

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное бюджетное государственное образовательное учреждение
высшего образования «Оренбургский государственный университет»
Химико-биологический факультет
Кафедра биохимии и микробиологии

Введение в генетику микроорганизмов

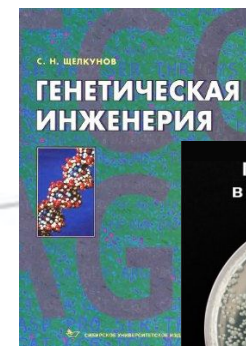
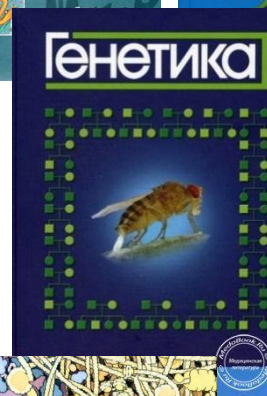
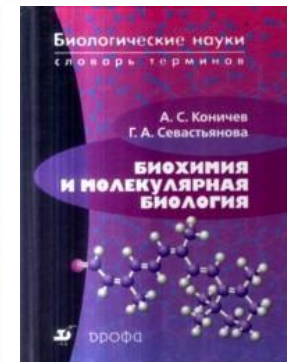
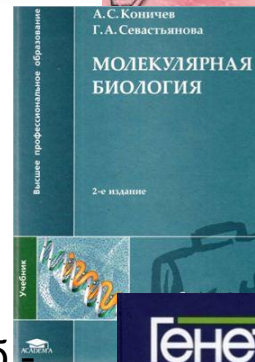
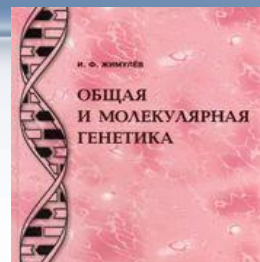
Лекция №1

Лектор:

Давыдова Ольга Константиновна, к.б.н., доцент

Рекомендуемая литература:

- **Жимулев, И.Ф.** Общая и молекулярная генетика: учеб. пособие для вузов - Новосибирск : Сибирское ун-ое изд-во, 2006. - 479 с.
- **Коничев А.С., Севастьянова Г.А.** Молекулярная биология. – М., Изд. Центр «Академия», 2005.
- **Генетика: учеб. для вузов / В. И. Иванов [и др.]; под ред. В. И. Иванова.** - М. : Академкнига, 2006. - 638 с.
- **Щелкунов С.Н.** Генетическая инженерия: Учеб. справ. пособие. – Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2004. – 496с.
- **Давыдова О. К.** Методы генетических исследований микроорганизмов: учебн. пособие. - Оренбург. – 2013. – 132 с. Режим доступа: http://artlib.osu.ru/site/index.php?option=com_find
- **Давыдова О.К.** Генетика бактерий в вопросах и ответах : уч. пособие – Оренбург ; ОГУ, 2015. Режим доступа: http://artlib.osu.ru/site/index.php?option=com_find



Темы лекций:

- Введение в генетику микроорганизмов
- Организация генома прокариот
- Механизмы репликации
- Транскрипция и регуляция экспрессии генов на уровне транскрипции
- Механизмы возникновения мутаций и репарации ДНК
- Механизмы рекомбинации
- Пути обмена генетической информацией у микроорганизмов
- Мигрирующие генетические элементы. Основы селекции микроорганизмов

План лекции:

- Определения
- Поиски вещества наследственности
- Доказательства генетической роли нуклеиновых кислот
- Основные структурные элементы ДНК и РНК Основные структурные элементы ДНК и РНК. С Основные структурные элементы ДНК и РНК. Структура нуклеиновых кислот Основные структурные элементы ДНК и РНК. Структура нуклеиновых кислот. Альтернативные двуспиральные структуры ДНК
- Рождение молекулярной биологии
- Организация генома прокариот
- История отечественной генетики
- История развития генной инженерии
- Современные методы и подходы к изучению геномов (геномика).
- Заключение
- Задания для самоконтроля

Определения

- **Генетика микроорганизмов** – это наука, которая изучает наследственность и изменчивость микроорганизмов
- **Молекулярная биология** - комплекс биологических наук, изучающих механизмы хранения, передачи и реализации генетической информации, строение и функции нерегулярных биополимеров (белков, нуклеиновых кислот)
- **Молекулярная генетика** - область биологии на стыке молекулярной биологии и генетики. По сути является одним из разделов молекулярной биологии
- **Геномика** - раздел молекулярной генетики, посвящённый изучению генома и генов живых организмов
- **Генная инженерия** - совокупность приёмов, методов и технологий получения рекомбинантных РНК и ДНК, выделения генов из организма (клеток), осуществления манипуляций с генами и введения их в другие организмы

Поиски вещества наследственности

- **V в. до н.э. Гиппократ**

- Половые задатки (т.е. в нашем понимании яйцеклетки и сперматозоиды) формируются из клеток всех органов, в результате чего признаки родителей непосредственно передаются потомкам.

- **1868 г. Теория пангенеза Ч.Дарвина**

- От всех клеток отделяются мельчайшие частицы – «геммулы», которые циркулируют с током крови по сосудистой системе организма, достигая половых клеток. После их слияния в ходе развития организма следующего поколения геммулы превращаются в клетки того типа, из которого произошли.
- Выражения «голубая кровь», «полукровка» и т.д.

