



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

Молекулалық генетика

ДӘРІС 3. ДНҚ МОЛЕКУЛАСЫНЫҢ МАКРОМОЛЕКУЛАЛЫҚ
СТРУКТУРАСЫ. ҚОС СПИРАЛЬДЫ ДНҚ-НЫҢ УОТСОН ЖӘНЕ КРИК
МОДЕЛІ

Лектор: PhD, қауымдастырылған
профессор Тайпақова С.М.

Жоспар

- ДНҚ-ның екінші реттік құрылымы
- ДНҚ-ның Уотсон және Крик моделі
- ДНҚ-ның екінші реттік құрылымының принциптері
- ДНҚ-ның екінші реттік құрылымының формалары
- РНҚ-ның түрлері, қызметі

1949 және 1953 жылдар аралығында Эрвин Чаргафф және оның қызметкерлері әртүрлі ағзалардағы ДНҚ молекуласы үлгісіндегі төрт негізді хроматография әдісі арқылы бөлу бойынша жұмыс жасады.

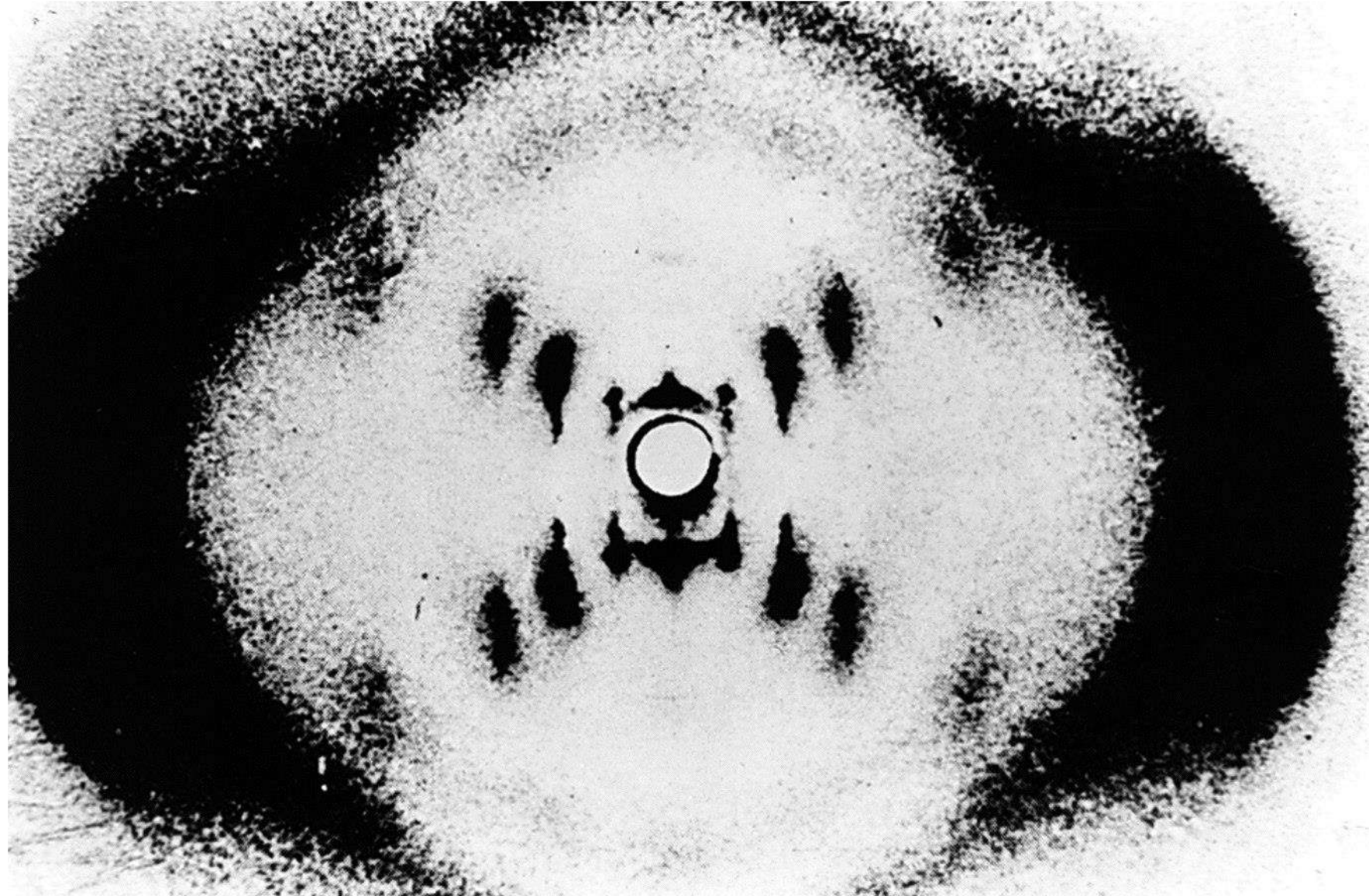
Организм	Нуклеотидный состав, мол.%			
	Аденин	Гуанин	Тимин	Цитозин
Человек	30,9	19,9	29,4	19,8
Овца	29,3	21,4	28,3	21,0
Курица	28,8	20,5	29,2	21,5
Черепаха	29,7	22,0	27,9	21,3
Лосось	29,7	20,8	29,1	20,4
Морской еж	32,8	17,7	32,1	17,3
Саранча	29,3	20,5	29,3	20,7
Пшеница	27,3	22,7	27,1	22,8
Дрожжи	31,3	18,7	32,9	17,1
<i>Escherichia coli</i> (бактерия)	24,7	26,0	23,6	25,7
Бактериофаг фХ174 (вирус)	24,6	24,1	32,7	18,5

Осы нәтижелер негізінде мынадай қорытындылар жасауға болады:

- 1) пуриндік азот негіздері бар нуклеотидтердің қосындысы пиримидиндік азот негіздері бар нуклеотид қосындысына тең, яғни $A+G=T+C$:
- 2) аденин мөлшері тимин мөлшеріне, ал гуанин мөлшері цитозин мөлшеріне тең болады;
- 3) $G + C$ пайызы $A + T$ пайызына сай келмеу мүмкін. Кестеде көрсетілгендей бұл қатынас әртүрлі ағзаларда түрлі көрсеткішке ие.

Бұл қорытындылар ДНҚ молекуласы құрылымын құрастыруда негіз болды және барлық төрт нуклеотид те бірдей қатынаста молекулада болады деген Левиннің тетрануклеотидтік теориясын теріске шығарды.

РОЗАЛИНД ФРАНКЛИННИҢ РЕНТГЕНДІК КРИСТАЛЛОГРАФИЯСЫ



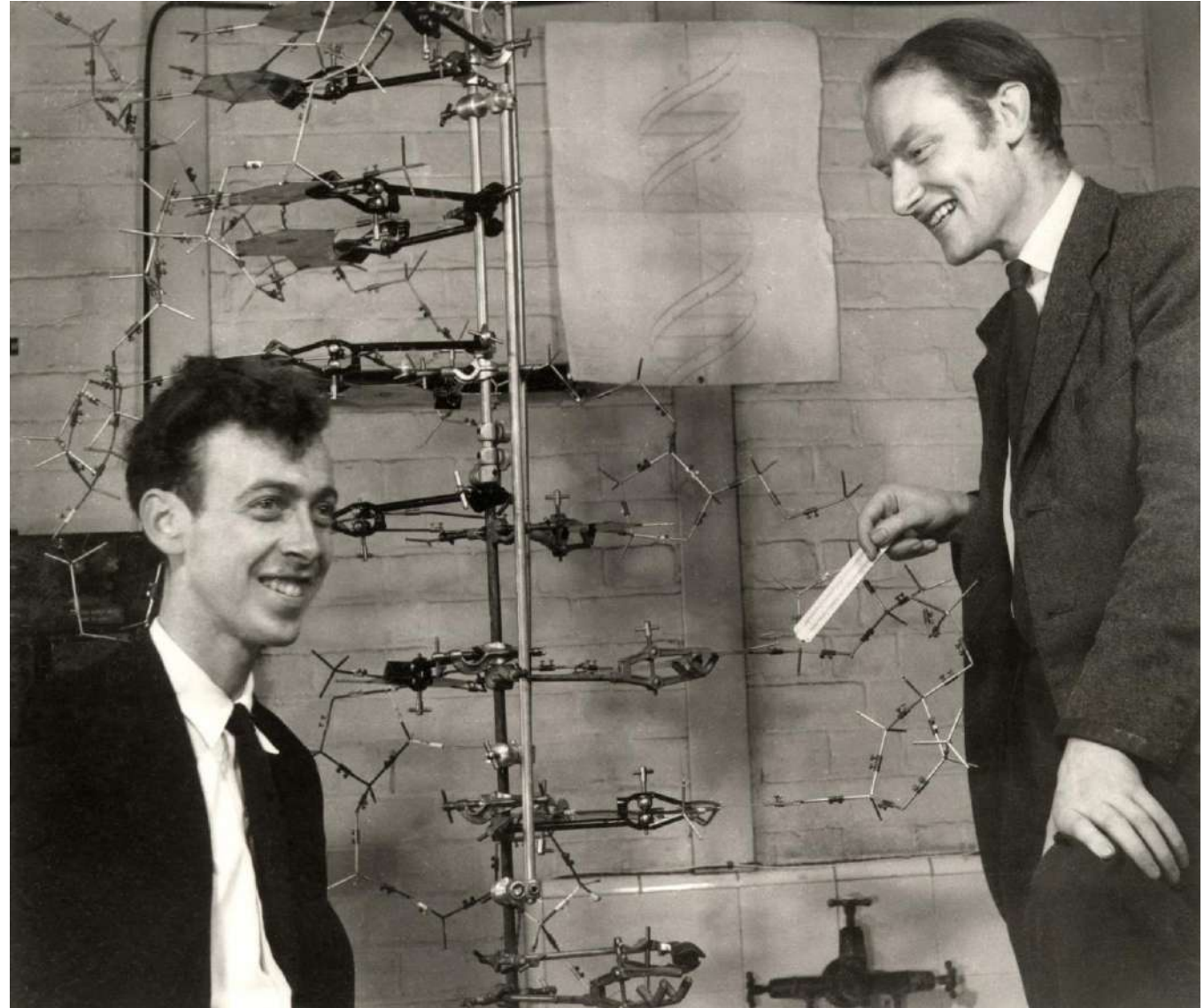
ДНҚ құрылысын анықтауда **М.Уилкинсон мен Р.Франклин (1953)** жүргізген рентген құрылымдық зерттеулер үлкен роль атқарды. Олар рентген-дифракциялық талдаулар жүргізіп, ДНҚ молекуласы бойында бір-бірінен 0,34 нм және 3,4 нм қашықтықта орналасқан, қайталанып отыратын элементтерден тұратындығын көрсетті.

ДНҚ-ның екінші реттік құрылымы

Э.Чаргафтың ережесіне және ДНҚ кристалдарының рентгенқұрылымдық талдамасына сүйене отырып **Дж. Уотсон мен Ф.Крик (1953)** табиғи ДНҚ қос спираль түзетін екі полимерлі тізбектен тұрады деген қорытындыға келді.

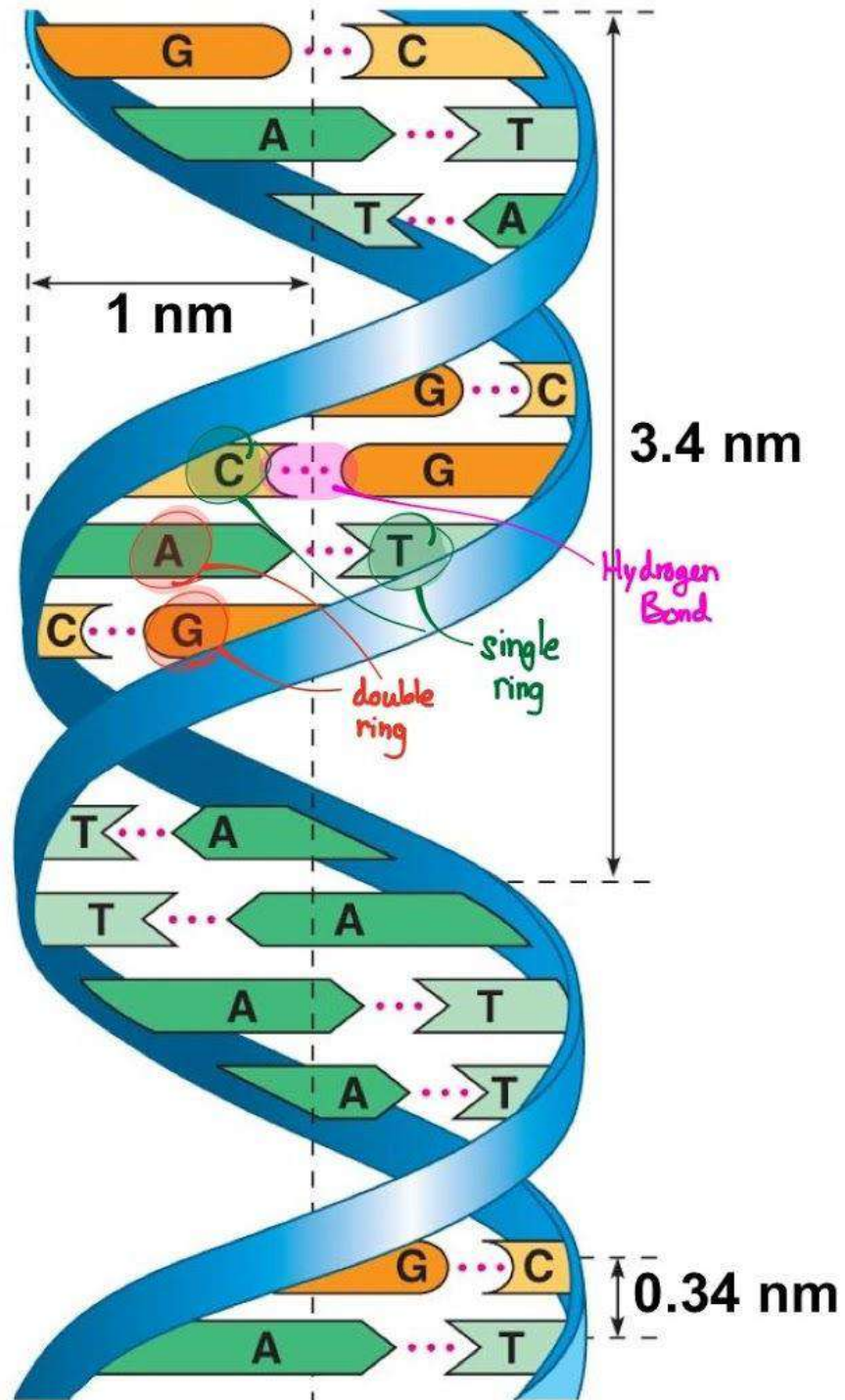
Олардың сипаттаған үлгісі «Табиғат» (Nature) журналында қысқа мақала ретінде басылып шықты. Ғылыми ортада бұл мақала үлкен маңызға ие болды.

