



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

ДӘРІС 1. МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ ПӘНІНЕ КІРІСПЕ

Лектор: PhD, қауымдастырылған
профессор Тайпақова С.М.

Негізгі қарастырылатын сұрақтар:

1. Кіріспе. Молекулалық биология пәні
2. Молекулалық биологияның объектілері
3. Молекулалық биологияның даму тарихы
4. Молекулалық биологияның зерттеу әдістері
5. ДНҚ генетикалық ақпаратты сақтаушы
 - 4.1 Гриффит эксперименті
 - 4.2 Эвери, Маклеода и Маккарти эксперименті
 - 4.3 Херши мен Чейз эксперименті

Молекулалық биология пәні

- Молекулалық биология — тіршілік құбылыстарының молекулалық негіздері туралы ғылым; генетика, биохимия және биофизика ғылымдарымен тығыз байланысты.
- Медицина (вирусология, иммунология, онкология, т.б.), ауыл шаруашылығы (жануарлар мен өсімдіктердің тұқым қуалау қасиеттерін белгілі бағытта қадағалай отырып зерттеу) және биотехнология (гендік инженерия, клеткалық инженерия) салаларының теориялық негізі.
- Негізгі мақсаты – биологиялық макромолекулалар (ақуыздар, нуклеин қышқылдары) құрылымы мен қызметін барлық деңгейде зерттеу.
- Молекулалық биология ғылымы бірнеше бөлімдерге бөлінеді:
- геномика — тұқым қуалаушылықтың материалдық негіздері-ДНК, РНК молекулаларының құрылыстарын, қызметтерін зерттейді;
- протеомика — жасуша ақуыздарының құрылысын, қызметтерін зерттейтін бөлім.

Молекулалық биологияның объектілері

- жасушалық деңгейден және одан төмен биологиялық түзілістер: жасуша органоидтары, оқшауланған жасуша ядролары, митохондриялар, рибосомалар, хромосомалар, жасуша мембраналары;
- Жанды және жансыз табиғат шекарасында орналасқан жүйелер – вирустар, соның ішінде бактериофагтар;
- тірі заттың ең маңызды компоненттерінің макромолекулалары – белоктар, және нуклеин қышқылдары.

Молекулалық биологияның даму тарихы

- **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 негізделе отырып ДНҚ-ның қос спиральді моделін ұсынды.



Фридрих Мйшер

13.08.1844, Базель - 26.08.1895, Давос
швейцариялық физиолог, гистолог
және биолог.

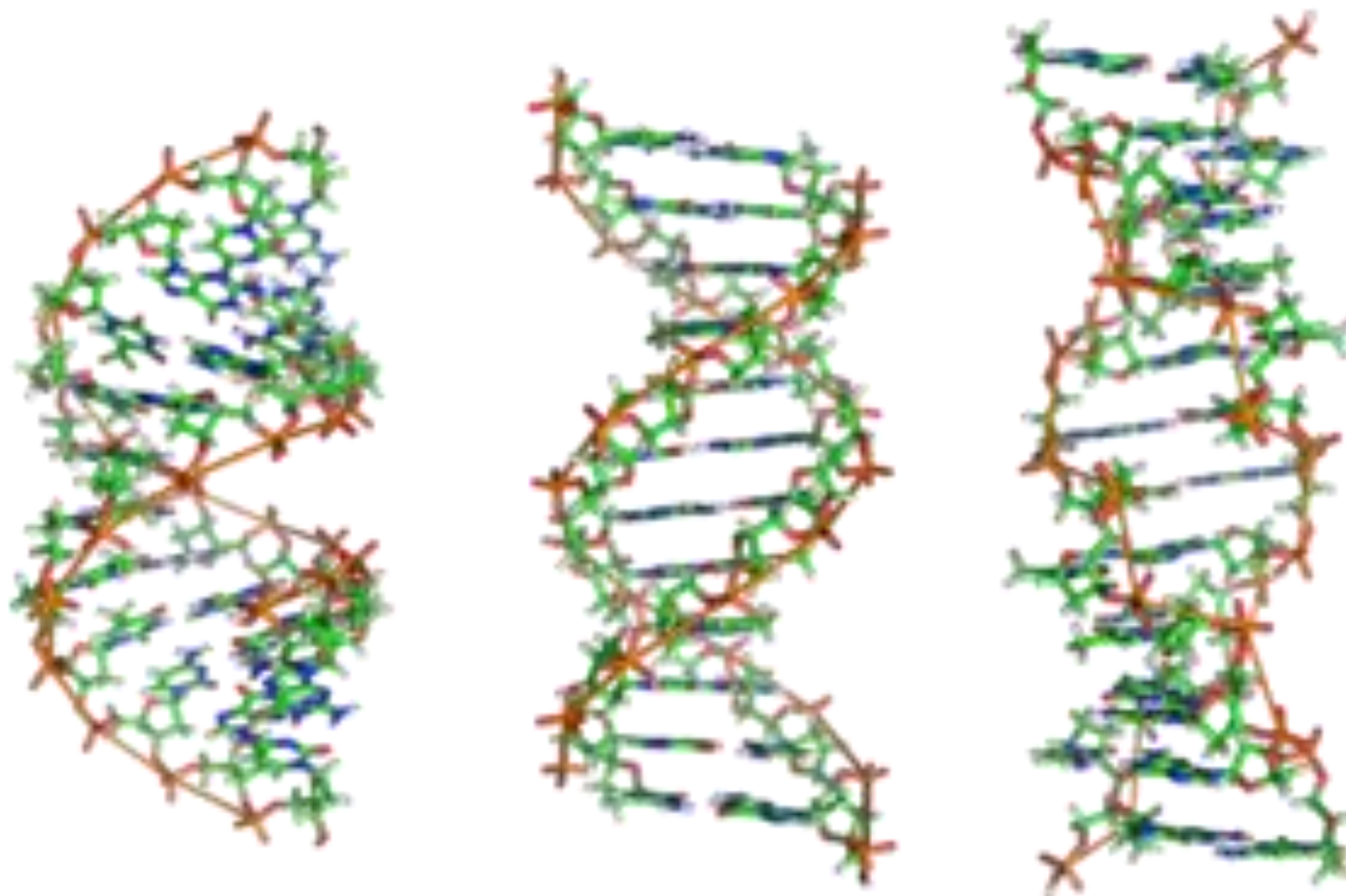
Молекулалық биология әдістері

- Молекулалық биология өз алдына дербес ғылым ретінде ХХ -ғасырдың 40 - 50 жылдары бөлініп шықты. Дербес ғылым ретінде қалыптасуы 1953 ж Ф.Крик және Дж. Уотсон ДНҚ қос спиральді құрылысын анықтап, оның моделін құрастырғаннан басталды.
- Ол әртүрлі ғылымдардың (биология, химия, физика т.с.с.) түйісінде пайда болып, аталған және басқа да ғылымдардың жетістіктерін, зерттеу әдістерін кеңінен пайдаланып талдау жасайды.
- Микроскопия
- Рентгендік кристаллография
- Радиоактивтік изотоптар
- Хроматография
- Электрофорез
- Гибридизация
- Секвенирлеу
- Полимеразды тізбекті реакция (ПТР) әдісі
- Химиялық-ферменттік гендердің синтезі
- Центрифугалау
- Спектрометрия

