеры** - нуклеотиды.
- **Нуклеотид** - химическое соединение остатков трех веществ:

Строение нуклеотида

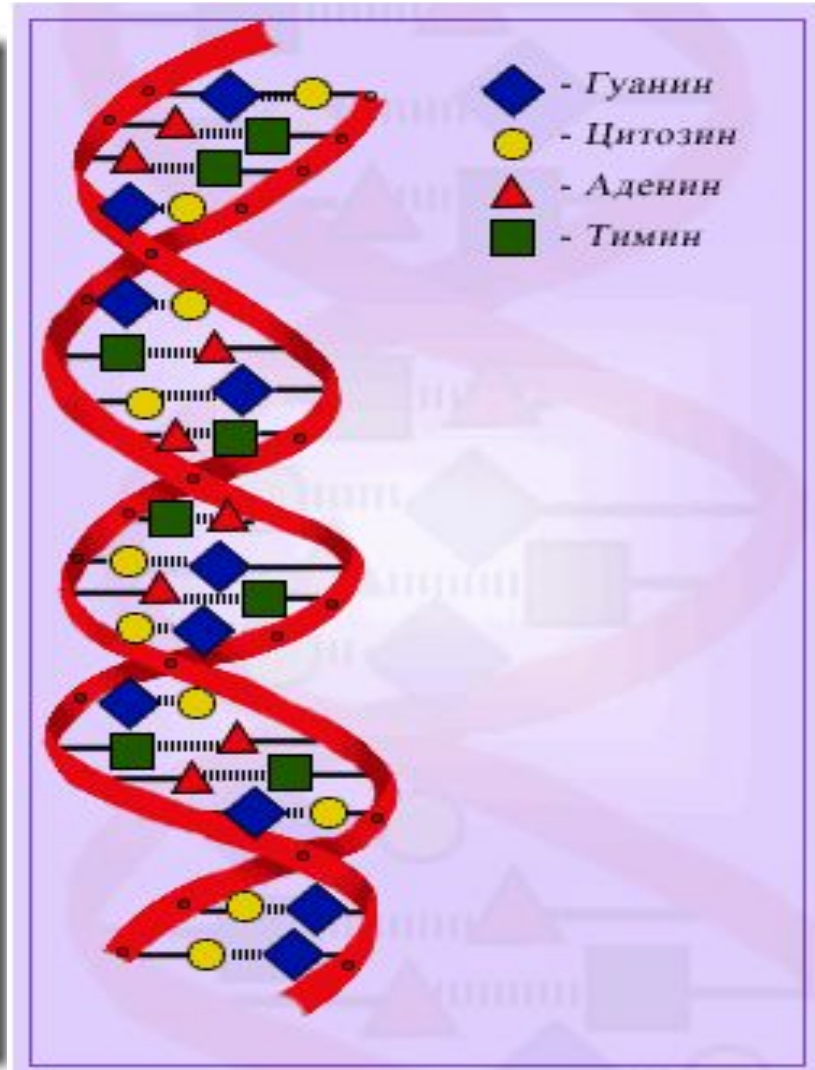
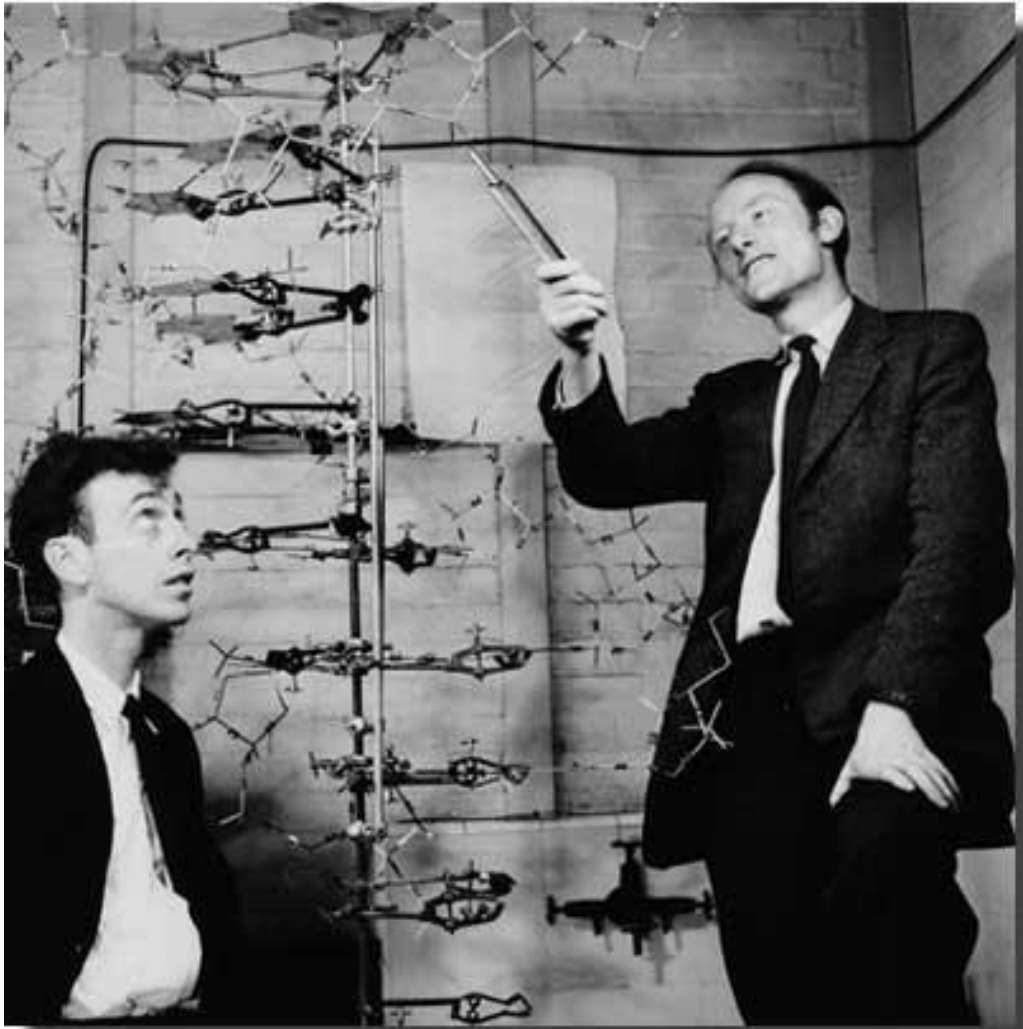
Азотистые основания:

- Аденин;
- Гуанин;
- Цитозин
- Тимин
(Урацил)

Углевод:
- Дезоксирибоза
(Рибоза)

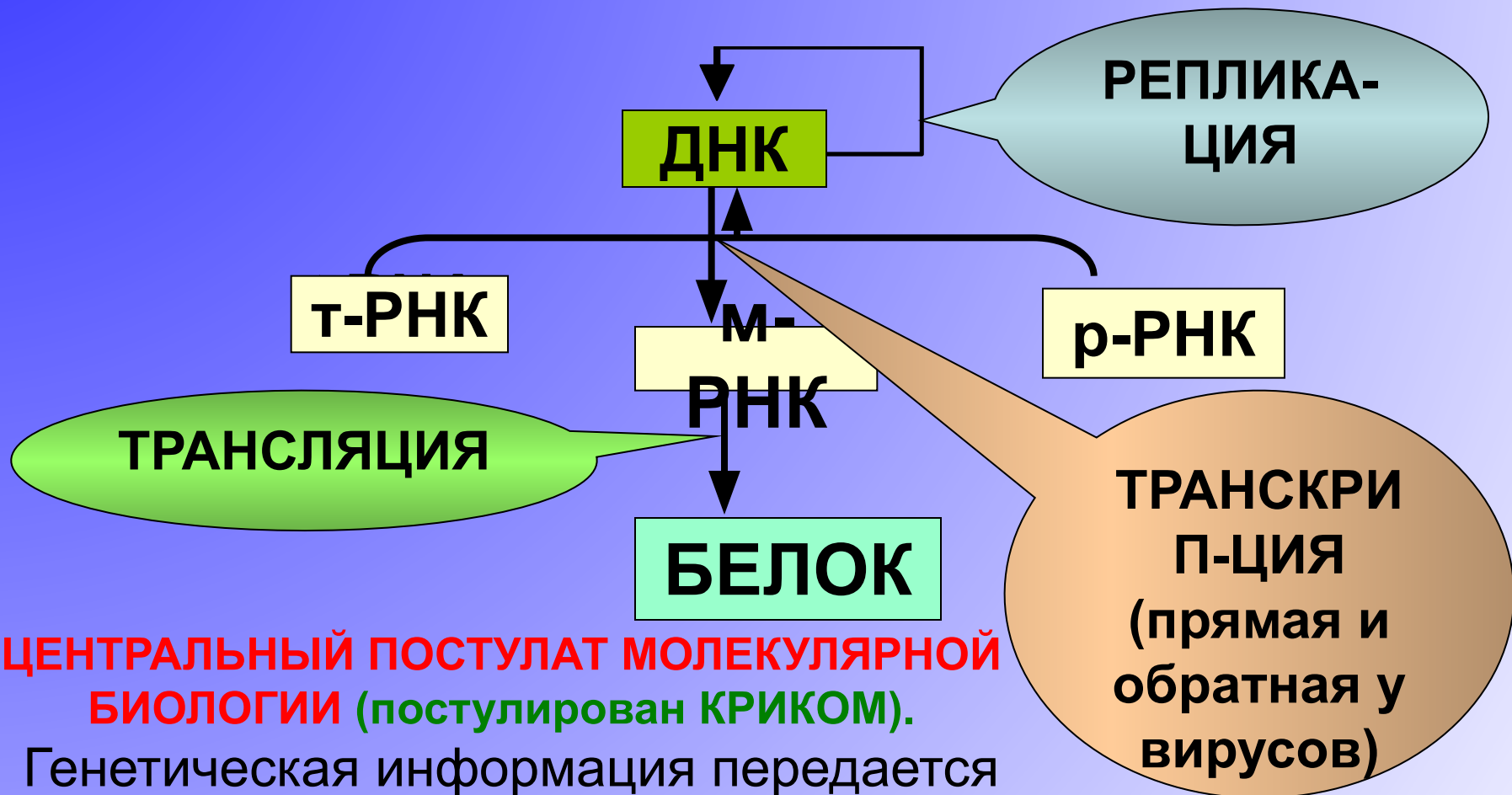
Остаток фосфорной кислоты (ФК)

