



ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ  
БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ ФАКУЛЬТЕТІ  
МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА  
КАФЕДРАСЫ

## ДӘРІС 1. ГЕНЕТИКАЛЫҚ ИНЖЕНЕРИЯ ПӘНІНЕ КІРІСПЕ

Лектор: PhD, қауымдастырылған  
профессор Тайпақова С.М.

# Жоспар:

Генетикалық инженерияның даму тарихы

Генетикалық инженерияның дамуының алғы шарттары

ДНҚ тұқым қуалаушы материал екендігін анықтаған классикалық эксперименттер:

Гриффит эксперименті

Эвери, Маклеода и Маккарти эксперименті

Херши мен Чейз эксперименті

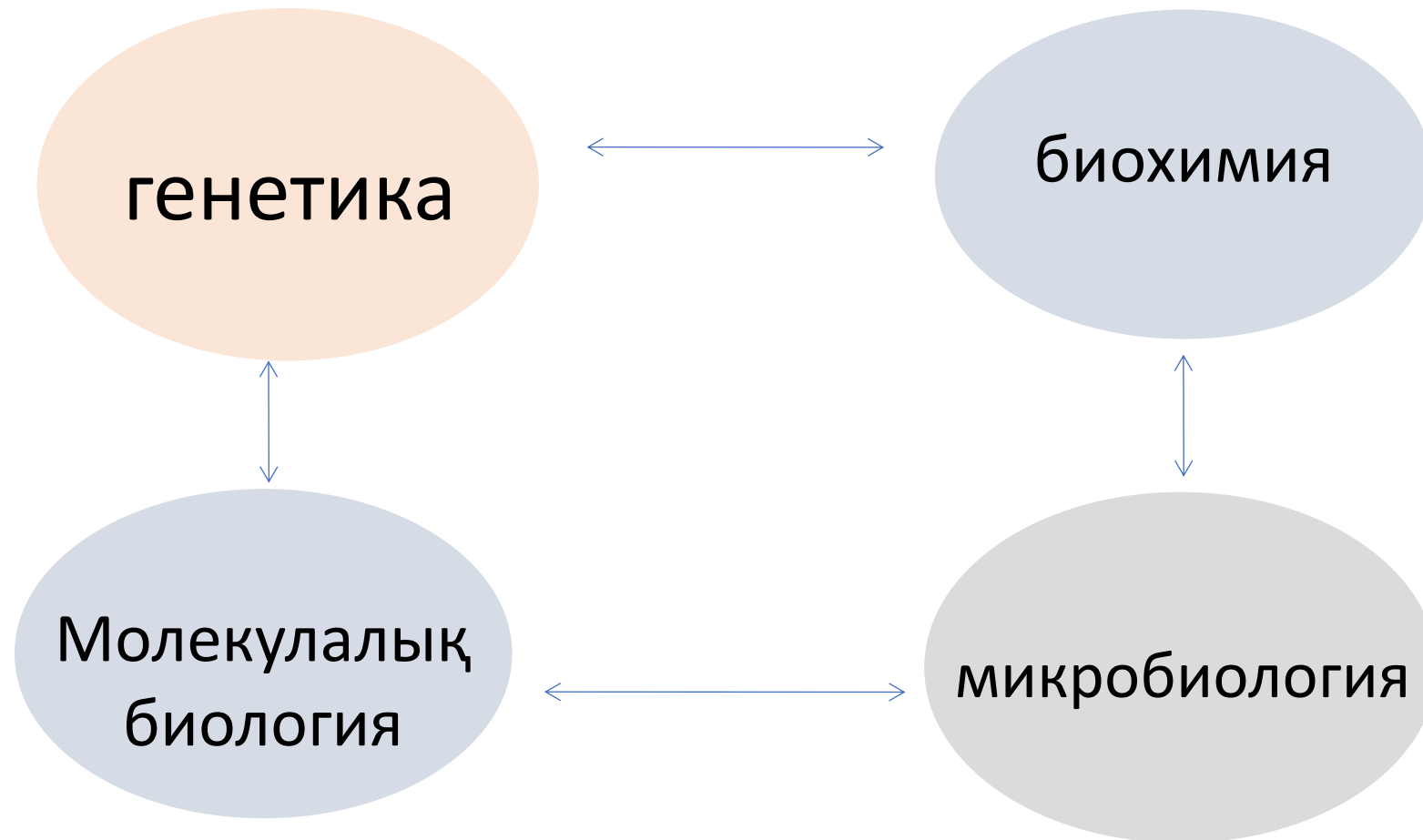
Уотсон мен Крик ДНҚ моделі

Чаргаф ережесі

Генетикалық код

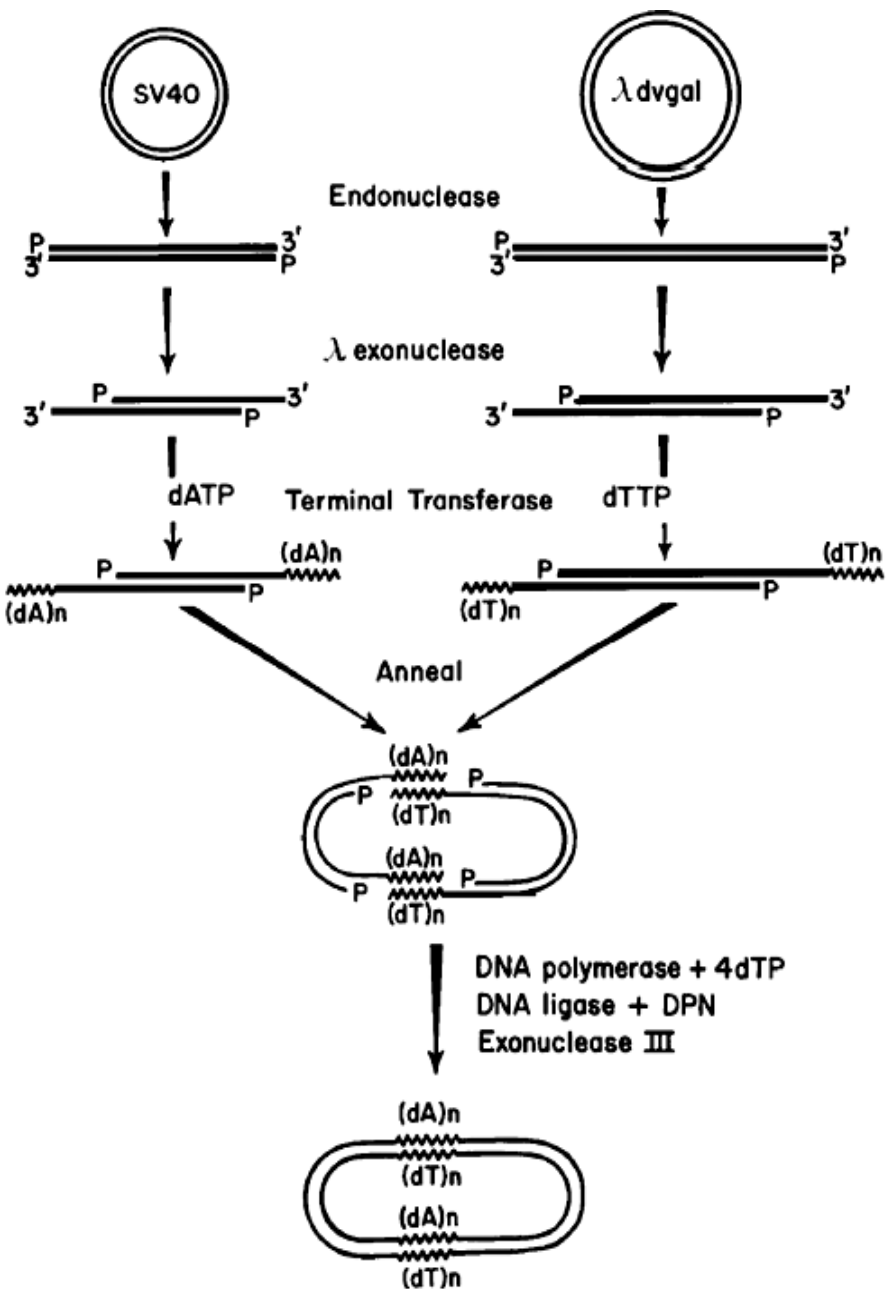
# Гендік инженерия ғылымының даму тарихы

- Ген инженериясы молекулалық биологияның жаңа саласы. Ол лабораториялық әдіс арқылы генетикалық материалы өзгерген организмдерді алу жолын қарастырады. Ген инженериясының пайда болуы генетиканың, биохимияның, микробиологияның және молекулалық биологияның жетістіктерімен байланысты.