1962 жылы ашқан жаңалықтары үшін физиология және медицина бойынша Нобель сыйлығын алды.



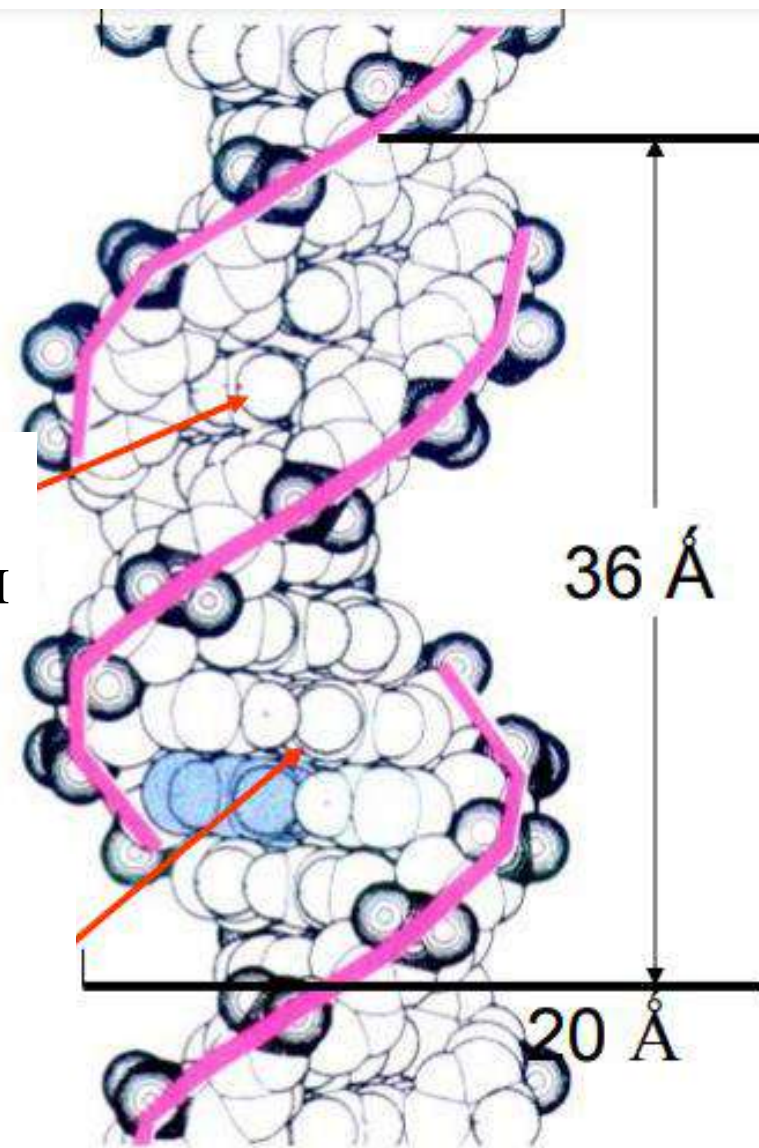
ДНҚ молекуласы құрылысының принциптері

1. Екі ұзын полинуклеотидті тізбек орталық оське оралып, оң жаққа қарай айналған **қос иірім** түзеді.
2. Екі тізбек бір-біріне **антипараллельді**: бір тізбек 5 → 3, ал екінші 3 → 5 бағытта.
3. Азоттық негіздер спиральдің ішінде орналасады, ал пентоза және фосфор қышқылының қалдығы сыртында орналасады.
4. Азоттық негіздер бір – бірімен **комплементарлы принцип** арқылы байланысады
5. Қарама-қарсы тізбектердегі азоттық негіздер бір-бірімен **сутектік байланыс** арқылы байланысқан; ДНҚ молекуласында тек **A = T** және **C = G** жағдайында болады.
6. Екі тізбек негіздері орталық оське перпендикулярлы және бір-біріне «жиналған» қос иірімнің ішкі жағында **бір-бірінен 0,34 нм аралығында** болады.
7. Иірімнің толық **бір айналымы 3,4 нм** құрайды; осыған байланысты иірімдегі әр айналым **10 жұп негізден** тұрады.
8. ДНҚ иіріміндегі **үлкен орам** мен **кіші орам** молекуланың ұзына бойына кезектесіп отырады.
9. Спиральдың диаметрі **2 нм**.



Кіші орам

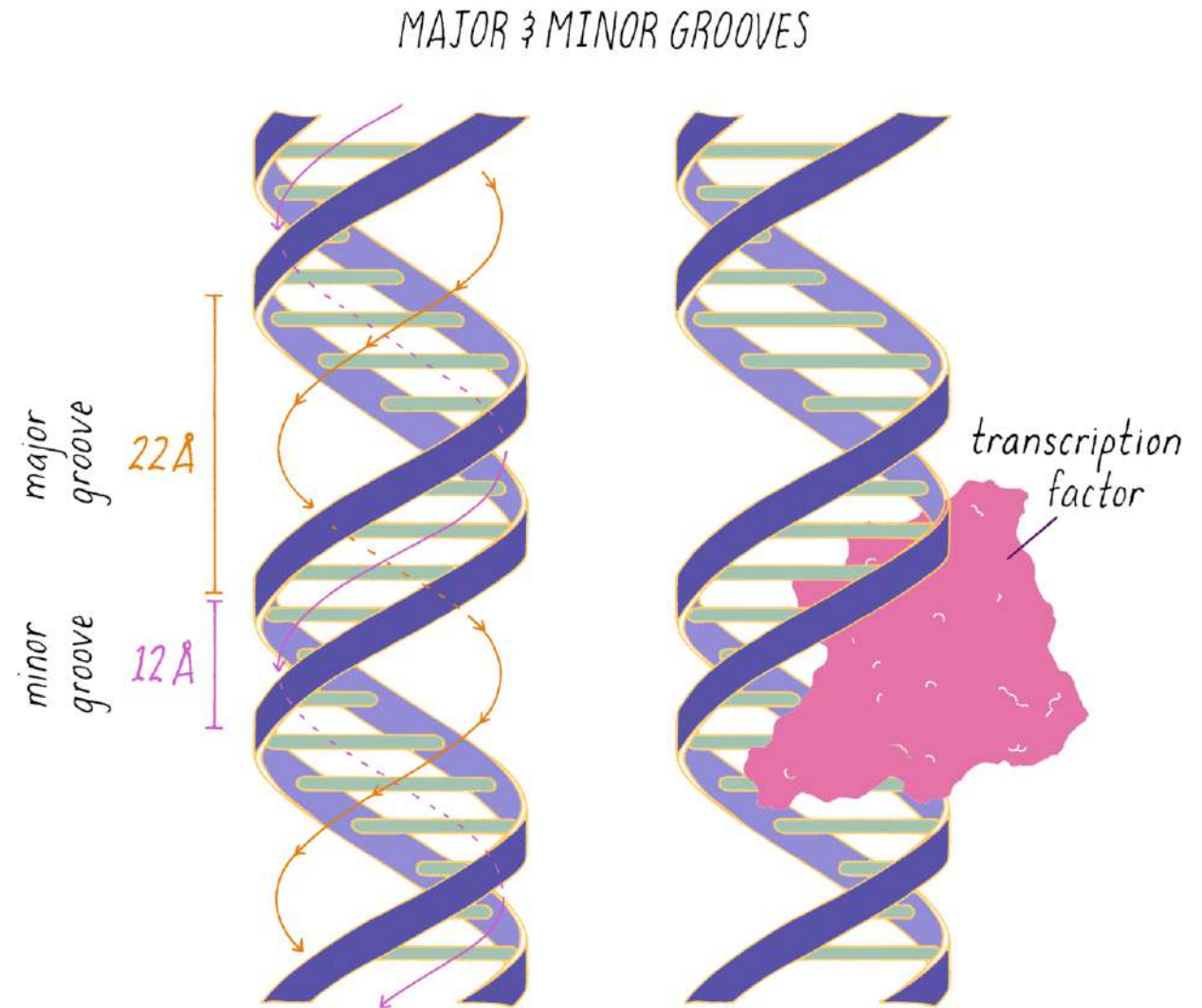
Үлкен орам



Екі тізбек толық цилиндрді құрамайды, олар оралған кезде бос аудандар қалдырады. Осы аудандар иірім деп аталады. Спиральдің кіші және үлкен иірімі болады.

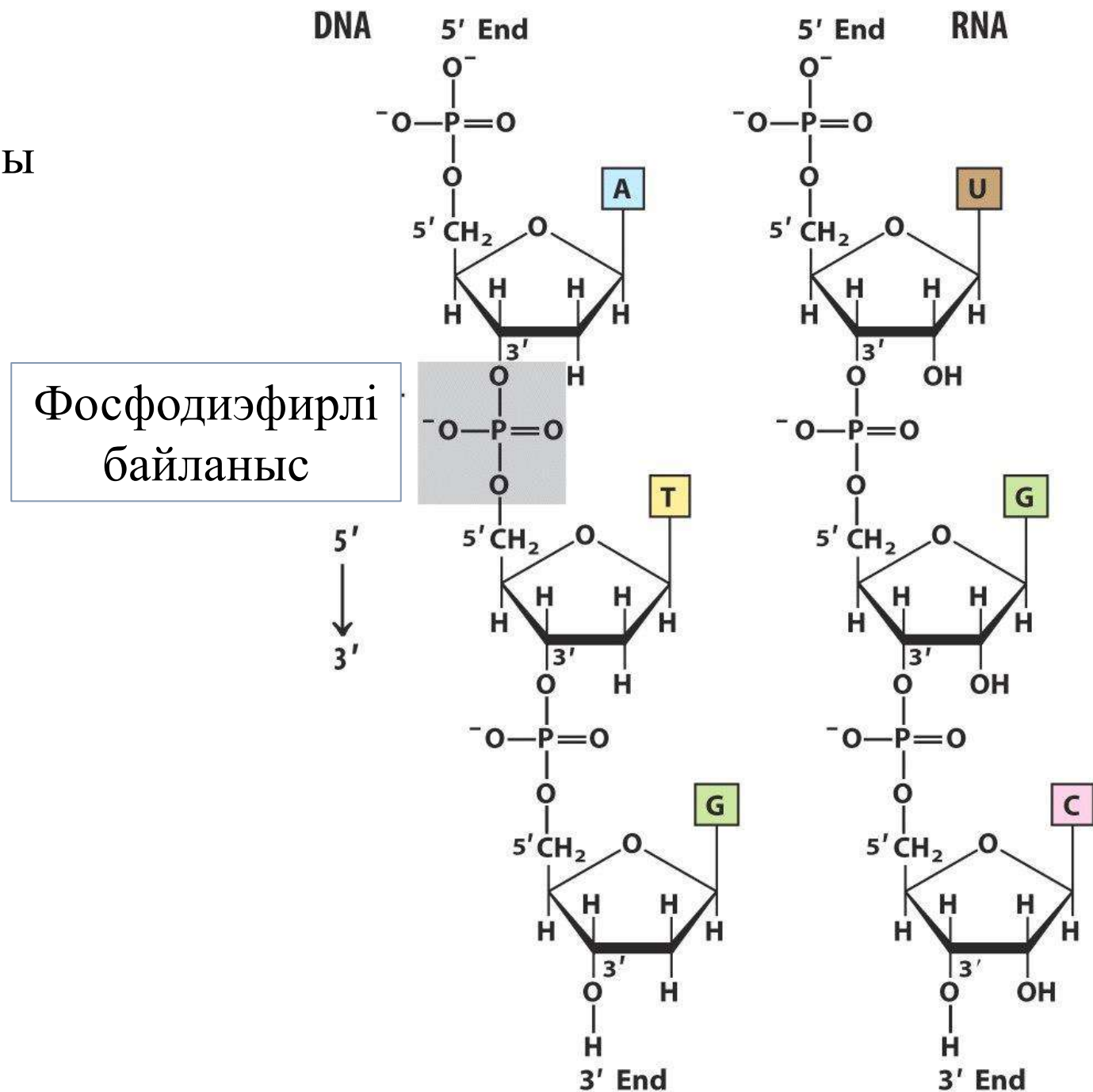
Олардың маңызы:

иірімдер ферменттер мен ақуыздардың ДНҚ ішіндегі нуклеотидтерге қол жеткізуін қамтамасыз етеді. Олар сондай-ақ транскрипция (РНҚ синтезі) үшін ДНҚ-ның қандай бөліктері қолданылатынын анықтайды. Бұл репликация, рекомбинация және генді реттеу сияқты процестер үшін маңызды.



