

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

*Доцент кафедры
биологической химии
Петушок Н.Э.*

СОСТАВ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

ДНК

**Аденин, гуанин,
цитозин, тимин**

Дезоксирибоза

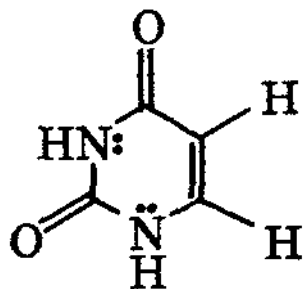
**Остатки фосфорной
кислоты**

РНК

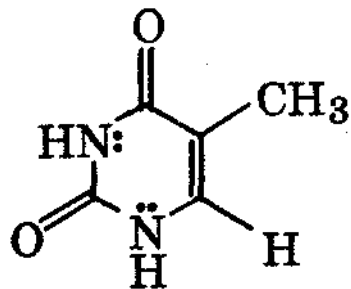
**Аденин, гуанин,
цитозин, урацил**

Рибоза

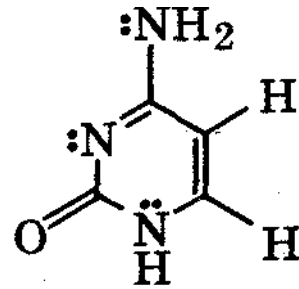
**Остатки фосфорной
кислоты**



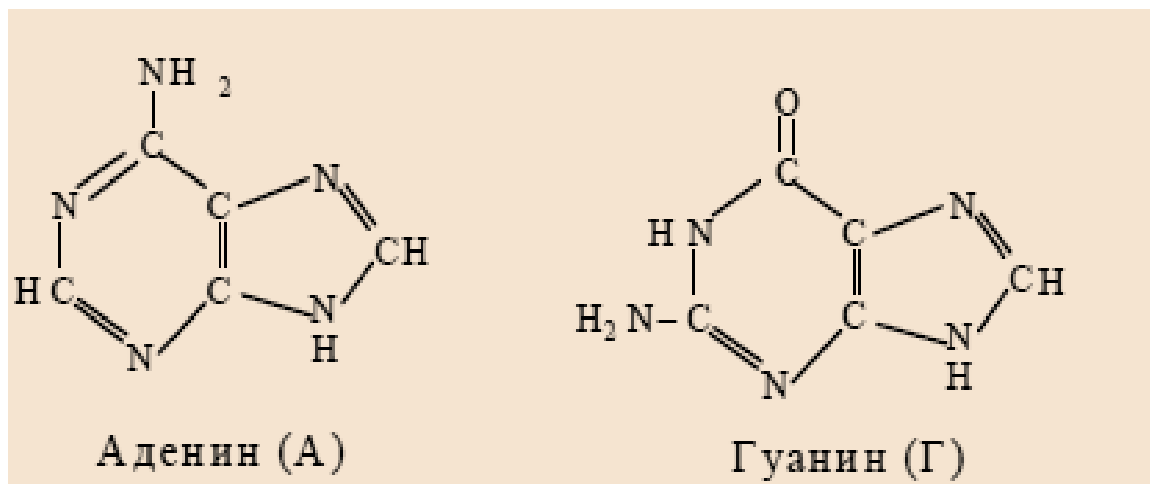
урацил



тимин

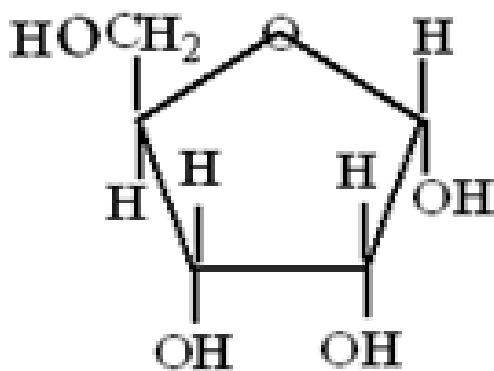


цитозин

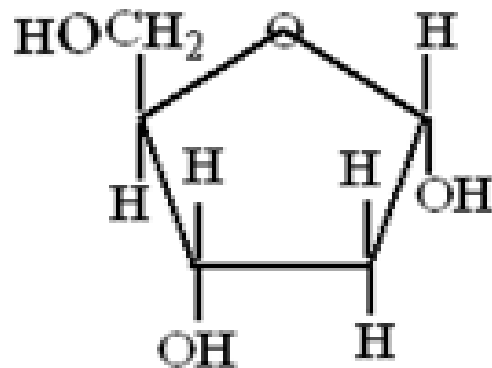


Аденин (А)

Гуанин (Г)

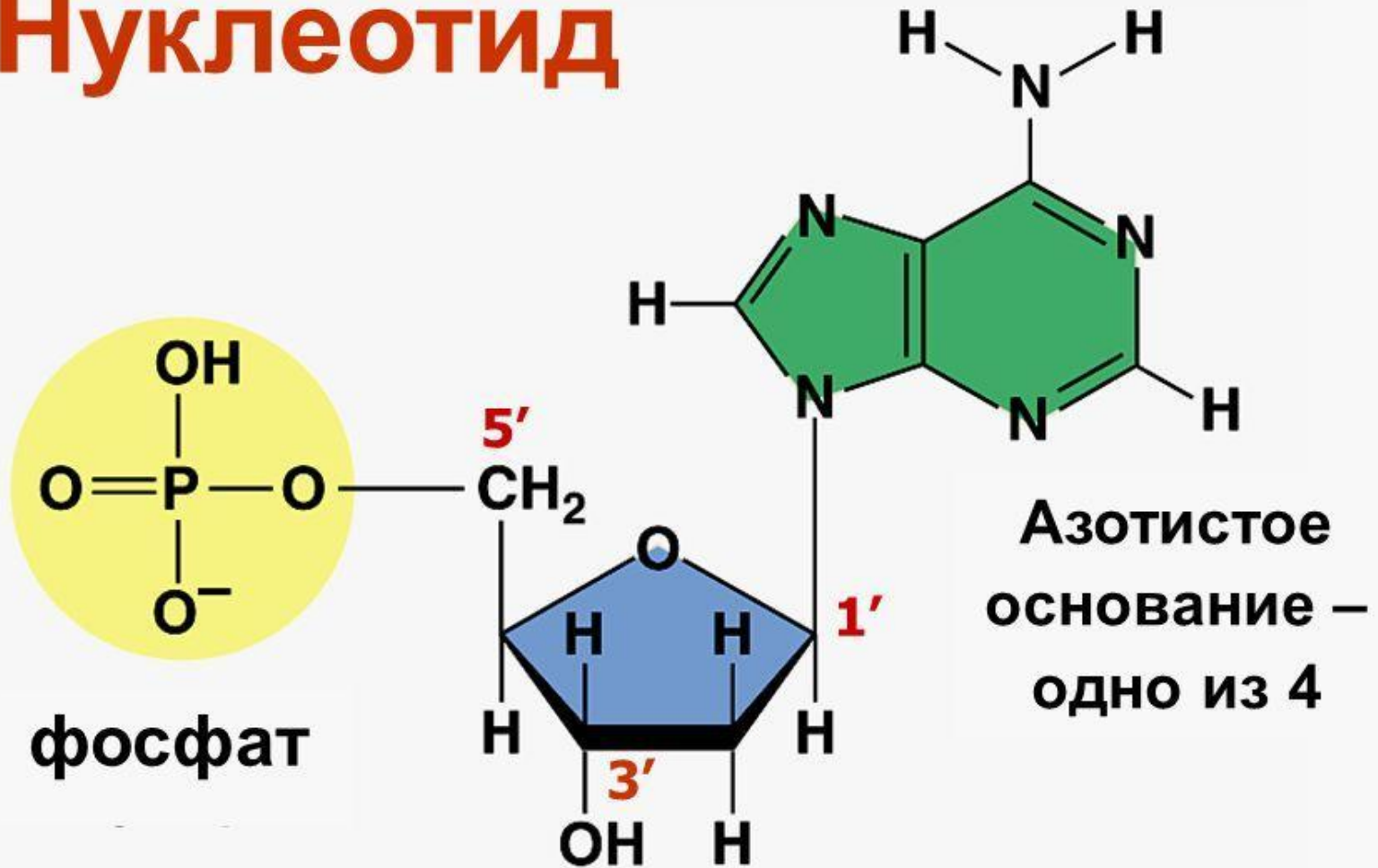


Рибоза



Дезоксирибоза

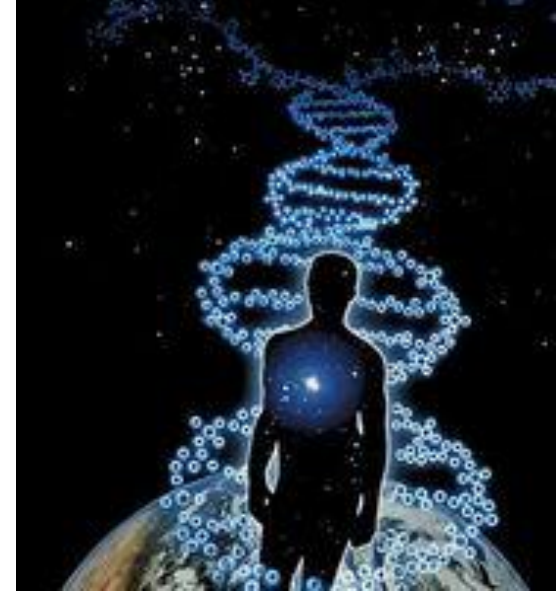
Нуклеотид



Сахар (рибоза / дезоксирибоза)

ДНК

Функция:



хранение генетической информации

передача её из поколения в поколение

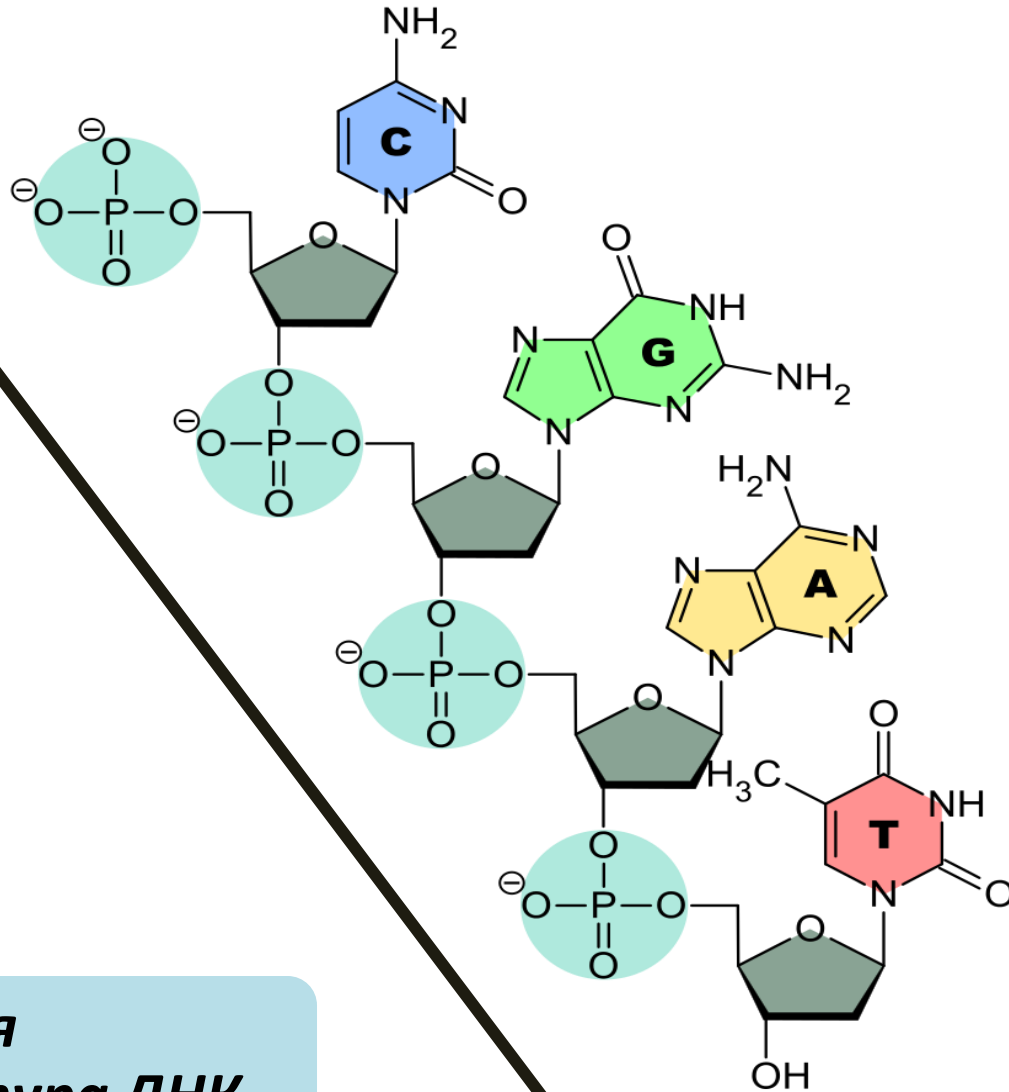
***и для построения структур данного
организма***