- **1871 г. Ф.Голтон**

- Двоюродный брат Дарвина в эксперименте с белыми кроликами опроверг эту теорию.

Поиски вещества наследственности



Мендель (Mendel) Грегор Иоганн
(1822-1884)

рис. из книги Дж. Трефила «200 законов
мироздания»

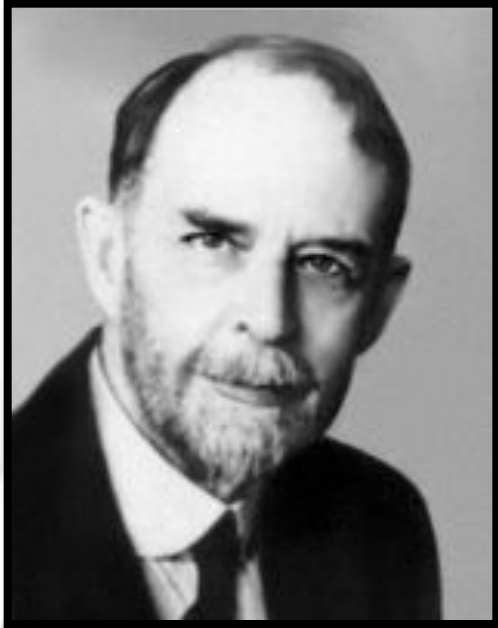
©<https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%B0%D0%B9%D0%BB:MendelCOLOR1884.jpg>

- **Конец XVIII начало XIX вв.**
 - Выводы о наследовании потомками признаков родителей.
- **1865 г. Законы Г.Менделя**
 - В результате скрещивания растений, обладающих двумя парами контрастных признаков, обнаружил, что каждый из них наследуется независимо от другого, не теряются и проявляются в последующих поколениях. Обнаруженные правила наследования описываются математическими символами и схемами.
- **1900 г. Г. де Фриз, К. Корренс, Э. Чермак**
 - Вторичное открытие законов Менделя. Год рождения генетики как науки.

Поиски вещества наследственности

- **1868 г. Ф. Мишер**
 - выделяет «нуклеин».
- **1879 г. А Коссель**
 - начал изучение нуклеина, что привело к открытию нуклеиновых кислот.
- **1882 г. В. Флеминг**
 - обнаруживает и описывает «хроматин», часть структуры клеточного ядра, которые позже назвали хромосомами.
- **1889 г. Р. Альтман**
 - Нуклеин разделен на нуклеиновую кислоту и белок. Появился термин "нуклеиновая кислота".
- **1900 г.**
 - Все азотистые основания описаны химиками.

Поиски вещества наследственности



Морган (Morgan) Томас Хант •
(1866—1945)

©

<http://100v.com.ua/ru/Morgan-Tomas-Hant-per-son>

- **1903 г. Т. Бовери и У. Сэттон**
 - предположили, что гены должны располагаться в хромосомах
- **1906 г. У. Бэтсон**
 - предложил термин «генетика»
- **1910-1927 гг. Т.Морган и его ученики**
 - сформулировал современную концепцию о линейном расположении генов в хромосомах, построил первую карту гена (А. Стёртевант), доказал взаимосвязь между конкретными генами и конкретными хромосомами (К. Бриджес), обнаружил, что можно искусственно вызывать изменения генов (Г. Мёллер).
- **1925-1928 гг.**
 - доказана возможность вызывать мутации под действием ионизирующего (Надсон и Филлипов), рентгеновского (Мёллер) и ультрафиолетового (Стадлер) излучений.