Нуклеотидтер бір-бірімен фосфодиэфирлі байланыс арқылы байланысып, полимер тізбегін құрады. Бір нуклеотидтің 5'-көміртегі атомының фосфатты тобы келесі нуклеотид дезоксирибозасының 3'-ОН тобымен байланысады. Полинуклеотидті тізбектің бір соңында 3'-ОН-тобы (3 -соңы) орналасса, басқа соңында - 5' фосфатты тобы орналасады.

Азотты негіздер бір тізбектегі нуклеотидтердің қосылуына қатыспайды.



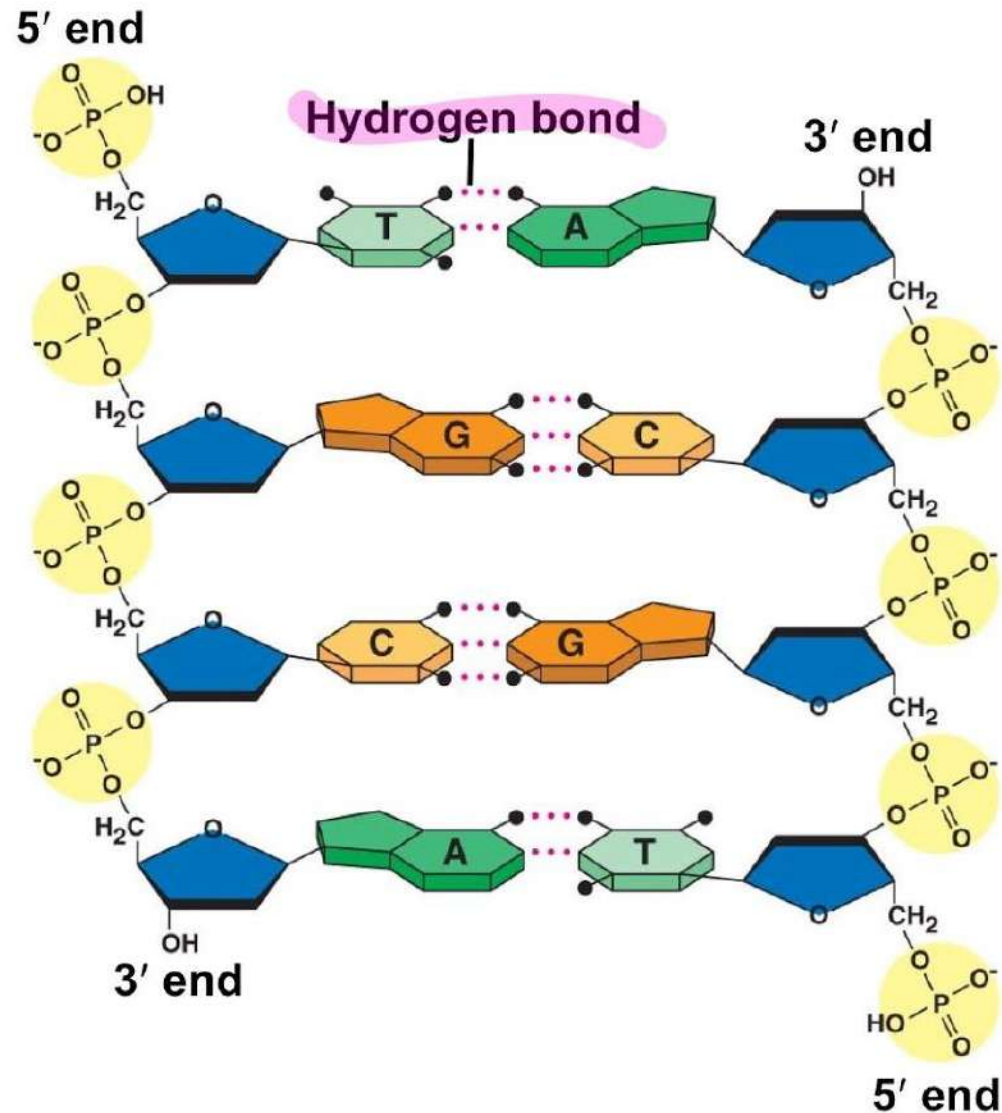
ДНҚ Қос спиралын тұрақтандыратын байланыстар:

1. Азотты негіздердің комплементарлы жұптары арасындағы сутектік байланыстар.

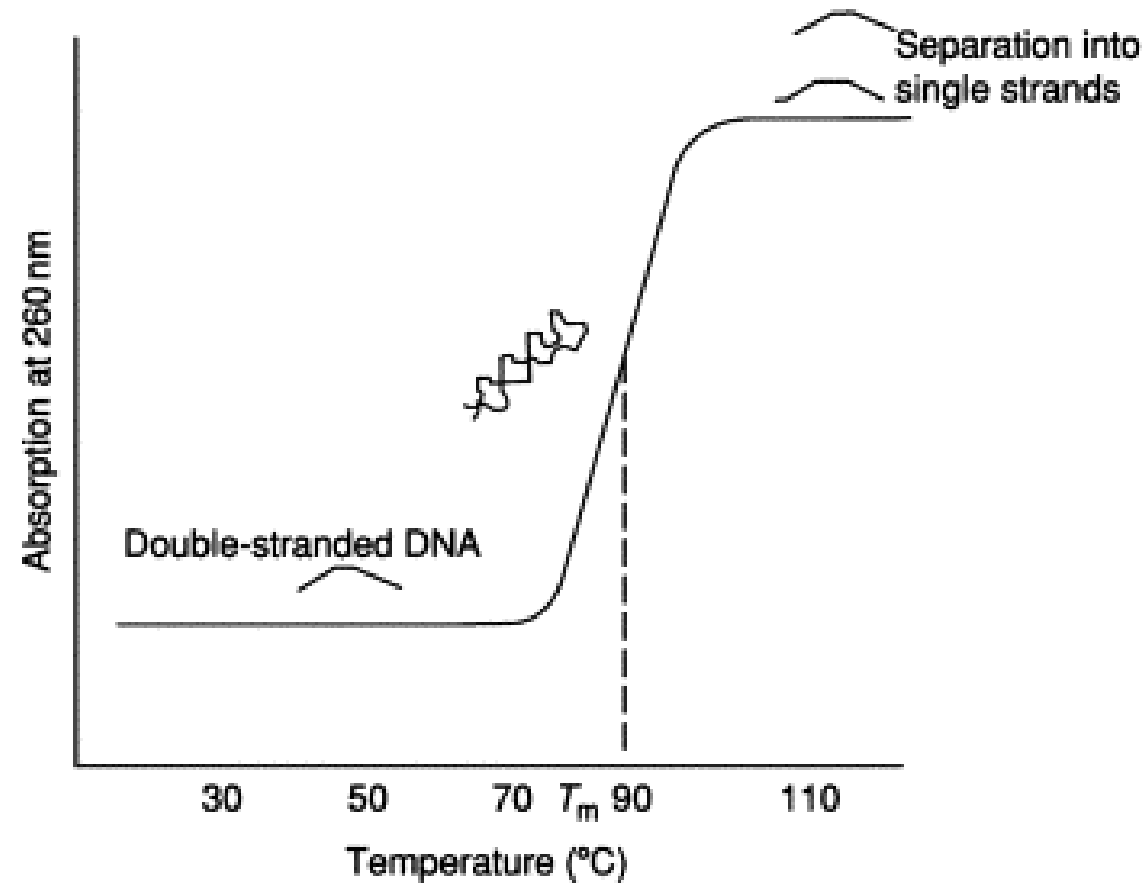
Сутектік байланыс өте әлсіз сутегі атомының ковалентті байланысқан электростатикалық тартылысымен сипатталады. Сутегі атомы оң зарядталған, ал ковалентті байланысқан оттегі және азот атомдары теріс зарядталған. Бұл екі қарама-қарсы зарядтар химиялық байланысты, яғни сутектік байланыстың негізін құрайды. Бұлардың арасындағы екі және үш сутектік байланыс жекелей алғанда әлсіз болады, бірақ та бұл байланыстар мыңдаған болса, онда ол екі тізбек арасында берік қасиет орнайды.

- Аденин мен тимин арасында екі,
- ал гуанин мен цитозин арасында үш сутектік байланыс түзіледі.

Азотты негіздердің комплементарлы жұптары мөлшері мен пішіні бойынша бірдей, ДНҚ молекуласының ішіне қарайды және бір жазықтықта жатыр.



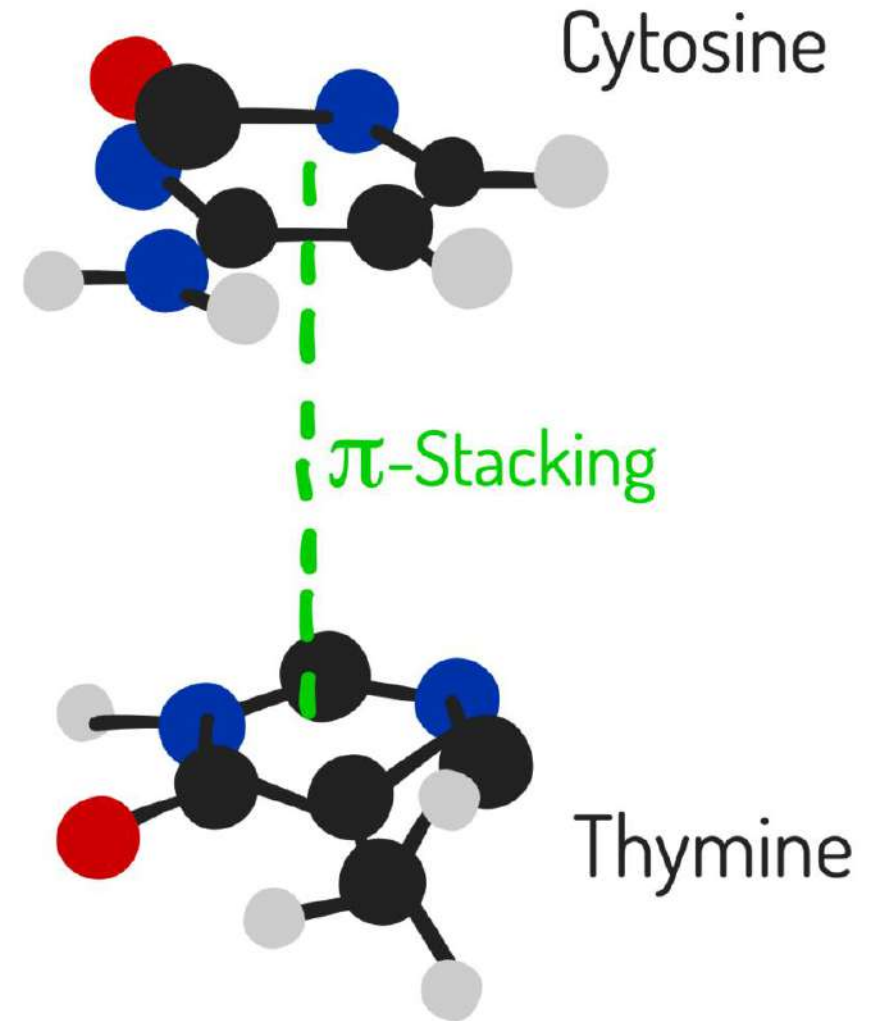
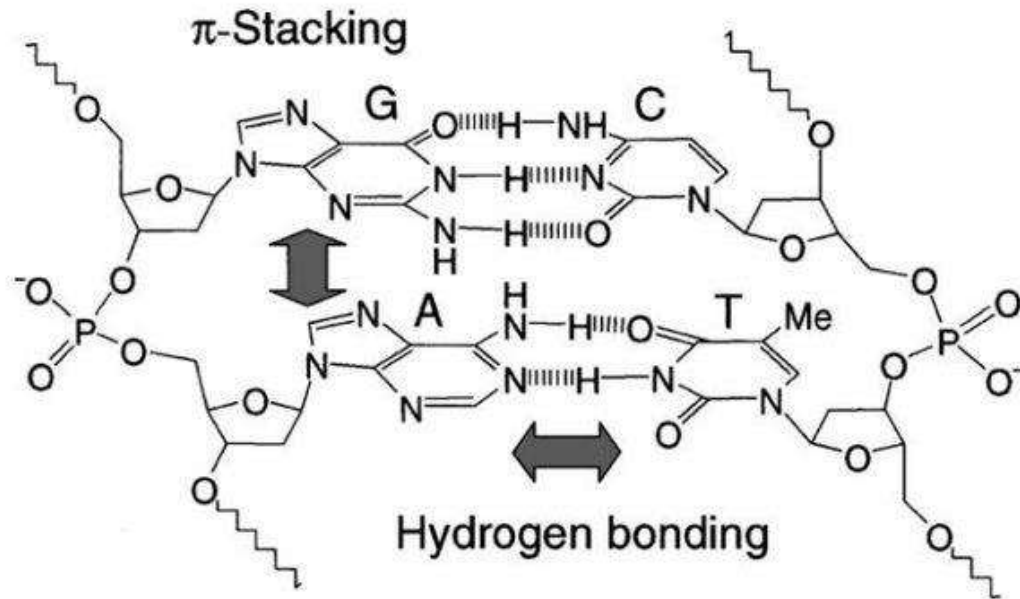
Қыздыру және басқа да стресстік жағдайлар ДНҚ молекуласын денатурацияға ұшыратады, яғни оның құрылымы бұзылады. **ДНҚ молекуласының денатурациясы кезінде** қос тізбек арасындағы **сутектік байланыс үзіледі** де иірім тарқатылады және тізбектер жеке болады. Бірақ та құрылымдағы ковалентті байланыстар бұзылмайды. Зертханалық жағдайда денатурация процесін жасанды қыздыру немесе химиялық заттар (NaOH) арқылы тудыруға болады (қыздыру арқылы жүргізілетін денатурацияны кейде **балқыту** деп те атайды). ДНҚ молекуласында $G = C$ жұбында $A = T$ жұбына қарағанда бір сутегі байланысы артық болғандықтан ол температураға төзімдірек болады. Осыған байланысты ДНҚ молекуласының құрамында $G = C$ көп болған сайын ондағы денатурация процесіне де $A = T$ жұбымен салыстырғанда жоғарырақ температура қажет болады. УК сәулесінің сіңірілуі 260 нм.