1953 г. американские биохимики **Дж. Уотсон** и **Ф. Крик** установили структуру ДНК



Модель строения ДНК

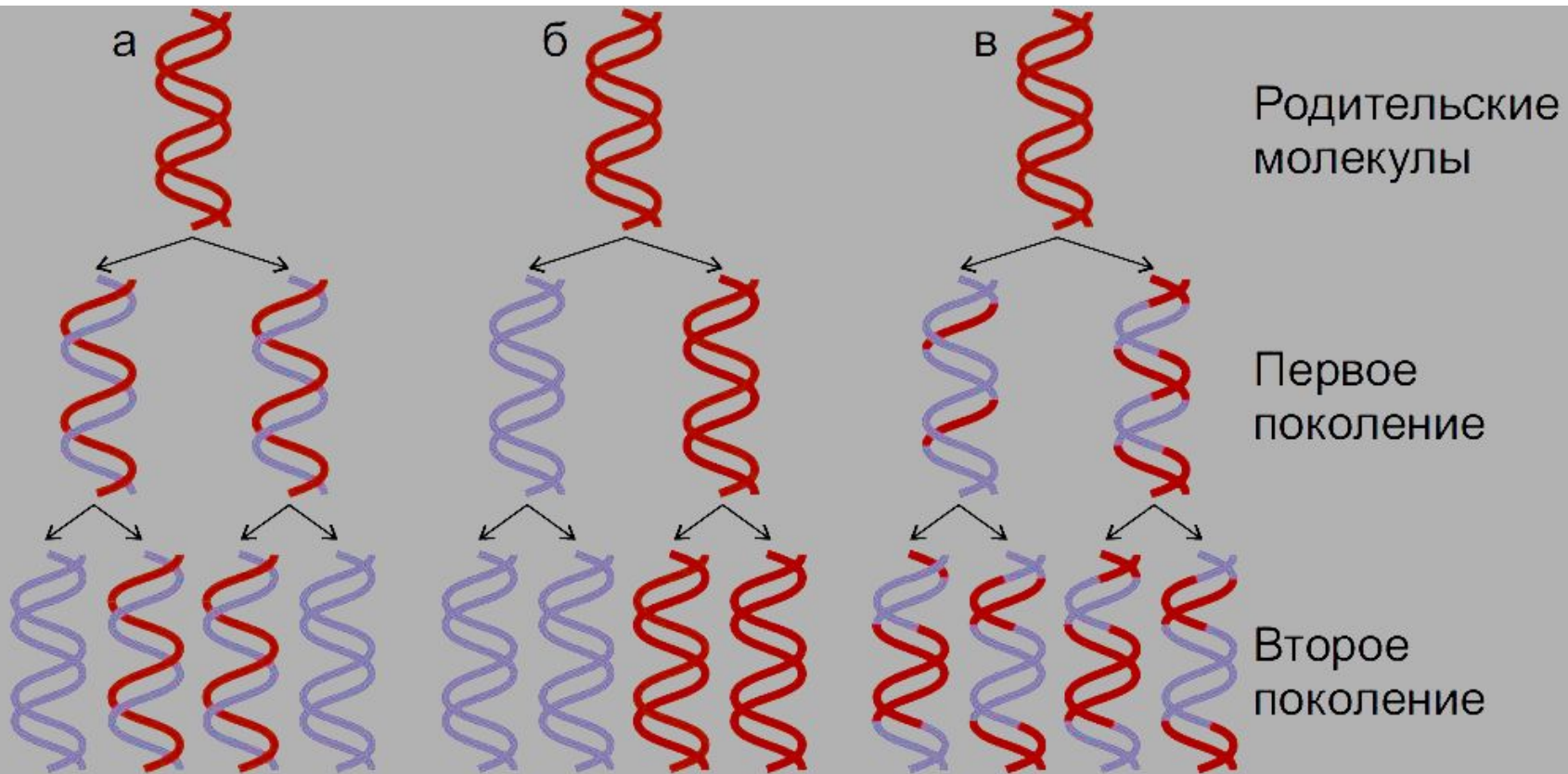
- Передача генетической информации:



ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ПОСТУЛАТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ (постулирован КРИКОМ).

- Генетическая информация передается от **ДНК** через **РНК** на **белок**.
- Не возможен перенос информации от **белка** к **РНК**

МОДЕЛИ РЕПЛИКАЦИИ ДНК



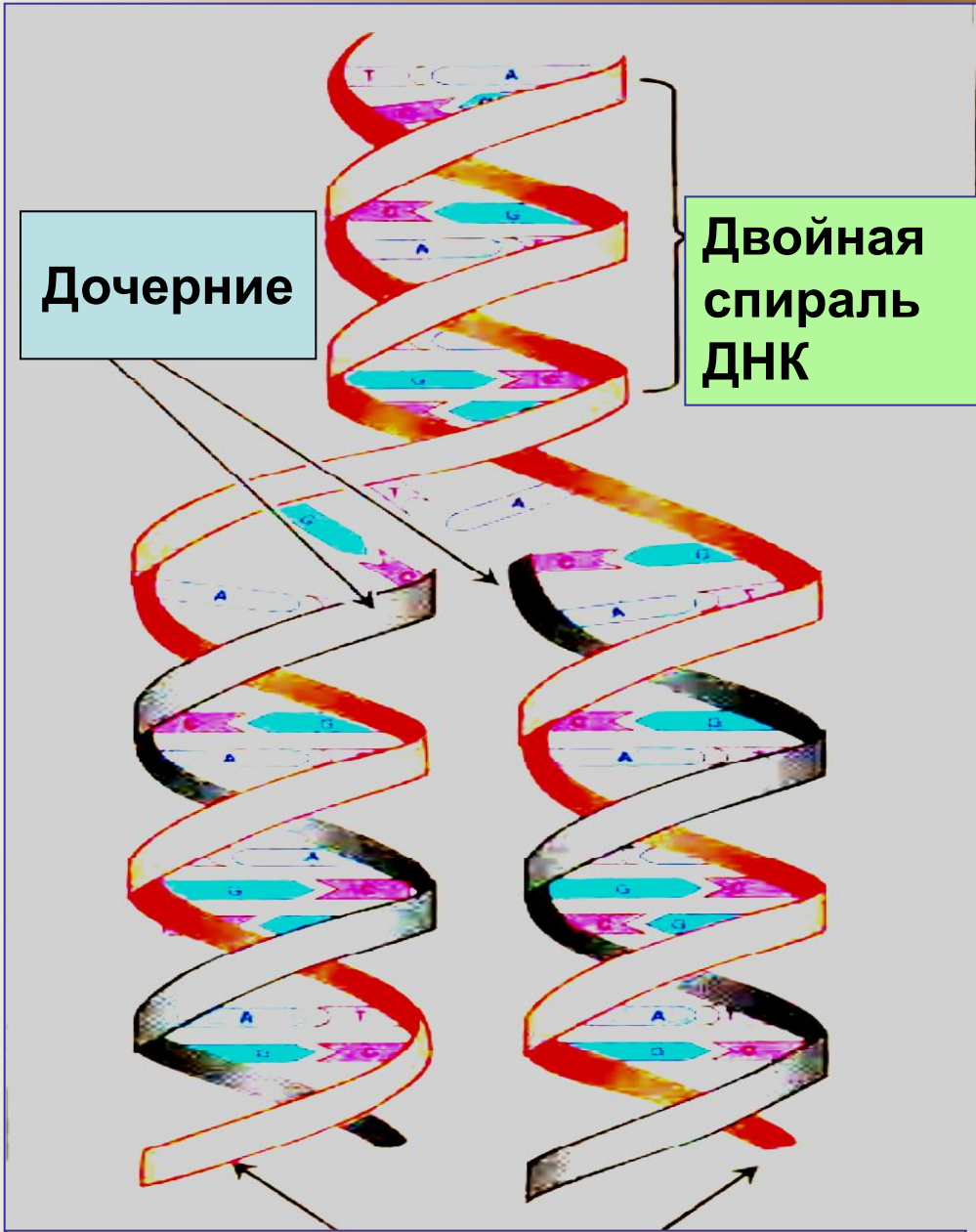
Модели репликации ДНК:

а - полуконсервативная,

б - консервативная,

в - дисперсионная.

Родительские цепи изображены в виде красных лент, вновь синтезированные показаны синим цветом. (Из: Russell, 1998, p.345).



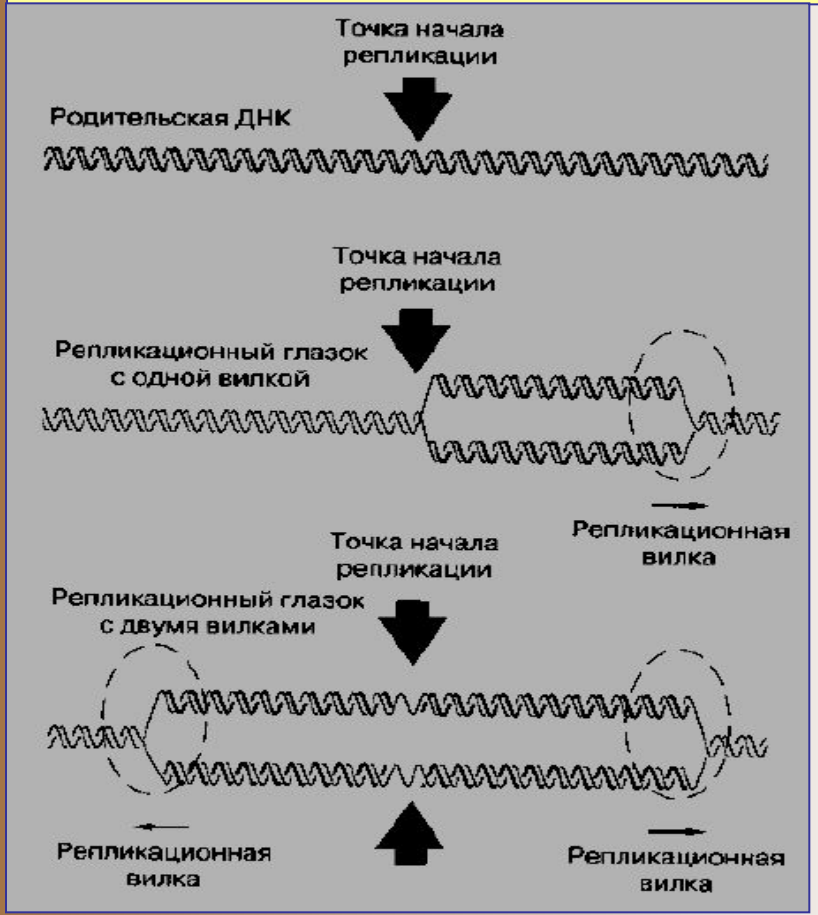
Дочерние

Двойная спираль ДНК

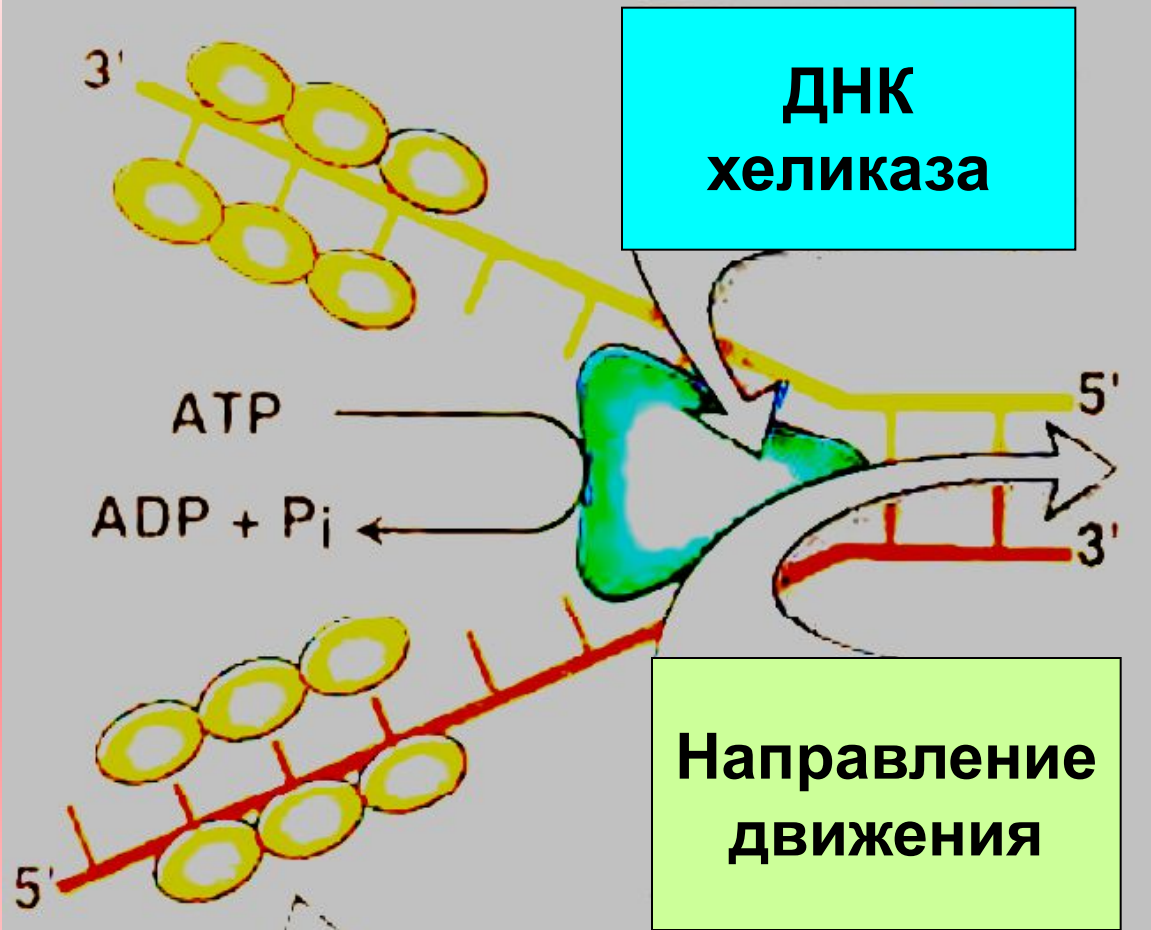
Каждая дочерняя нить синтезируется на расплетенной материнской цепи

Полуконсервативная репликация ДНК.

М. Мезельсон и Ф. Сталь 1958 г.



Образование репликативной вилки.



Расплетающие белки (ДНК хеликаза)

разрывают

H-связи в
двойной
спирали ДНК.

SSB-белки поддерживают участки ДНК в раскрученном состоянии

Правило

комплементарности:

- А комплементарен Т (или У в РНК), а Г - Ц (Н-связи).