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

Гриффит тәжірибесі

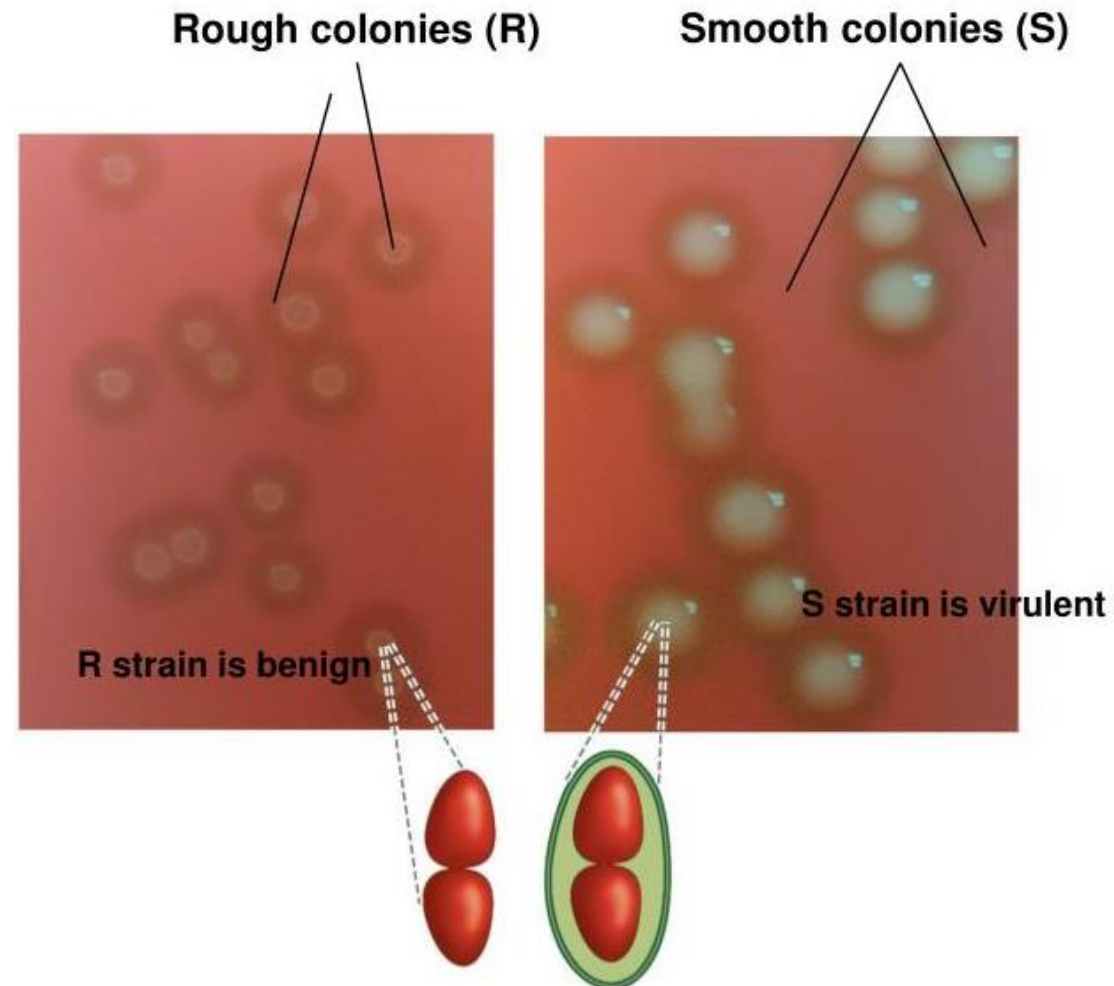
- 1927 ж. Ұлыбританияның Денсаулық сақтау министрлігінің қызметкері Фредерик Гриффит *Diplococcus pneumoniae* (*Streptococcus pneumoniae*) бактериясының түрлі штамдарымен тәжірибе жүргізді.
- Еуропада тұмау пандемиясына қарсы ем іздеу барысында Гриффит пневмококктың екі штамын зерттеді:
- вирулентті 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**)

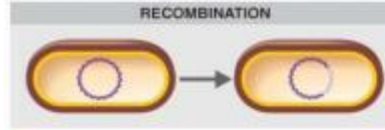
Авирулентті бактерияларда - полисахаридті капсуласы жоқ кедір-бұдырлы (**R**).



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!

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.