- Бұл атаудың екі түрі қолданылады: “генетикалық инженерия” және “ген инженериясы”. Соңғы кезде “генетикалық инженерия” жалпылама түрде қолданылып жүр, ген инженериясы да осының ішіне кіреді.
- Молекулалық биология ғылыми жетістіктерінің нәтижесінде пайда болған ген инженериясы организмнің бағалы қасиетін сақтап қана қоймай оған жаңа әрі саналы қасиет те бере алады. “Инженерия” деген атау құрастыру деген мағынаны білдіреді. Яғни ген инженериясы дегенді ген құрастыру деп түсіну қажет.
- Қолданбалы гендік инженерияның мақсаты - генетикалық аппаратқа енгізілген кезде адамға пайдалы қасиеттер беретіндей рекомбинантты ДНҚ молекулаларын жобалау.

- Генетикалық инженерияның негізгі мағынасы болып рекомбинантты ДНҚ молекуласын құрастыру міндеті саналады. Рекомбинатты ДНҚ деп *in vitro* жағдайында шығу көзі бойынша әр түрлі кез келген екі немесе бірнеше ДНҚ фрагменттерін біріктіру арқылы түзілген ДНҚ-ны түсінеді. Рекомбинантты ДНҚ-ның қарапайым құрамы бөтен ДНҚ мен вектордан тұрады
- Генетикалық инженерия әр түрлі организмдер геномының бөлігінен рекомбинатты ДНҚ құрастырумен қатар, ол рекомбинатты молекулаларды басқа ағза геномына енгізіп, жұмыс істеуін (экспрессиясын) қамтамасыз етеді.
- Гендік инженерияның теориялық негізіне генетикалық кодтың әмбебаптылығы жатады. Бір ғана кодтың ( триплиттің ) әр түрлі ағзадағы белок молекулаларының құрамына енетін амин қышқылдарын бақылай алатындығына байланысты, ДНҚ молекуласының кез келген бөлігін басқа бөтен клеткаға апарып салу, яғни молекулалық деңгейде будандастыру теориялық тұрғыдан алғанда мүмкін екені анықталды.



Генетикалық инженерияның формалды тұрғыдан дүниеге келген уақыты 1972 ж. деп есептеледі, осы жылы П. Бэрг алғаш рет пробиркада маймылдың онкоген вирусы SV-40-тың толық геномын,  $\lambda$  бактериофаг геномының бір бөлігін және E. Coli бактериясының галактоза генін біріктіру арқылы рекомбинантты ДНҚ молекуласын құрастырды. Дегенмен, бұл ДНҚ-ның клеткада жұмыс істей алатындығы тексерілмеді, өйткені құрамында рак вирусының гені болғандықтан П. Бэрг тәуекелге бармады.

Лобан да осындай рекомбинантты ДНҚ молекуласын алу мүмкіндігін көрсетті. Бұл кезде рестриктазалар және оның қасиеттері ашылған болатын.

1973 — 74 ж. Америка биохимиктері С. Коэн, Г. Бойер, т.б. түрлі ағзалардан бөліп алынған генді бактерия плазмидасының құрамына енгізді. Олар рекомбинантты ДНҚ молекуласын құрастырду үшін рестриктазаларды пайдалану керектігін алғаш түсінді. Бұл тәжірибе басқа организмдер гендерінің жаңа ағза ішінде жұмыс істей алатынын дәлелдеді.

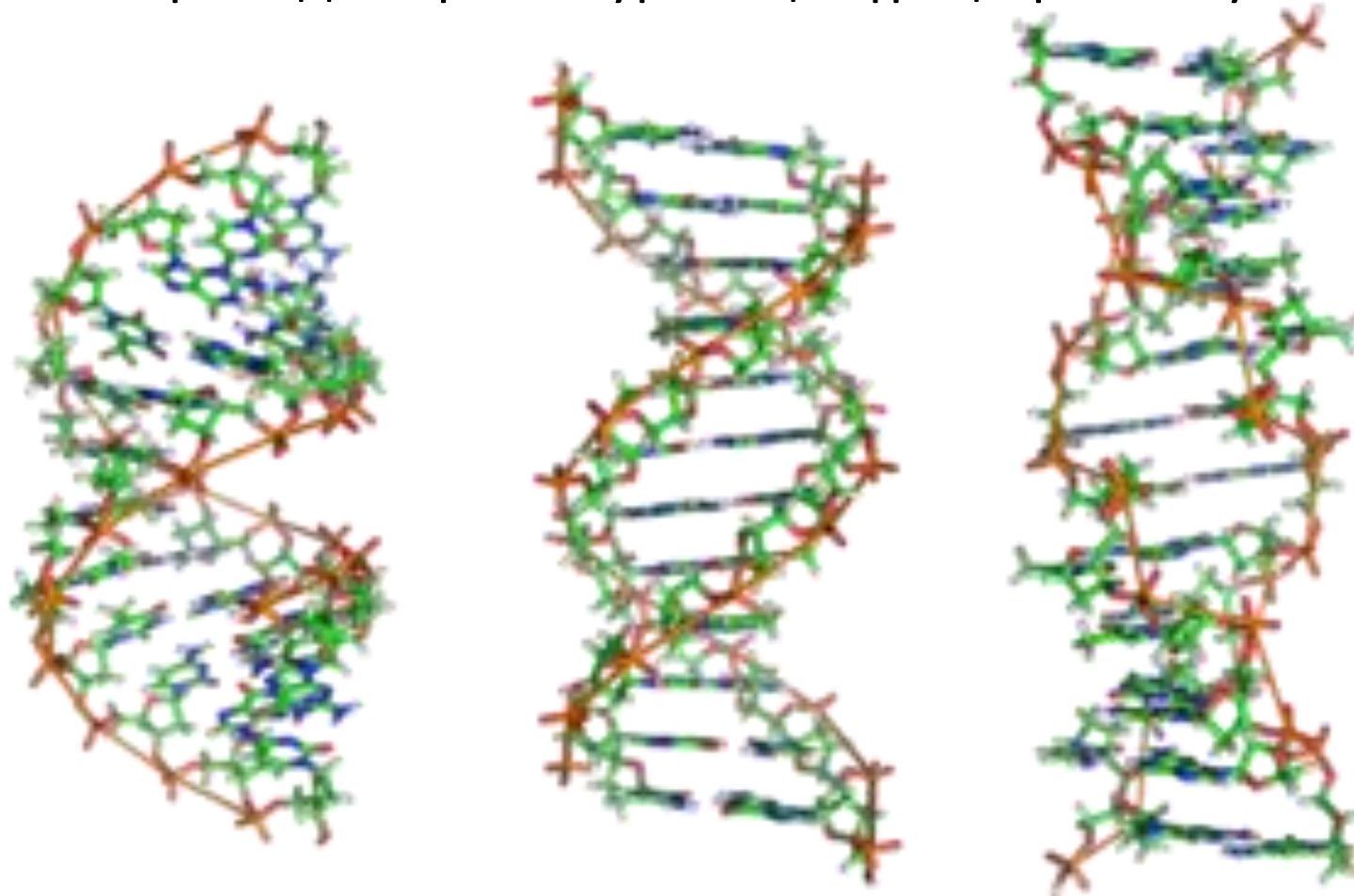
Соның артынша-ақ дүние жүзінің көптеген лабораторияларында жұмыс істей алатын әр түрлі плазмидалар алынды. Совет елінде ондай бөтен гені бар плазмида академик А.А. Баевтың басшылығымен жасалды.

# Генетикалық инженерияның дамуының алғы шарттары

**1944 ж.** дейін хромосомалардың химиялық құрамы мен құрылысы жайлы ақпарат өте аз болды.

**1944 ж.** Нуклеин қышқылдарының тұқымқуалаушылықта рөлін анықтайтын алғашқы эксперименттер пайда болды.

**1944 – 1953 ж.** Көптеген лабораторияларда ДНҚ ның тіршілік процестерінің генетикалық негізі ретіндегі рөлі туралық сұрақтарға жауап беретін нәтижелер алынды.