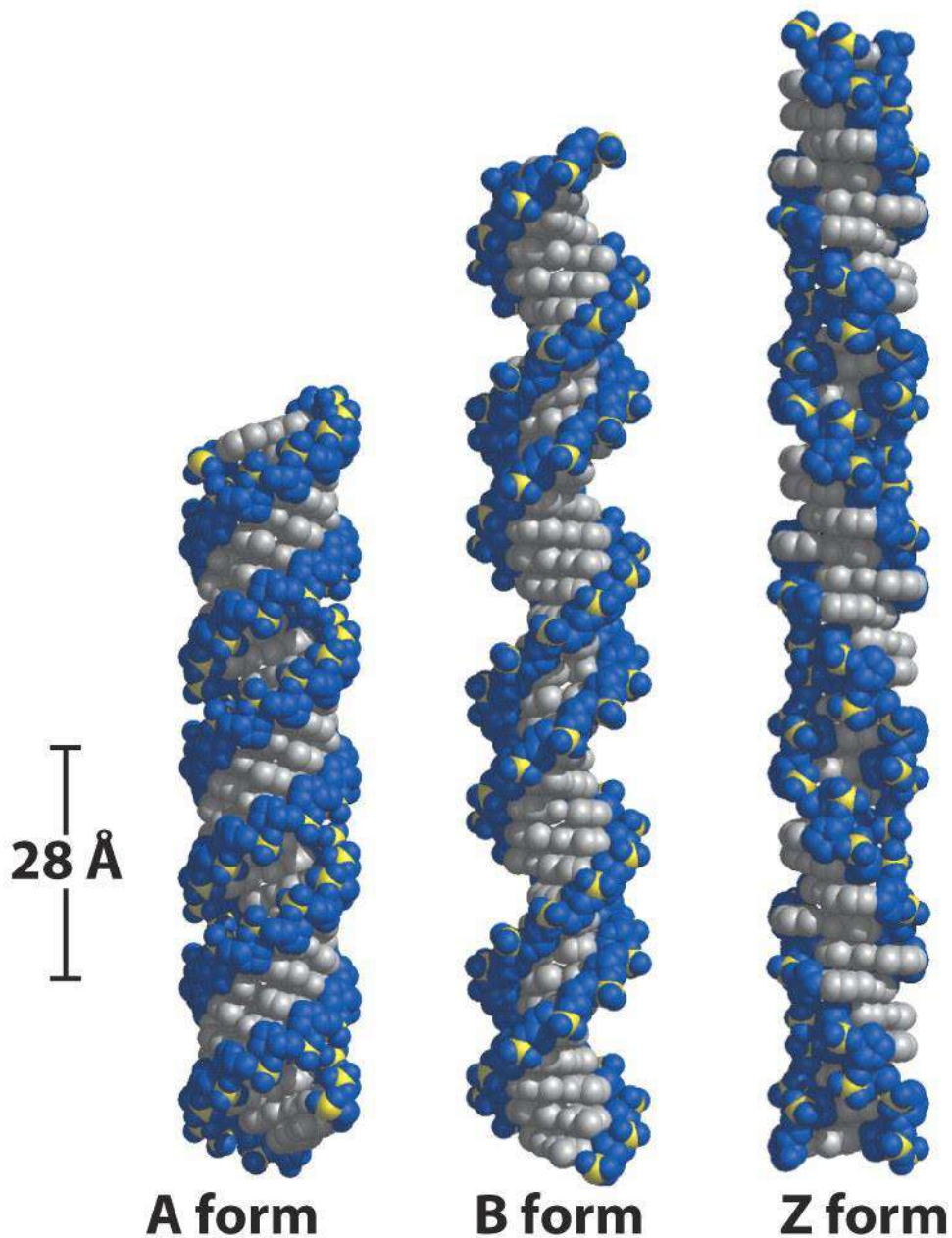
Денатурацияланған ДНҚ-ның ренатурациясы қоспаны баяу суыту көмегімен жүргізіледі.

2. ДНҚ-дағы негіздер арасында спираль құрылымын тұрақтандыруға мүмкіндік беретін **гидрофобты өзара әрекеттесулер** пайда болады.

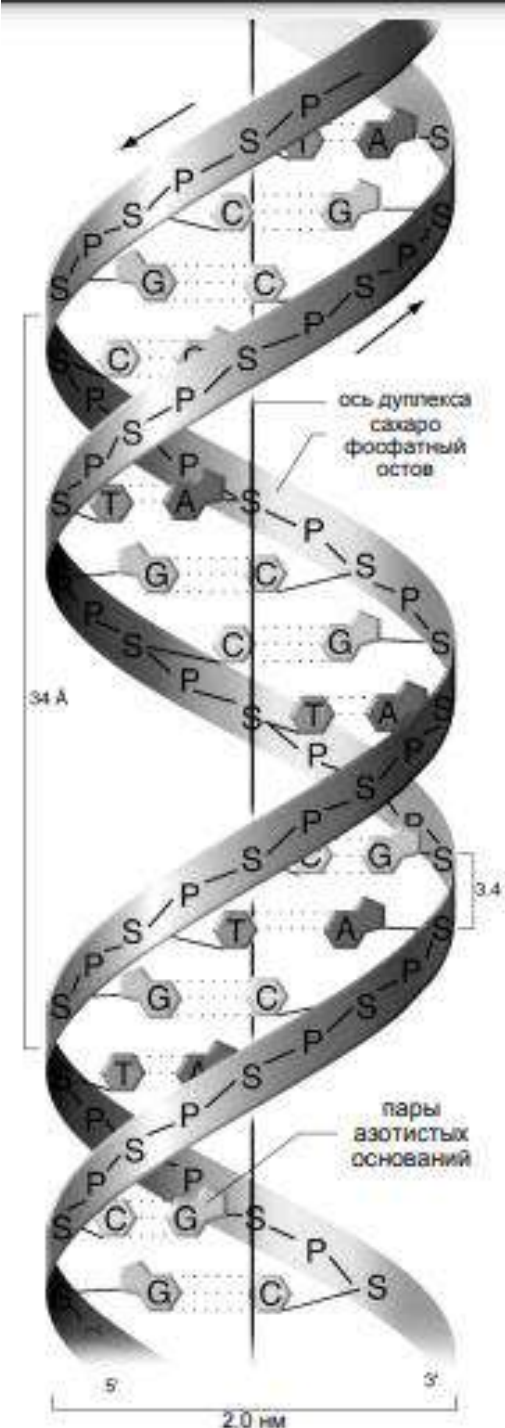
3. **Стекинг-өзара әрекеттесу**- ДНҚ молекуласының осі бойындағы азотты негіздердің π -бұлттарының өзара әрекеттесуі.

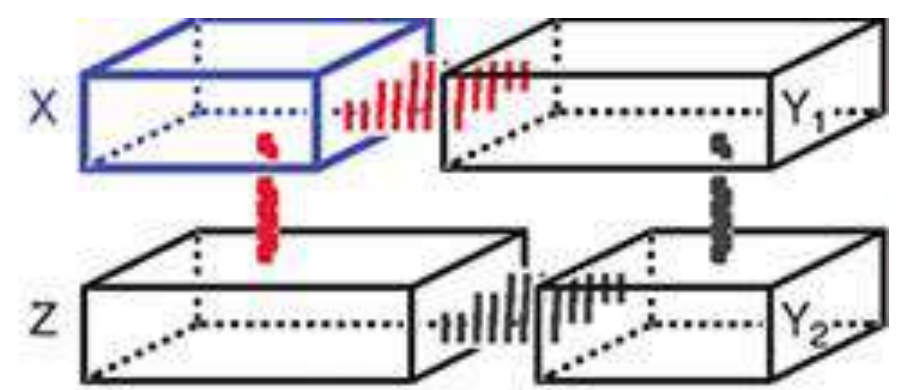
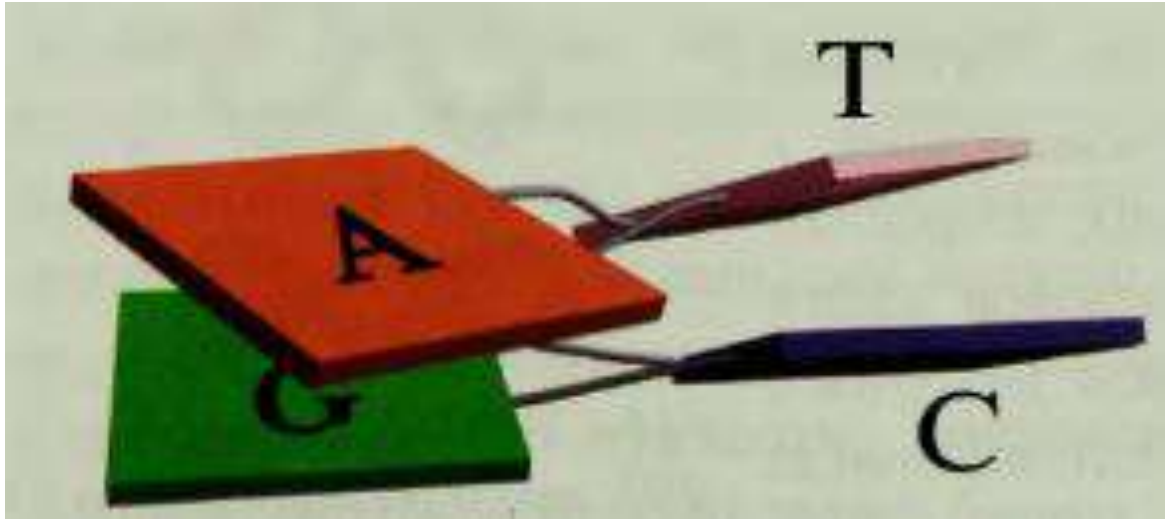


ДНҚ спиралінің үш формасы

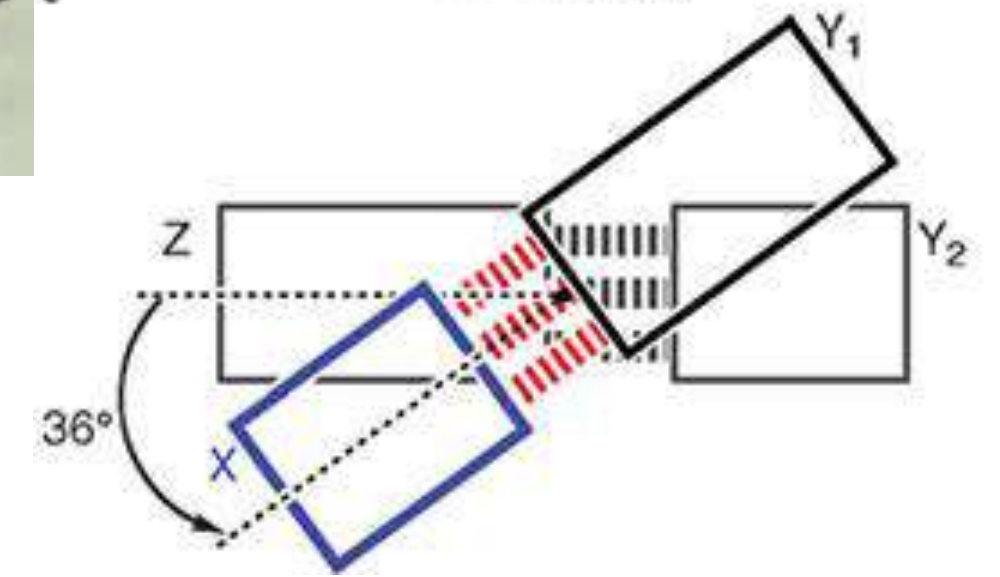


Азоттық негіздердің әрбір жұбы спираль осінің айналасында негіздердің келесі жұбына қарай 36° -қа бұрылады. Сөйтіп, негіздердің 10 жұбы 360° -қа тең толық айналымды құрайды. Екі тізбек бір-біріне сәйкес бұратылып екі иірімді (үлкен және кіші иірім) қос спираль түзеді. Егер спиральдің осі бойынша алғанда бұрылыстар сағат тілі бағытында болса, қос спираль оң жақты болады. ДНҚ-ның мұндай құрылымы ДНҚ қос спиралінің **В-формасы** деп аталады.