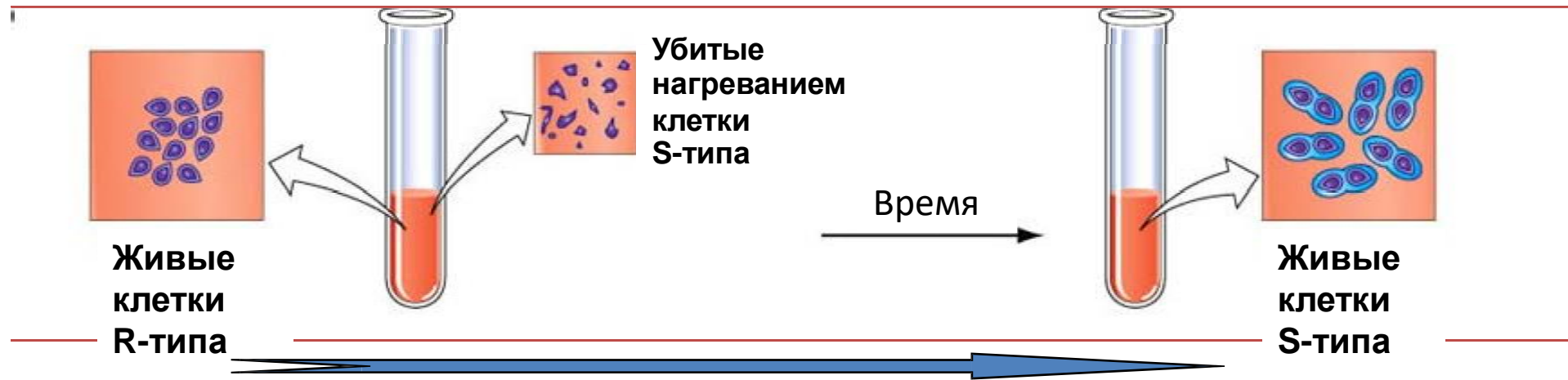


2 Mouse died.



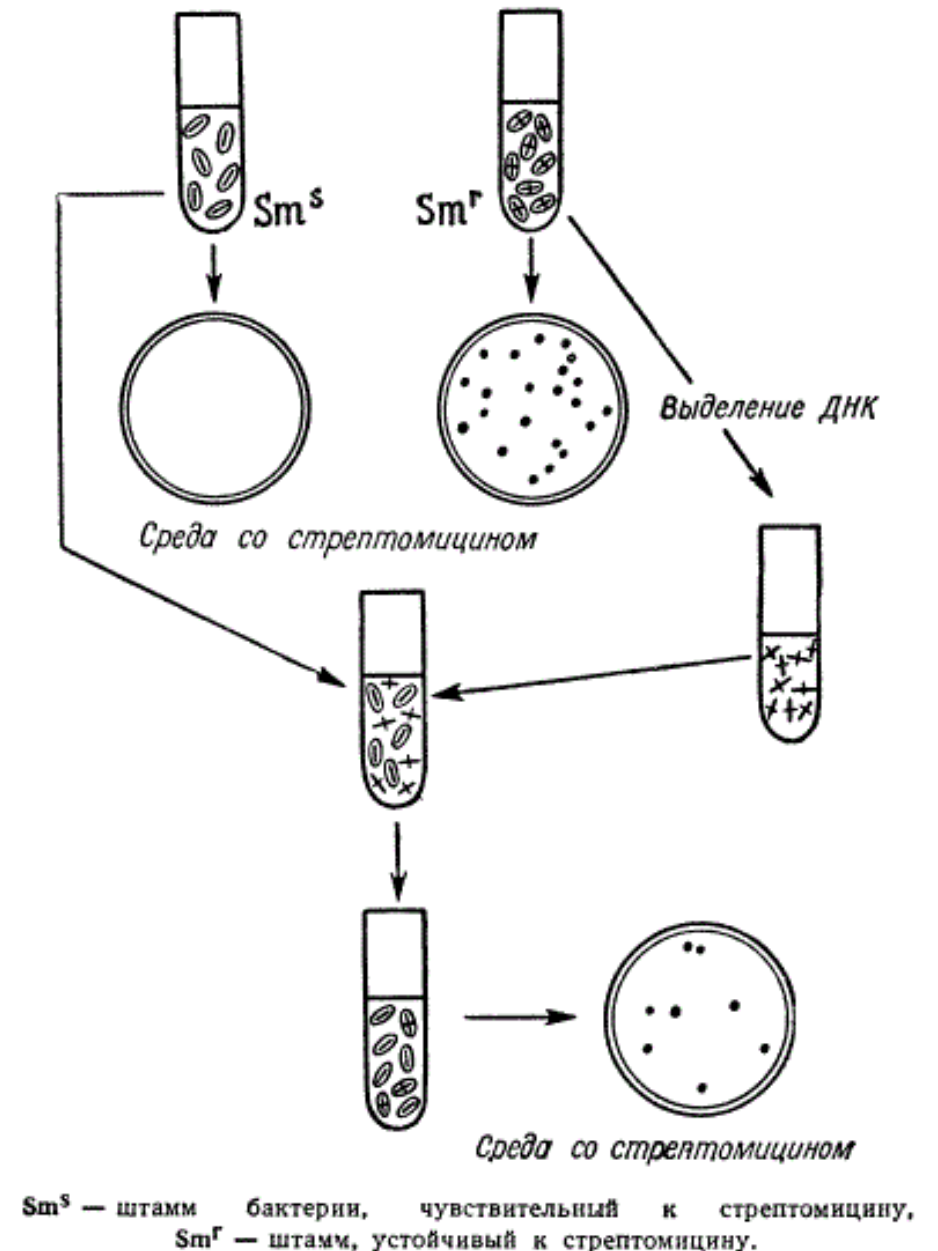
3 Colonies of encapsulated bacteria were isolated from dead mouse.

(d)



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.

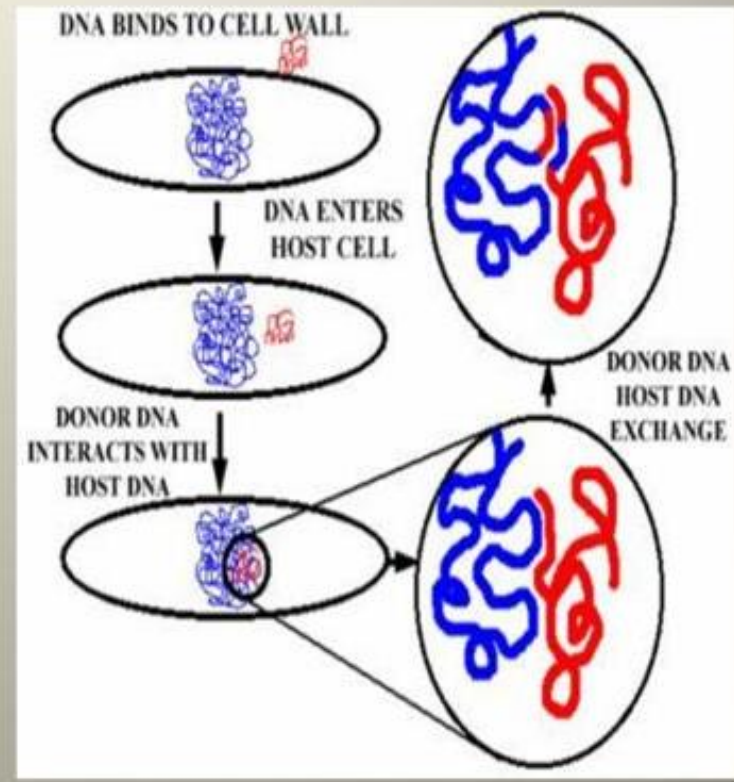
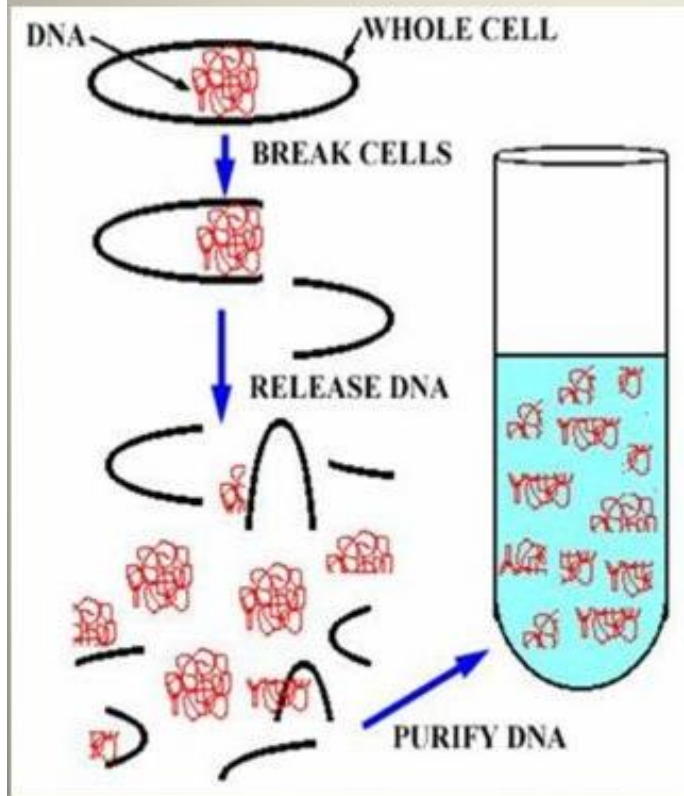
- 1930 жылдардың басында Генри Доусон және оның әріптестері трансформацияның *in vitro* жағдайында, бактерия жасушалары бар пробиркада жүзеге асыру мүмкін болатындығын көрсетті.
- 1933 жылға қарай Лионель Дж. Аллоуэй *in vitro* жағдайында тәжірибені жетілдірді.
- инактивтелген вирулентті бактериялардан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