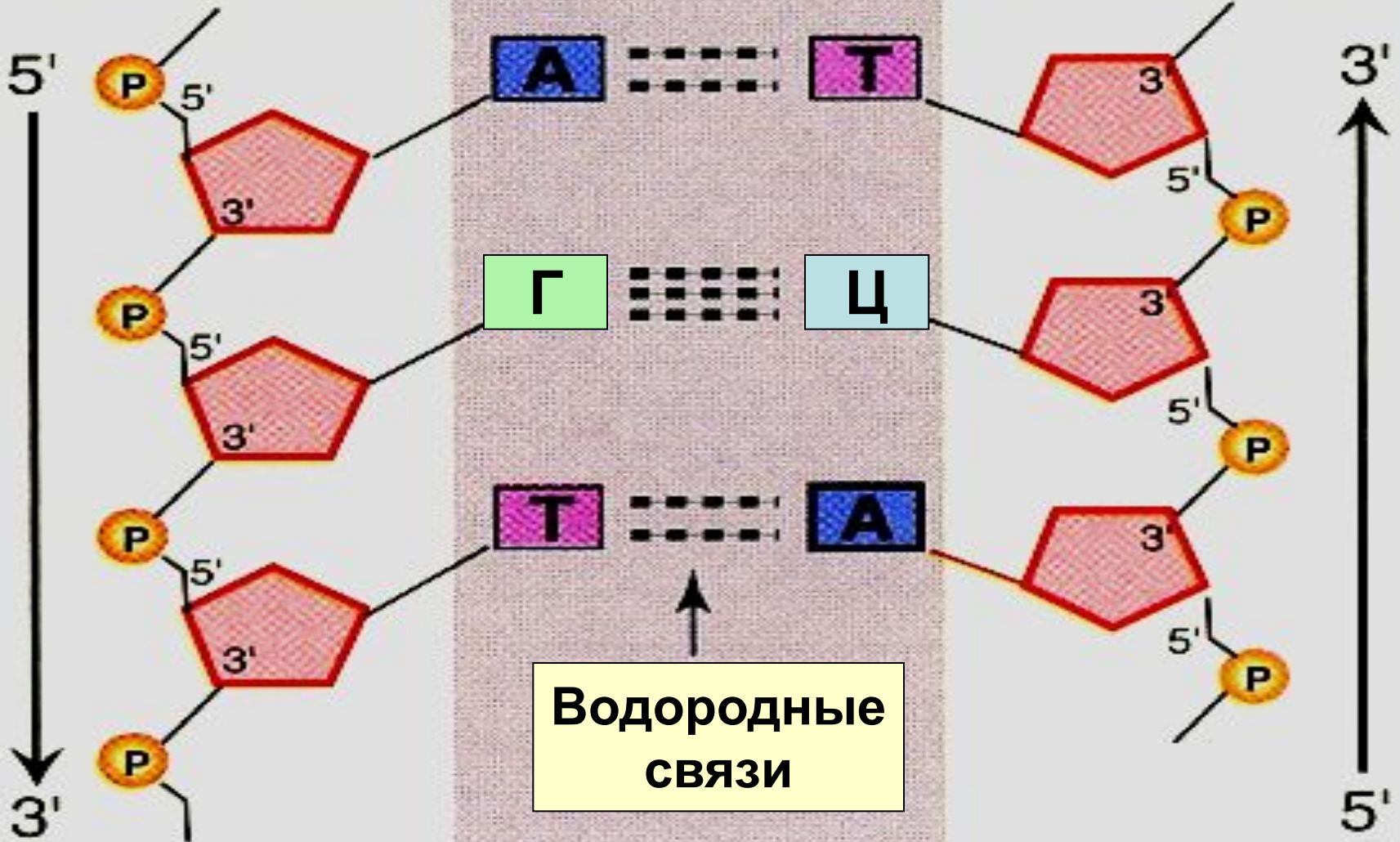
• А – Т (У)

• Г – Ц

Цепь ДНК

Комплементарные
основания

Цепь ДНК



ДНК полимеразы (α , β , δ , ϵ)

2 вида активности



ПОЛИМЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ

Образование 5' → 3'
фосфоди-
эфирных
связей
между дезоксирибо-
нуклеотидами.



НУКЛЕАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ

гидролиз
фосфодиэфирных
связей

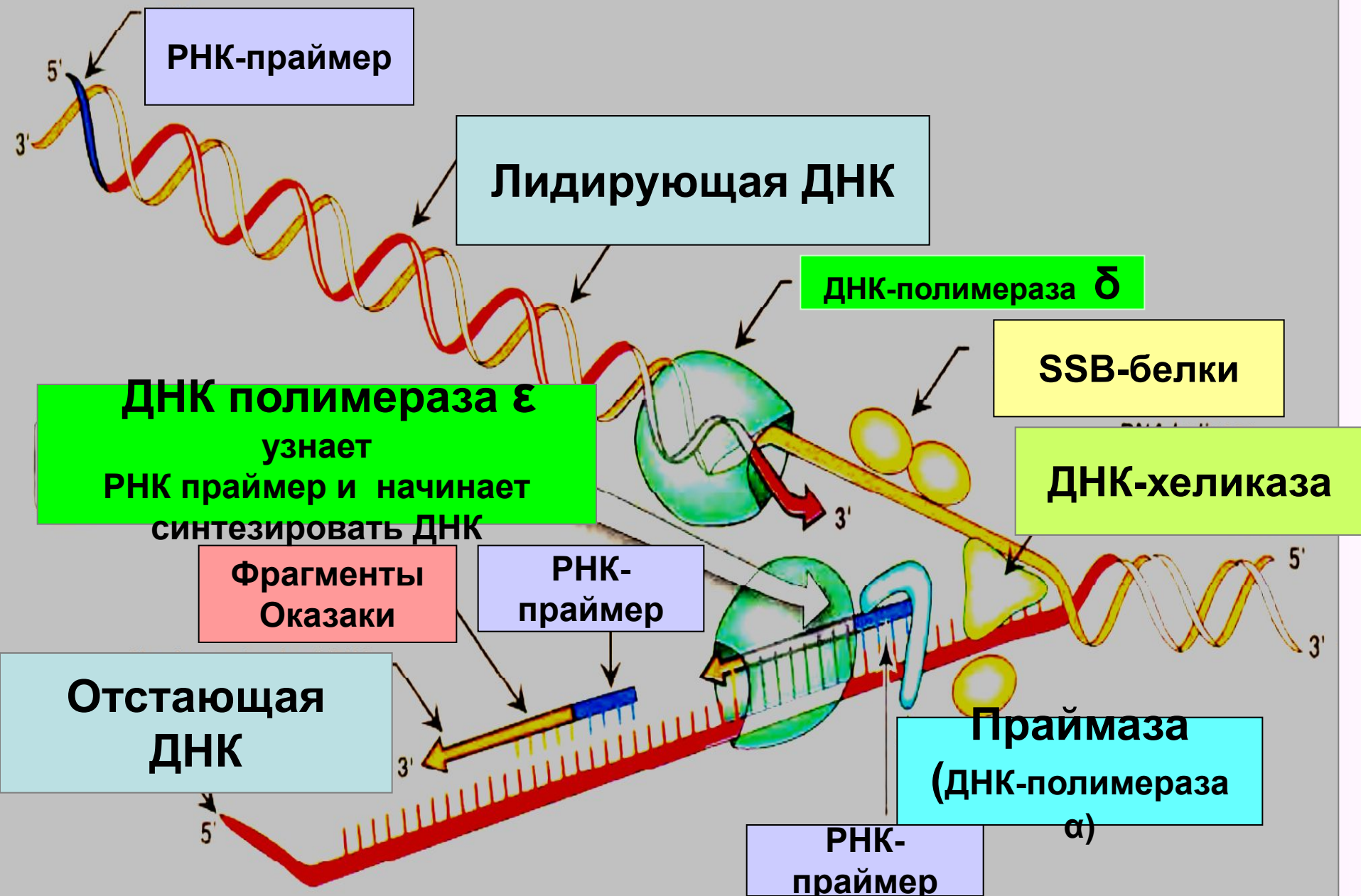
(ДНК-полимераза β
удаляет РНК-праймер
(действует как РНКаза)).

• ДНК-полимеразы δ (и ϵ)
могут исправлять ошибки
синтеза.

Направления синтеза и движения дочерних цепей.

- $5' \rightarrow 3'$ (5' - ФФФ, 3' - ОН).
- Направление синтеза совпадает с направлением движения репликативной вилки только для одной (лидирующей) цепи.
- Для другой (отстающей) – против движения репликативной вилки.

ЭЛОНГАЦИЯ РЕПЛИКАЦИИ.