Доказательство генетической роли нуклеиновых кислот

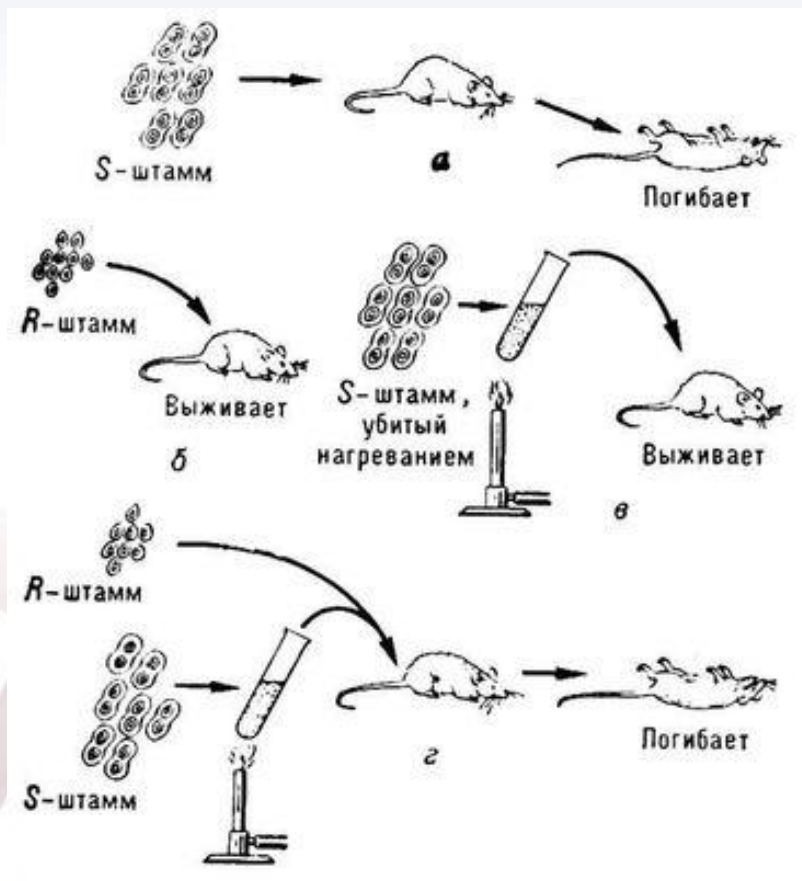
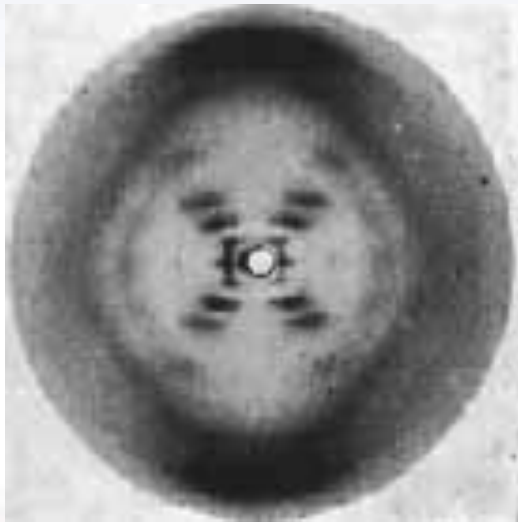


Схема эксперимента Гриффита в Большой Советской Энциклопедии
© <http://bse.sci-lib.com/particle032119.html>

• 1928г. Опыты Фредерика Гриффита

- два штамма пневмококков: капсульный и бескапсульный. Капсульный - патогенный (вирулентный), при инфицировании таким штаммом мыши погибают, бескапсульный - непатогенный. При введении мышам смеси убитых нагреванием (и, следовательно, потерявших вирулентность) капсульных пневмококков и живых бескапсульных невирулентных бактерий, животные погибали в результате размножения капсульных вирулентных форм. Обнаруженное явление Гриффит интерпретировал как трансформацию.

Поиски вещества наследственности



Фотография 51 – рентгенограмма волокон натриевой соли тимусной ДНК в В-форме, полученная Розалин Франклин. Эта рентгенограмма послужила главным толчком к открытию двуспиральности ДНК.

©https://en.wikipedia.org/wiki/File:Photo_51_x-ray_diffraction_image.jpg

- **1929 г. Ф. Левин**
 - впервые обнаружил дезоксирибозу.
- **1934 г. Д.Бернал**
 - показал, что белки могут быть исследованы с помощью рентгеноструктурного анализа.
- **1935 г. Н.Кольцов**
 - выдвинул гипотезы о молекулярной организации и матричном синтезе гена. Материалом хромосомы считал белок с различными радикалами – различные гены.
- **1935-1939 гг. А Белозерский**
 - выделил чистую ДНК, доказал наличие ДНК и РНК в бактериях.
- **1939 г. У. Астбюри, Ф. Белл**
 - Рентгеноструктурный анализ показал, что расстояние между нуклеотидами в ДНК $3,4 \text{ \AA}$, а азотистые основания уложены стопками.
 - Введение термина «молекулярная биология».