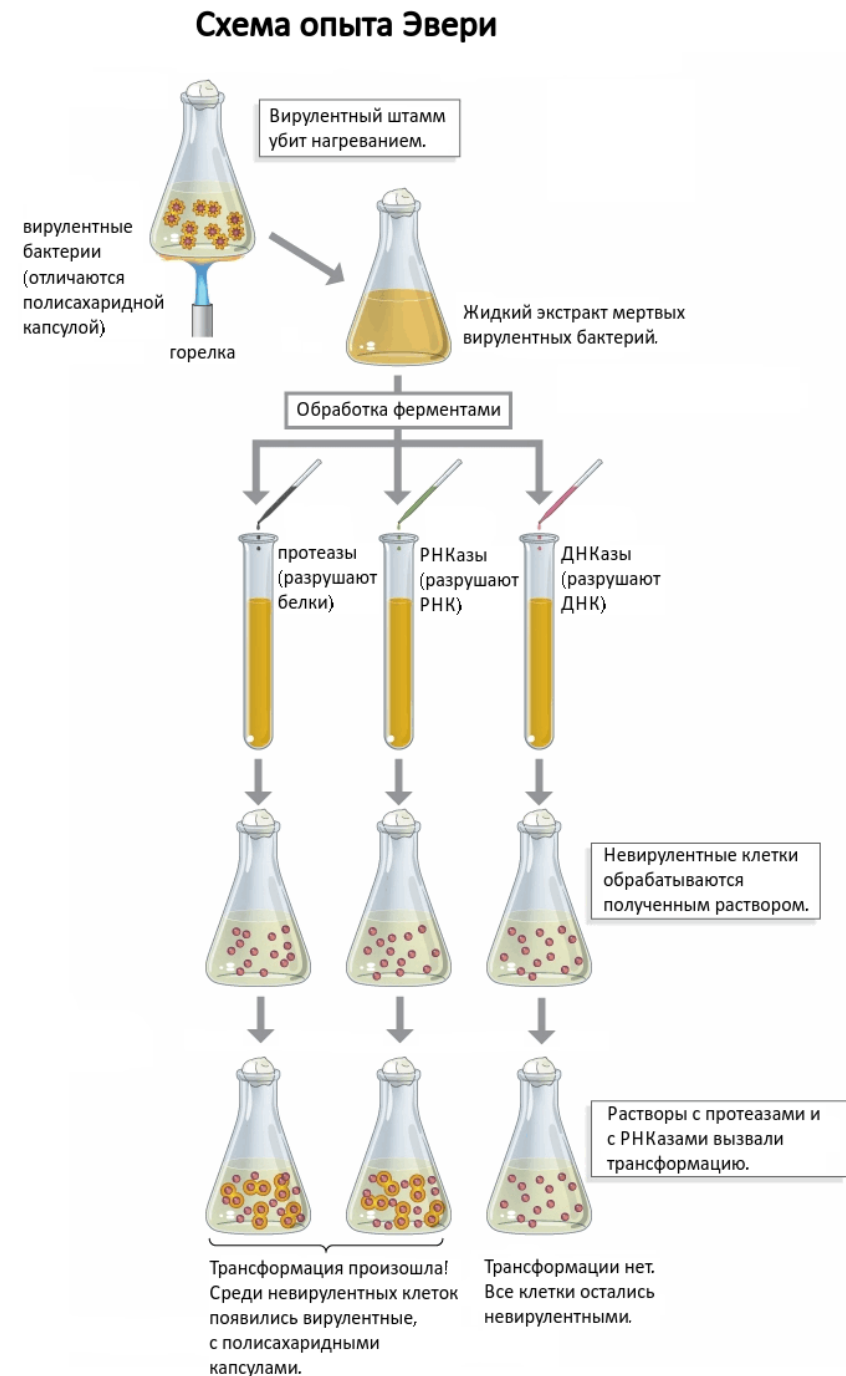
Трансформация құбылысын көрсететін тәжірибе сызбасы

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

Механизм трансформации

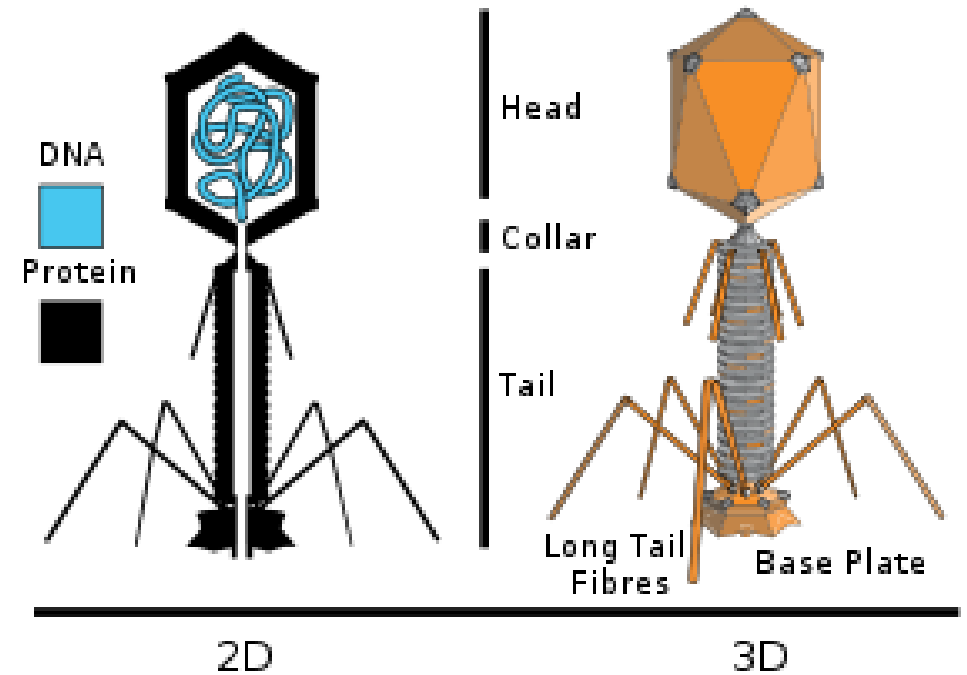


- Алдымен зерттеушілер вирулентті IIIС бактерияларының сұйық дақылдарын (50 - 70 L) өсірді.
- Содан кейін жасушалар центрифугалау арқылы тұндырып, қыздыру арқылы инактивтеді.
- Оларды ферментативті өңдеуден кейін патогенді емес IIР бактерияларын трансформациялау қабілетін сақтаған IIIС бактерияларының 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 IIР типті жасушалармен өзара әрекеттеседі және осылайша IIIС жасушаларының капсулаларында болатын полисахаридтің синтезіне әкелетін бірқатар ферментативті реакцияларды үйлестіреді деп шешті.
- Трансформация кезінде келесі ұрпақтың жасушалары инкапсуляцияға ұшырайды.