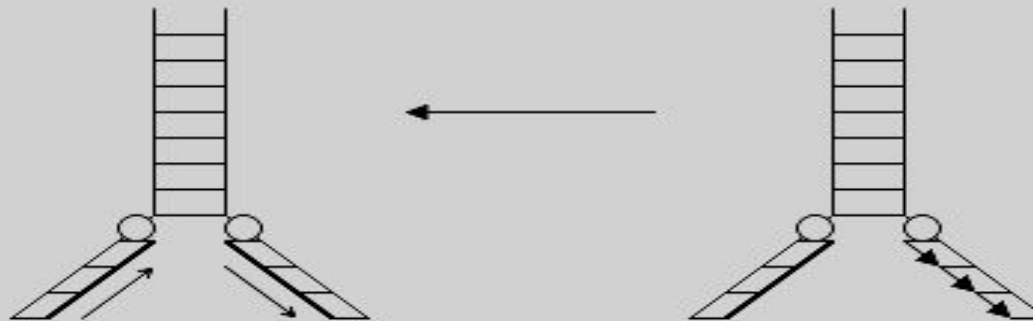
Стадии репликации



Образование репликативной вилки и РНК-праймера (ДНК-хеликаза, Праймаза (ДНК полимеразы α))

Образование гибридной формы ДНК-РНК и фрагментов Оказаки ДНК-полимеразы δ и ϵ

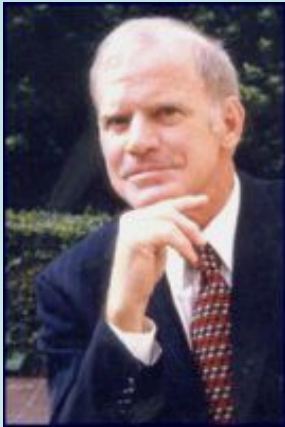
Гидролиз РНК-праймера помощью ДНК-полимеразы β (рибонуклеазы)



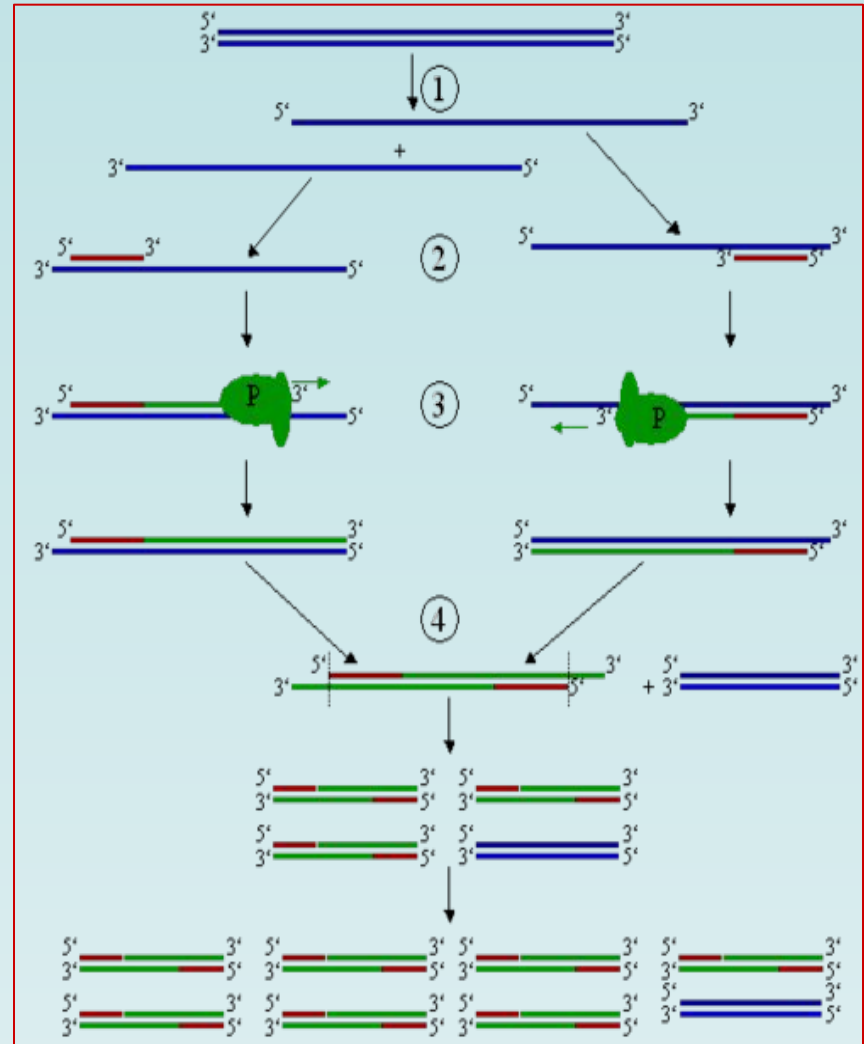
Сшивание фрагментов Оказаки (ДНК-лигаза)

Образование ДНК вместо РНК-праймера (ДНК полимеразы β)

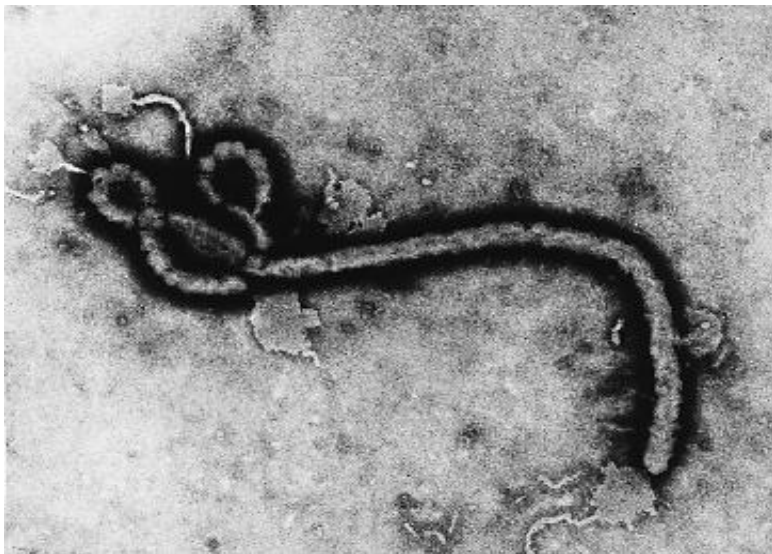
Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - диагностика заболеваний (наследственных, инфекционных), малых количеств ДНК, установление отцовства (Кари Муллис 1983)



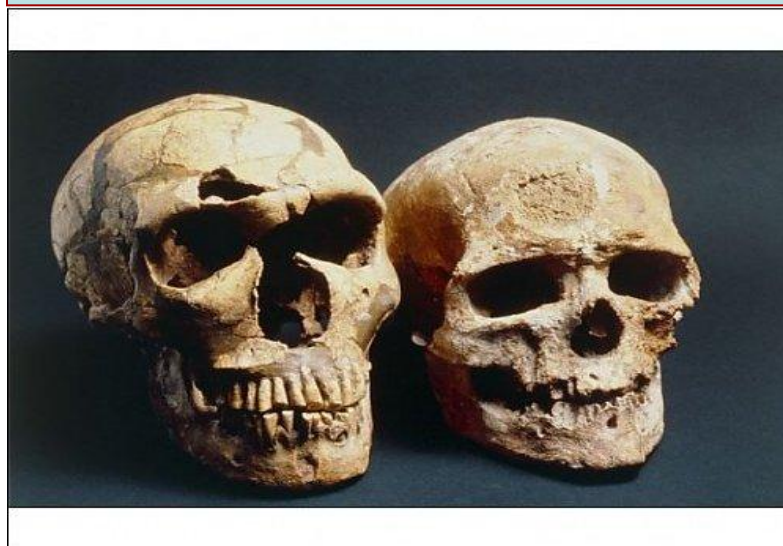
In vitro (в амплификаторе) происходит копирование только того участка, который удовлетворяет заданным условиям, и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце.



ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНОДИАГНОСТИКИ (ПЦР)



- ПЦР-диагностика инфекционных заболеваний
- Идентификация личности
- Судебно-медицинская экспертиза



ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНОДИАГНОСТИКИ



ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ

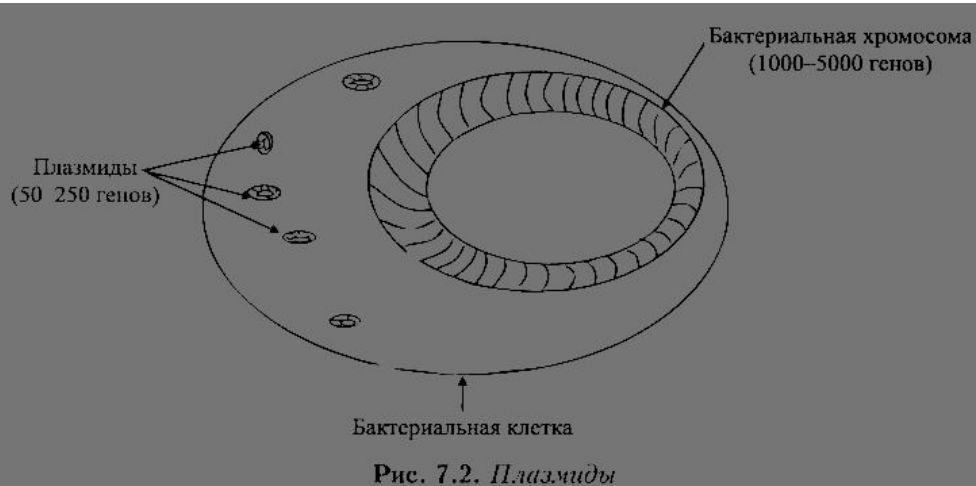
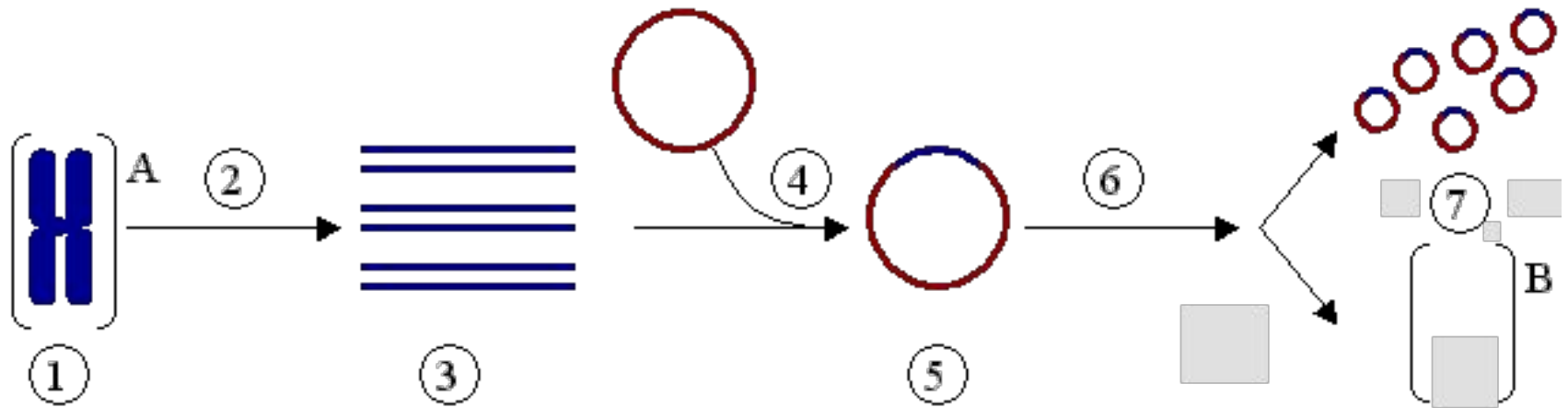
- Антигенные характеристики для переливания совместимой донорской крови
- Подбор доноров для пересадки органов

ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНОДИАГНОСТИКИ



- Установление родственных связей
- Разработка генетических препаратов

ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ.



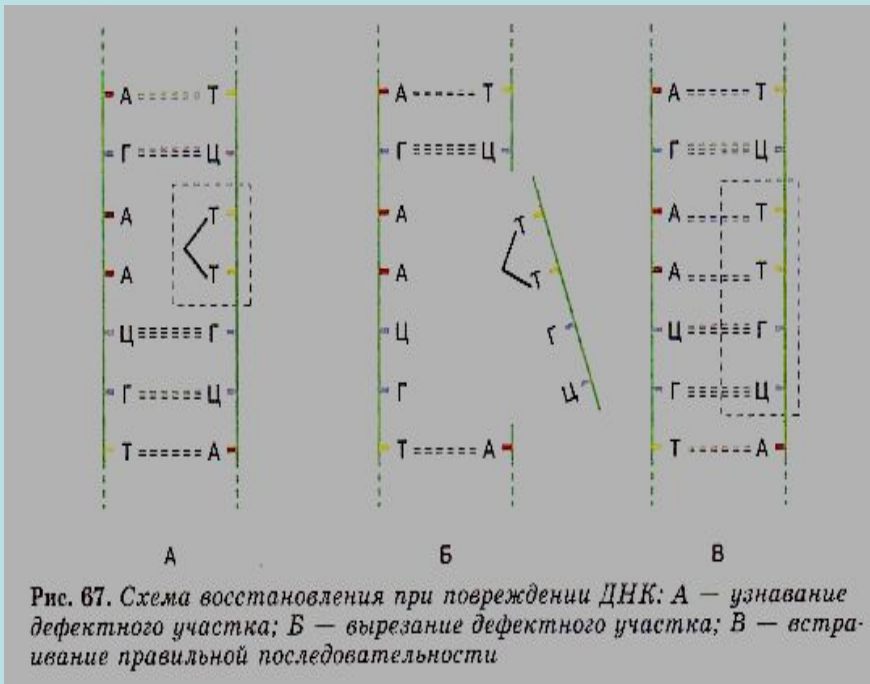
**ПЛАЗМИДЫ.
ПОЛУЧЕНИЕ
РЕКОМБИНАНТ-
НОГО ИНСУЛИНА.**

ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНОДИАГНОСТИКИ



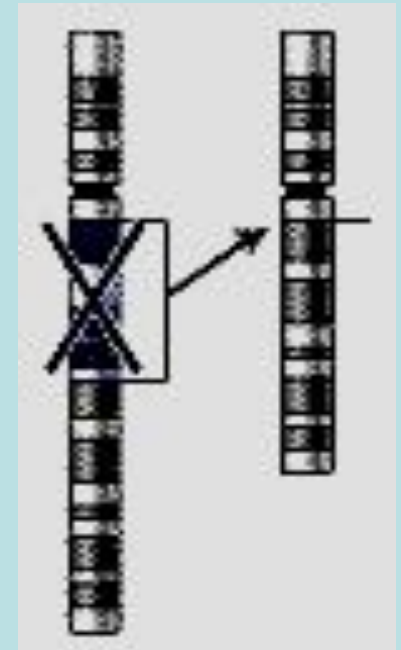
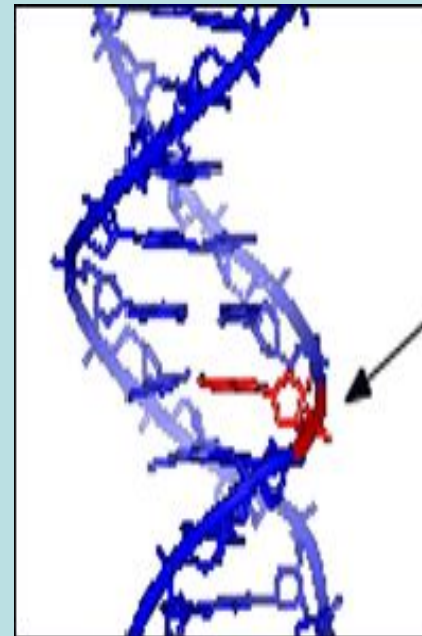
- Диагностика заболеваний человека
- Пренатальная диагностика

МУТАЦИИ



ГЕННЫЕ МУТАЦИИ

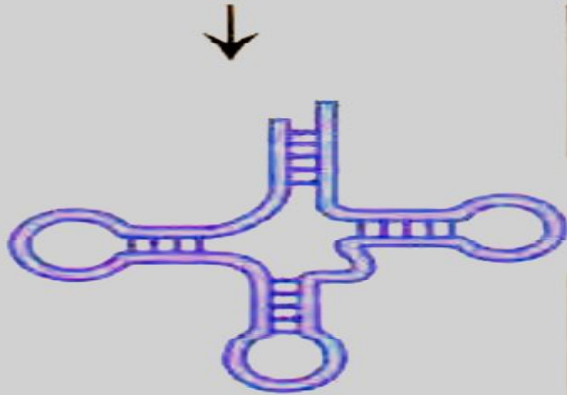
- **Мутации по типу ЗАМЕНЫ**
Более опасны и многочисленны
- **Мутации по типу ВСТАВКИ**
- **ДЕЛЕЦИЯ (утрата)**
(от лат. deletio – уничтожение) – тип хромосомной перестройки, при которой из ДНК выпадает участок генетического материала (радиация).