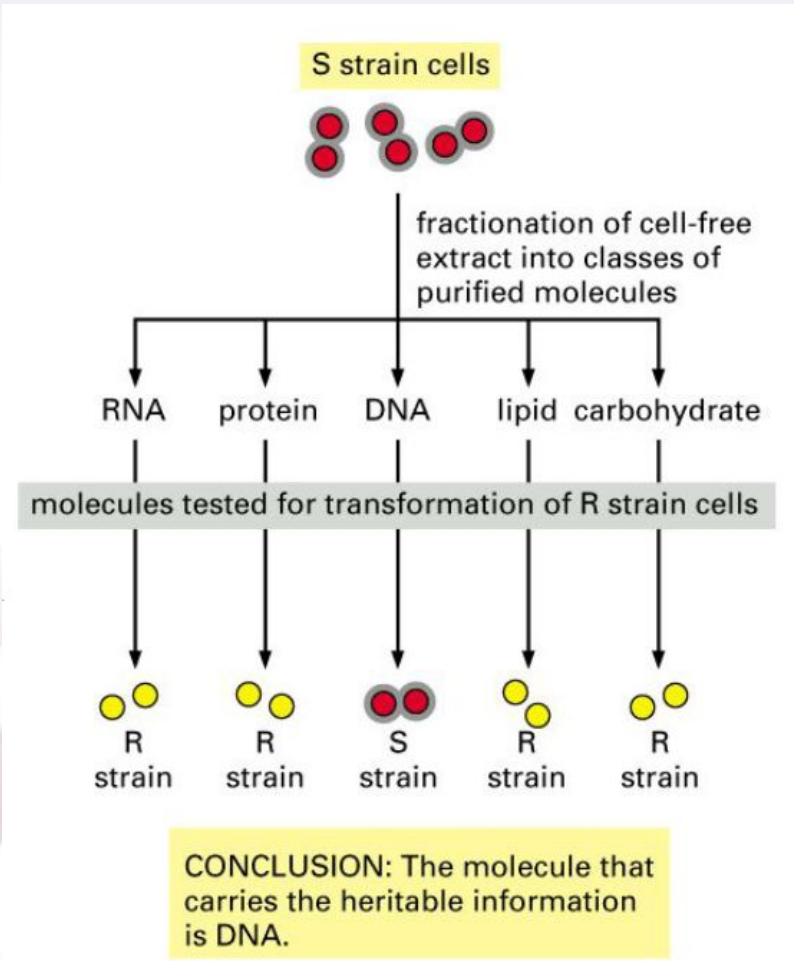


**Эрвин Рудольф Йозеф
Александр Шрёдингер**
(1887 - 1961) - физик-теоретик

© <http://www.calend.ru/person/5116/>

- **1941 г. Дж.Бидл и Э.Тейтем**
 - разработали гипотезу «один ген – один фермент», т.е., каждый нормальный ген продуцирует определенный фермент, необходимый для организма.
- **1944 г. Э. Шрёдингер**
 - опубликовал книгу «Что такое жизнь? С точки зрения физика». Роль носителя наследственности также приписывал белку, считая ДНК слишком простым органическим соединением.

Доказательство генетической роли нуклеиновых кислот



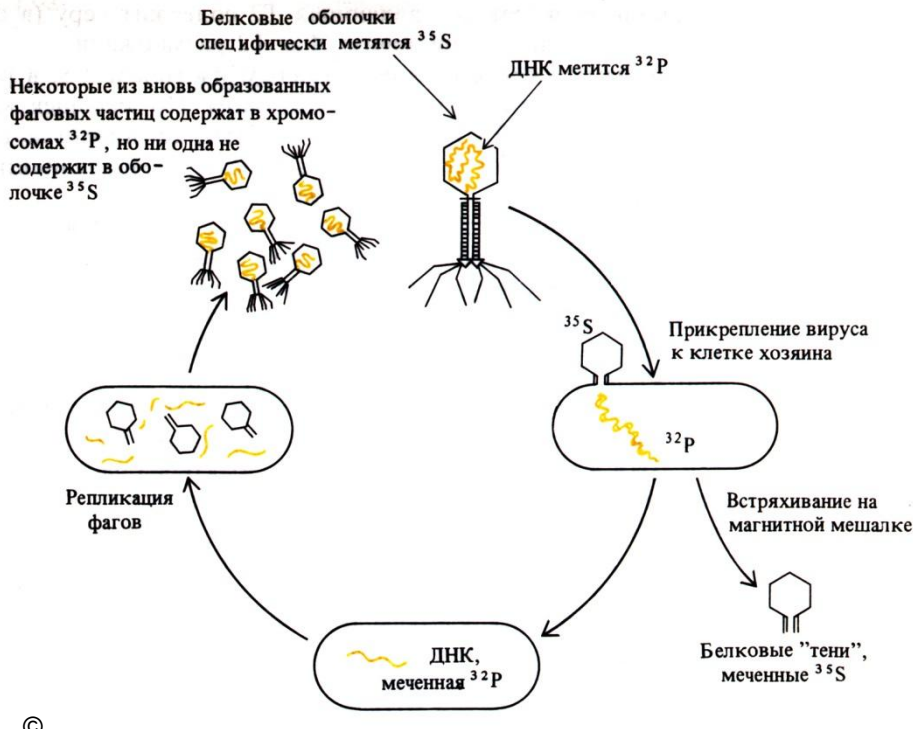
- **1944г. Эксперимент Освальда Эйвери, Колина Мак-Леод и Маклина Мак-Карти**
 - Эксперимент Гриффита был повторен в варианте смешивания бескапсульных пневмококков с взятыми от капсульных белками, полисахаридами или ДНК. В результате этого эксперимента была выявлена природа трансформирующего фактора, которым оказалась ДНК.

Поиски вещества наследственности

- **1946 Ледерберг и Э.Тейтем**
 - продемонстрировали, что может происходить обмен генетической информацией и возникать новые генетические комбинации.
- **1947 г. Б. Мак-Клинток**
 - открытие подвижных генетических элементов
- **Гулланд**
 - установил, что в ДНК есть водородные связи между группами N-H и C=O
- **1950 г. Э. Чаргафф**
 - пришел к выводу, что в ДНК общее количество аденина равно общему количеству тимина ($A=T$), а количество гуанина – количеству цитозина ($G=C$).
- **1952 г. Дж.Ледерберг**
 - Ввел название «плазмида».
- **У. Хейс**
 - Обнаружил эффект конъюгации – однонаправленный перенос ДНК из одной контактирующей бактериальной клетки в другую.

Доказательство генетической роли нуклеиновых кислот

- **1952г. Эксперимент Альфреда Херши и Марты Чейз**



- фаги, у которых белковая оболочка была мечена радиоактивной серой (S^{35}), а ДНК - радиоактивным фосфором (P^{32}), инкубировали с бактериями. Затем бактерии отмывали. В смывных водах не обнаруживали P^{32} , а в бактериях - S^{35} . Следовательно, внутрь попала только ДНК. Через несколько минут из бактерии выходили десятки полноценных фагов, содержащих и белковую оболочку, и ДНК.