Структура ДНК



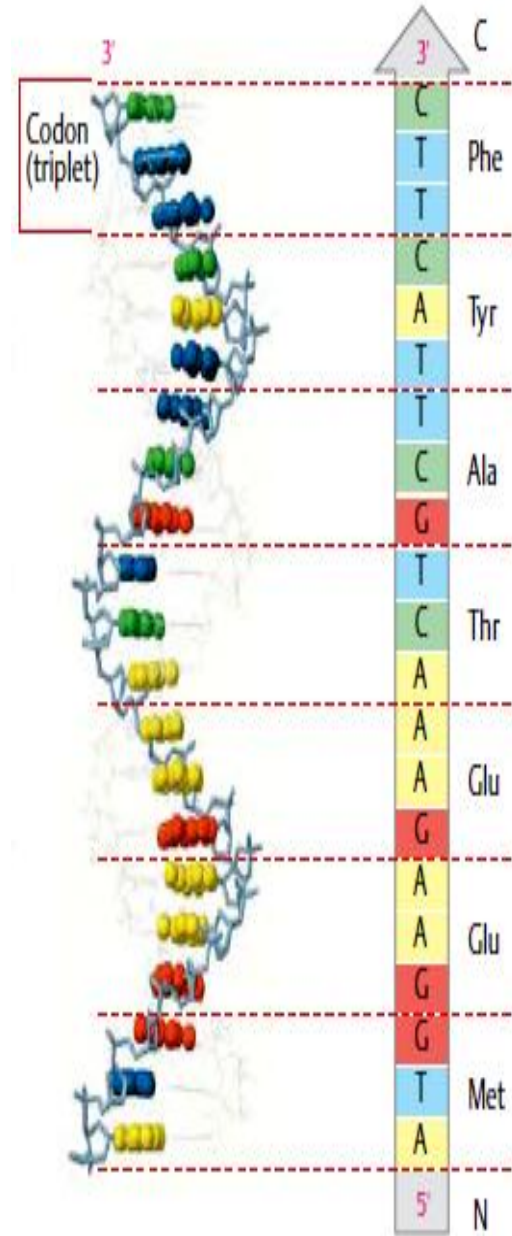
- *Первичная*
- *Вторичная*
- *Третичная*

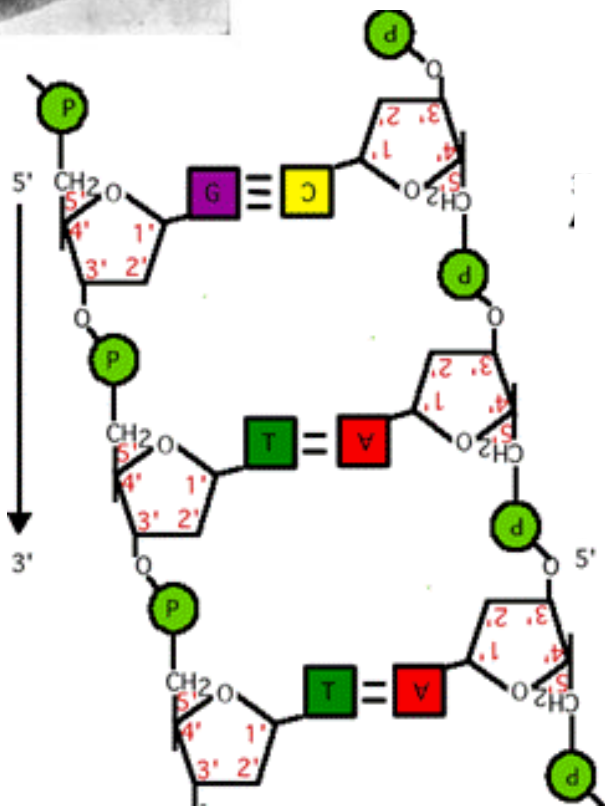
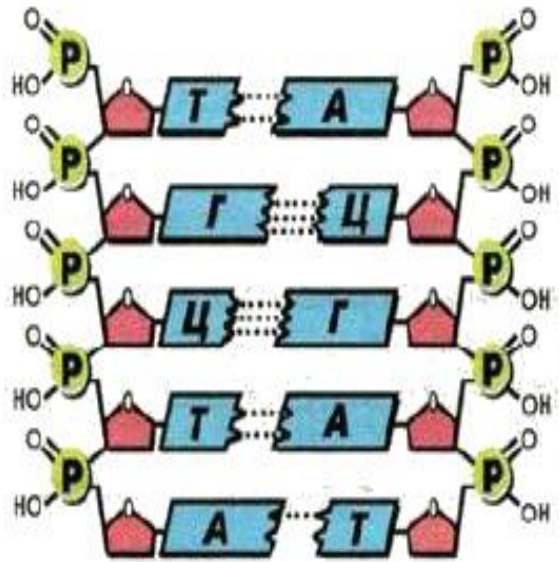
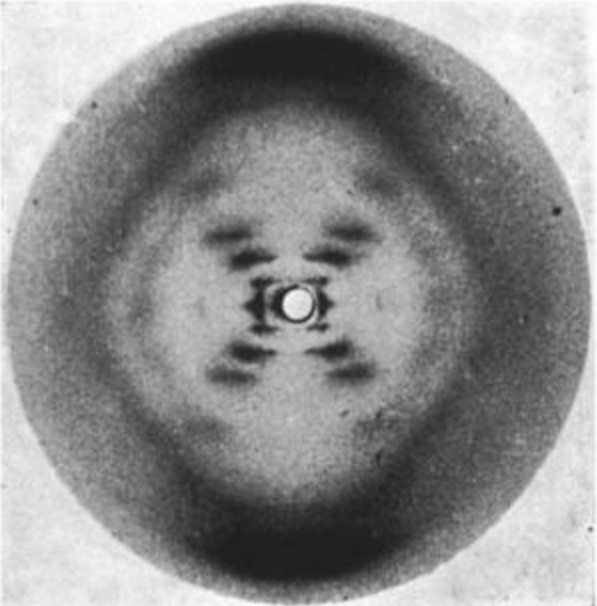
5'