# Генетикалық материалды алғашқы зерттеулер

- 1940 жылдарға дейін нуклеин қышқылдары да, ақуыздар да жасушалардағы генетикалық материал бола алады деп сенген.
- ДНҚ молекулаларында генетикалық ақпаратты сақтау үшін жеткілікті химиялық әртүрлілік жоқ деп есептелді.
- Ақуыз - бұл генетикалық материал ретінде қызмет етуге лайық молекулалары құрылымы жағынан алуан түрлі болып келетін жалғыз зат деп еспетелген

- **1868** жылы алғаш болып ДНҚ-ны швед химигі **Фридрих Мишер** зерттеді.
- Жасуша ядроларының суспензиясынан құрамында фосфор бар және протеолитикалық ферменттер әсерінен ыдырамайтын зат бөліп алды. Ол сондай-ақ айқын қышқылдық қасиеттерге ие болды. Оны алғаш рет ядродан тапқандықтан (латынша “нуклеус” — ядро) «**нуклеин**» деп аталды. Қосылысқа брутто  $C_{29}H_{49}N_9O_{22}P_3$  формуласы тағайындалды.
- **1889 ж** Ричард Альтман «**нуклеин қышқылы**» терминін енгізді, сонымен қатар құрамында ақуыз ластаушылары жоқ нуклеин қышқылдарын бөліп алудың ыңғайлы әдісін құрастырды.
- Фебус А. Ливен және Жакоб нуклеин қышқылдарының сілтілі гидролиз өнімін зерттей отырып, олардың негізгі компоненттерін - нуклеотидтер мен нуклеозидтерді анықтады, сонымен қатар олардың химиялық қасиеттерін дұрыс сипаттайтын құрылымдық формулаларын ұсынды
- 1921 жылы Левин «ДНҚ-ның тетрануклеотидтік құрылымы» туралы гипотезаны алға тартты, ол кейін қате болып шықты. ДНҚ құрылымының тетрануклеотидтік гипотезасы бойынша - төрт нуклеотидтің бірдей топтары ДНҚ молекуласының ұзындығы бойынша бірнеше рет қайталанады.
- 1950 жылы ағылшын биофизигі **М.Уилкинс** ДНҚ-ның кристалдық талшықтарының рентгенграммасын алды.
- Р.Франклин ДНҚ молекуласының рентгенграммалық суретін бірінші түсірген ғалымдардың бірі болды
- 1953 ж. Уотсон және Крик Франклин мен Уилкинсонның жүргізген рентгеноструктуралық анализіне негізделі отырып ДНҚ-ның қос спиральді моделін ұсынды.



**Фридрих Мiшер** (нем. *Friedrich Miescher*; 13 август 1844, Базель — 26 август 1895, Давос) — швейцариялық физиолог, гистолог және биолог.

XX ғасырдың 40-жылдарында **Эрвин Чаргаф** көптеген ағзалардағы ДНҚ-да төрт нуклеотидтің қатынастары тең емес екенін дәлелдеп көрсетті және Ливеннің тұжырымдарын жоққа шығарды.

- **Э.Чаргафтың ережесі бойынша**

- ДНҚ молекуласындағы адениннің мольдік мөлшері тиминнің мөлшеріне тең,  $A:T=1$ . Ал гуаниннің мольдік мөлшері цитозиннің мольдік мөлшеріне тең,  $G:C=1$ .
- ДНҚ молекуласындағы пуриндер саны пиримидиндік негіздердің санына тең.  $A+G=T+C$ . Шыққан тегіне байланыссыз әр түрлі ДНҚ-ның молекуласындағы пурин негіздерінің қосындысы пиримидин негіздерінің қосындысына тең:  $(A+G)/(T+C)=1$ .
- 6 жағдайда аминогруппасы бар негіздер саны мен 6 жағдайда кетогруппасы бар негіздер санына тең:  $A+C=T+G$ , сонымен қатар  $(A+T):(G+C)$  қатынасы шығу көзі әртүрлі ДНҚ түрлерінде әр түрлі болуы мүмкін. Олардың АТ жұптарының саны басым болса, өзгелерінде ГЦ жұптары басым болуы мүмкін.



Эрвин Чаргафф (ағылш. Erwin Chargaff; 11 тамыз 1905, Черновцы, Австрия-Венгрия - 2002 ж. 20 маусым, Нью-Йорк, АҚШ) - еврей тектес американдық биохимик

# Гриффит тәжірибесі

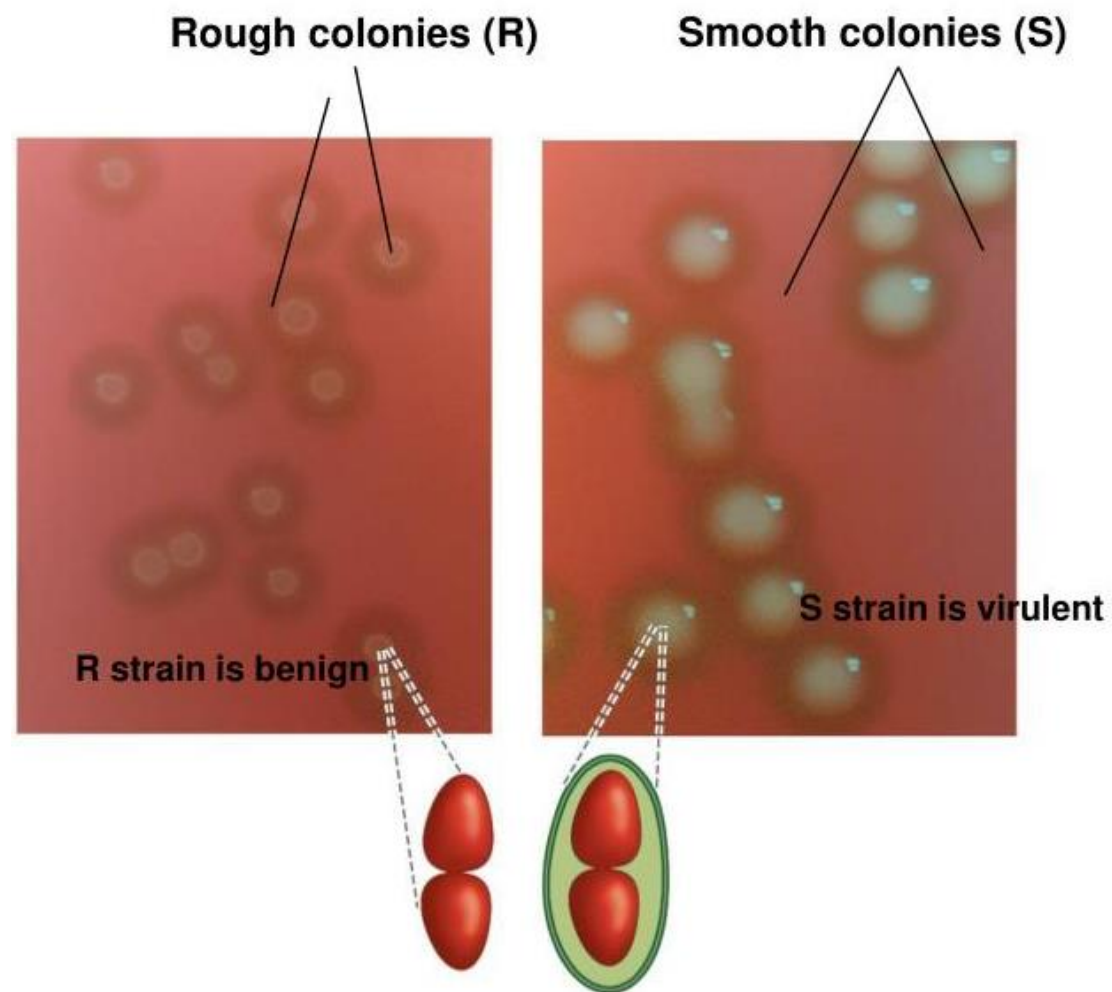
- 1927 ж. Ұлыбританияның Денсаулық сақтау министрлігінің қызметкері Фредерик Гриффит *Diplococcus pneumoniae* (*Streptococcus pneumoniae*) бактериясының түрлі штамдарымен тәжірибе жүргізді.
- Еуропада тұмау пандемиясына қарсы ем іздеу барысында Гриффит пневмококктың екі штамын зерттеді:
- вирулентті S штаммы омыртқалыларда өкпе қабынуын тудырса
- авирулентті R штаммы омыртқалылар үшін қауіпсіз болды.



Пневмококктардың вируленттілігіндегі айырмашылықтар полисахаридті капсуланың болуына байланысты:

Вирулентті бактерияларда полисахаридті капсуласы бар жылтыр тегіс (**S**)

Авирулентті бактерияларда - полисахаридті капсуласы жоқ кедір-бұдырлы (**R**).

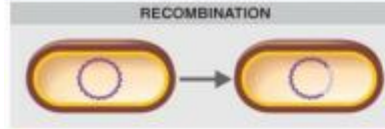


Гриффит өзінің тәжірибелері аясында тышқандарға жоғары температурамен инактивтелген S-бактерияларын инъекциялауға қолданды (яғни, S-бактериялары өте жоғары температураға дейін қыздырылды, бұл жасушаның бұзылуына әкелді). Инактивтелген S бактериялары тышқандарда ауру тудырмады

Алайда тышқандарға авирулентті R-бактериялары қыздыру арқылы инактивтелген S-бактерияларымен бірге енгізілген кезде нәтижелер күтпеген бұрылыс жасады. Тышқандар тек пневмониямен ауырып өлген жоқ, сонымен қатар Гриффит өлген тышқаннан қан сынамасын алған кезде, оның тірі S-штамм бактериялары бар екенін анықтады!

Осылайша, Гриффит R-штаммының бактериялары инактивтенген S-бактериялардан бір нәрсе қабылдаған болуы керек және ол оны «трансформация факторы» деп атады. Осының арқасында R-бактериялары тегіс беткейлі S-бактерияларға «өзгеріп», вирулентті бола алды. Бұл құбылысты трансформация құбылысы деп атады.