История возникновения молекулярной биологии

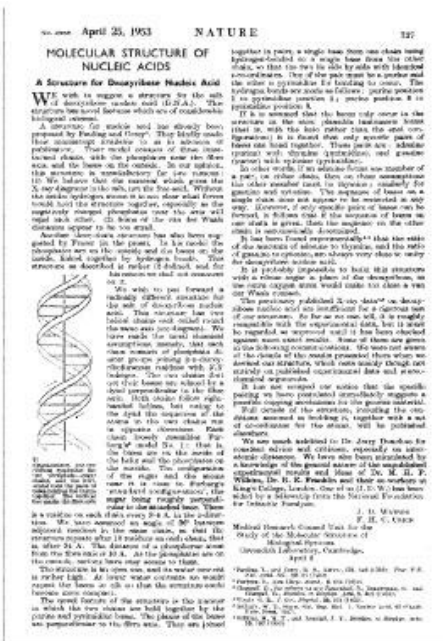


Фрэнсис Крик указывает Джеймсу Уотсону на металлическую модель ДНК, которую они собрали 7 марта 1953 года в комнате 103 в Кавендишской лаборатории, Кембридж

©

<http://www.brain-food.ru/wp-content/uploads/2013/06/crick.jpg>

Публикация в журнале Nature статьи Уотсона и Крика «Молекулярная структура нуклеиновых кислот»



- 1953 г. Модель Уотсона-Крика
 - Ф. Крик и Дж. Уотсон, опираясь на результаты опытов генетиков и биохимиков и на данные рентгеноструктурного анализа, создали структурную модель ДНК в форме двойной спирали, указав, что информация, необходимая для репликации ДНК заключена в самой её структуре, т.к. основания комплементарны.
 - Дата рождения молекулярной биологии.

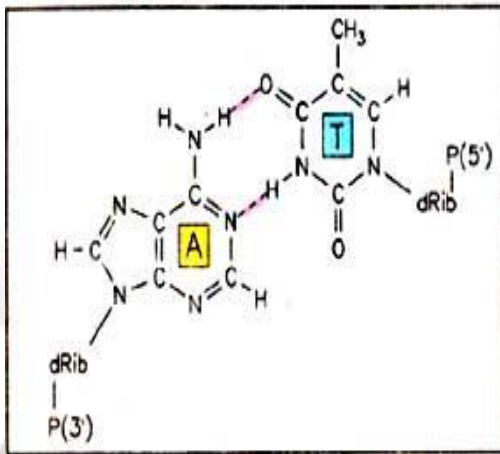
Структура нуклеиновых кислот



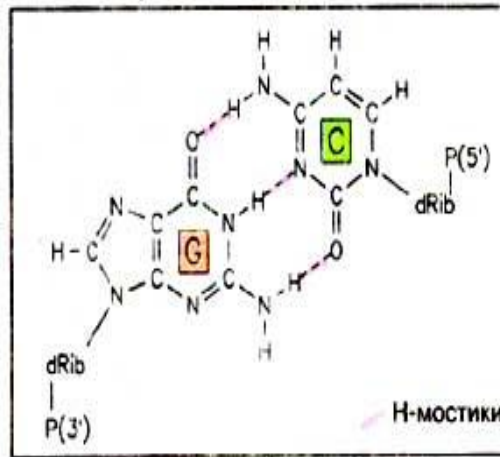
- Основные структурные элементы ДНК и РНК
 - Молекула ДНК представляет собой чрезвычайно длинный неразветвленный линейный полимер, состоящий только из четырех типов нуклеотидов: двух пуринов - аденина (А) и гуанина (G), а также двух пиримидинов - тимина (Т) и цитозина (С).