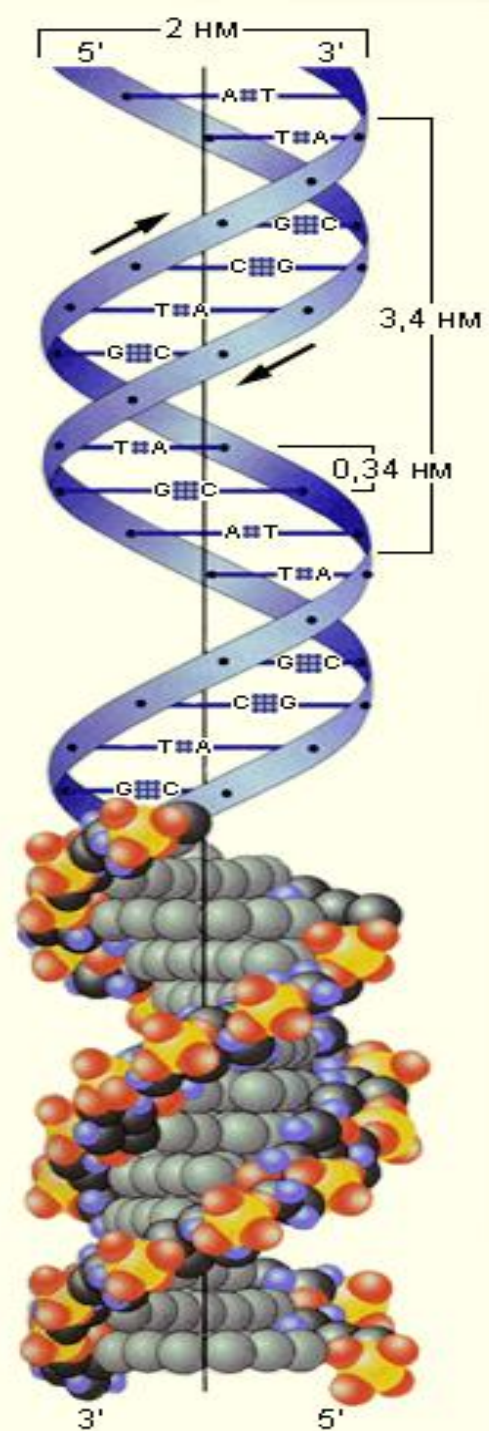
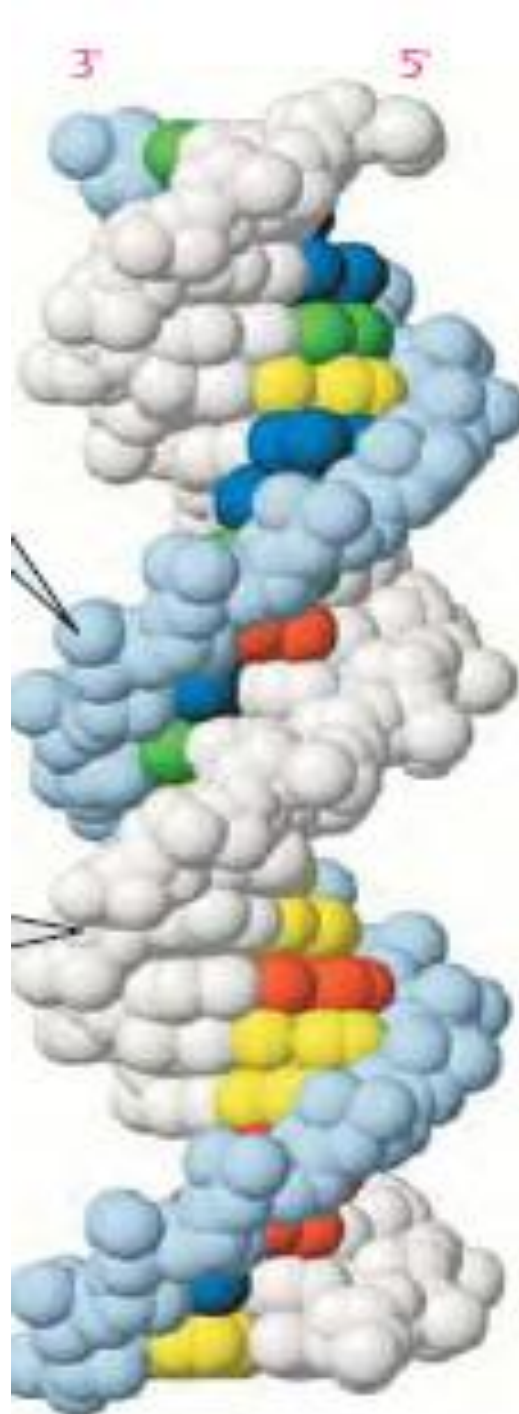
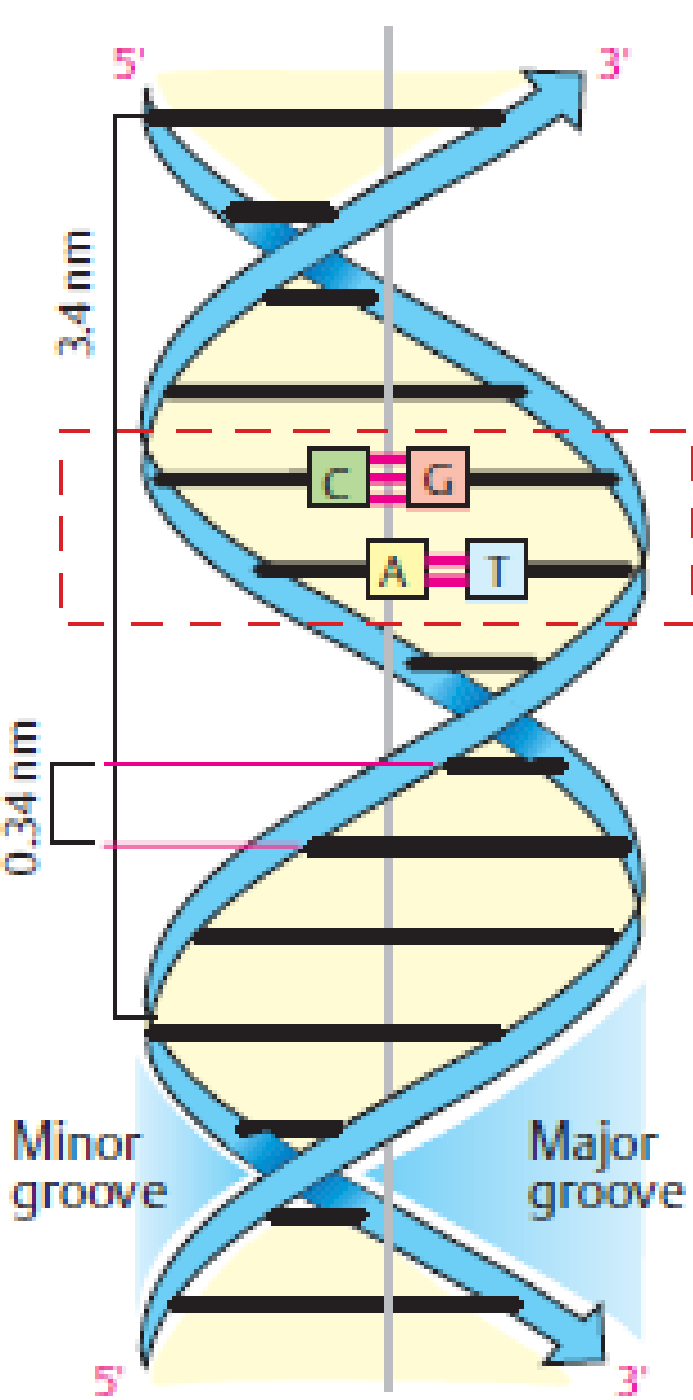
Первичная структура ДНК

3'





Вторичная структура ДНК





1. A - DNA



● Backbone
○ Bases



2. B - DNA



3. Z - DNA

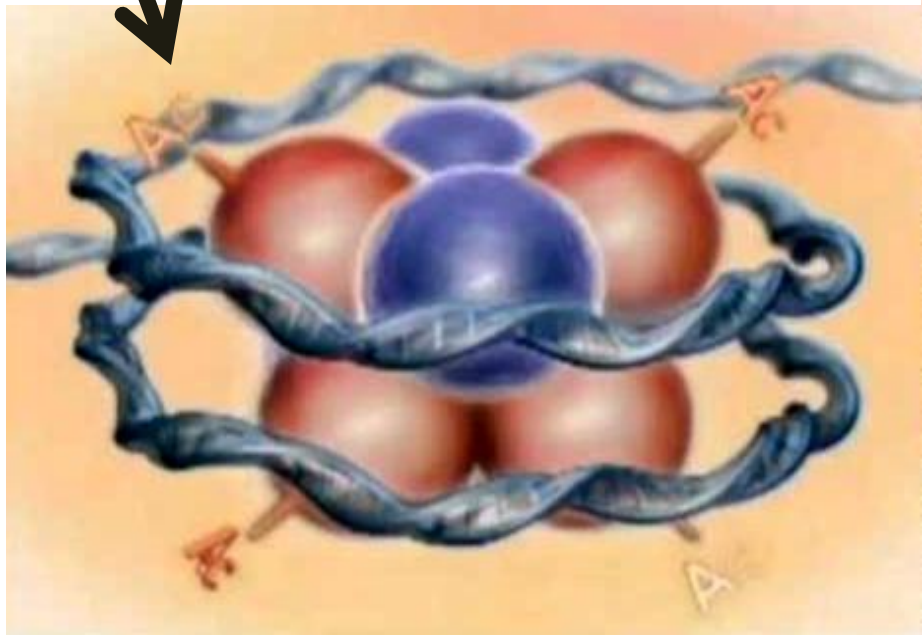
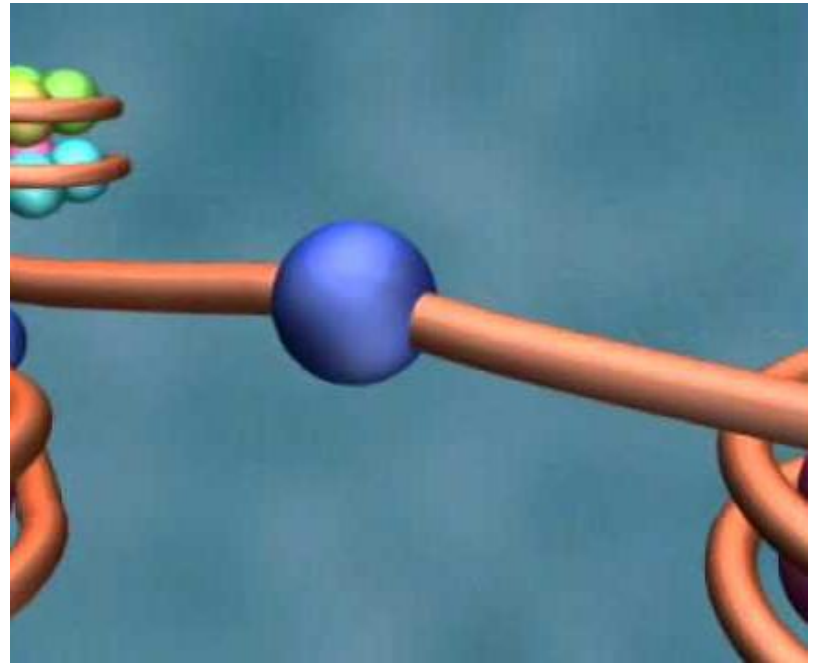
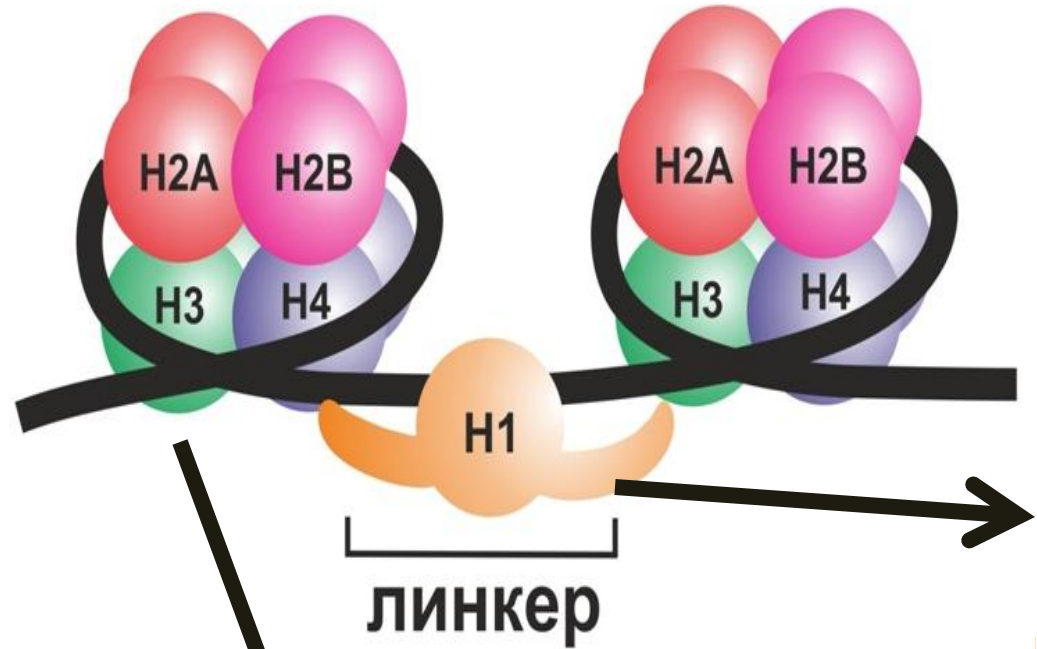