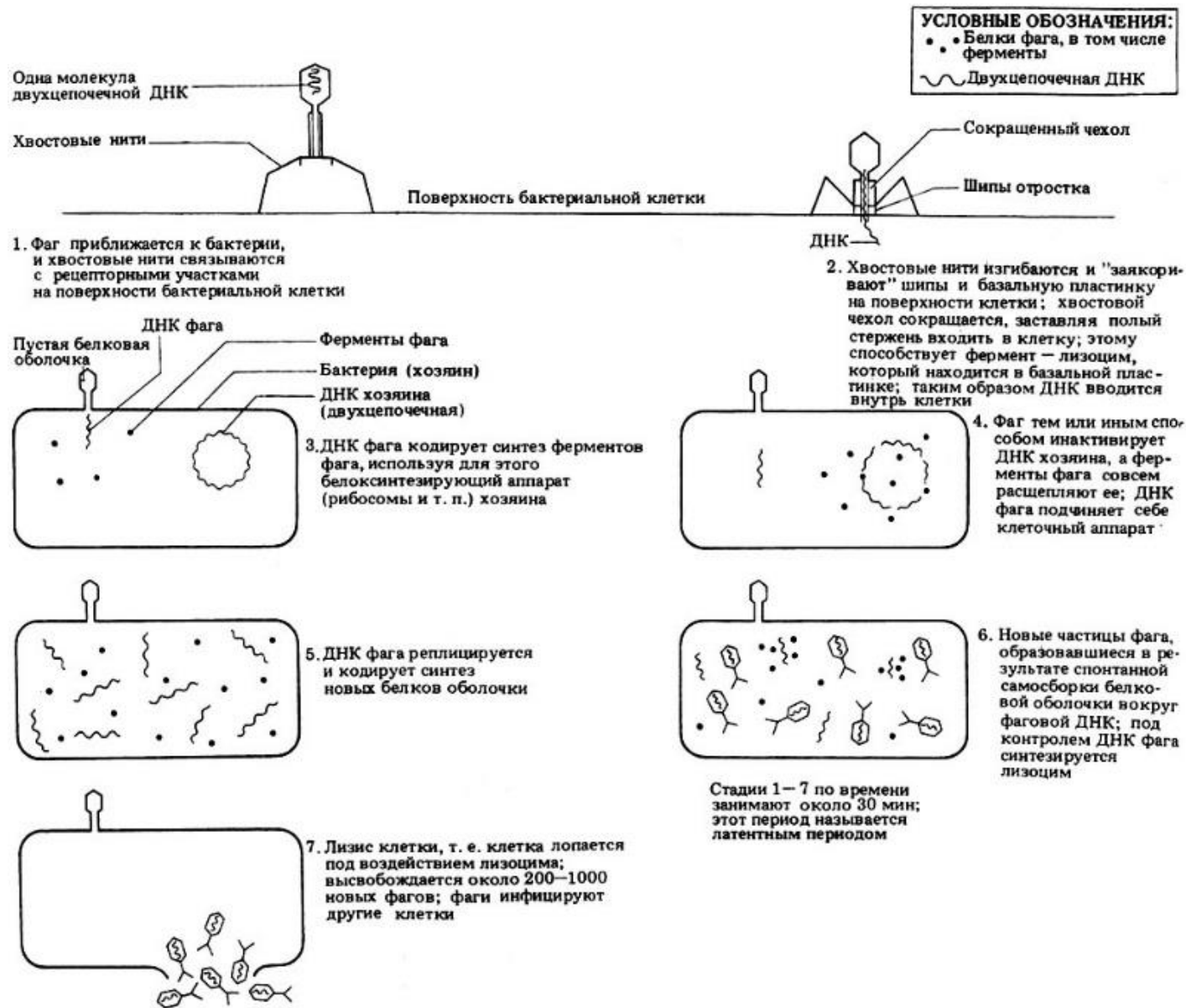
Херши-Чейз эксперименті

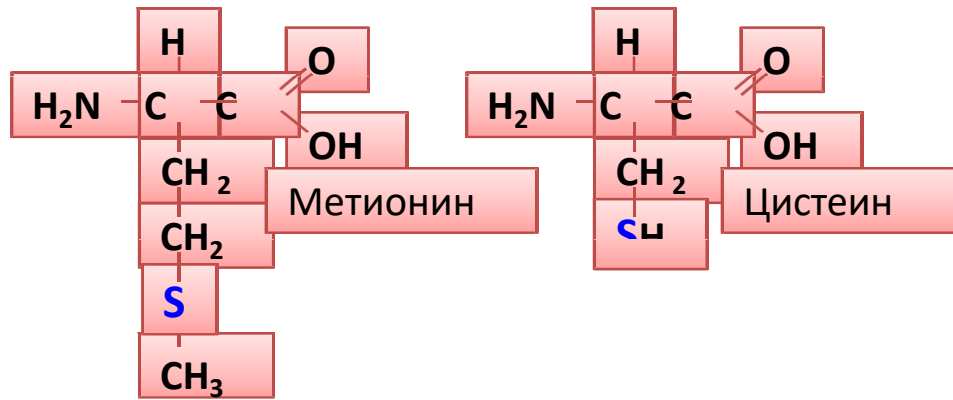
- ДНҚ-ның генетикалық ақпарат тасымалдаушысы ретіндегі рөлінің басқа дәлелдері ішек таяқшасын зақымдайтын T2 бактериофагты зерттеу кезінде алынды.
- Бұл фагтың капсидінің белоктық басының ішінде ДНҚ молекуласы орналасқан.
- 1952 жылы кейбір T-бактериофагтардың, оның ішінде T2 фагтардың өмірлік циклі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



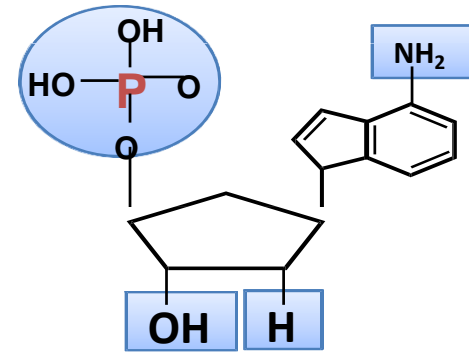
бактериофаг T2 структурасы.

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

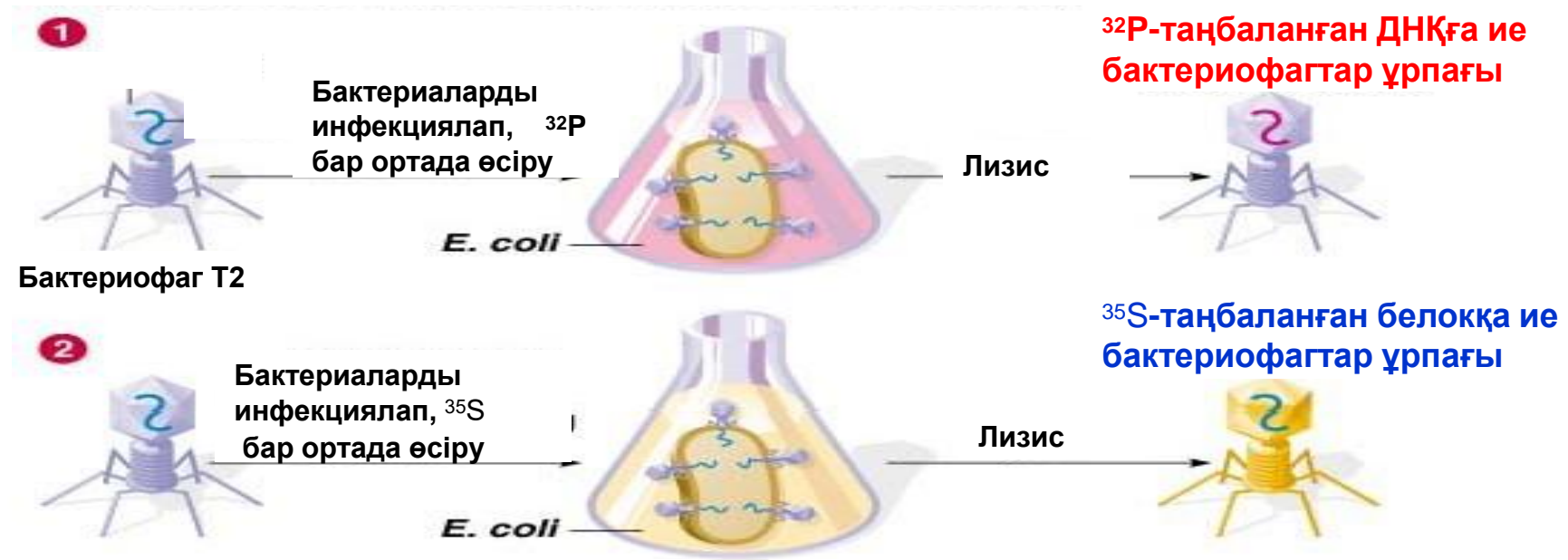




Кейбір аминқышқылдары бүйірлік тобында күкіртке ие, сондықтан белоктар радиоактивті күкіртпен ^{35}S таңбаланады.