Структура нуклеиновых кислот

1. А/Т-спаривание

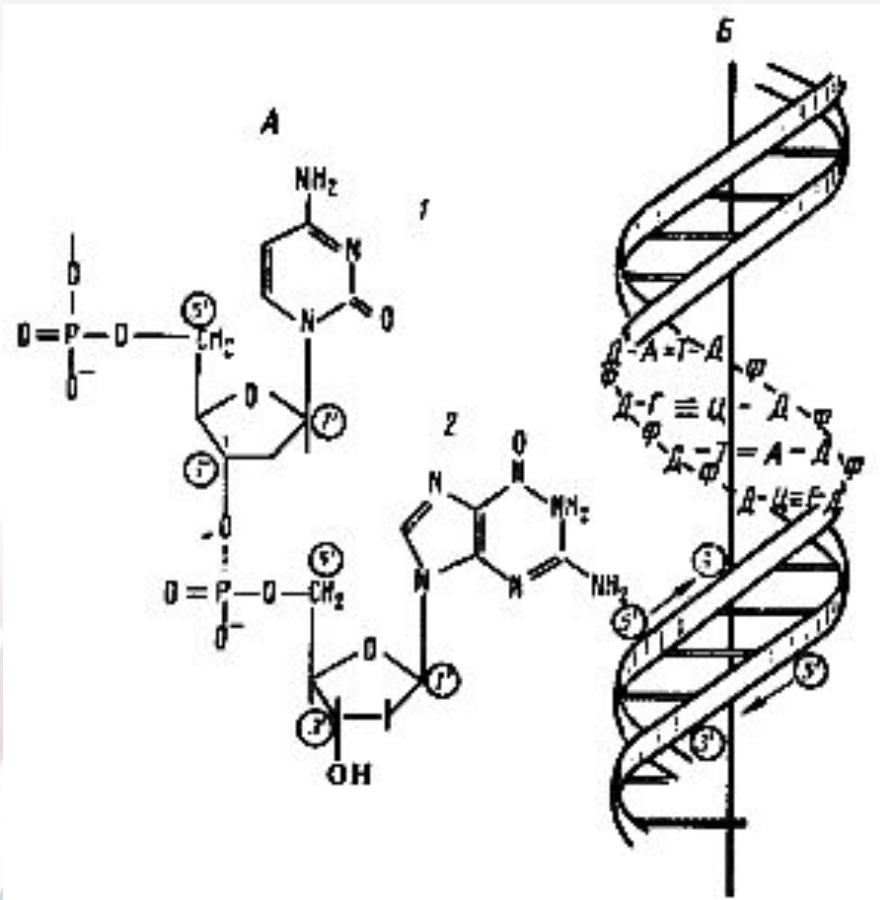


2. G/C-спаривание



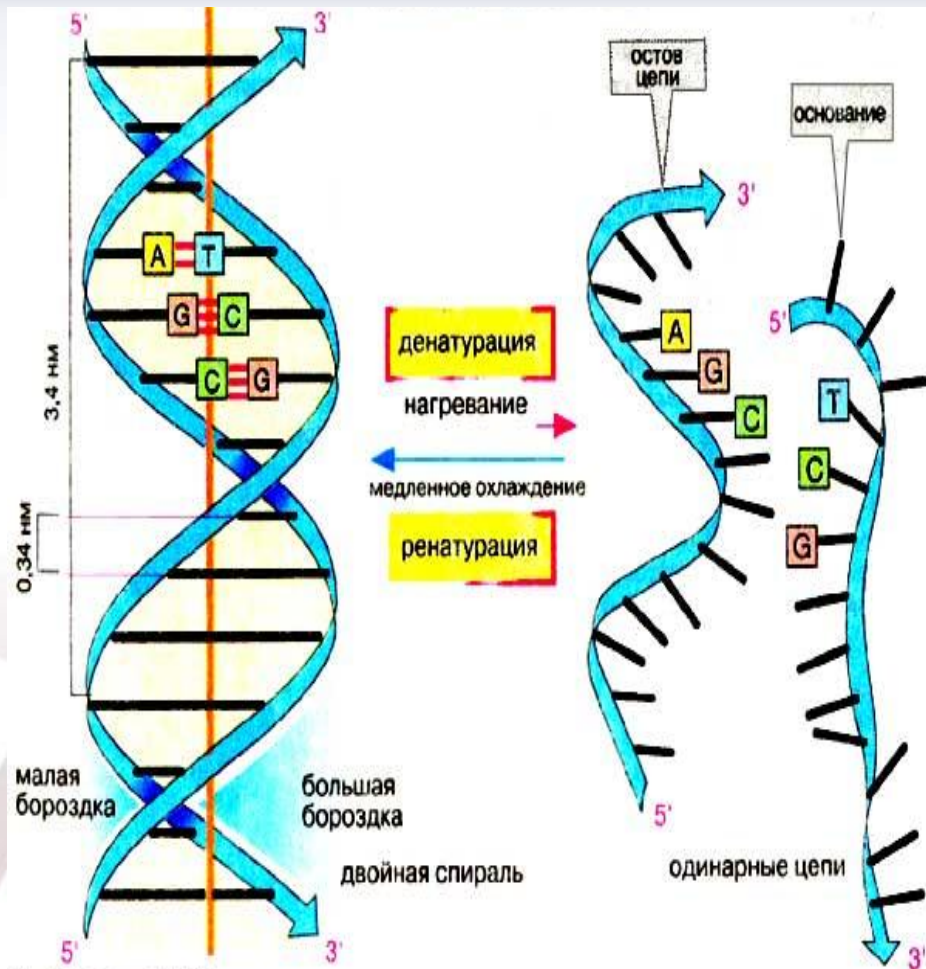
- Спаривание оснований в ДНК
 - Каждое основание одной цепи связано с **комплементарным** ему основанием другой цепи водородными мостиками. Аденин всегда присутствует в клетке в том же количестве, что и тимин, а количество гуанина эквивалентно количеству цитозина (правило Чаргаффа). В то же время соотношение А+Т и G+C пар оснований варьирует в широких пределах от вида к виду, являясь важной таксономической характеристикой каждого из них.

Структура нуклеиновых кислот



- **Первичная структура нуклеиновых кислот**
 - Формирующиеся между нуклеотидами фосфодиэфирные связи обеспечивают образование нити, в которой принято выделять 5'-конец, оканчивающийся фосфатом, и 3'-конец, оканчивающийся пентозой. Целая же молекула ДНК состоит сразу из двух антипараллельных цепей (3' → 5' и 5' → 3' соответственно).