$X-Y_1/Z-Y_2$



Қос спираль басқа да екі изомерлі түрде болады. Олар негіздер мен қанттың арасындағы валентті бұрыштардың алмасуына байланысты пайда болады, ал дезоксирибозалы сақина мен қантфосфатты тірегі біршама иілгіш келеді. Сондықтан оған төзімді конфигурация қалыптаспайды. **Сирек кездесетін А-формасы тек төменгі ылғалдылық жағдайында кездеседі және В-формасынан айырмашылығы табан жалпағы (плокости оснований) спираль осіне бұрышы 20° перпендикуляр құрайды**, сондықтан негіздердің жұптары арасындағы арақашықтық тігінен алғанда 0.29 нм кемиді, ал **бір оралымдағы негіздер жұбының саны 11-ге дейін артады**. ДНҚ-ның А- формасының биологиялық қызметі әлі толық түсініксіз.

ДНҚ-ның пуринді және пиримидинді нуклеотидтері кезектесіп келіп отыратын бөлімшелері **белгілі бір жағдайларда спиральдің сол жақты пішініне көшеді**. Бұл кезде негіздердің көршілес жұптарының арақашықтығы **0.77 нм**, ал бір орамдағы жұптардың саны 12 дейін ұлғаяды. Мұндай молекуланың **тірегі ирек** түрінде болады, сондықтан ол Z – пішінді немесе **Z - ДНҚ** деп аталады. Z - ДНҚ бөлімшелері дрозофиланың политенді хромосомаларының дискілерінің аралығында болатындығы анықталған. Бұдан шығатын қорытынды Z - ДНҚ табиғи жағдайда кездеседі, бірақ оның рөлі әлі толық анықталмаған. Z - ДНҚ клетканың қатерлі ісікке айналуында маңызды орын алады деген болжам бар.

ДНҚ структуралық формаларының басты ерекшеліктері

	A	B	C	Z
спираль	Оң бұралған	Оң бұралған	Оң бұралған	Сол бұралған
Спираль бір айналымындағы негіздер саны	10,7	10	9,3	12
Көршілес сыңарлы негіздер арасындағы бұрыш	+33,6°	+36°	+38°	-30°
Нуклеотид аралық қашықтық	2,3 нм	3,4 нм	3,0 нм	3,8 нм
Негіздердің өске қатысты бұрышы	+1,9°	-1,2°	-6	-9

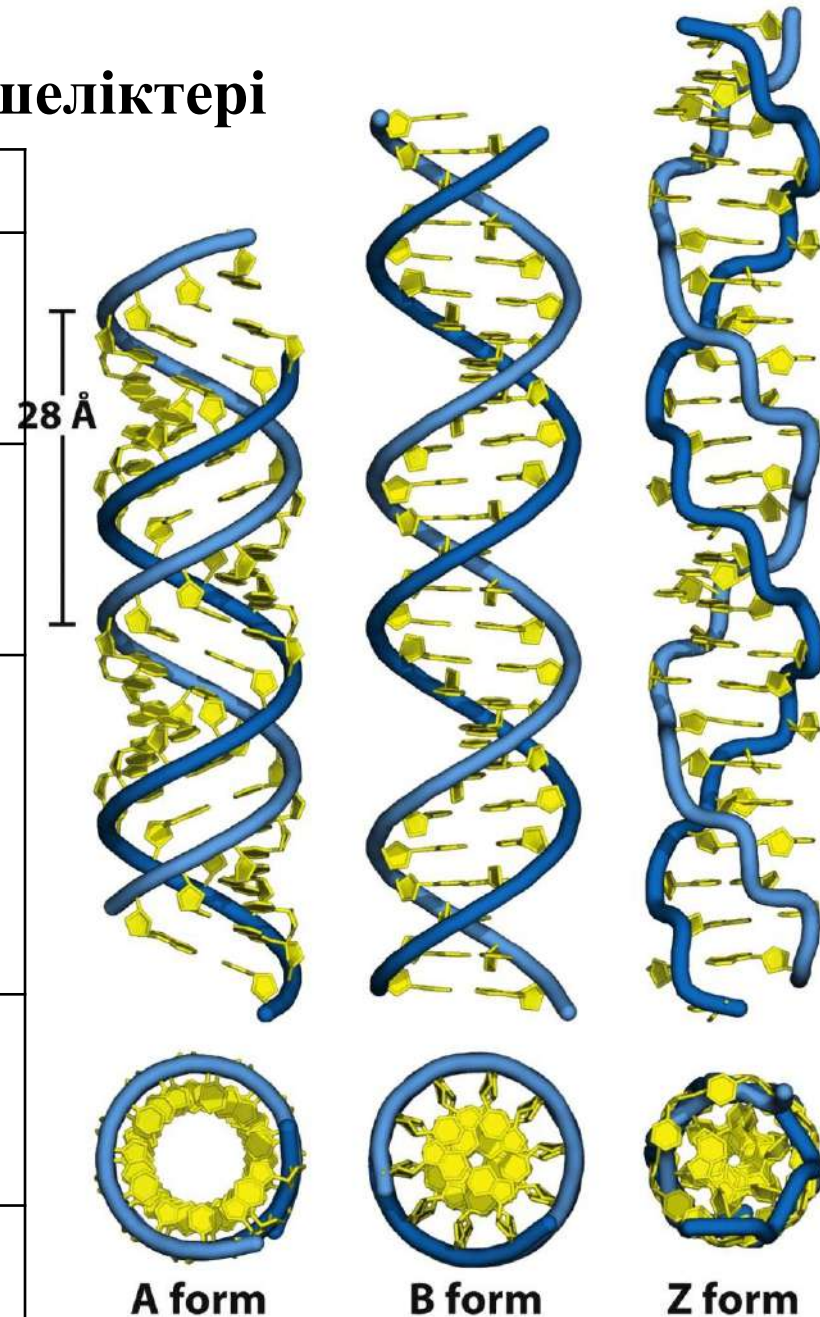
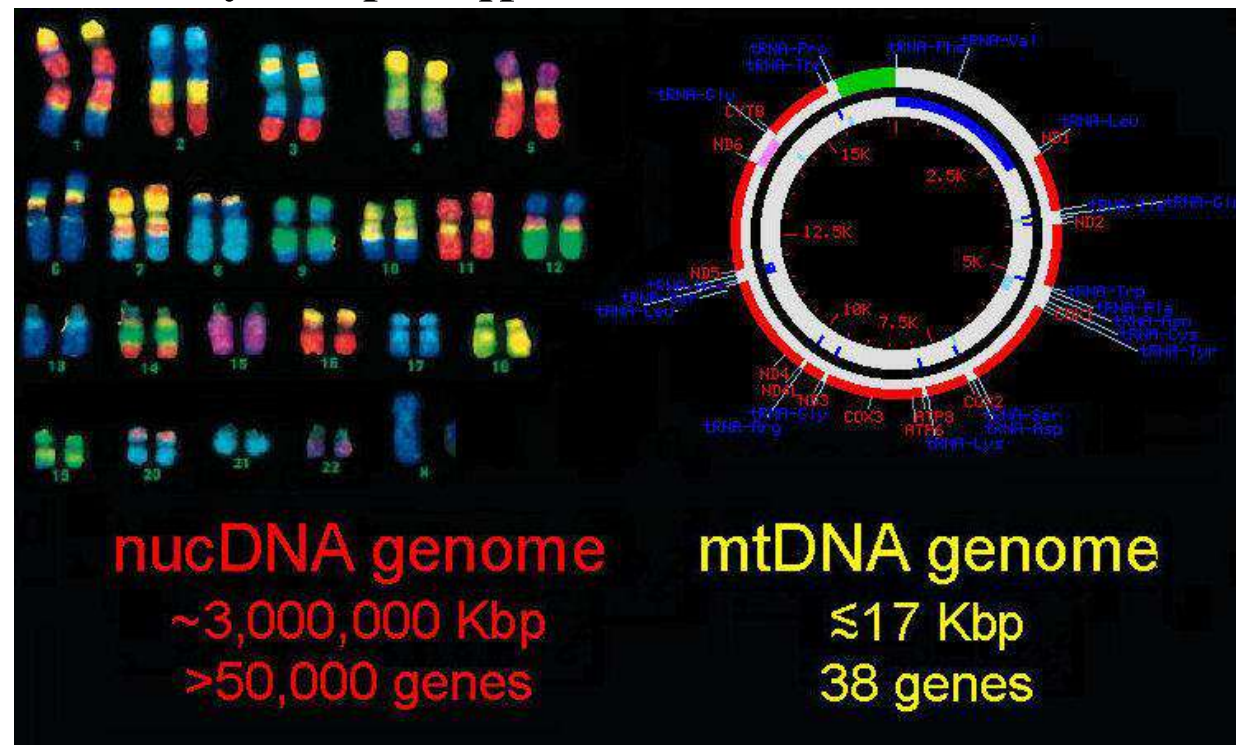


Figure 8-17 part 1
 Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
 © 2013 W. H. Freeman and Company

**Прокариоттық ДНК сақиналы болады
және суперспираль түзеді**



**Митохондрия геномы сақиналы
суперспиральденген екі тізбекті ДНК
молекулалары түрінде болады.**



Генетикалық ақпаратты алып жүруші құрылым екі негізгі талапты қанағаттандыруы керек:

Жоғары дәлдікпен өзін-өзі өндіру (репликациялау)

Белок молекулаларының түзілуін айқындау (кодтау).

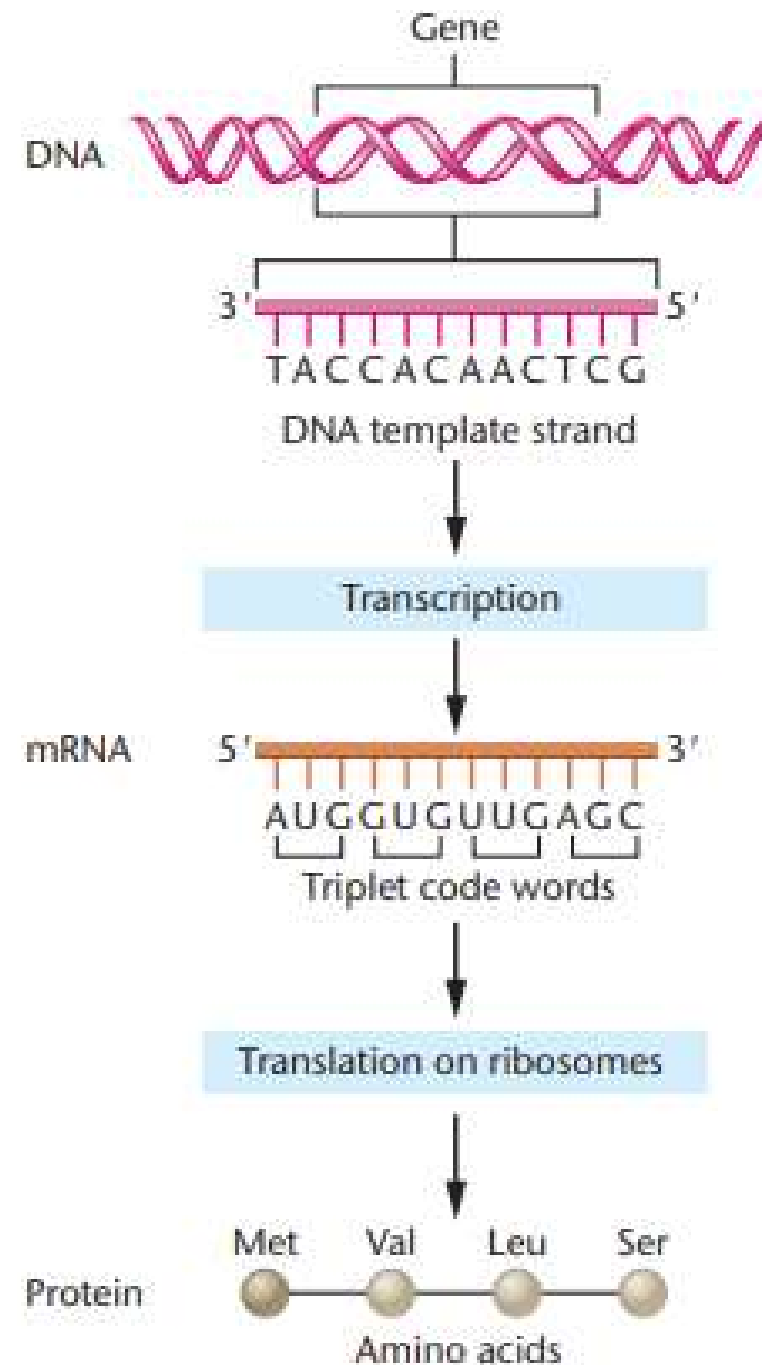
Генетикалық ақпарат клеткалардың бір буынынан екіншісіне беріліп отыруы үшін ДНҚ-ы репликациялану керек, соның негізінде ДНҚ-ның бастапқы ата-аналық молекулалары екі еселеніп, содан соң барып ұрпақтарға тарайды.