Уровни организации хроматина

- нуклеосомный
- соленоидный
- петлевой
- хромосомный

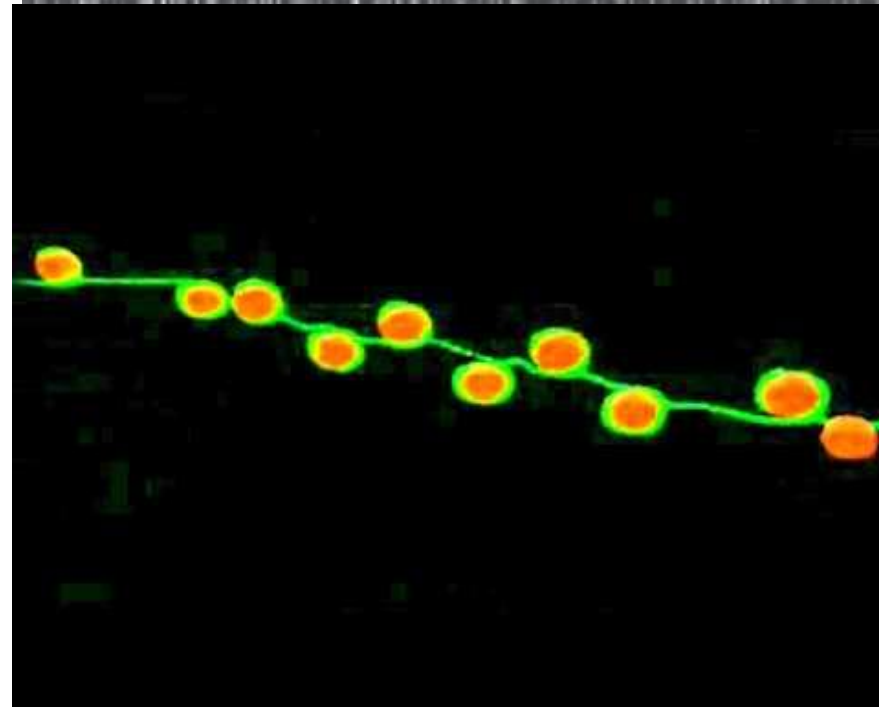
Уровни организации хроматина

нуклеосомный



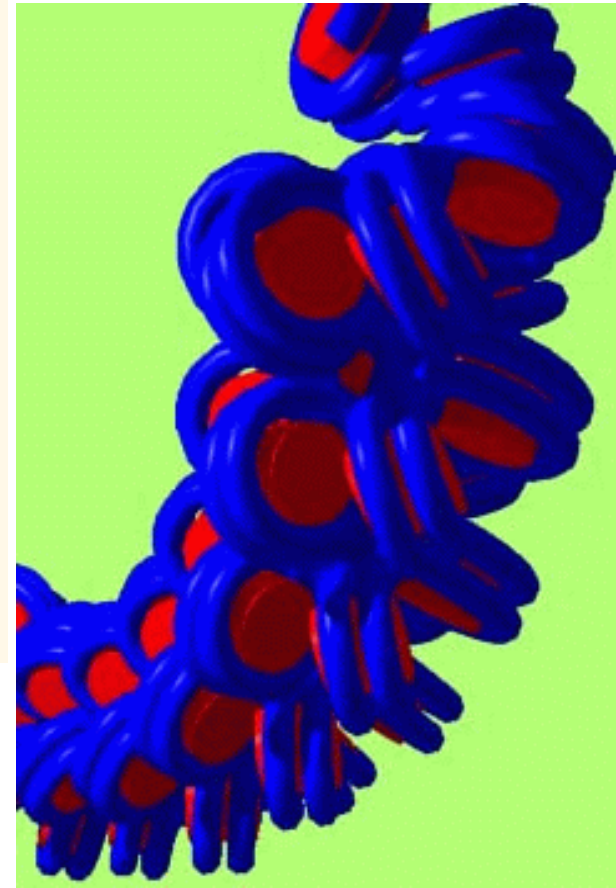
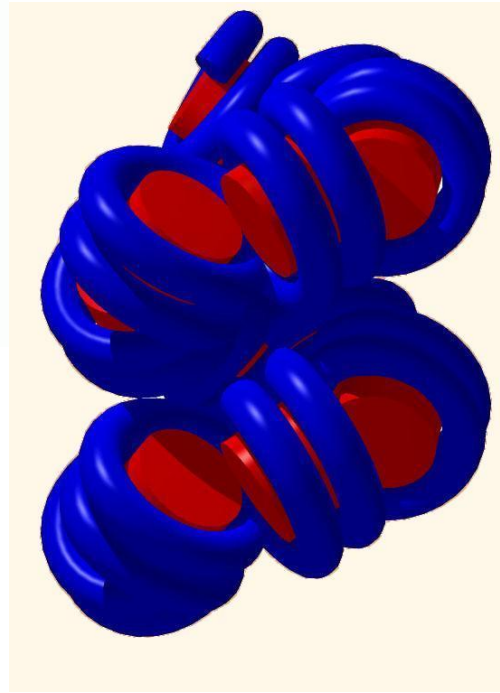
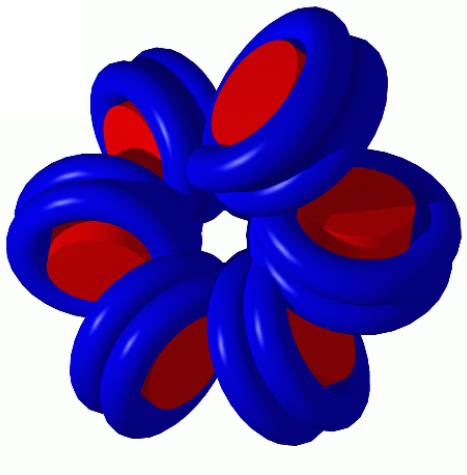
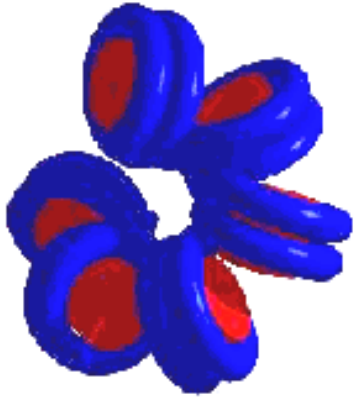
Уровни организации хроматина

нуклеосомный



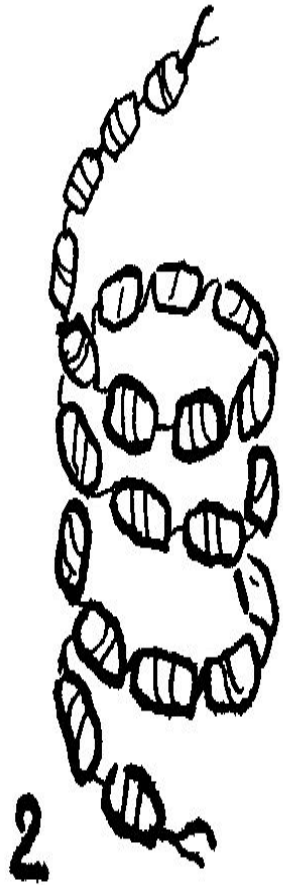
Уровни организации хроматина

соленоидный



Уровни организации хроматина

соленоидный



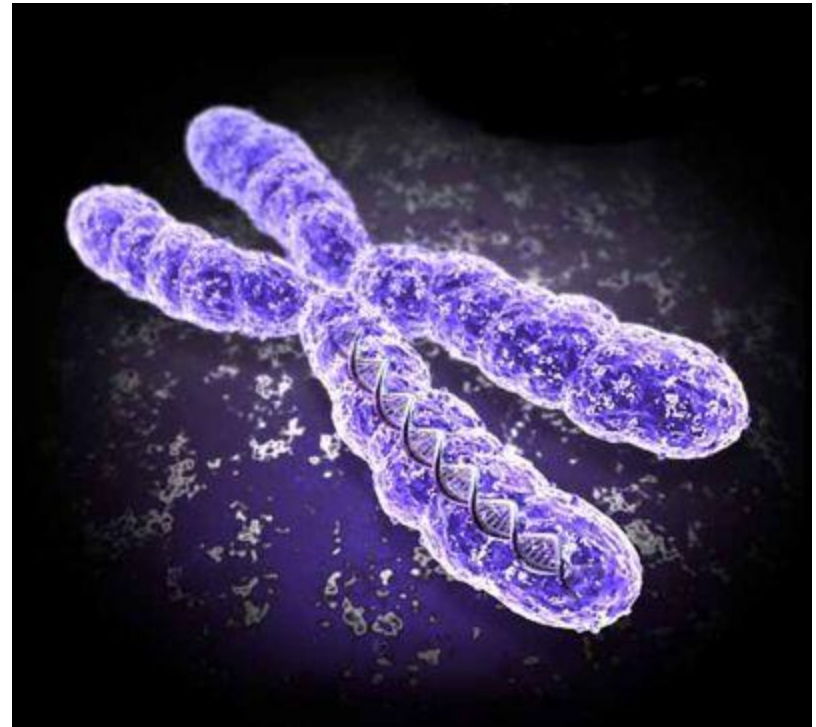
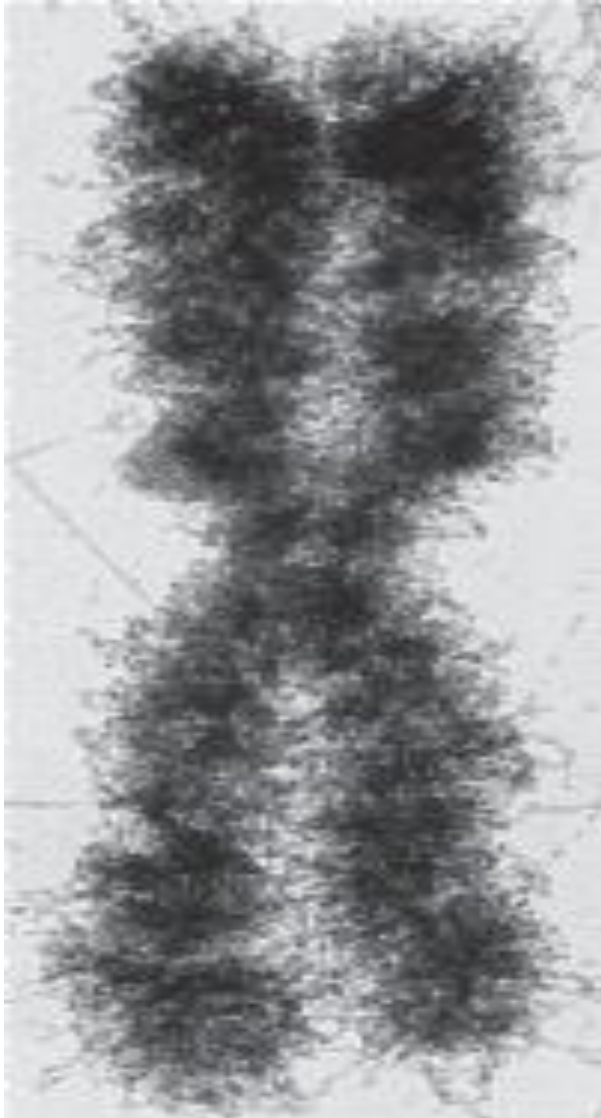
Уровни организации хроматина

петлевой

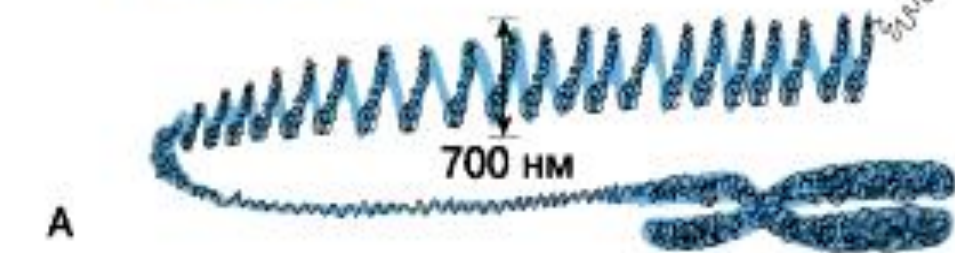
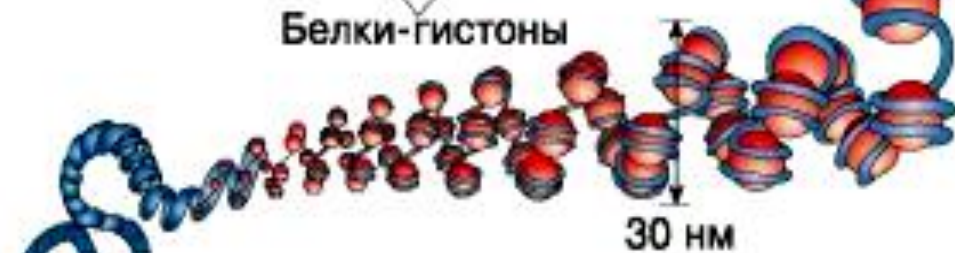