Структура нуклеиновых кислот

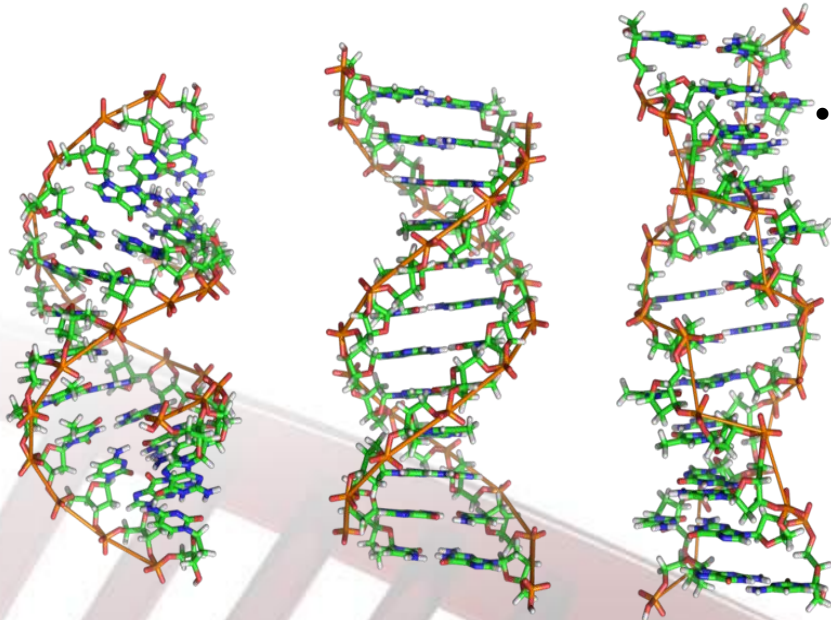


© http://yanko.lib.ru/books/biolog/nagl_biochem/90.htm

- **Пространственная структура ДНК**

- Цепи удерживаются вместе водородными и гидрофобными взаимодействиями в результате спаривания комплементарных нуклеотидов А-Т и Г-С.
- Разные пары оснований образуют разное количество водородных связей. АТ связаны двумя, ГЦ — тремя водородными связями, поэтому на разрыв ГЦ требуется больше энергии.

Структура нуклеиновых кислот



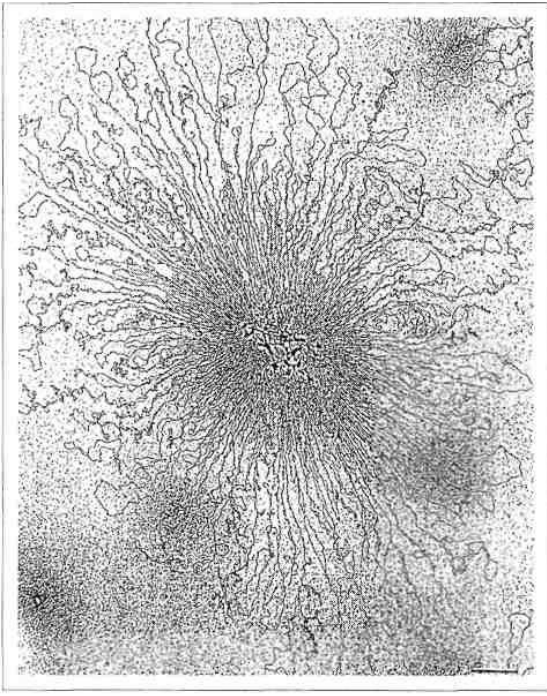
© https://en.wikipedia.org/wiki/File:A-DNA,_B-DNA_and_Z-DNA.png

- **A-форма** - 11 пар азотистых оснований на виток. Плоскости азотистых оснований отклонены от нормали к оси спирали на 20° . Отсюда следует наличие внутренней пустоты диаметром 5\AA . Высота витка 28\AA .
- В основной - **B-форме** на виток приходится 10 комплементарных пар. Плоскости азотистых оснований перпендикулярны оси спирали. Соседние комплементарные пары повернуты друг относительно друга на 36° . Диаметр спирали 20\AA , причем пуриновый нуклеотид занимает 12\AA , а пиримидиновый - 8\AA .
- Левая спираль (**Z-форма**). Высота витка в Z-форме -44.5\AA , на виток приходится 12 пар нуклеотидов. Ни A-, ни Z- формы не могут существовать в водном растворе без дополнительных воздействий (белки или суперспирализация).

История возникновения молекулярной биологии

- **1957-1958 гг. Ф. Крик и Дж. Гамов**
 - предложили концепцию «центральной догмы» молекулярной биологии о передаче генетической информации: ДНК – мРНК – белок.
- **М. Мезельсон и Ф. Сталь**
 - продемонстрировали полуконсервативный механизм репликации ДНК.
- **1961 г. Ф. Жакоб и Ж. Моно**
 - открыли оперонный принцип организации генов и регуляции генной активности у прокариот.
- **1963-66гг. М.Ниренберг, Г.Маттэй**
 - расшифровали генетический код и продемонстрировали, что каждую из 20 аминокислот в молекуле мРНК (кодон) кодируют три смежных нуклеотида.