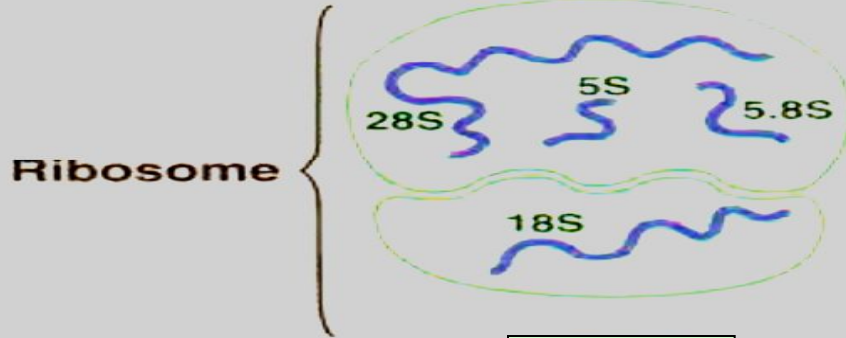
ДНК



ТРАНСКРИПЦИЯ



т-РНК



р-РНК

м-РНК
 $me^{-7}Gppp \sim \sim \sim pA pA pA$

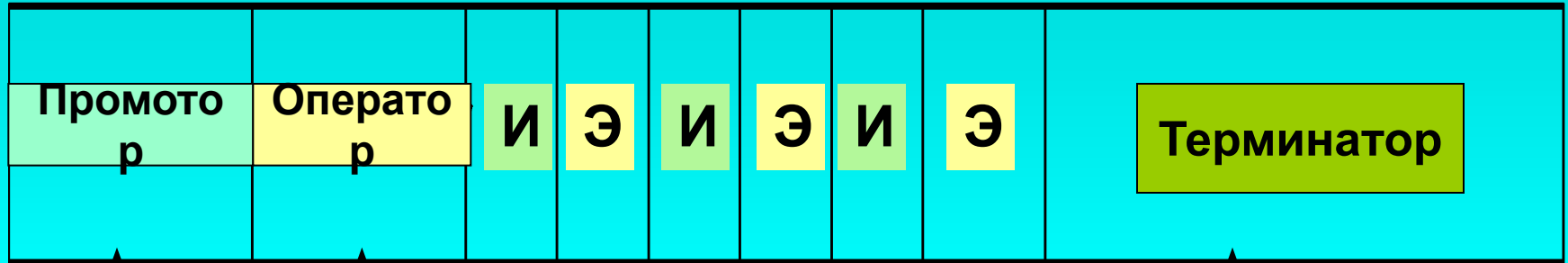
ТРАНС-КРИПЦИЯ – это передача информации между нуклеиновыми кислотами разных классов (от ДНК к РНК).

3 стадии:

- 1) Инициация
- 2) Элонгация
- 3) Терминация.

Структура транскриптона

ГЕНЫ



ИНИЦИАЦИЯ

Я
связывается
с
РНК-
полиме-
разой

Регуляция,
связывает
белки-
регуляторы.

САЙТЫ ТЕРМИНАЦИИ -
последовательность
нуклеотидов, сигнализирующих
об
окончании транскрипции

РНК-ПОЛИМЕРАЗА II

-Элонгация - $5' \rightarrow 3'$ (с фффА или с фффГ)

-Терминация (стоп-сигналы АААА , фактор терминации ρ -фактор)

Холофермент

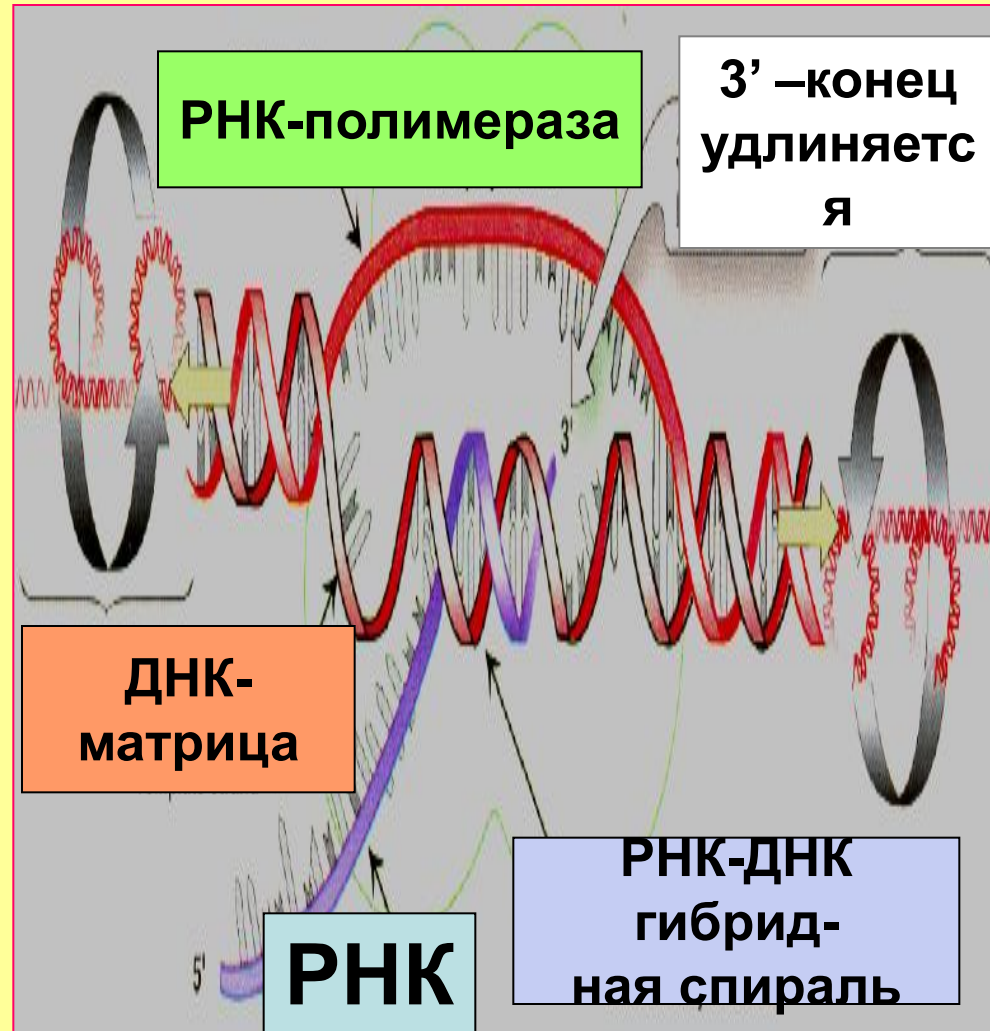
Фактор
инициаци
и



КОР-
ферме
нт

РНК-полимераза

3' –конец
удлиняетс
я



Процессинг (пре-мРНК--->мРНК) и транспорт из ядра

- Неинформативные участки (интроны) вырезаются (Рибонуклеазы).
- Информативные участки (экзоны) сшиваются (РНК лигазы (сплайсинг))
- Транспорт мРНК из ядра (белок – **ИНФОРМОФЕР**).
- Предотвращает возможную денатурацию мРНК и облегчает транспорт.

ТРАНСЛЯЦИЯ СВОЙСТВА ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОДА

- 1) ТРИПЛЕТНОСТЬ**
- 2) СПЕЦИФИЧНОСТЬ**
- 3) КОЛИНЕАРНОСТЬ**

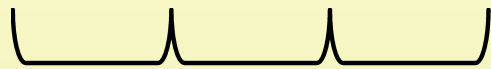
Свойства генетического кода.

4) УНИВЕРСАЛЬНОСТЬ

5) ВЫРОЖДЕННОСТЬ (20 АМК, но 64 триплета= 61+3 стоп-кодона)

6) НЕПЕРЕКРЫВАЕМОСТЬ

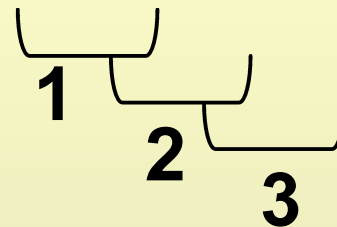
ССАУУУСГА



1 2 3

неперекрываемый

ССАУУСГА



1 2 3

перекрываемый

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 ($5' \rightarrow 3'$, с N \rightarrow C конец)
 - 3) Терминация (**стоп-кодоны УАА, УГА, УАГ**).

Элонгация

- **Связывание аминоацил-тРНК (в А- участке рибосомы) ;**
- **Транспептидация (образование пептидной связи);**
- **Транслокация (перенос рибосомы на 1 триплет).**



Механизм действия антибиотиков

Ингибиторы транскрипции.