## TRANSFORMATION



### Griffith Experiment demonstrated Transformation Tortora Ch. 8 Transformation

1 Living encapsulated bacteria injected into mouse.



2 Mouse died.



3 Colonies of encapsulated bacteria were isolated from dead mouse.

(a)

1 Living nonencapsulated bacteria injected into mouse.



2 Mouse remained healthy.



3 A few colonies of nonencapsulated bacteria were isolated from mouse; phagocytes destroyed nonencapsulated bacteria.

(b)

1 Heat-killed encapsulated bacteria injected into mouse.



2 Mouse remained healthy.



3 No colonies were isolated from mouse.

(c)

1 Living nonencapsulated and heat-killed encapsulated bacteria injected into mouse.



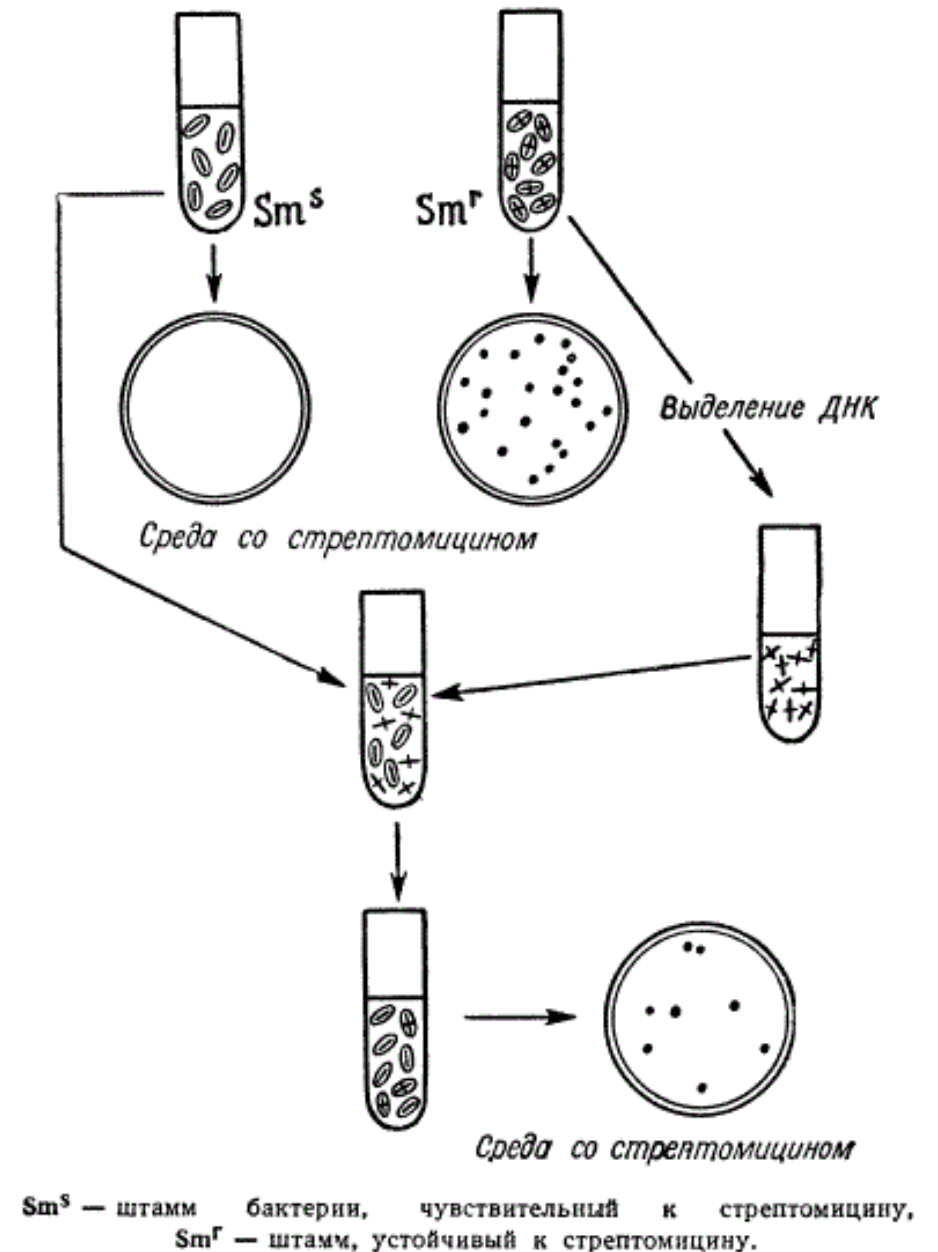
2 Mouse died.



3 Colonies of encapsulated bacteria were isolated from dead mouse.

(d)

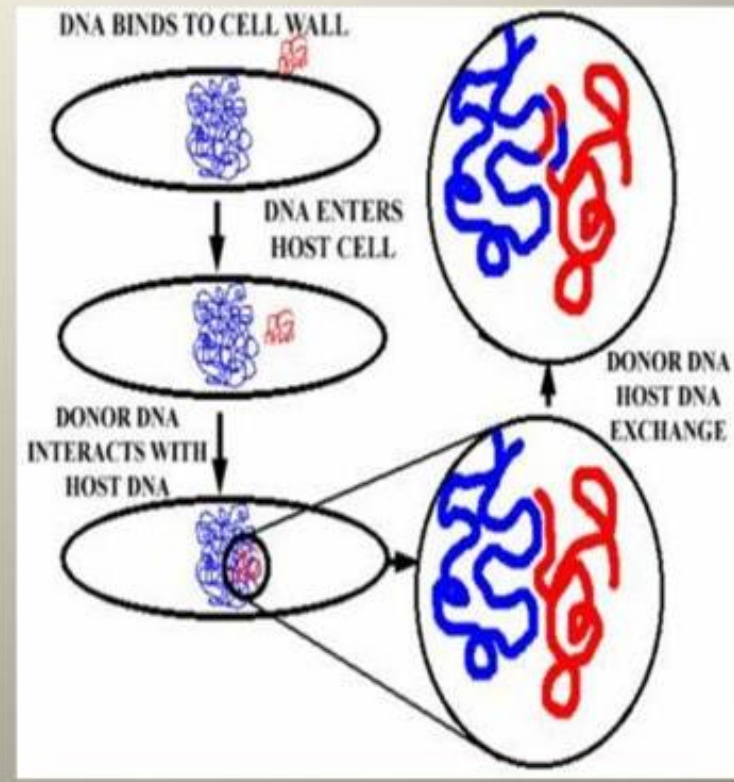
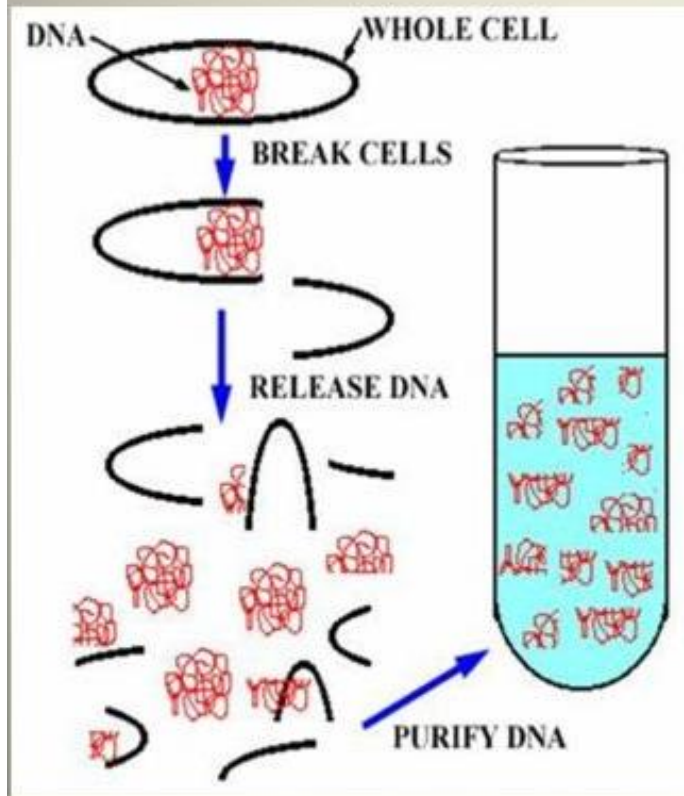
- 1930 жылдардың басында Генри Доусон және оның әріптестері трансформацияның *in vitro* жағдайында, бактерия жасушалары бар пробиркада жүзеге асыру мүмкін болатындығын көрсетті.
- 1933 жылға қарай Лионель Дж. Аллоуэй *in vitro* жағдайында тәжірибені жетілдірді.
- инактивтелген вирулентті бактериялардан бөлініп алынған еритін фильтрат, тірі вирулентті бактериялар сияқты тиімді трансформация құбылысын тудырды.
- Элловей және басқалары трансформацияны генетикалық процесс емес, жасушаның физиологиялық трансформациясы ретінде



Трансформация құбылысын көрсететін тәжірибе сызбасы

- 1944 ж., Эвери, Маклеод және Маккартидің нәтижелері жарияланды.
- Олар трансформациялайтын факторды бөліп алып, олардың ДНҚ молекулалары екенін көрсетті.