Организация генома прокариот



Изолированный нуклеоид *E. coli*

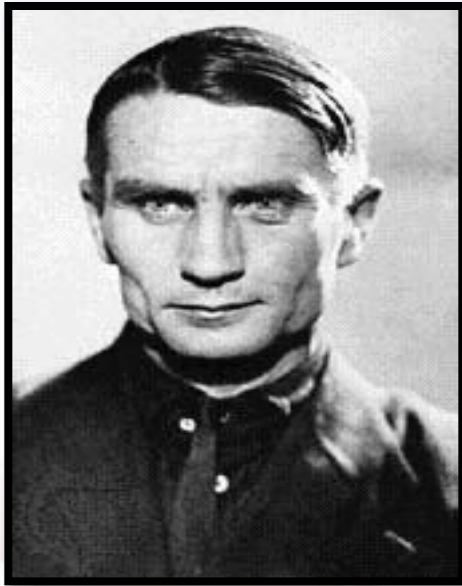
© <http://molbiol.ru/pictures/80886.html>

- **1956 г. Ф.Жакоб и Е.Вильман предложили кольцевую модель бактериальной хромосомы**
 - ДНК прокариот представлена кольцевой двуцепочечной суперспирализованной молекулой, расположенной в цитоплазме в виде клубка - **нуклеоида**. Нуклеоид не отделён мембраной, может содержать несколько копий ДНК. Нуклеоид состоит из ДНК, белков и РНК. ДНК составляет около 80%. Она свёрнута в петли, примерно по 40 тыс.н.п. в каждой петле. В геноме примерно 100 таких петель.

История отечественной генетики

- **1919-1930 гг. первые генетические школы в СССР**
 - Ленинград: Филипченко Ю.А., Вавилов Н.И.,
 - Москва: Кольцов Н.К., Четвериков С.С., Серебровский А.С.
- **1927 г. международный конгресс в Берлине**
 - присутствуют советские учёные.
- **1929 г. съезд генетиков и селекционеров в Ленинграде**
 - «Шире в массы достижения науки»
- **1930-48 гг. Серебровский А.С.**
 - организует и заведует кафедрой генетики МГУ.
- **1930-34 гг. Вавилов Н.И.**
 - организация лаборатории генетики в РАН, преобразование в Институт генетики в Ленинграде, переезд в Москву.
- **до 1934 г. развитие генетики на мировом уровне**

• 1934-1935 гг. Трофим Лысенко



Т.Д.Лысенко
1898-1976гг

©

<http://cache-media.britannica.com/eb-media/33/2233-004-89AB11C3.jpg>

- переходит к нападкам на генетику («Генетика – продажная девка науки»). Его воззрения:
- 1. отрицал законы Менделя и существование генов.
- 2. принимал идею наследования приобретённых признаков, отрицал роль отбора в эволюции,
- 3. полагал, что один вид внезапно может превратиться в другой.
- Признаёт только работы Мичурина И.В. и Тимирязева К.А., а также «классиков марксизма». Предлагает рецепты быстрого улучшения сельского хозяйства.
- Сталин И.В. поддерживает Лысенко («народного академика»):
- 1935 – академик ВАСХНИЛ, 1938 – президент этой Академии, 1939 – академик АН СССР, 1940 – директор Института генетики АН СССР, с 1937 по 1966 г. – депутат Верховного Совета СССР и заместитель его председателя, 1945 – Герой Социалистического Труда.

История отечественной генетики

- **1938-1943 гг. репрессии по отношению к генетикам**
 - расстрелян Карпеченко Г.Ф.; ссылка Четверикова С.С.;
 - арест Вавилова Н.И (1940), смертный приговор (1941), смерть от голода в тюрьме (1943);
 - нападки на Кольцова Н.К и его смерть;
 - гибель учёных-генетиков в годы Второй мировой войны.
- **1948 г. сессия ВАСХНИЛ**
 - запрет генетики, увольнения и ссылки учёных-генетиков, в журналах вырываются страницы и вымарываются слова «ген», «генетика», «хромосома».
- **1950-е гг.**
 - письмо Алиханяна С.И. к Сталину с программой по восстановлению генетики (реализована в 1965-66 гг).
 - разрозненные публикации с критикой Лысенко,
 - полуполегалное преподавание генетики в ЛГУ.
- **1988 г. конференция по генетике**

Заключение

- Генетика бактерий является разделом общей генетики – науки о наследственности и изменчивости, объектом исследования которого служат бактерии
- Именно на бактериальных клетках были решены многие кардинальные вопросы современной генетики
- Идеи и методы генетики бактерий имеют важное значение для решения проблем медицины, сельского хозяйства и микробиологической промышленности

Задания для самоконтроля:

- Опишите особенности организации генома прокариот. Объясните термины: хромосома, внехромосомная ДНК, плазмиды.
- Какова зависимость температуры плавления ДНК от содержания ГЦ-пар?
- Расположите олигонуклеотиды по порядку возрастания температуры плавления:
АААТТGC GGG GCGCGCG АААААААААААААААА
ТТТААСG ССС СGCGCGC ТТТТТТТТТТТТТТТТ
- На чем основан метод молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот и какое значение он имеет для биологических исследований?