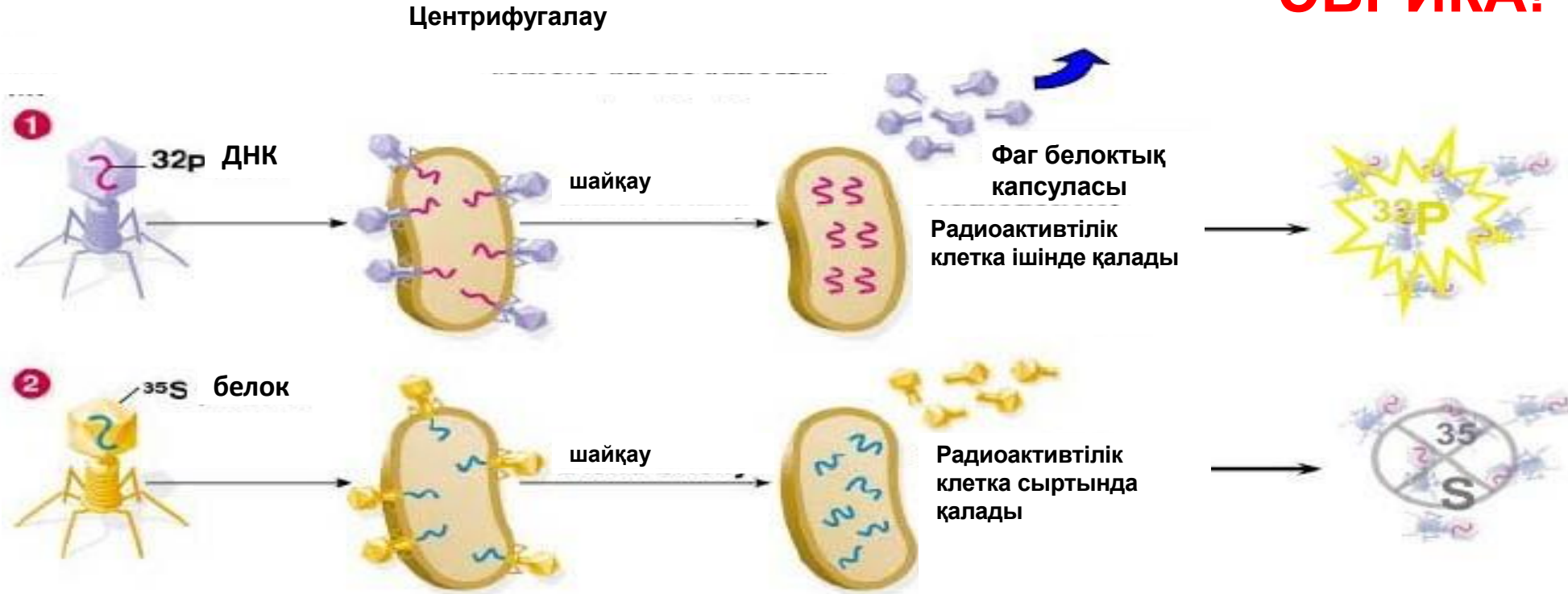


Нуклеотидтер құрамына фосфаттық топ кіреді, сондықтан ДНҚ радиоактивті фосформен ^{32}P таңбаланады.



- Херши мен Чейз өз тәжірибесінде радиоизотопты әдісті қолданды.
- Олар ДНҚ-ны радиоактивті фосформен (^{32}P), ал белоктарды радиоактивті күкіртпен (^{35}S) таңбалады.
- Алдымен бактерия клеткалары қоректік ортада фосфор немесе күкірт изотопының қатысуымен өсірілді, содан кейін мұндай жасушалар T2 фагымен жұқтырылды.

ЭВРИКА!



- 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}P таңбаланған, бірақ ^{35}S емес фаг ұрпағы босап шықты.

Некоторые из вновь образованных
фаговых частиц содержат в
хромосомах ^{32}P , но ни одна
не содержит в
оболочке ^{35}S