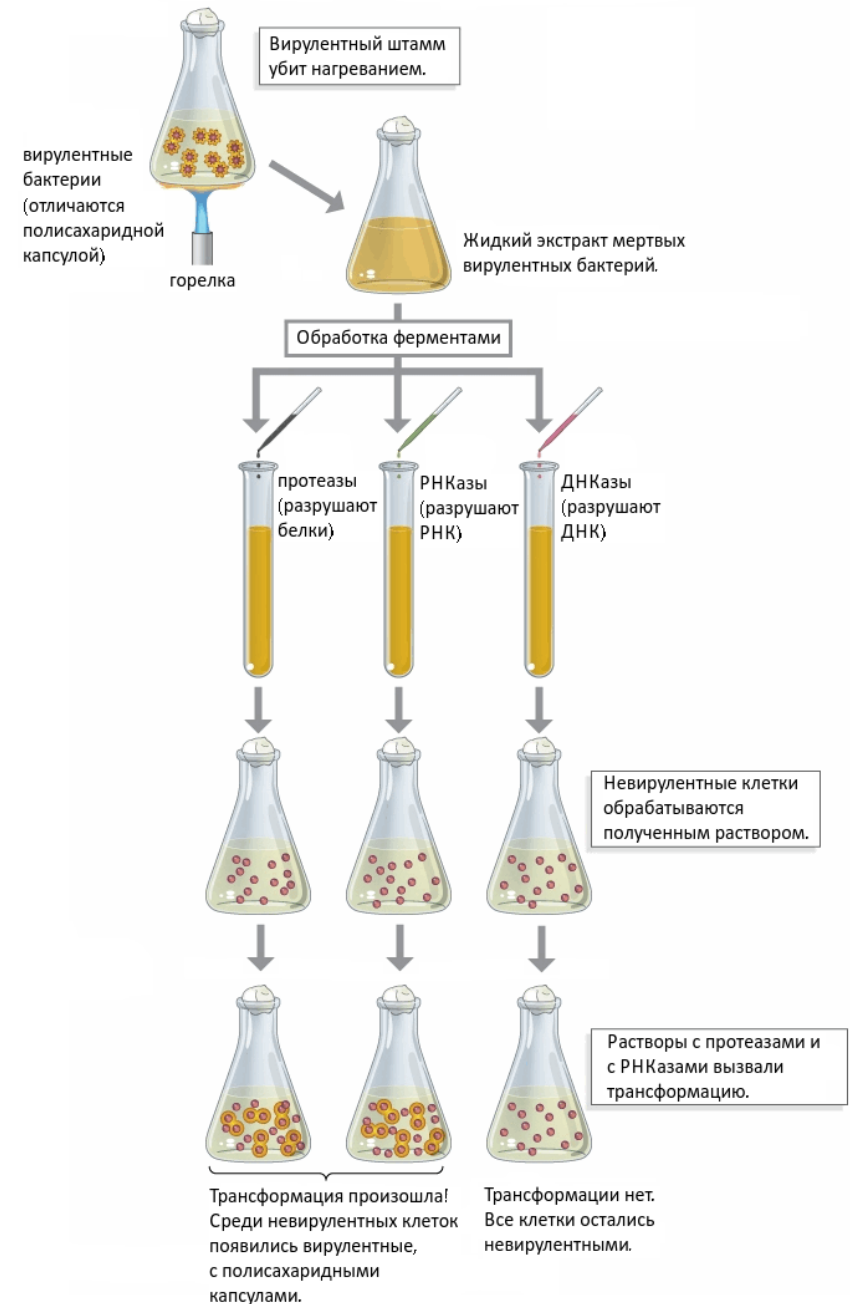
## Механизм трансформации





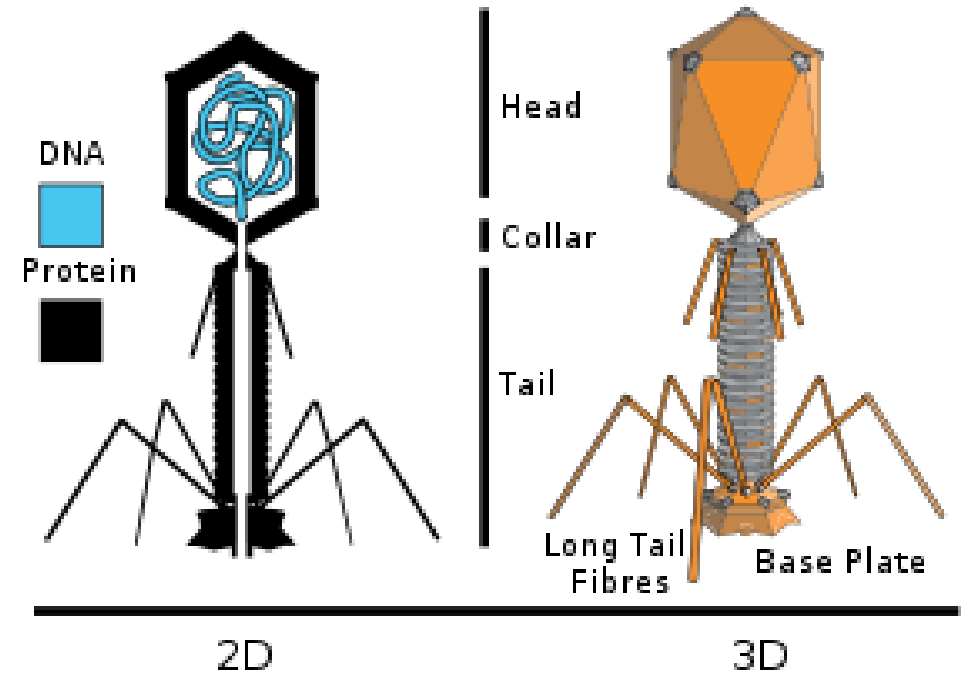
- Алдымен зерттеушілер вирулентті III S бактерияларының сұйық дақылдарын (50 - 70 L) өсірді.
- Содан кейін жасушалар центрифугалау арқылы тұндырып, қыздыру арқылы инактивтеді.
- Оларды ферментативті өңдеуден кейін патогенді емес IIR бактерияларын трансформациялау қабілетін сақтаған III S бактерияларының еритін фильтраты алынды.
- Фильтрат ақуыздарды бұзатын протеаза және РНҚ молекулаларын бұзатын рибонуклеаза ферментімен өңделді, сондықтан ақуыздар да, РНҚ да трансформациялаушы фактор бола алмады.
- Фильтратты дезоксирибонуклеазбен өңдегеннен кейін, фильтраттың трансформациялық белсенділігі жоғалды.
- Эвери және оның әріптестері трансформирлеуші фактор IIR типті жасушалармен өзара әрекеттеседі және осылайша III S жасушаларының капсулаларында болатын полисахаридтің синтезіне әкелетін бірқатар ферментативті реакцияларды үйлестіреді деп шешті.
- Трансформация кезінде келесі ұрпақтың жасушалары инкапсуляцияға ұшырайды.