- 1) Рифамицин, ингибирует РНК-полимеразу (в ядре).
- 2) Актиномицин D – связывается с ДНК матрицей и препятствует продвижению РНК-полимеразы .
- 3) Олигомицин
- 4) Дактиномицин.

Ингибиторы трансляции.

- 1) Тетрациклины – блокируют связывание аминоацил-тРНК к А-центру, связываются с 30S субъединицей (ингибируют элонгацию).
- 2) Стрептомицин связывается с 30S субъединицей и (ингибирует инициацию).
- 3) Эритромицин присоединяется к 50S субъединице и (ингибирует транслокацию).

Ингибиторы трансляции.

- 4) Хлорамфеникол (левомицетин) – ингибирует пептидил трансферазу (транспептидацию).
- 5) Пуромицин – похож на аминоксил-тРНК, вызывает преждевременную терминацию.
- 6) Линкомицин – как хлорамфеникол.

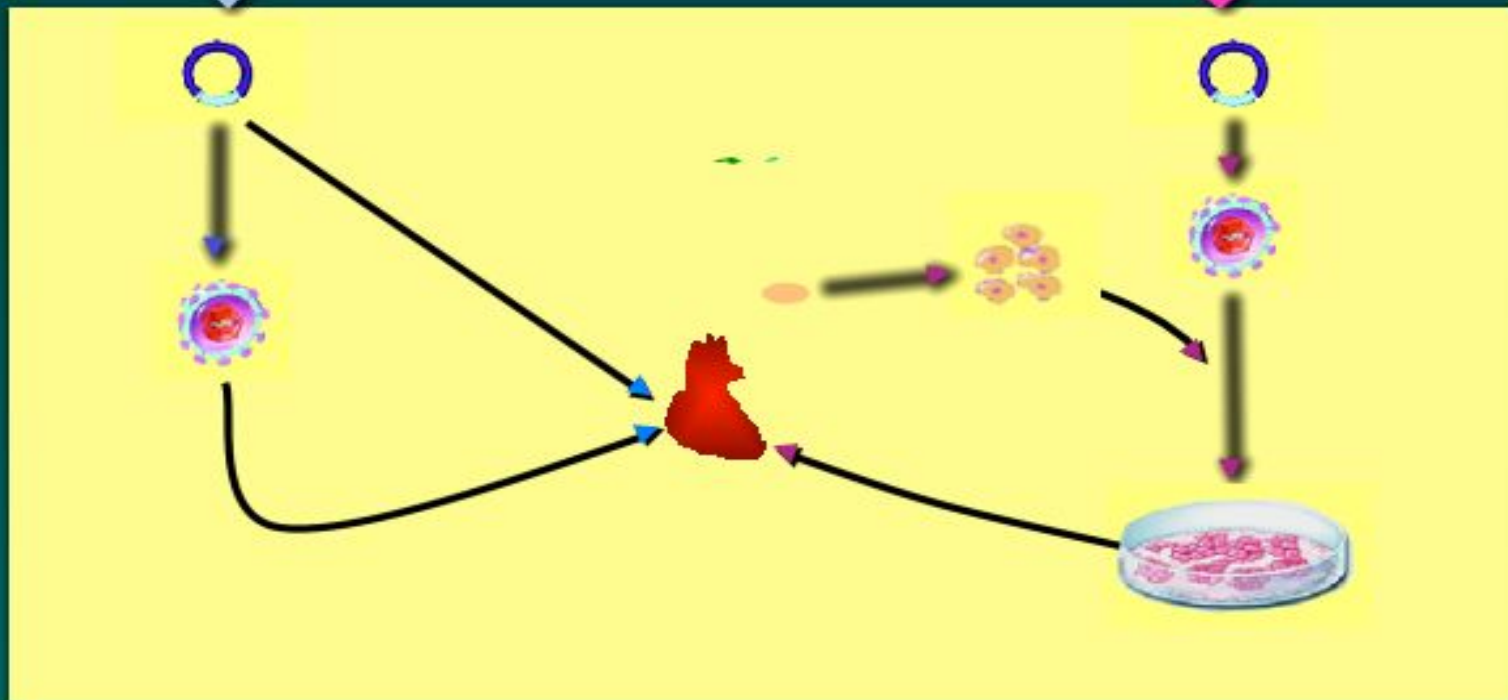
ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ

Способы введения генетической информации в организм:

**Прямая и непрямая генная терапия
(генная терапия *in vivo* и *ex vivo*)**

Прямое введение гена
в ткань / орган

Введение генетически
трансформированных клеток



Стратегии генной терапии

Цель

Механизм

Примеры

1. Усиление продукции терапевтического белка

Экспрессия с помощью вектора (плазмиды, вирусы)

Ишемические заболевания (факторы роста), опухоли (p53)

2. Подавление продукции патогенного белка

Подавление экспрессии гена, с помощью антисмысловых олигонуклеотидов, коротких интерферирующих РНК, ДНК рибозимов.

Рестенозы, опухоли, инфекции (Подавление пролиферации, репликации вируса)

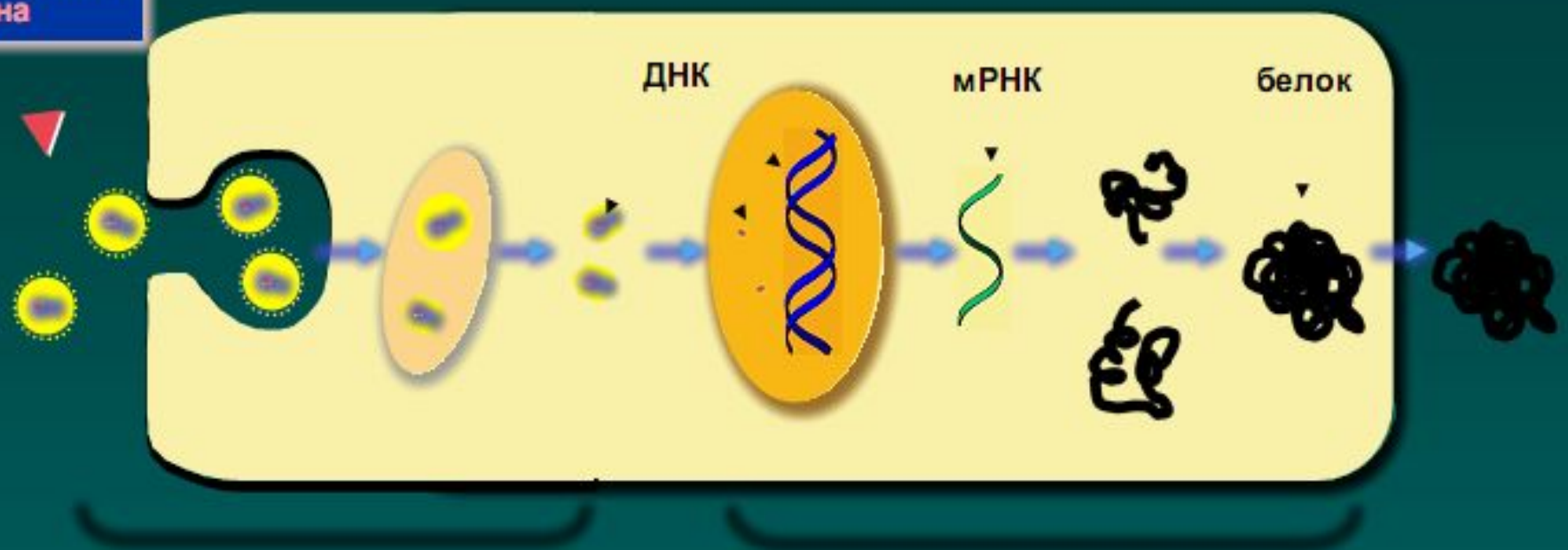
3. Повышение иммунного ответа

Экспрессия с помощью вектора (плазмиды, вирусы)

Опухоли, инфекции?

Усиление продукции терапевтического белка с помощью генной терапии

Введение гена



Доставка гена в клетку ткани-мишени с помощью вектора

Экспрессия гена, включающая процессы транскрипции, трансляции и посттрансляционной модификации

Секреция продукта гена

Генотерапевтические подходы в зависимости от природы клеток-мишеней

1. Фетальная генотерапия, при которой чужеродную ДНК вводят в зиготу или эмбрион на ранней стадии развития; ожидается, что введенный материал попадет во все клетки реципиента (и даже в половые клетки, обеспечив тем самым передачу следующему поколению);

2. Соматическая генотерапия, при которой генетический материал вводят только в соматические клетки и он не передается половым клеткам

(Когда сегодня говорят о генной терапии, то имеют ввиду генную терапию соматических клеток!)