Белковые оболочки
специфически метятся ^{35}S

ДНК метится ^{32}P

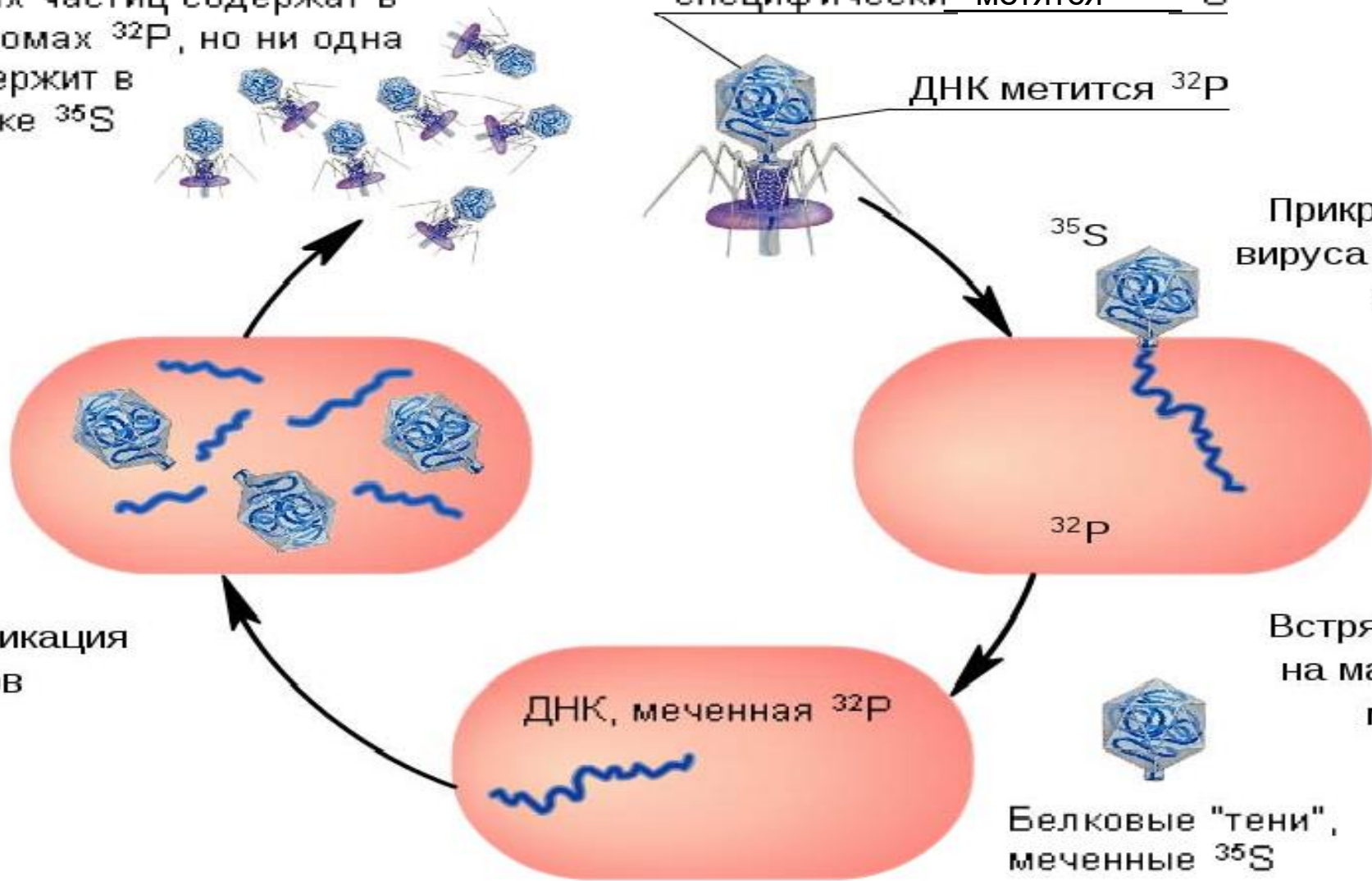
Прикрепление
вируса к клетке
хозяина

Репликация
фагов

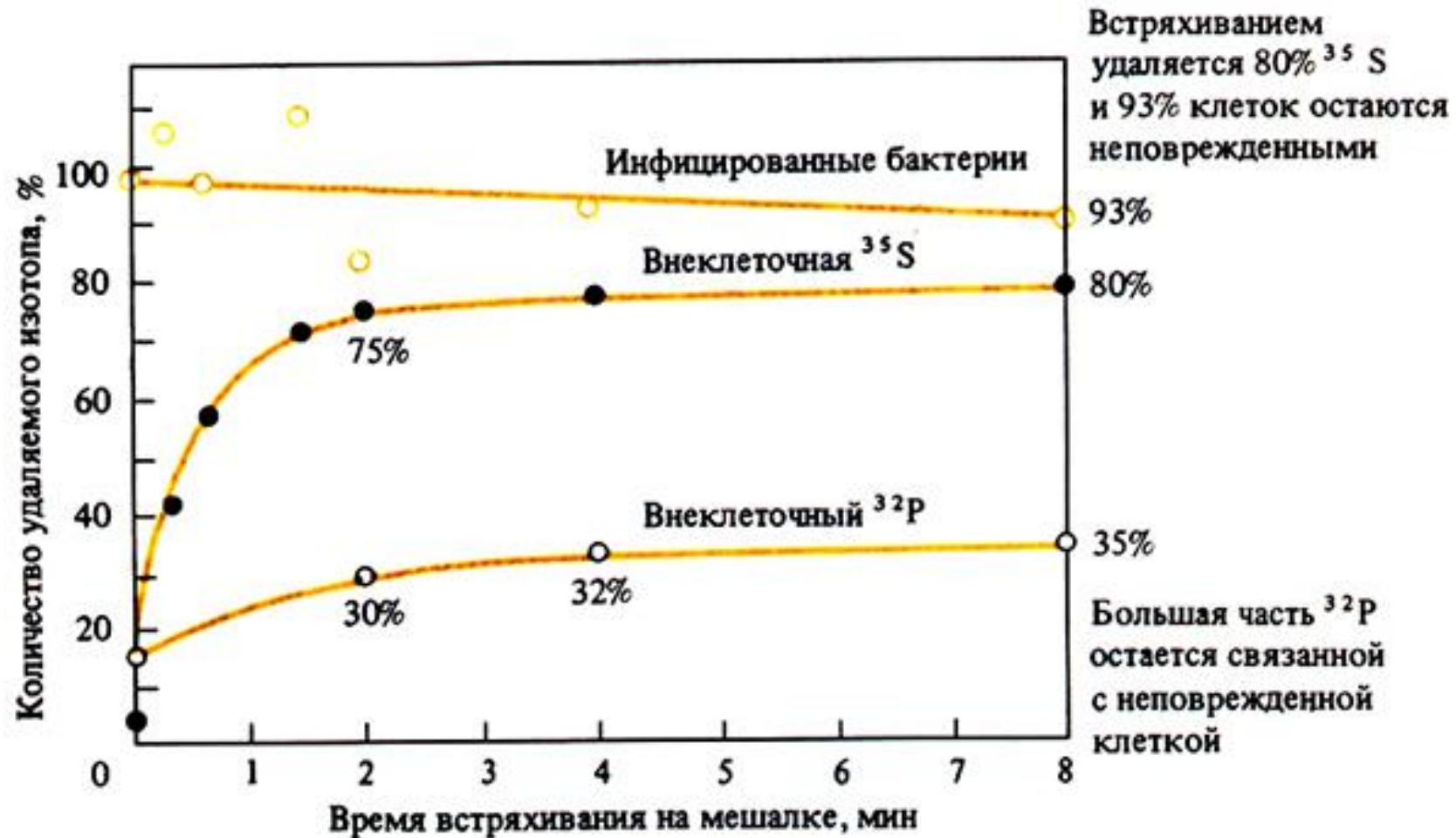
Встряхивание
на магнитной
мешалке

ДНК, меченная ^{32}P

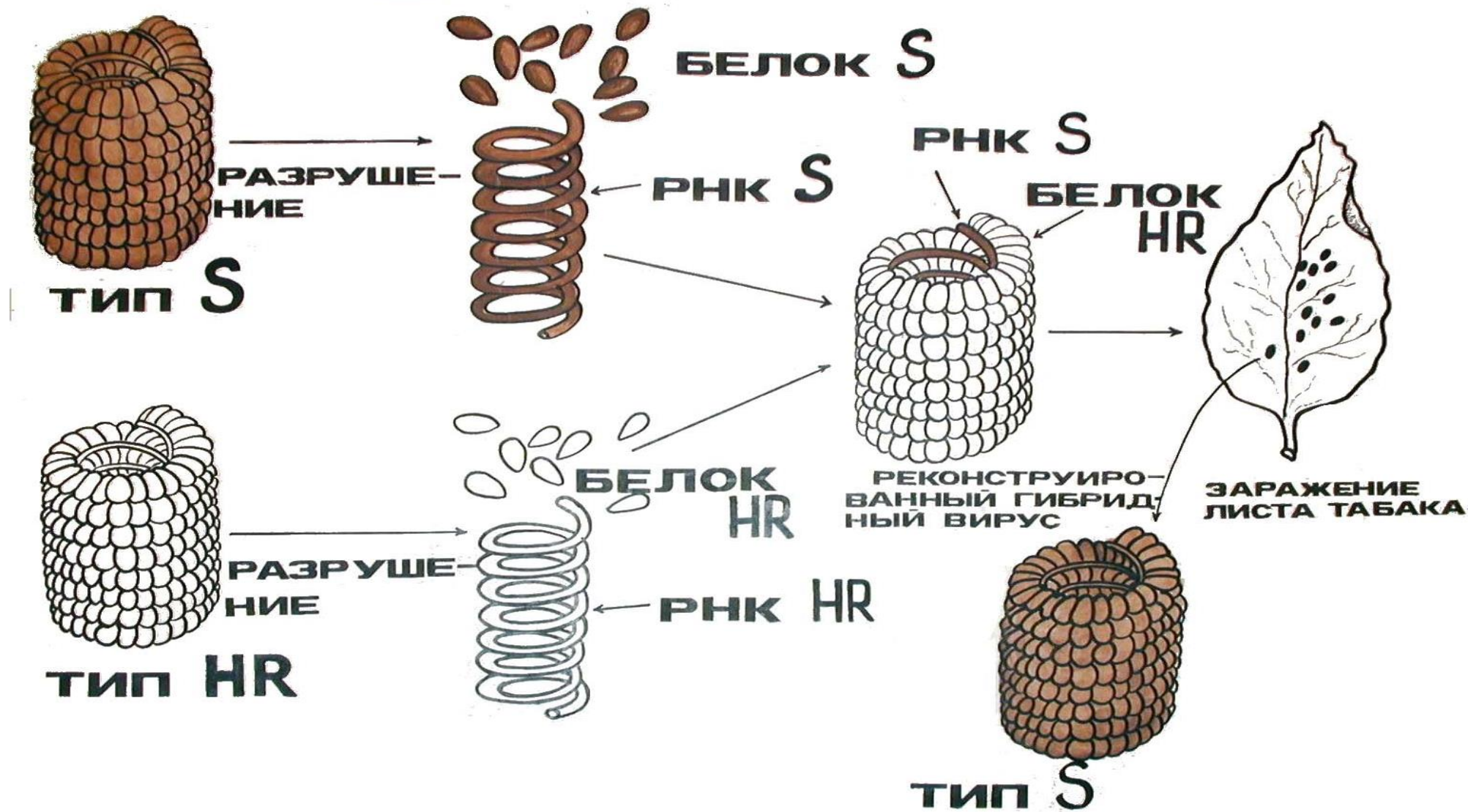
Белковые "тени",
меченные ^{35}S



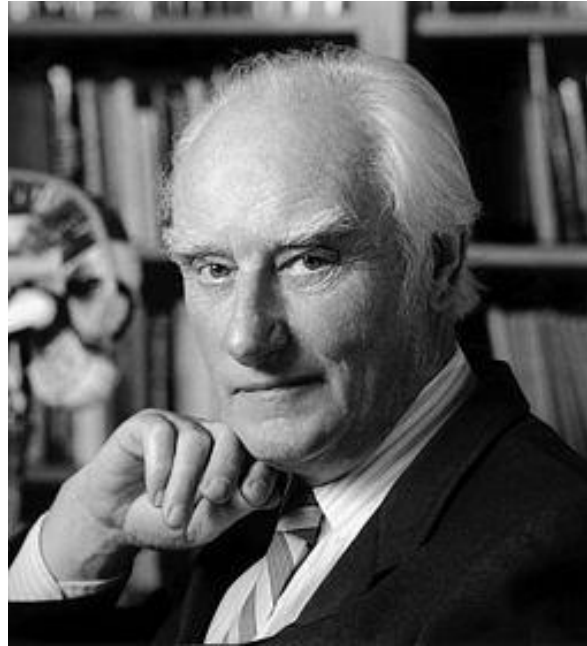
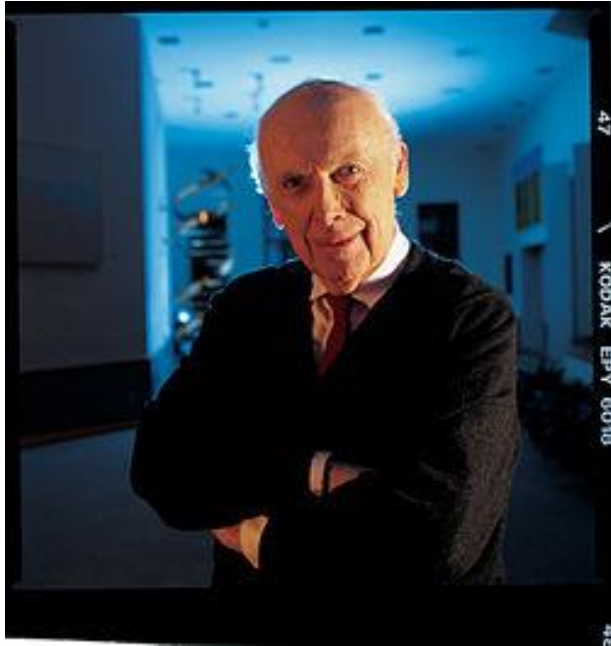
Херши мен Чейз тәжірибе нәтижесінде фаг ақуыздары бактерия қожайын клеткасынан тыс қалады және жаңа фаг бөлшектерінің пайда болуы