### Схема опыта Эвери



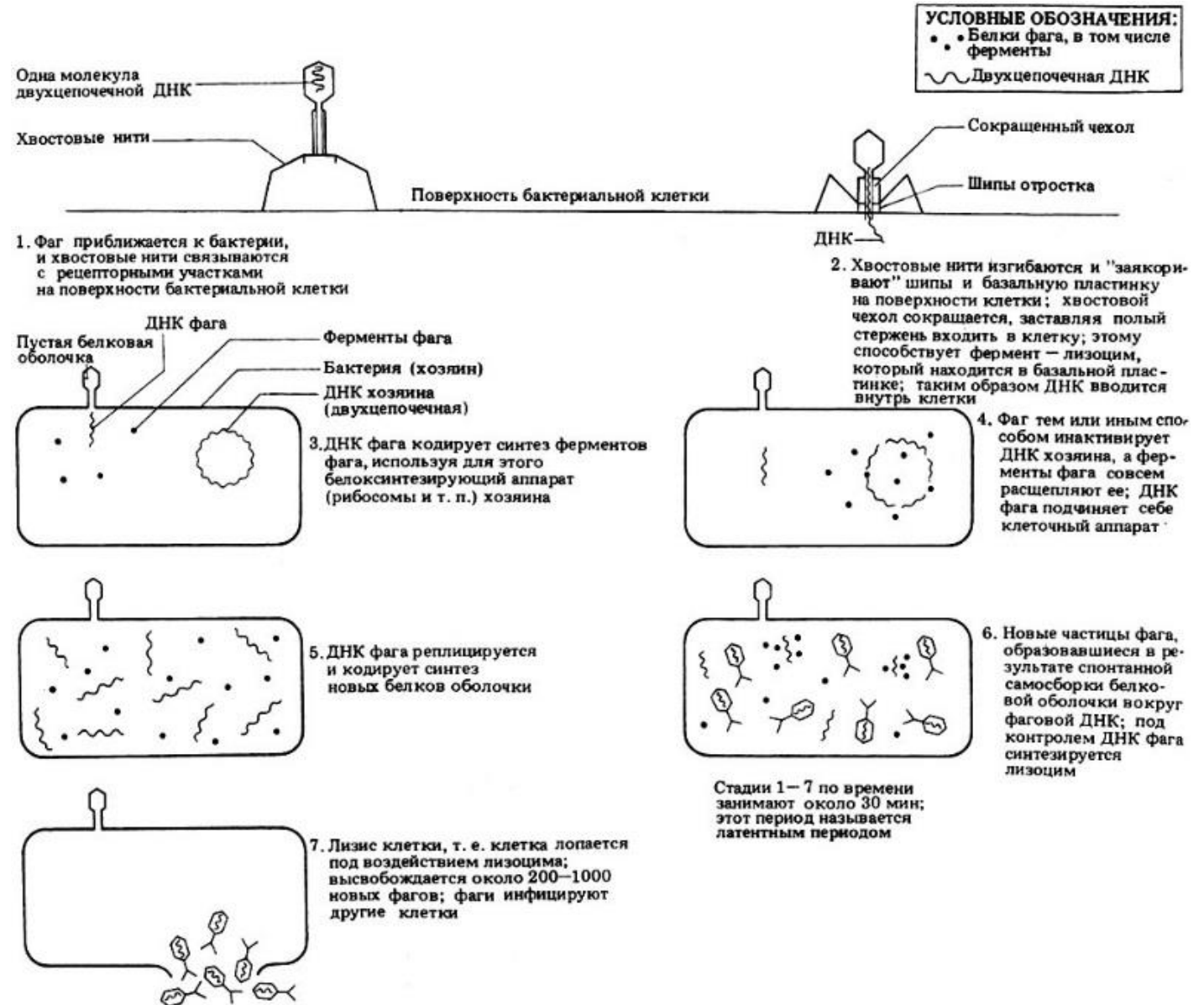
# Херши – Чейз эксперименті

- ДНҚ-ның генетикалық ақпарат тасымалдаушысы ретіндегі рөлінің басқа дәлелдері ішек таяқшасын зақымдайтын T2 бактериофагты зерттеу кезінде алынды.
- Бұл фагтың капсидінің белоктық басының ішінде ДНҚ молекуласы орналасқан.
- 1952 жылы кейбір T-бактериофагтардың, оның ішінде T2 фагтардың өмірлік циклі зерттелді.



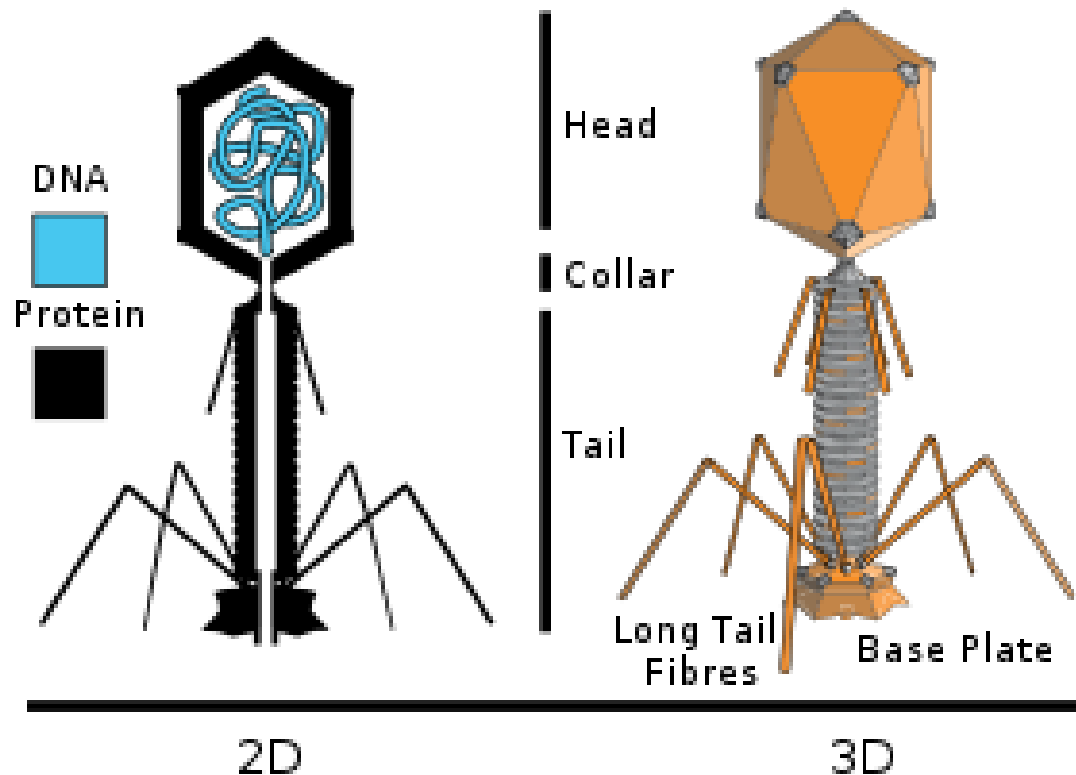
бактериофаг T2 структурасы.

1952 жылы Альфред Херши мен Марта Чейз фагтардың көбеюінде сондай-ақ ДНҚ-ның, фаг белоктарының ерекше рөл атқаратынын көрсетті.

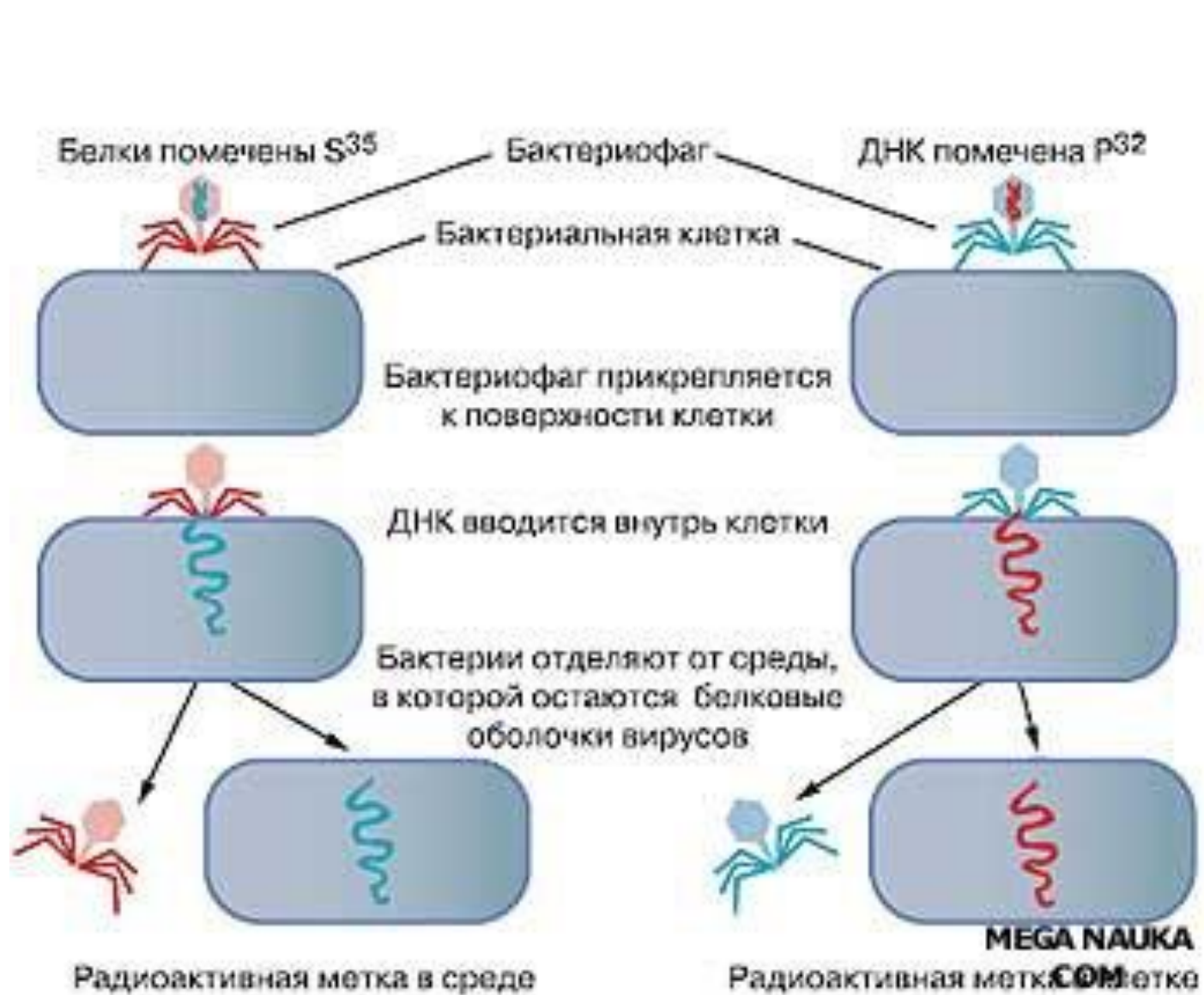


Алдыңғы зерттеулер көрсеткендей:

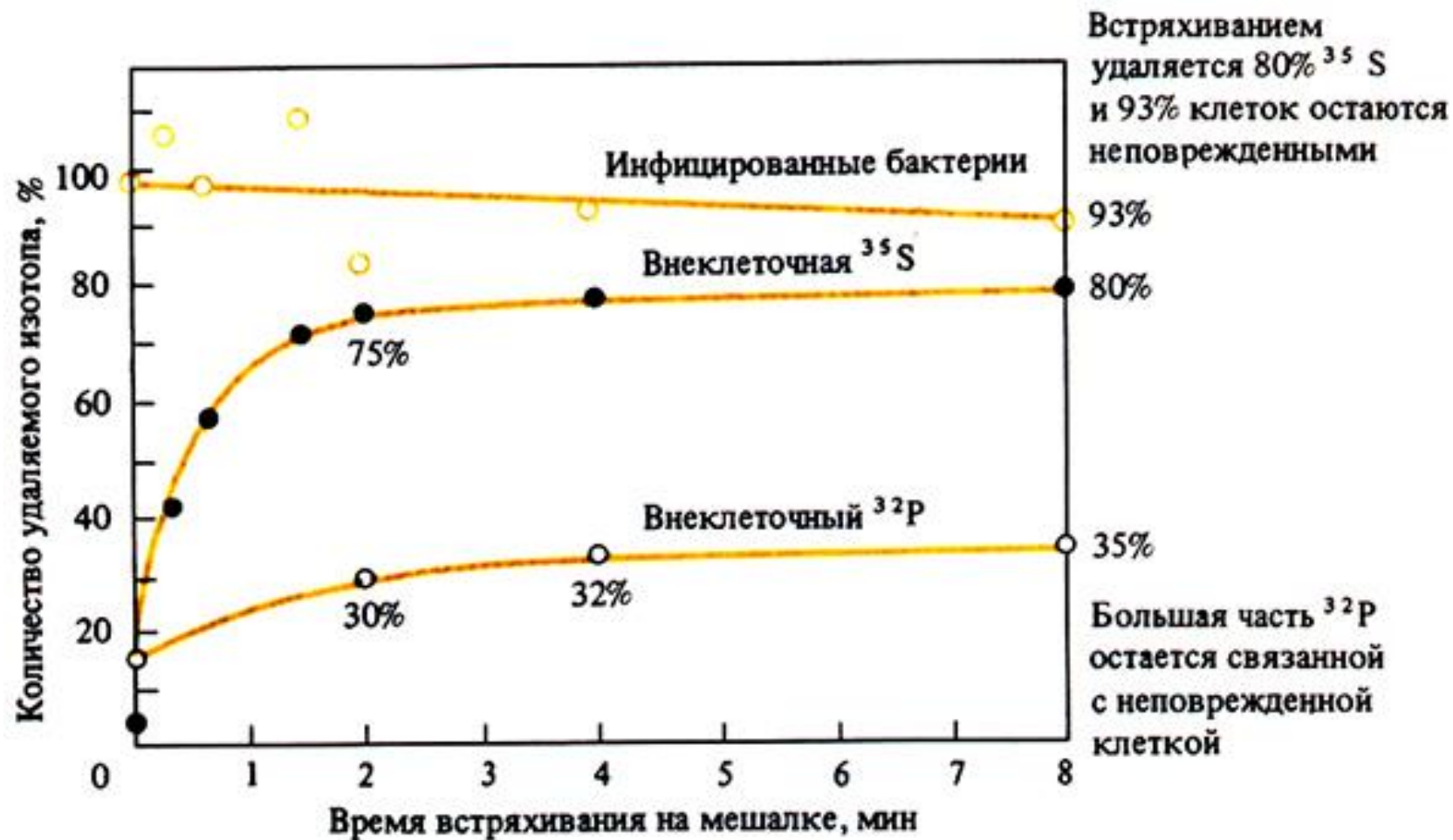
1. T2 фагтарын шамамен 50% ақуыз және 50% ДНҚ құрайды.
2. Жасуша инфекциясы бактерия қабырғасында фагтың құйрық фибриллалары көмегімен адсорбциялануынан басталады.
3. Бактерия жасушасының ішінде жаңа фаг бөлшектері пайда болады.



- Херши мен Чейз өз тәжірибесінде радиоизотопты әдісті қолданды.
- Олар ДНҚ-ны радиоактивті фосформен ( $^{32}\text{P}$ ), ал белоктарды радиоактивті күкіртпен ( $^{35}\text{S}$ ) таңбалады.
- Алдымен бактерия клеткалары қоректік ортада фосфор немесе күкірт изотопының қатысуымен өсірілді, содан кейін мұндай жасушалар T2 фагымен жұқтырылды.
- фагтардың ұрпақтарында немесе ДНҚ-сы таңбаланған вирустық бөлшектер немесе белоктық капсуласы таңбаланған болуы керек.
- Таңбаланған фагтар бактерия ккультурасынан оқшауланып, содан кейін әдеттегі ортада өсірілген бактериялық клеткаларды инфекциялауда қолданған.
- Нәтижесінде инфекцияланған бактериялар лизиске ұшырап,  $^{32}\text{P}$  таңбаланған, бірақ  $^{35}\text{S}$  емес фаг ұрпағын босап шықты.



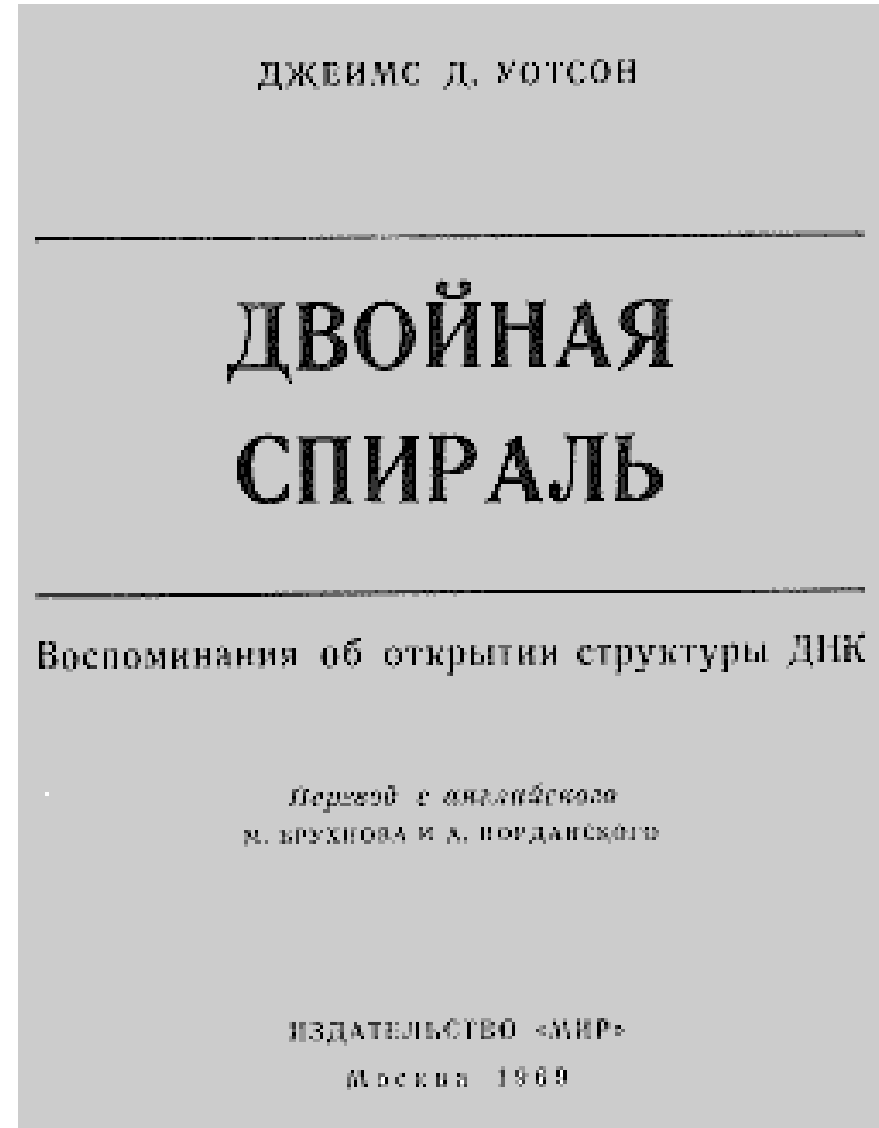
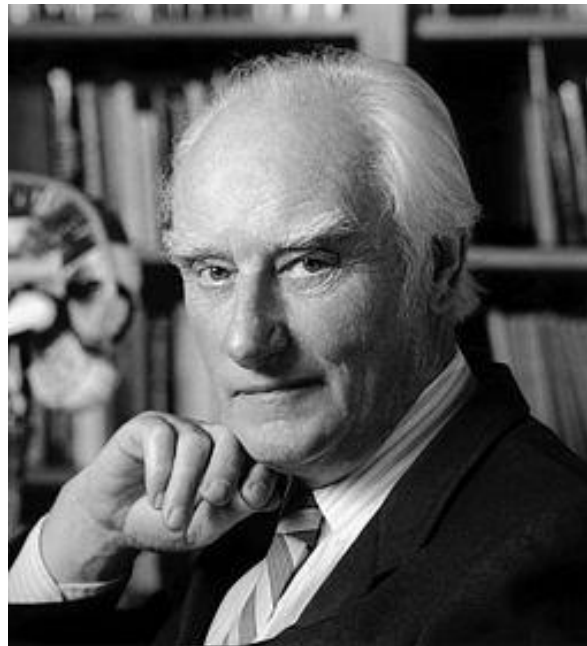
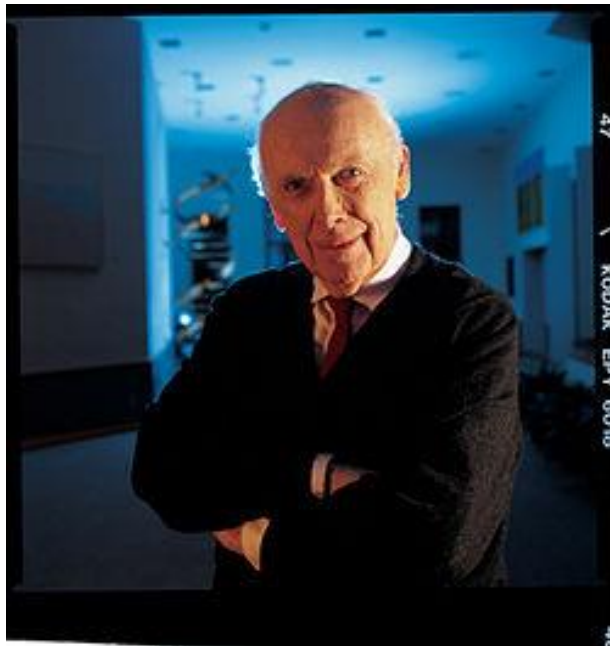
Херши мен Чейз тәжірибе нәтижесінде фаг ақуыздары бактерия қожайын клеткасынан тыс қалады және жаңа фаг бөлшектерінің пайда болуы үшін тек T2 фагының генетикалық материалы болып табылатын вирустық ДНҚ маңызды деген қорытындыға келді.