Уровни организации хроматина

хромосомный



Двойная спираль ДНК



1400 нм

Уровни организации хроматина

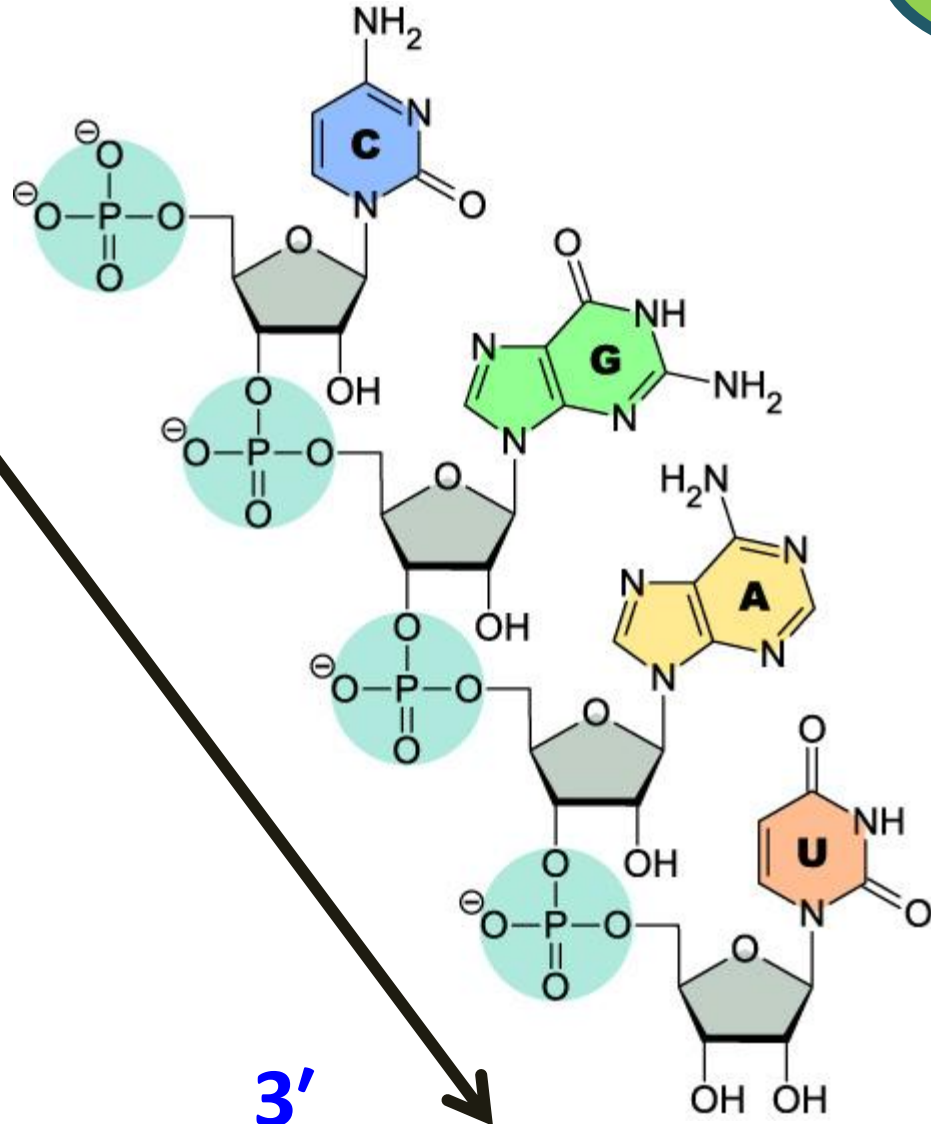


А

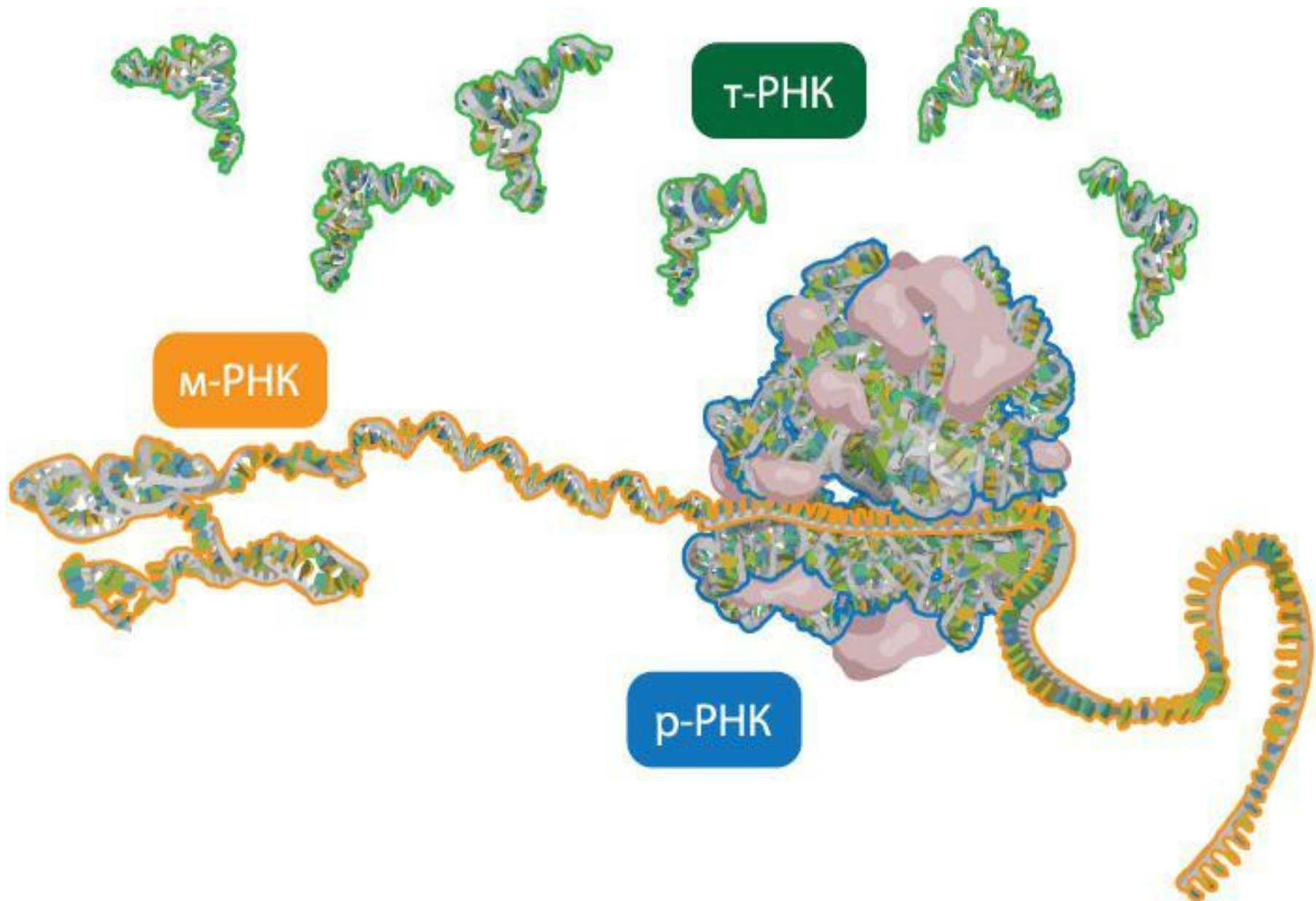
Б

PHK

5'



3'



Матричная РНК (мРНК)



Роль:

- перенос генетической информации от соответствующего гена в молекуле ДНК к месту синтеза белка
- матрица для синтеза белка

особенности строения:

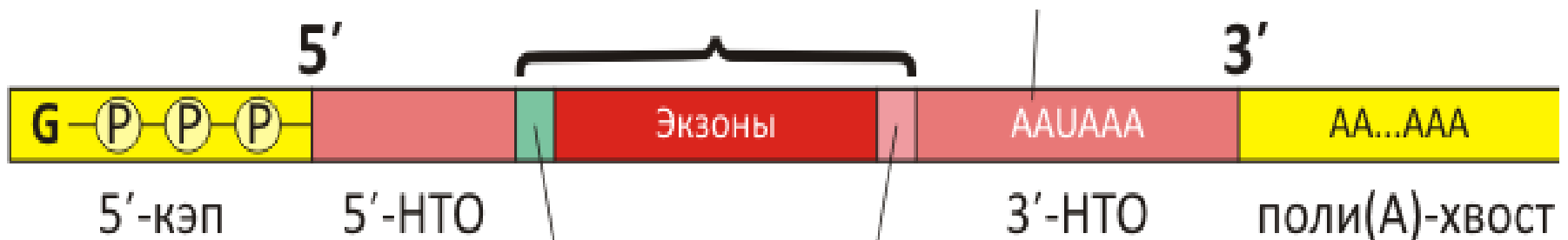
мРНК

на **5'-конце** присутствует **КЭП**

(7-метилгуанозин-5'-трифосфат)

на **3'-конце** присутствует

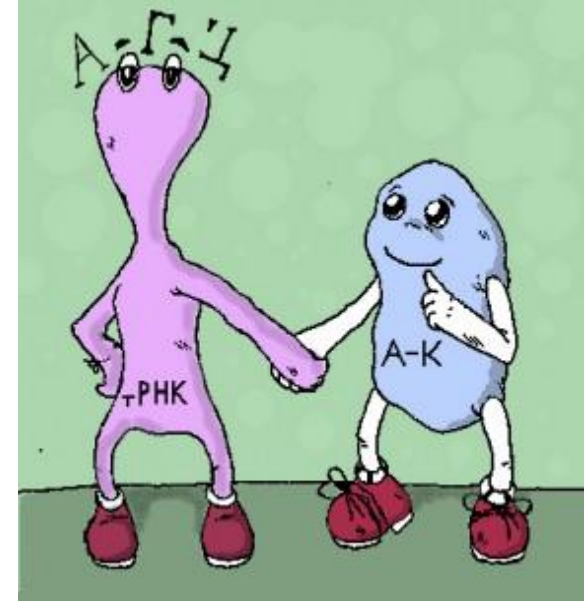
последовательность нуклеотидов из
100-200 аденозинмонофосфатных
остатков (**полиА**)



Роль:

тРНК

- **транспорт аминокислот к месту синтеза белка**



- **обеспечение специфического прочитывания нуклеотидной последовательности в мРНК за счет взаимодействия кодон-антикодон**

особенности строения:

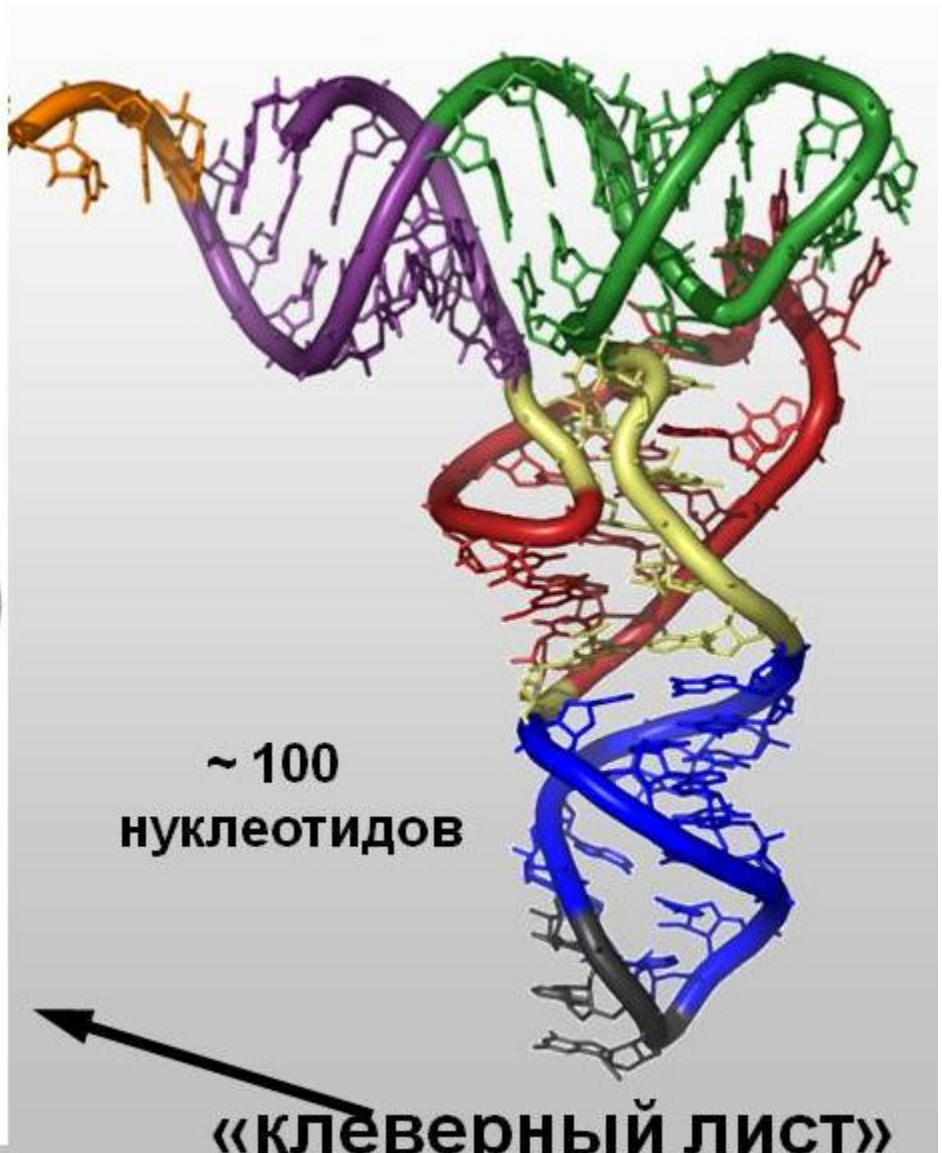
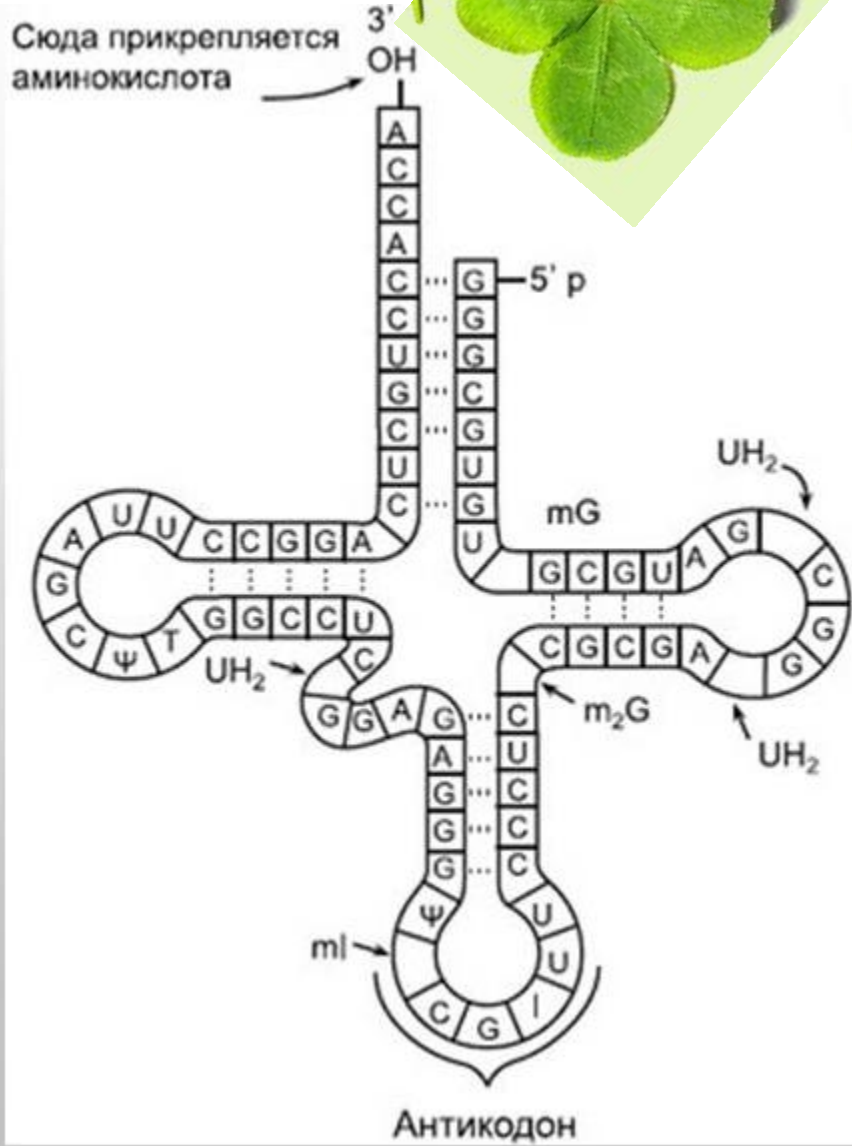
ТРНК

- **пространственная структура типа «клеверный лист»**



- **большое содержание минорных и модифицированных азотистых оснований**

тРНК



рРНК

Роль:

- образует каркас рибосомы
- взаимодействуя с мРНК и тРНК, обеспечивает процесс трансляции

Структура рибосом эукариот

Рибосома 80S

60 S субъединицы 40 S

```
graph TD; A[Рибосома 80S] --> B[60 S субъединицы]; A --> C[40 S]; B --> D["5.8 S, 5 S, 28 S рРНК"]; B --> E["+ 50 белков"]; C --> F["18 S рРНК"]; C --> G["+ 33 белка"];
```