үшін тек T2 фагының генетикалық материалы болып табылатын вирустық ДНҚ маңызды деген қорытындыға келді.



Х.Л.Френкель-Конрат пен П.Уильямстың РНК-ның генетикалық рөлін дәлелдеуі, 1956 ж.

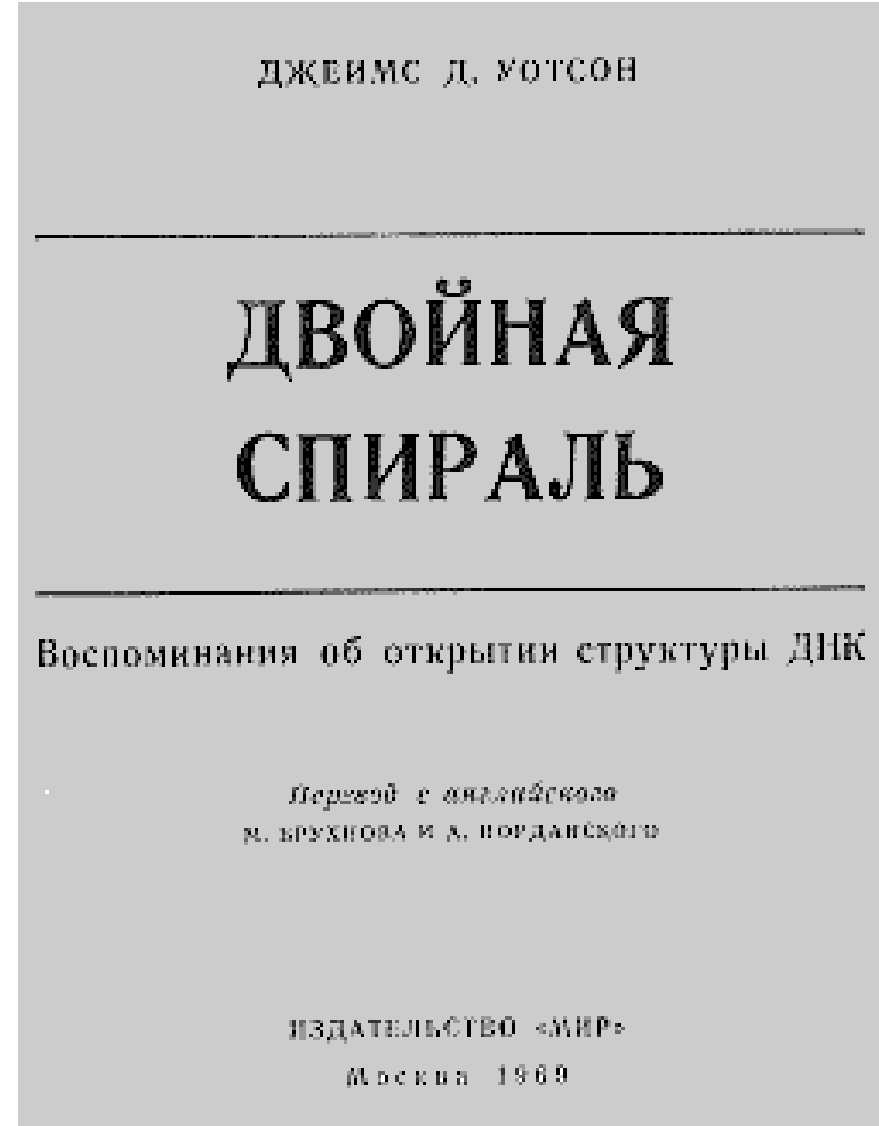


ДНҚ құрылымдық анализі



1953 ж. Джеймс Уотсон мен Фрэнсис Крик ДНҚ молекуласы екі тізбекті сақиналы 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 пиримидии жұбының алып жатқан ара қашықтығына тән. Молекула өсінің бойында көршілес негіздер жұбы бір-бірін 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