# ДНҚ құрылымдық анализі

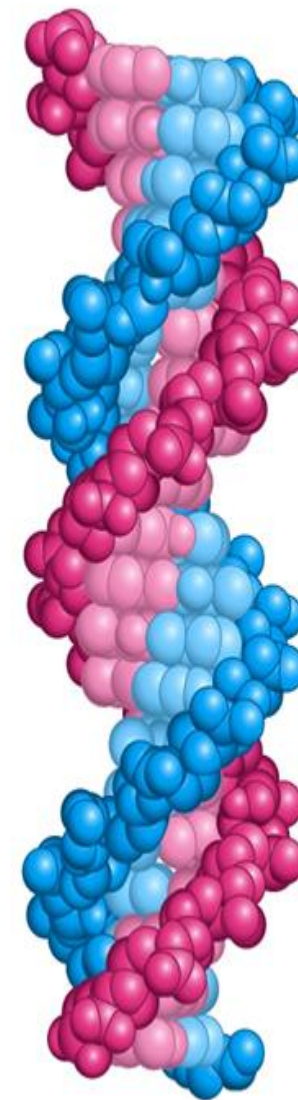
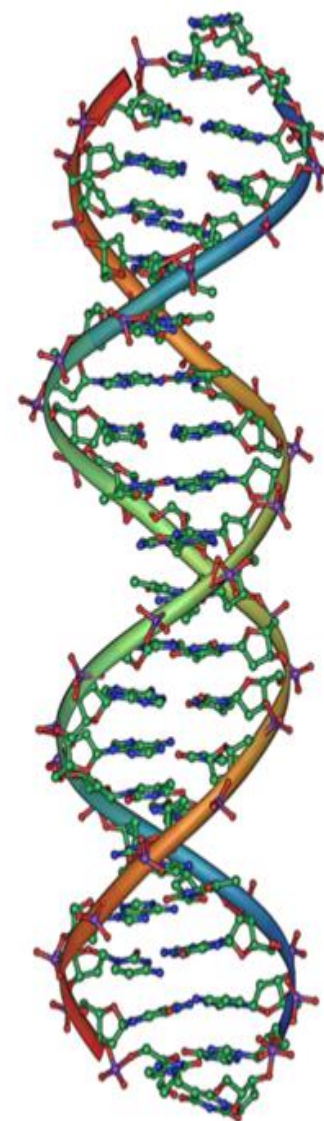
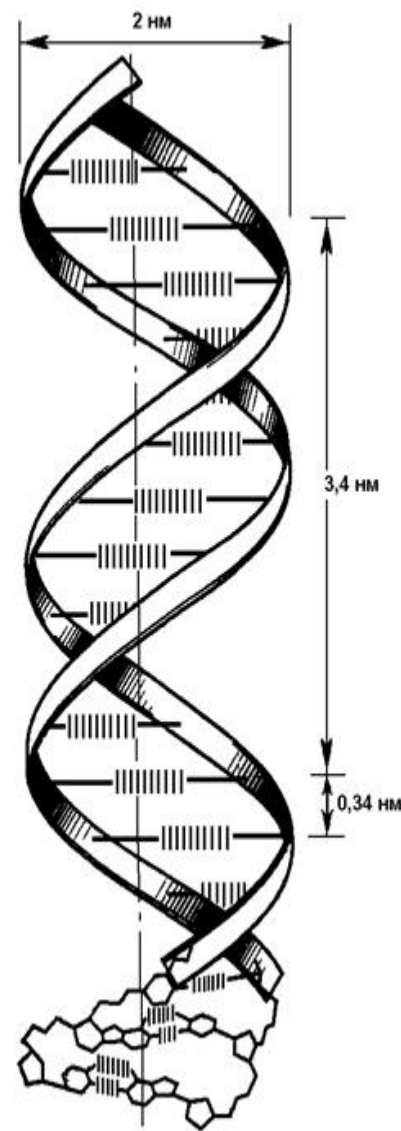
1953 ж. Джеймс Уотсон мен Фрэнсис Крик ДНҚ молекуласы екі тізбекті деп ұсынды.

*Nature.*



## • ДНК молекуласының құрылысы

- Уотсон мен Крик ДНК-ның 2 полинуклеотидтік тізбектеп тұратынын көрсетті. Әрбір тізбек оңға қарай спиральге оралған. Сондықтан қос спираль түзеді. Тізбектер антипараллельді, яғни қарама-қарсы бағытталған, бір тізбектің 3'-үшы екіншісінің 5' үшына қарама-қарсы орналасқан. Әрбір тізбек қантты-фосфатін қанқадан құралған, ал оның бойында спиральдің өсіне перпендикуляр түрде негіздер орналасады. Екі қарама-қарсы тізбектердің негіздері бір-бірімен сутектік байланыстармен байланысқан. Қантты-фосфатты қанқаның ара қашықтығы тұрақты және ол бір пурин мен бір пиримидин жұбының алып жатқан ара қашықтығына тең. Молекула өсінің бойында көршілес негіздер жұбы бір-бірінен 0,34 нм қашықтықта орналасқан. Спиральдің толық айналымы 3,4 нм, яғни 10 жұп негіздерге сәйкес келеді. Спиральдің екі тізбегі бір-біріне комплементарлы. Уотсон мен Криктің жасаған қорытындылары молекулалық биологияның дамуын түрткі болды. 1962 ж Уотсон мен Крик және Уилкинс Нобель сыйлығын иеленді





- 1962 ж. Арбер рестрикциялау- модификациялау механизмін ашты
- 1966 ж. Нирснберг, Очоа, Корона генетикалық кодты ашты.
- 1967 ж. Геллерт ДНҚ фрагменттерін біріктіруде қолданылатын фермент - ДНҚ-лигазаны ашты.
- 1970 ж. Г. Смит және В. Арбер рестриктаза бөліп алды.
- 1972 ж. П. Берг С. Коэн, Х. Бойер рекомбинанты *in vitro* ДНК алды, ол SV-40 маймыл ДНК-ның бөліктерінен және *E. coli* мен  $\lambda$  фаг бактерияларының ДНК сынан құрастырылған еді.
- 1975. ж. Ф. Сэнгер ДНК анықтаудың тікелей әдісін ұсынды.
- 1978 ж. Генді-инженериялық инсулин жасалды, ол кәдімгі ақуызға өте ұқсас болды.