Сонымен қатар, фенотиптің қалыптасып шығуы үшін генетикалық ақпарат экспрессиялануы керек. Гендер экспрессиясының мәні ДНҚ молекуласына ұқсас РНҚ түзілуінде, ал ол өз кезегінде арнайы белоктардың синтезіне қатысады.

Уотсон мен Крик ойлап тапқан ДНҚ үлгісі бұл қойылған талаптарға толық жауап бере алады.

Біріншіден комплементарлы принципке сәйкес, ДНҚ-ның әрбір жеке тізбегі жаңа комплементарлы тізбектің түзілуі үшін матрица болып есептеледі.

Екіншіден, құрылымдық ген нуклеотидтерінің тізбегі өзі кодтайтын белок құрамына енетін амин қышқылдарының орналасу ретін анықтайды.

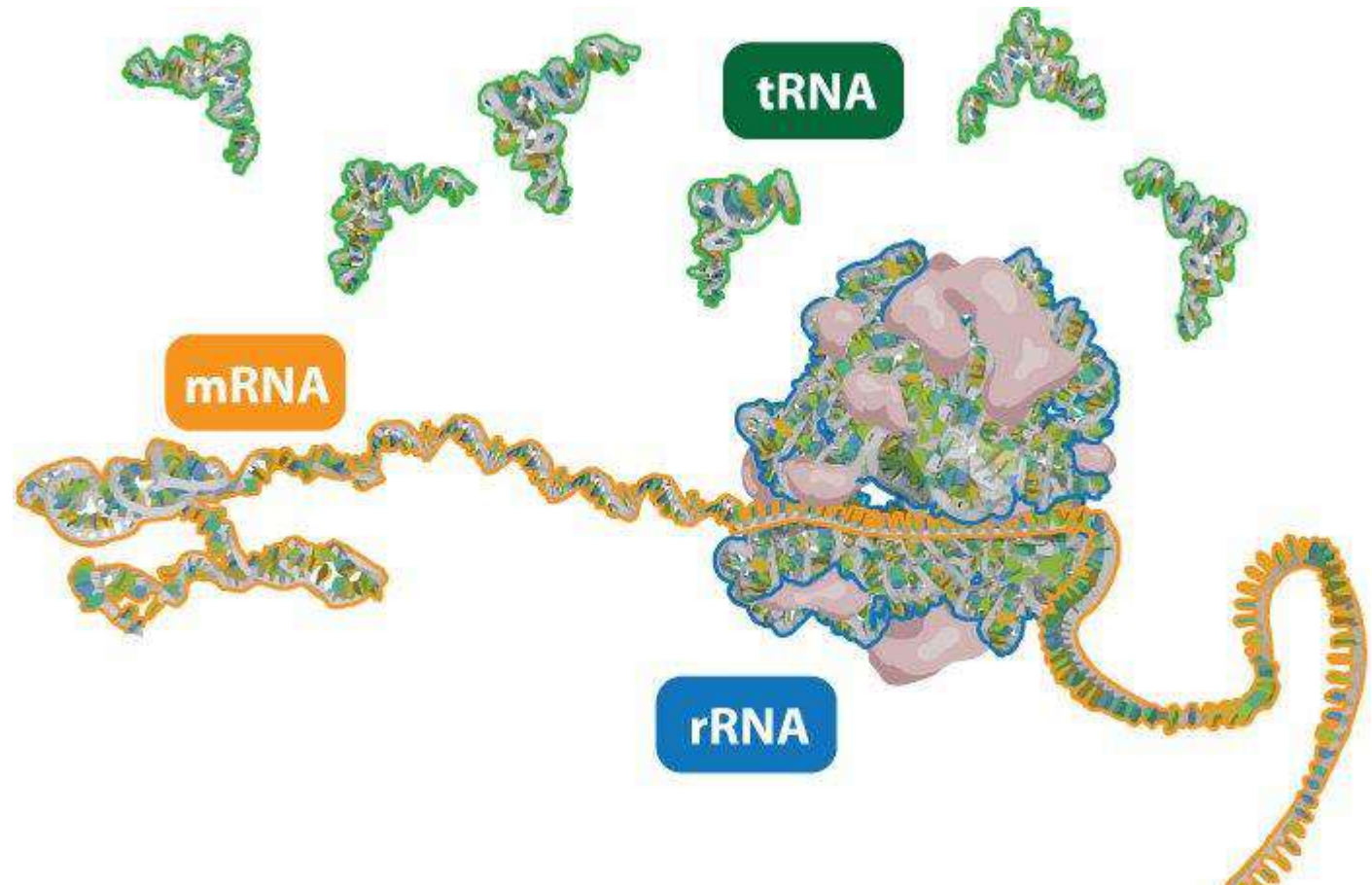


РНҚ молекуласы

Жасушада генетикалық экспрессияға РНҚ молекуласының үш түрі қатысады:

- **рибосомды РНҚ (рРНҚ),**
- **матрицалық РНҚ(мРНҚ) және**
- **тасымалдаушы РНҚ (тРНҚ).**

Бұл молекулалар транскрипция процесінде ДНҚ молекуласының бір тізбегінен көшіріледі. Яғни РНҚ молекулаларының тізбектері синтез кезінде матрица ретінде болған ДНҚ молекуласының бір тізбегіне комплементарлы болып келеді. РНҚ молекуласында тимин нуклеотидінің орнына урацил болады және синтез кезінде аденинге комплементарлы урацил нуклеотиді жалғанады.



Е. coli клеткасының үш түрлі РНҚ-ларының сипаттамасы

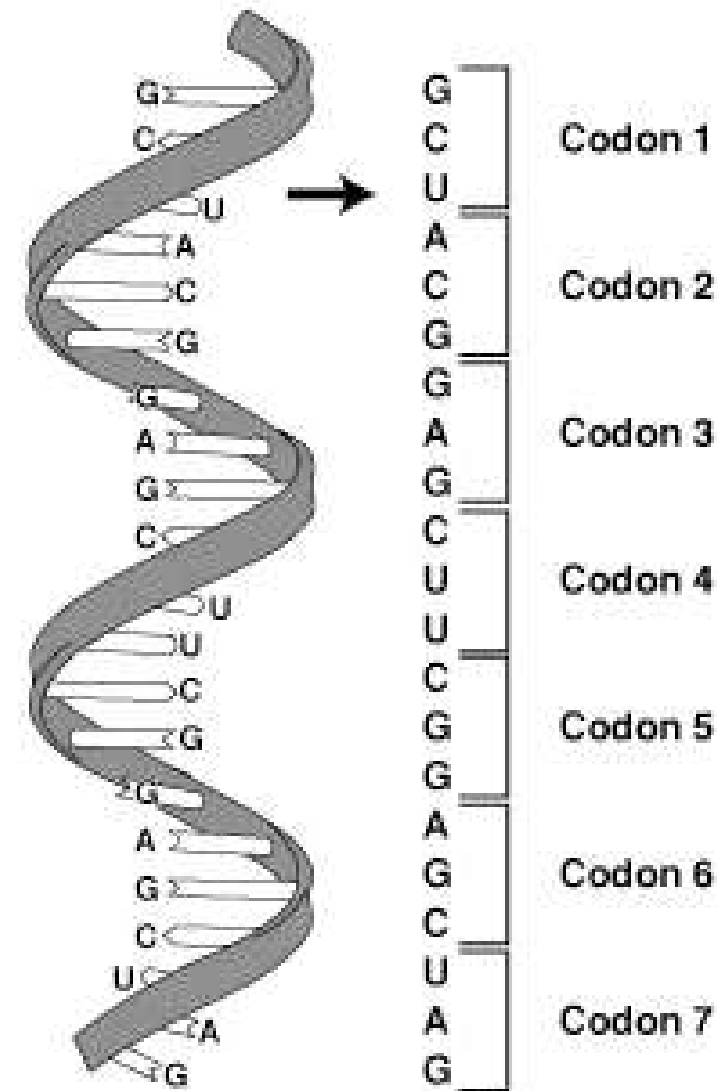
РНҚ түрлері	Мөлшері, %	Шөгуге коэффициенті	Молекулалық масса	Нуклеотид -тер саны
рРНҚ	80	23S	1 000 000	3 000
		6 S	500 000	1 500
		5 S	35 000	100
мРНҚ	5	4-25 S	25 000-1000 000	75-3000
тРНҚ	15	4 S	25 000	75

РНҚ–ның бастапқы құрылымы - полинуклеотидті бір тізбекті молекула, **мономерлер-рибонуклеотидтер.**

Матрицалық (ақпараттық) РНҚ молекуласы ДНҚ молекуласынан ген туралы генетикалық ақпаратты рибосомаға жеткізеді. мРНҚ молекуласы көлемі жағынан әртүрлі болады, яғни ол синтезделетін ақуыз молекуласына шамамен сай келеді.

Бір тізбекті полинуклеотид (300-30000 нуклеотид)
Бір амин қышқылына сәйкес келетін рибонуклеотид триплеті- **кодон**

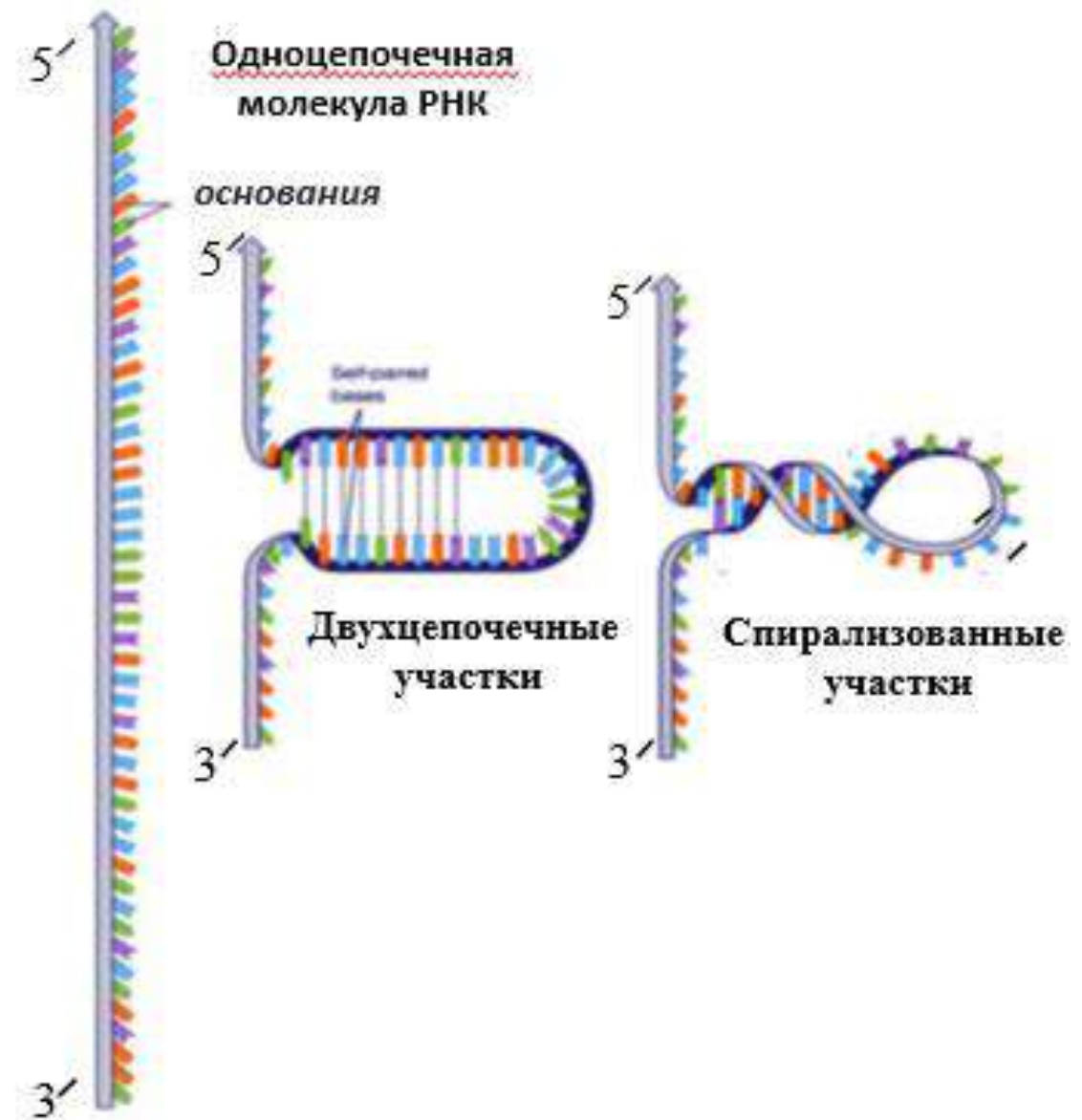
РНҚ-лардың негізгі түрлерінің **ең аз кездесетіні мРНҚ.** Көптеген клеткаларда ол барлық РНҚ мөлшерінің тек 5-10%-ын құрайды. Тез өсетін клеткаларда белоктардың көп түрі шектеулі уақыт аралығында қажет болады. Белок қажет кезде мРНҚ синтезделуі, белок синтезін бағыттауы мақсатында ыдырауы орынды болып отыр. мРНҚ тез арада ыдырайды, ал рРНҚ мен тРНҚ белок синтезіне бірнеше рет қатыса алады.