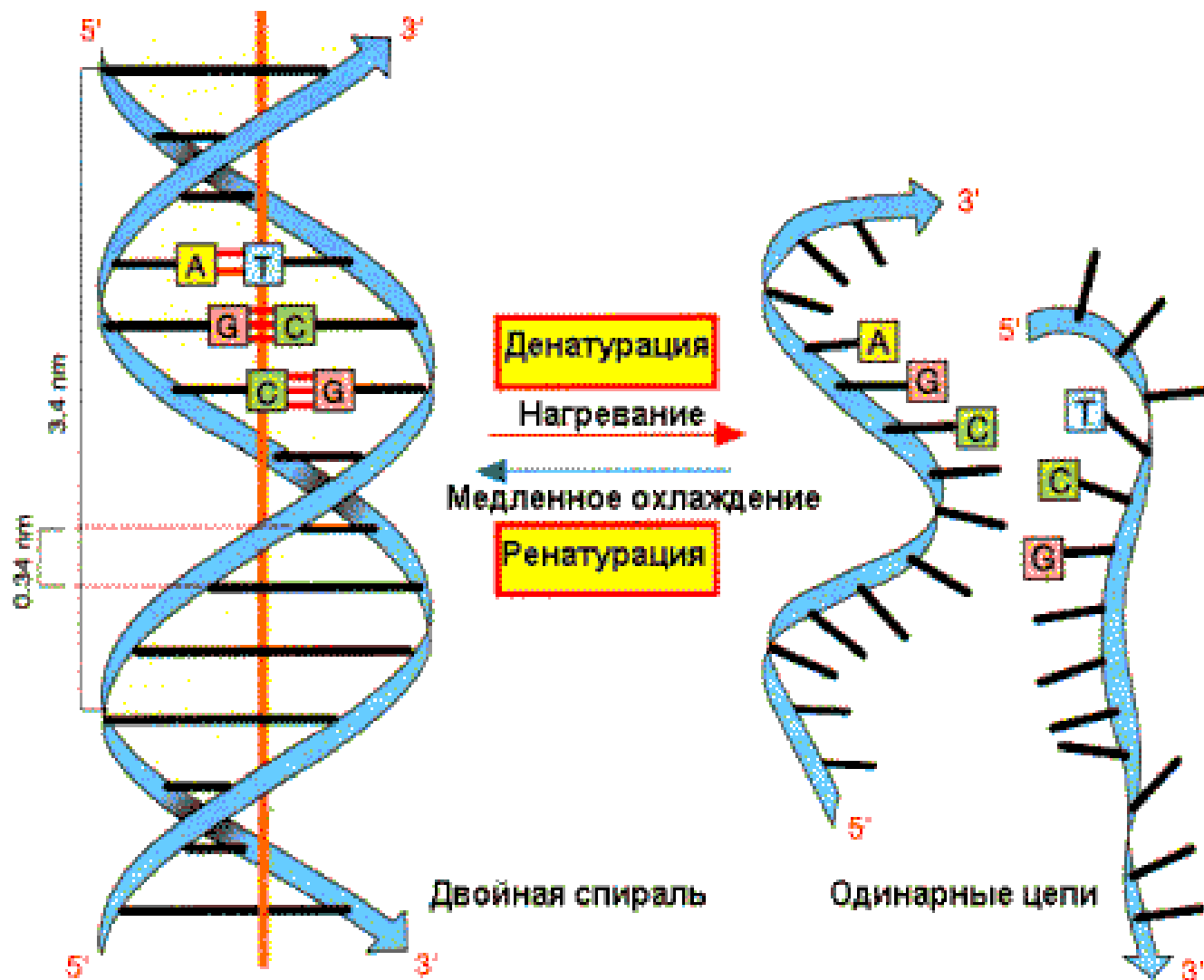
5.8 S, 5 S, 28 S рРНК

+ 50 белков

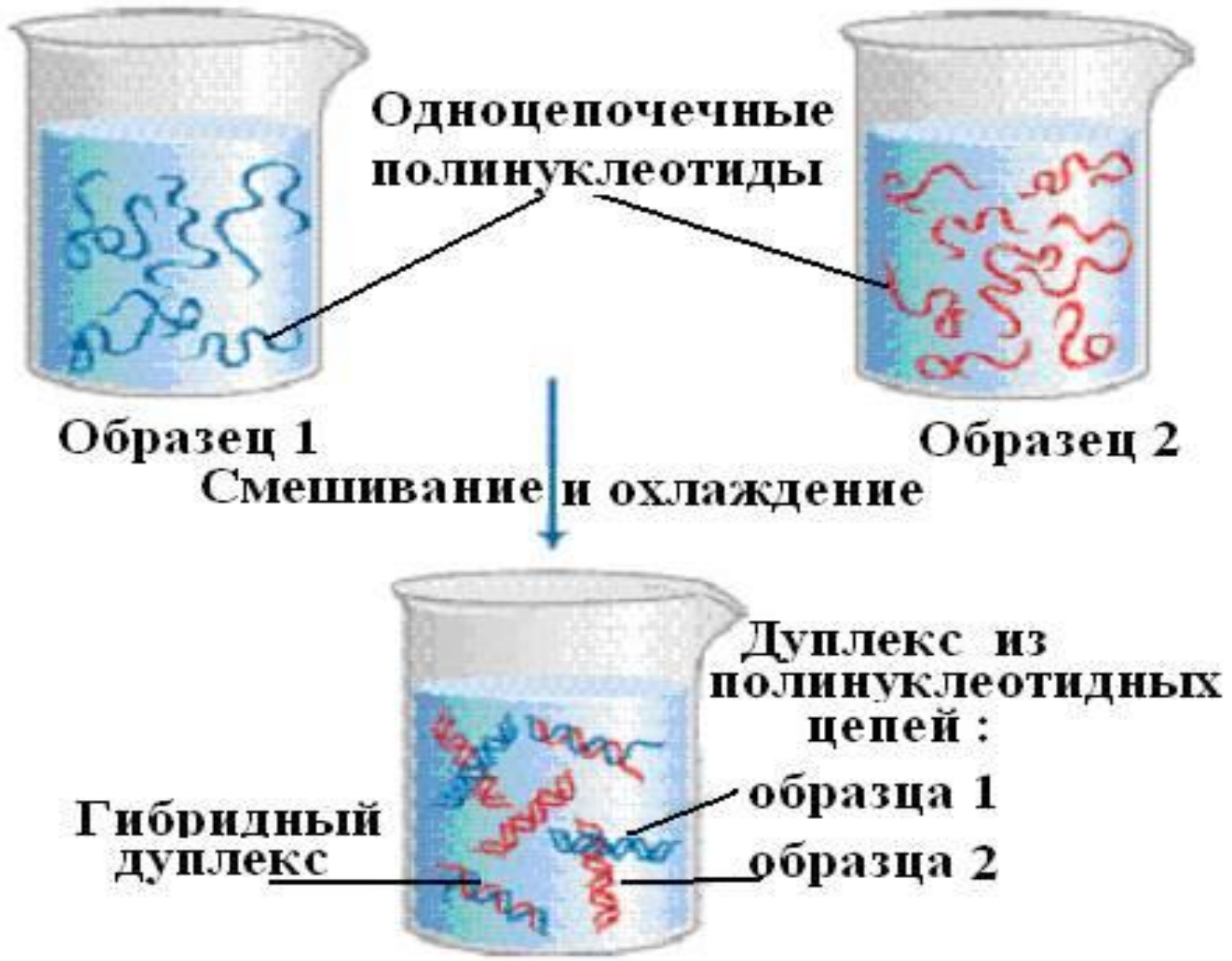
18 S рРНК

+ 33 белка

Денатурация ДНК



Гибридизация нуклеиновых кислот



ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ (П Ц Р)

1983 г. Карри Мюллис

**метод амплификации
ДНК или ее фрагментов *in vitro***

Состав реакционной смеси

Исследуемая ДНК

ДНК-зависимая-ДНК-полимераза

Дезоксирибонуклеотидтрифосфаты
(dNTP)

ДНК-затравки (праймеры)

Буферный раствор с $MgCl_2$

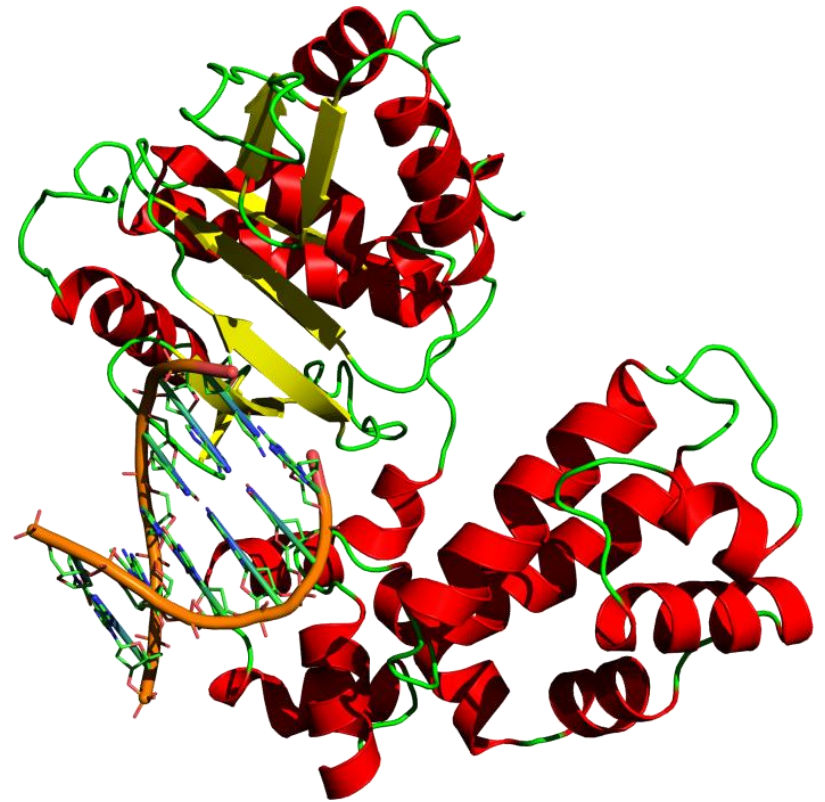
Интеркалирующий краситель
(обычно SYBR Green)

или

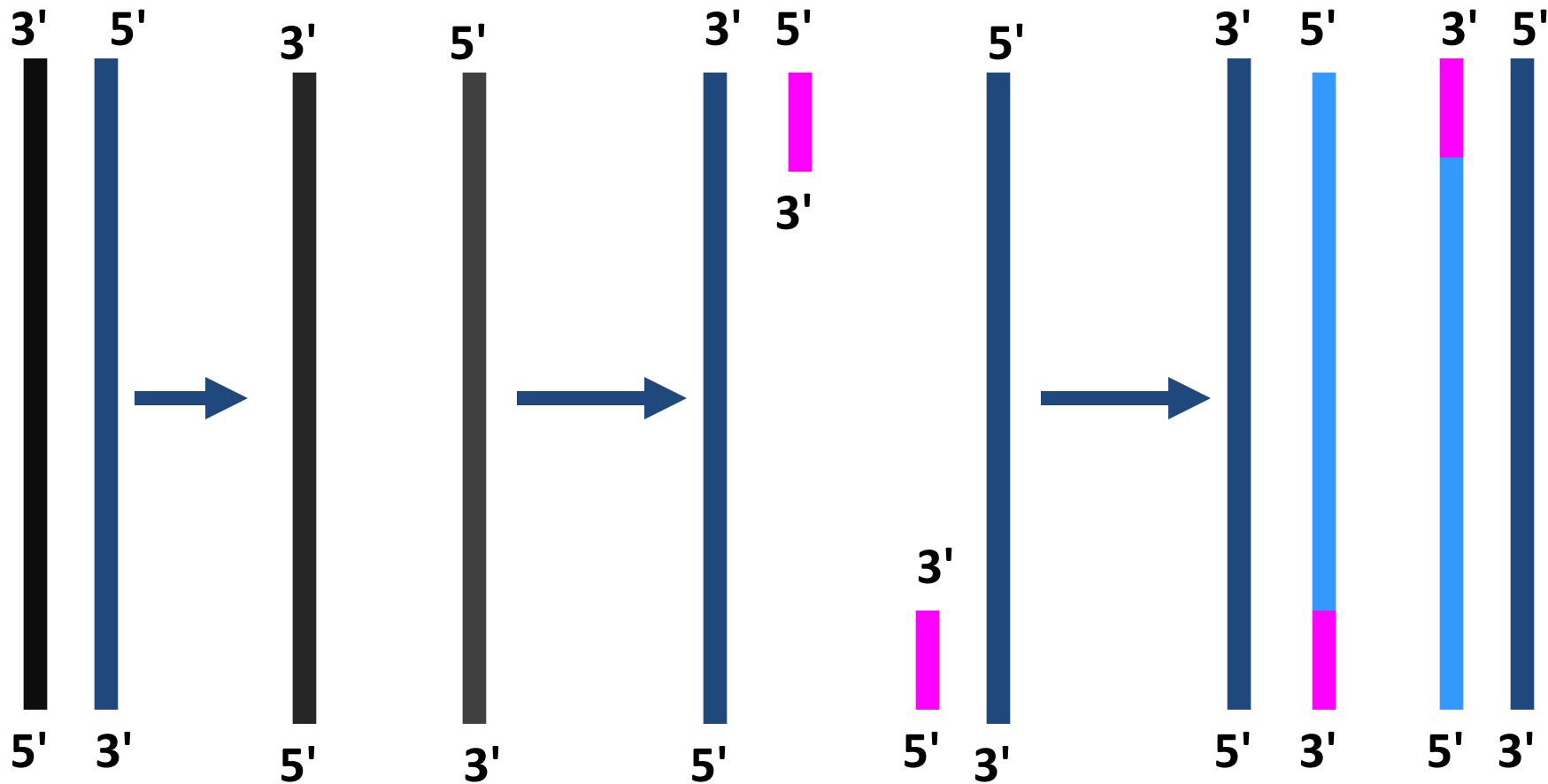
Флуоресцентно меченные
ДНК-зонды

Тaq-полимераза

термостабильная ДНК-зависимая-ДНК-полимераза бактерии *Thermus aquaticus*.



ПЦР

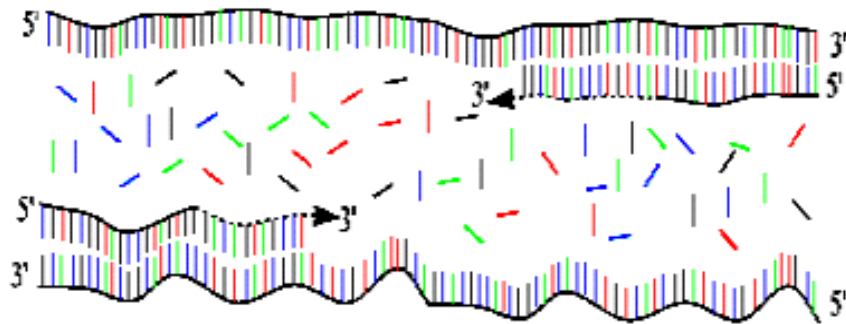
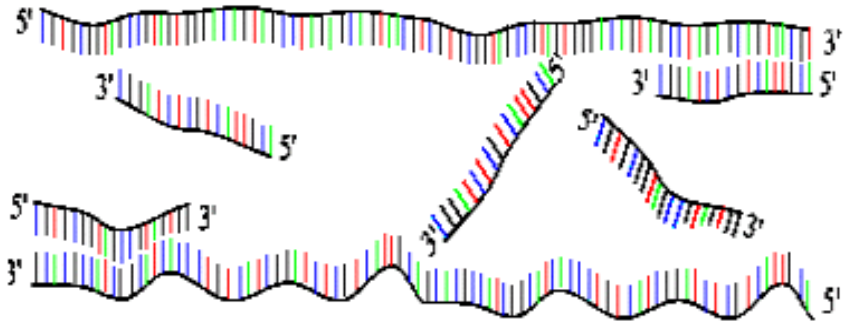
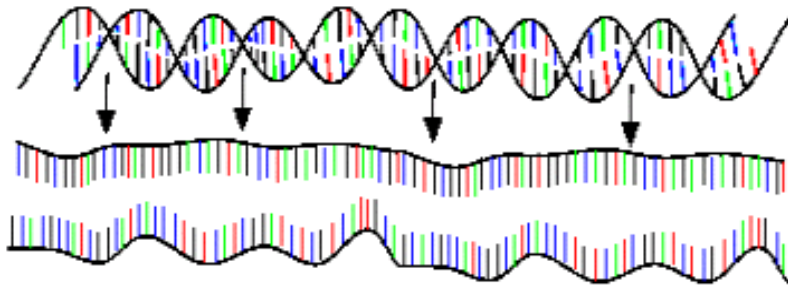