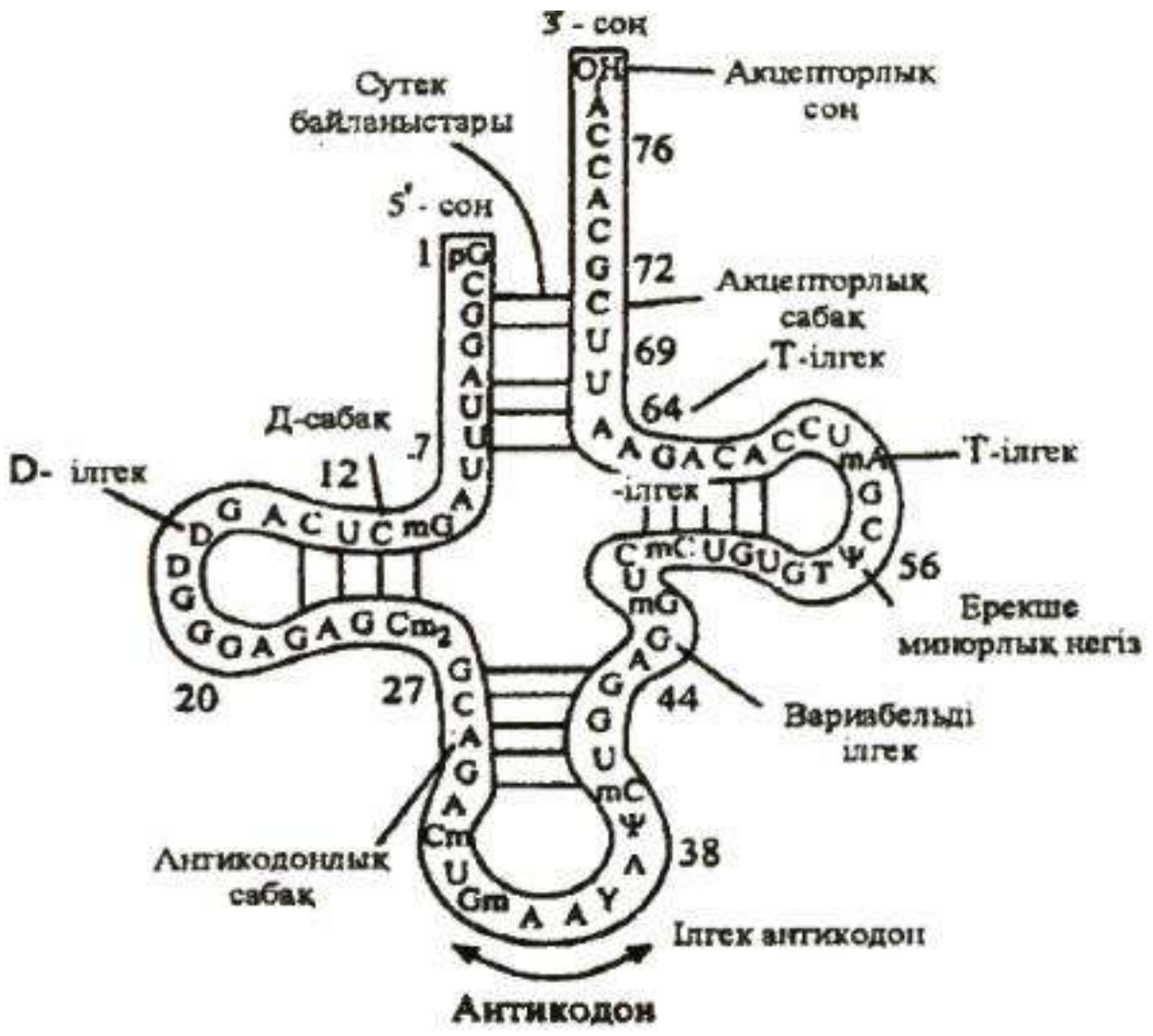


RNA

Ribonucleic acid

РНҚ ның екіншілік құрылымы азотты негіздер арасындағы сутектік байланыстардың түзілуі және ілмектердің түзілуі арқылы пайда болады.





Тасымалдаушы РНҚ молекуласы жасушадағы барлық РНҚ молекулаларының 15 пайызын құрайды (молекуласының көлемі орташа). тРНҚ молекуласы ақуыздың синтезі кезінде амин қышқылдарын рибосомаға тасымалдайды. Бір тРНҚ молекуласы рибосомамен байланысқа түседі және осы байланысты қамтамасыз ету үшін де оның көлемі шағын болады.

тРНҚ-да тізбекаралық байланыстар түзіледі (А-У және Г-Ц). тРНҚ молекуласының екінші реттік құрылымы беде жапырағы пішінде. Молекуланың сутектік байланыстардан тұратын бөліктері сабақ, ал сутектік байланыстардан тұрмайтын бөліктері ілмек деп аталады.

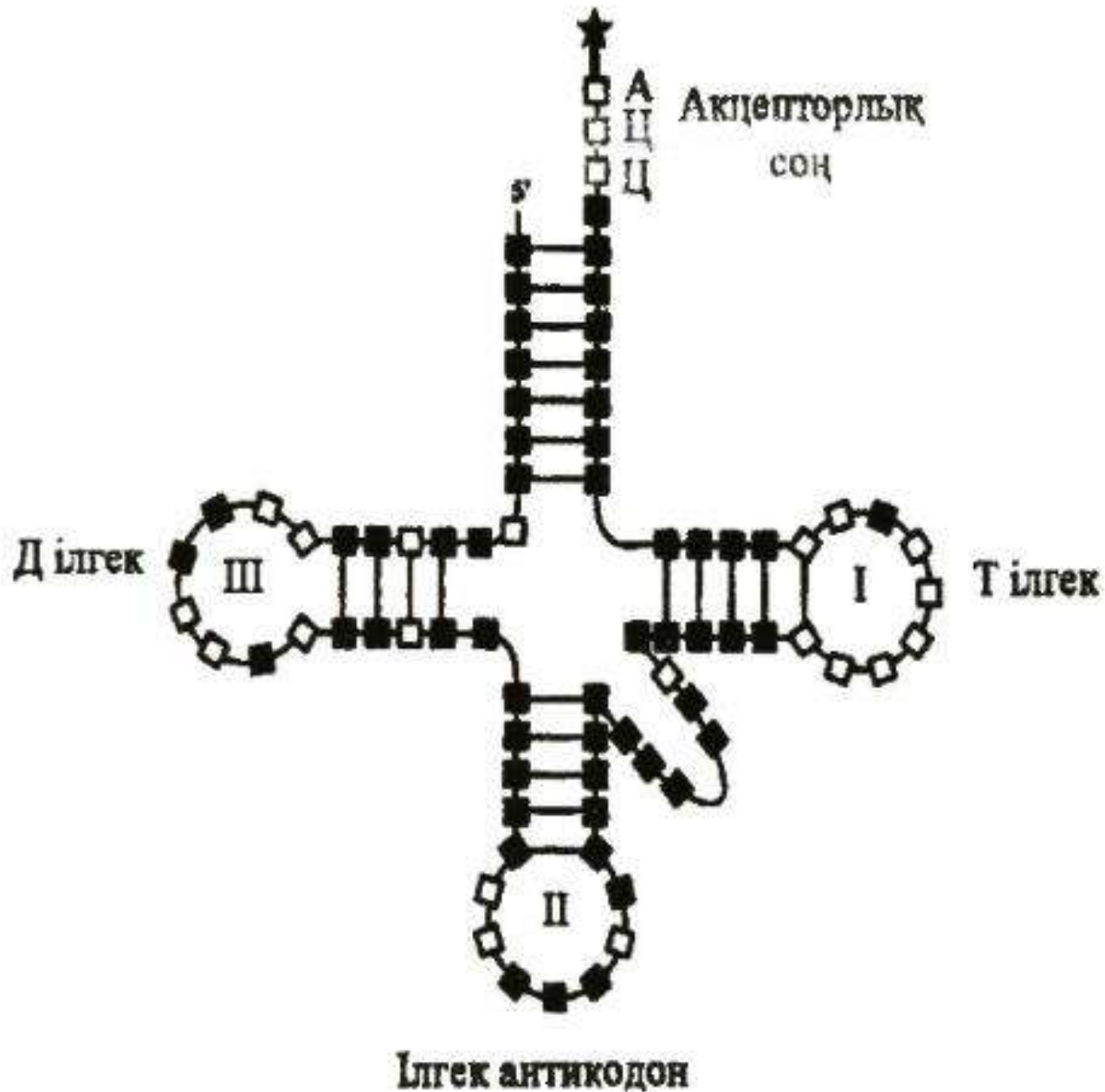
Барлық беде жапырағы пішінді тРНҚ-да төрт сабақ болады:

- **дигидроуридилдік (қысқаша Д),**
- **антикодондық,**
- **псевдоуридилдік (Т) және**
- **акцепторлық.**

Акцепторлық сабақта акцепторлық ілгек соң бар. Барлық тРНҚ молекулаларының акцепторлық соңында үш нуклеотид болады, олар: ЦЦА. Белок синтезінде активтенген амин қышқылы, антикодонға сәйкес, тРНҚ аденилатының 3'-гидроксил тобымен байланысады.

тРНҚ молекуласында үш үлкен ілгектер бар: Д, антикодон және Т. Олар белок синтезінде әр түрлі рольдер атқарады.

Т (бірінші) ілгектің көмегімен тРНҚ мен рибосома байланысады, онда ГТПЦГ нуклеотидтері (мұнда П-псевдоуридин) бар. Барлық белгілі тРНҚ-ның бұл ілгегіндегі нуклеотидтердің орналасуы ұқсас келеді.



Антикодон ілгегі (II-ші ілгек). Бұл ілгекте үш нуклеотид болады, олар антикодон деп аталады. Антикодон мРНҚ молекуласындағы үш нуклеотидтен құралған кодонға әр уақытта комплементарлы келеді. Мысалы, тРНҚ-да нуклеотидтер УАЦ, ал мРНҚ молекуласында оған комплементарлы кодон АУГ. Бұл жағдайда белок синтезінде **метионин** амин қышқылы кодталады. Сол тРНҚ-да антикодон УГГ, оған сәйкес мРНҚ-да кодон ГЦЦ, аланин амин қышқылының кодоны. Сонымен, кодон-антикодон үйлесімді-сәйкес әрекеттесіп, ДНҚ-дан алған, мРНҚ молекуласымен келген генетикалық мәліметті дұрыс есептеу процесінде шешуші роль атқарады.

Нуклеотид

		2-й				3-й
		У	Ц	А	Г	
1-й	У	УУУ } Фенилаланин УУЦ } УУА } Лейцин УУГ }	УЦУ } УЦЦ } Серин УЦА } УЦГ }	УАУ } Тирозин УАЦ } УАА } стоп-кодонаы УАГ }	УГУ } Цистеин УГЦ } УГА } стоп-кодон УГГ } Триптофан	У Ц А Г
	Ц	ЦУУ } ЦУЦ } Лейцин ЦУА } ЦУГ }	ЦЦУ } ЦЦЦ } Пролин ЦЦА } ЦЦГ }	ЦАУ } Гистидин ЦАЦ } ЦАА } Глютамин ЦАГ }	ЦГУ } ЦГЦ } Аргинин ЦГА } ЦГГ }	У Ц А Г
	А	АУУ } Изолейцин АУЦ } АУА } Метионин АУГ } старт-кодон	АЦУ } АЦЦ } Треонин АЦА } АЦГ }	ААУ } Аспарагин ААЦ } ААА } Лизин ААГ }	АГУ } Серин АГЦ } АГА } Аргинин АГГ }	У Ц А Г
	Г	ГУУ } ГУЦ } Валин ГУА } ГУГ }	ГЦУ } ГЦЦ } Аланин ГЦА } ГЦГ }	ГАУ } Аспарагиновая ГАЦ } кислота ГАА } Глутаминовая ГАГ } кислота	ГГУ } ГГЦ } Глицин ГГА } ГГГ }	У Ц А Г

Д (Ш-ші) ілгек tРНҚ-ны аминоацил-tРНҚ-синтезаза ферментімен байланыстыру қызметін атқарады. Клеткада 20 амин қышқылының әр қайсысына арналған ерекше ферменттер - аминоацил-tРНҚ-синтетазалар бар. **Аминоацил-tРНҚ-синтезаза ферменттің жалпы атауы** (ацил қышқылдың радикалы деген термин, acid-қышқыл). Тікелей амин қышқылын алғанда, фермент сол амин қышқылының атымен аталады.

Мысалы, метионил-tРНҚ-синтезаза. Бұл фермент тек қана метионин аминқышқылымен өз ролін атқарады.

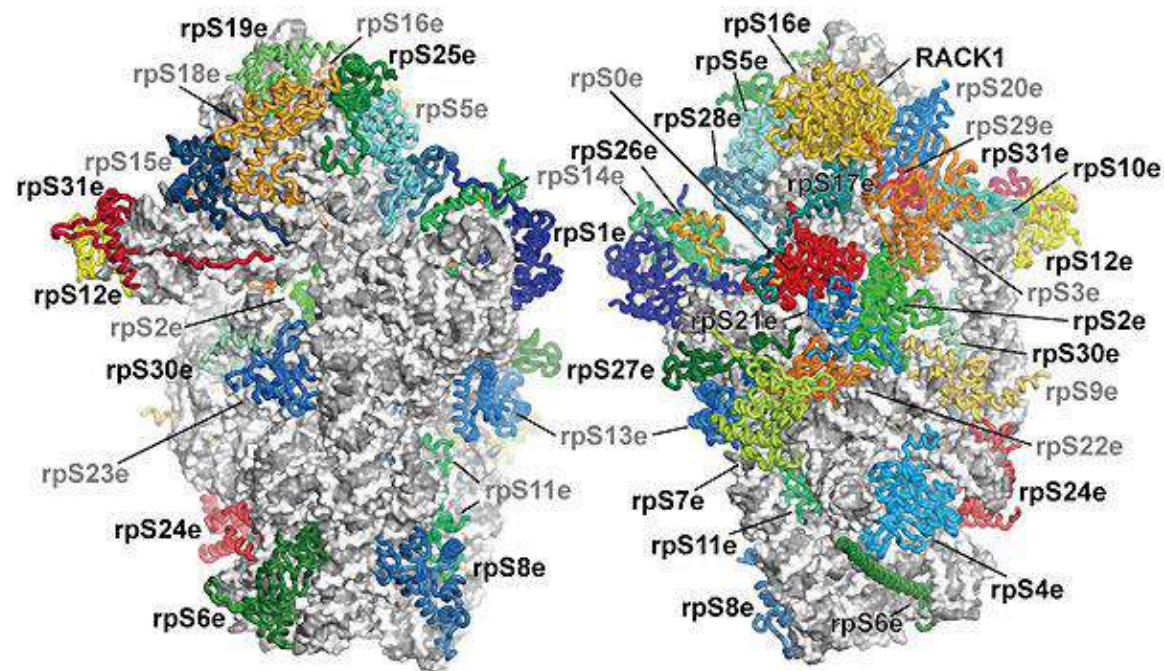
Валил-tРНҚ-синтезаза, валин амин қышқылының ерекше ферменті т.с.с.

Белок синтезі процесінде **аминоацил-tРНҚ-синтезаза екі қызмет атқарады.**

- 1) Өзінің антикодонуна тиісті амин қышқылын танып, тауып алып, АТФ қатысуымен, оның активтенуін катализдейді.
- 2) Активтенген амин қышқылын өзіне арналған tРНҚ-мен қосылу реакциясын жылдамдатады.

рРНҚ (жасушаның жалпы РНҚ – ның 80%, 3000-5000 нуклеотид) - ақуыз биосинтезіне қатысатын рибосомалардың негізгі құрылымдық және функционалдық компоненттері.

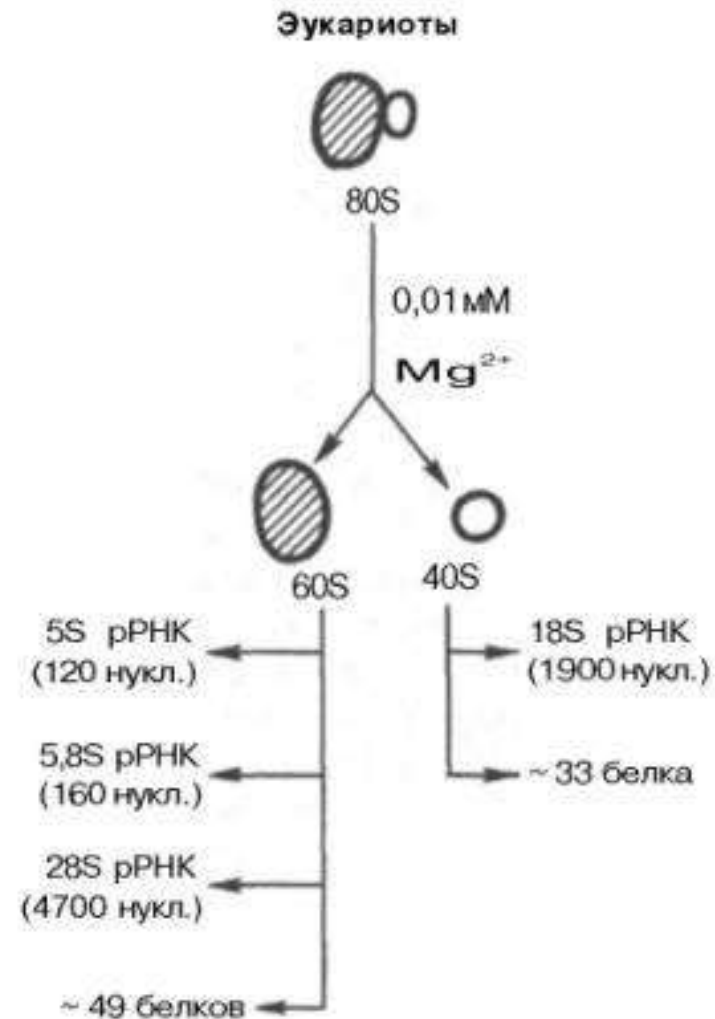
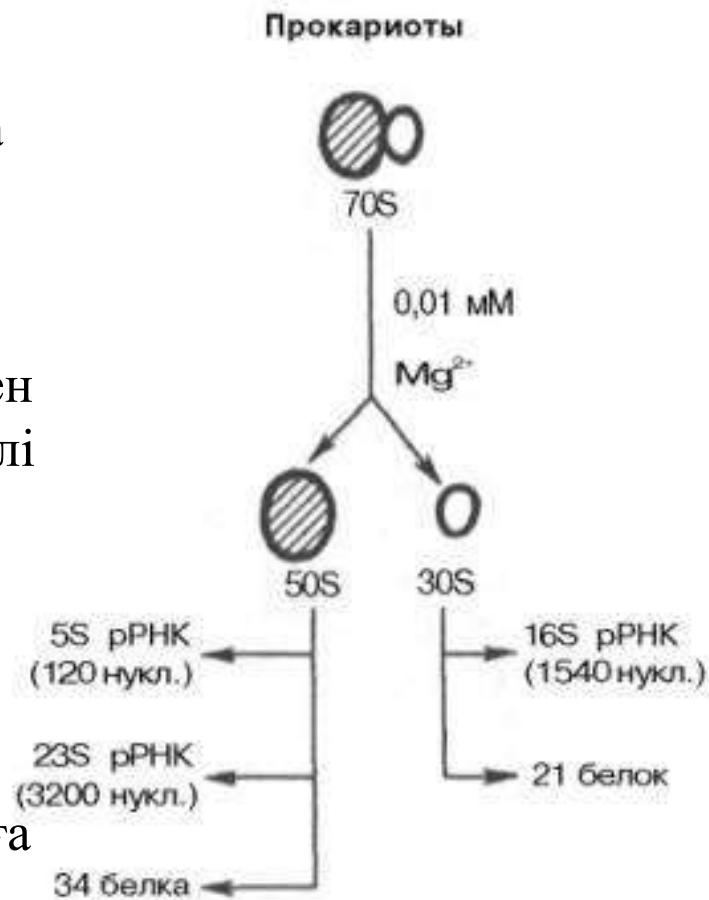
Рибосомада ақуыздардың синтезі жүреді. Эукариотты және прокариотты ағзаларда табылған әртүрлі пішіндегі рРНҚ молекуласы бір-бірінен көлемдері бойынша айырмашылықтары болады.



pPHK молекулалары үлкен болады.

Эукариоттар мен прокариоттарда **рибосома үлкен және кіші деп талатын екі суббөліктен тұрады**. Кіші суббөлік, өз алдында бір үлкен РНК және 20 шақты белоктардан тұрады; прокариоттардың үлкен суббөлігі екі РНК молекуласы мен 35 әртүрлі белоктардан,

ал эукариоттардың үлкен суббөлігі үш РНК және 50-ге жуық белоктардан тұрады. Екі суббөлікті зертханада Mg^{2+} иондарын төмендету көмегімен оңай диссоциациялауға болады. **Mg^{2+} иондарын қалпына келтіргенде, екі суббөлік қайта бірігеді.**

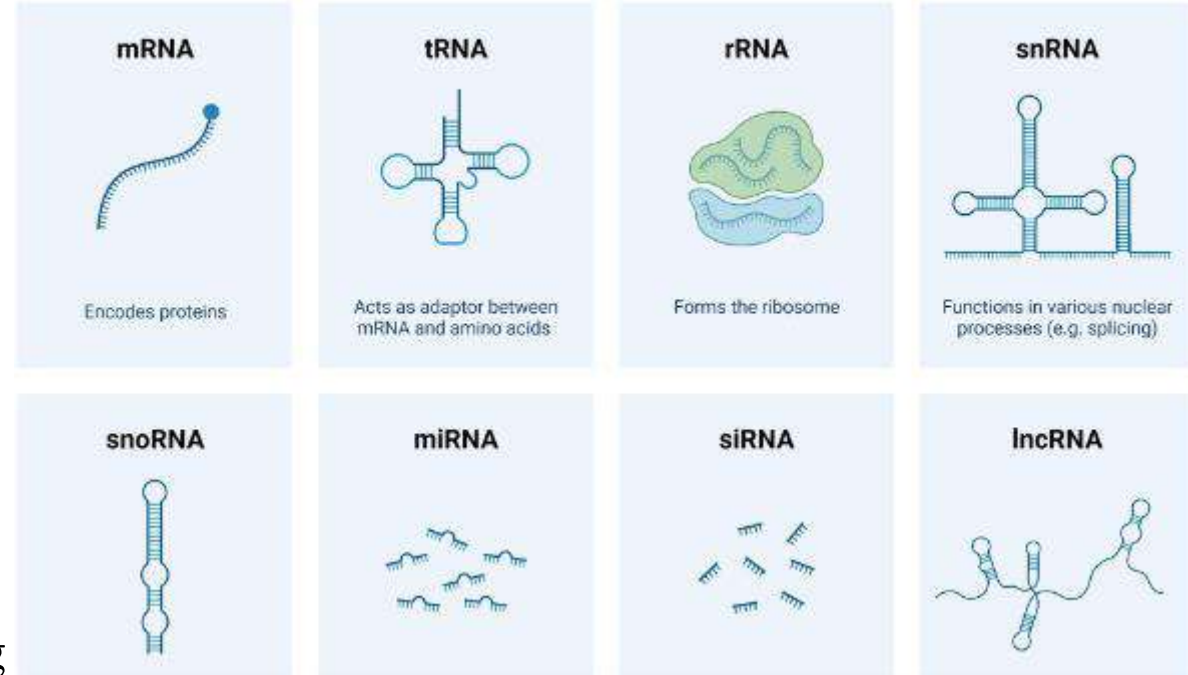


Эукариот жасушаларында бұл РНҚ молекулалары гендердің экспрессиясына қатысатын болса, басқа РНҚ молекулалары жасушада бірегей қызметтерді атқарады.

Мысалы:

- мРНҚ және антимағыналы РНҚ молекулаларын өңдеуге қатысатын кіші ядролықРНҚ (small nuclear RNA (snRNA)) және
- гендердің реттелуіне қатысатын микроРНҚ(miRNA) және
- қысқа интерференциялық РНҚ (short interfering RNA (siRNA)).

Types of RNA Produced in Cells



Кіші ядролық РНҚ	Кіші	Эукариоттарда бастапқы мРНҚ-ның жетілуіне қатысады.
Кіші интерферлеуші РНҚ	Кіші	Ген экспрессиясына әсер етеді; зерттеушілермен генді нокауттауда қолданылады
Микро РНҚ	Кіші	Ген экспрессиясына әсер етеді; өсу мен даму үшін қажет