Денатурация

Гибридизация

Полимеризация

Этапы ПЦР



93-96 °C

1-10
минут

«Горячий старт» -
активация
полимеразы,
размешивание
компонентов

93-96 °C

5-15
секунд

Разрушение
водородных связей
между цепями ДНК
(денатурация)

40-75 °C

30
секунд

Гибридизация
праймеров на ДНК
(отжиг праймеров)

60-75 °C

0-15
секунд

Синтез
комплементарных
цепей ДНК
(элонгация)

Виды ПЦР

- ПЦР с обратной транскрипцией
- ПЦР в реальном времени (количественная ПЦР)
- Иммуно-ПЦР

Реакция может проводиться в нескольких вариантах:

ПЦР с горячим стартом

Ступенчатая ПЦР

«Холодная» ПЦР

ПЦР длинных фрагментов

Мультиплексная ПЦР

Асимметричная ПЦР

Метил специфичная ПЦР

Вложенная ПЦР

ПЦР *in situ*

Капельно-цифровая ПЦР

Применение ПЦР

Клиническая медицина

- обнаружение бактериальных, вирусных, грибковых инфекций; диагностика лейкемии, лейкомы и других видов неоплазий по наличию точечных мутаций и генетических маркеров;
- диагностика наследственных заболеваний;
- выявление генетически обусловленных особенностей метаболизма для индивидуального подбора лекарственных препаратов в персонализированной медицине;
- типирование тканей в трансплантологии;
- обнаружение хромосомных перестроек в половых клетках до оплодотворения.

Судебная медицина и криминалистика

- установление личности по ДНК;
- установление родства;
- расследование причин необъяснимой смерти («молекулярная аутопсия»).

Генная инженерия

- амплификация ДНК;
- секвенирование ДНК;
- мутагенез;
- создание гибридизационных зондов для различных видов блот-анализа;
- анализ экспрессии генов

Оборудование для ПЦР



Swift™ MiniPro
Thermal Cycler



Swift™ Spectrum 48
Real Time Thermal Cycler



Aeris™ Aeris
Thermal Cycler



Swift™ Spectrum 96
Real Time Thermal Cycler



ProvoCell™ Microplate
Shaker/Incubator

Идентификация специфических последовательностей

Используется принцип комплементарности и технология гибридизации

БЛОТ-АНАЛИЗ

Саузерн-
(ДНК)

Нозерн-
(РНК)

Вестерн-
(белок)

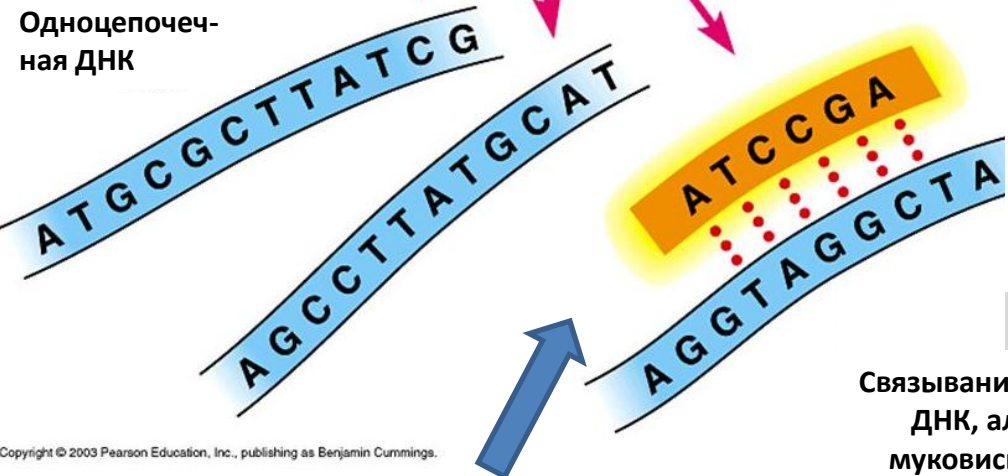
Молекулярные зонды

Радиоактивный зонд
(фрагмент ДНК)

ATCCGA

Добавление зонда к одноцепочечной ДНК

Одноцепочечная ДНК



Связывание зонда с ДНК указывает на присутствие определенного гена (или последовательности нуклеотидов)

Copyright © 2003 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

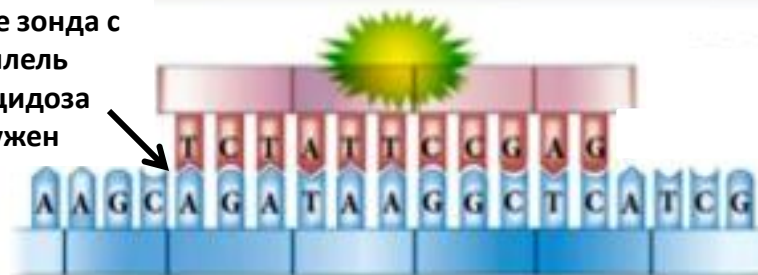
Флуоресцентная метка



Зонд, комплементарный аллелю муковисцидоза

Последовательность № 1

Связывание зонда с ДНК, аллель муковисцидоза обнаружен



Последовательность № 2

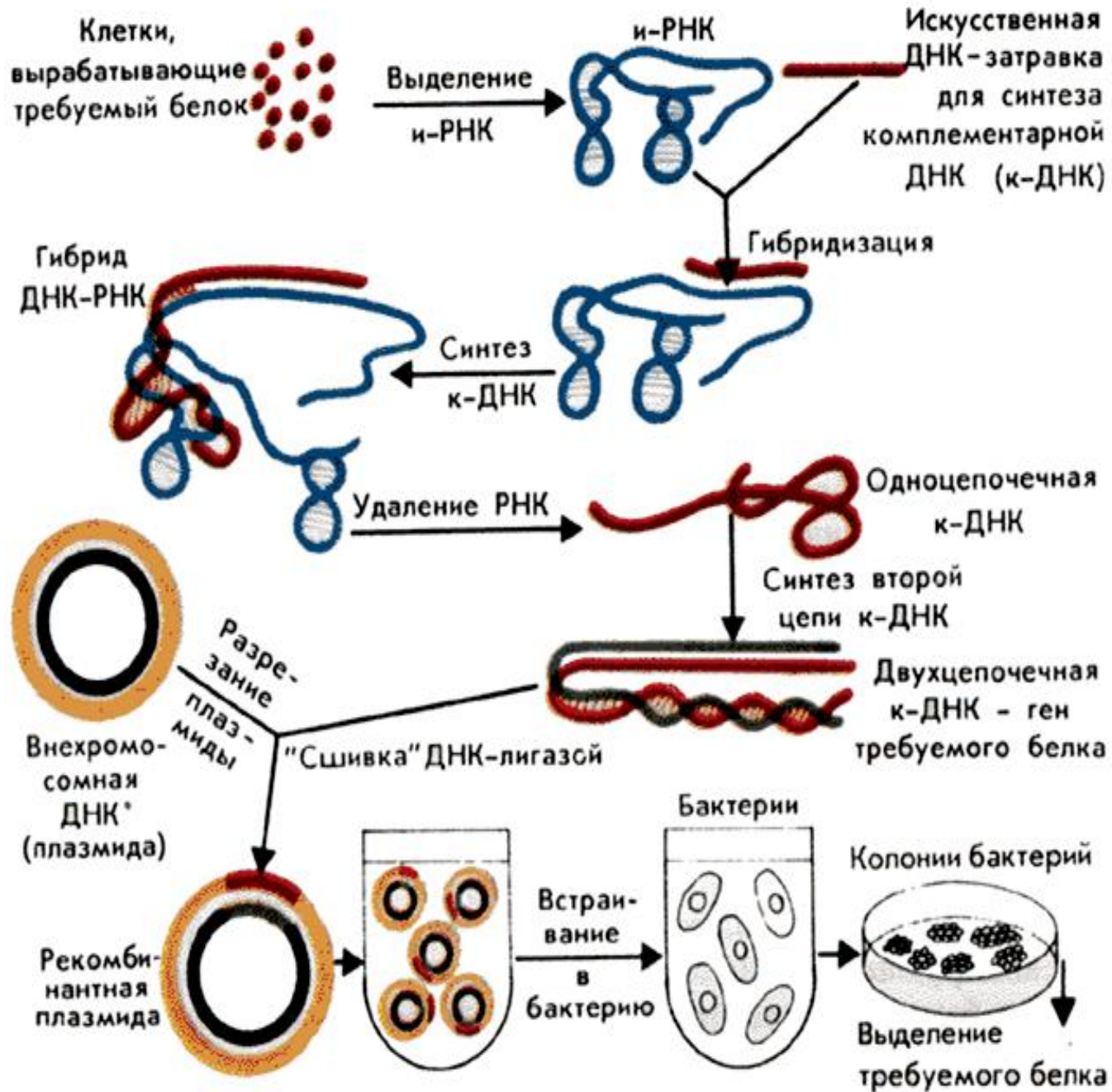
Отсутствие связывания, аллель муковисцидоза НЕ обнаружен



Метод блот-гибридации (Саузерн-блот) (Э. Саузерн, 1975 г.)



Генная инженерия

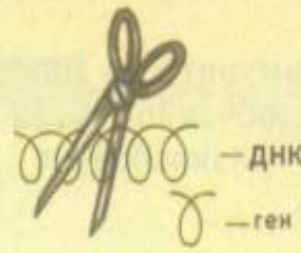


Генная инженерия

1. Выделение ДНК



2. Вырезание гена



3. Размножение гена



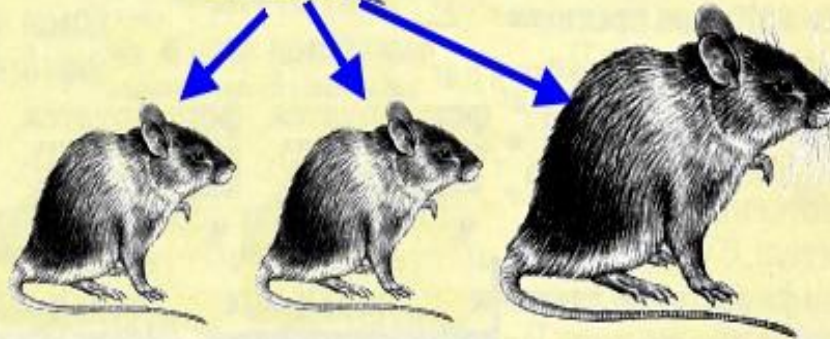
4. Введение раствора с ДНК в оплодотворенную яйцеклетку



5. Яйцеклетку трансплантируют приемной матери, где она продолжает развитие



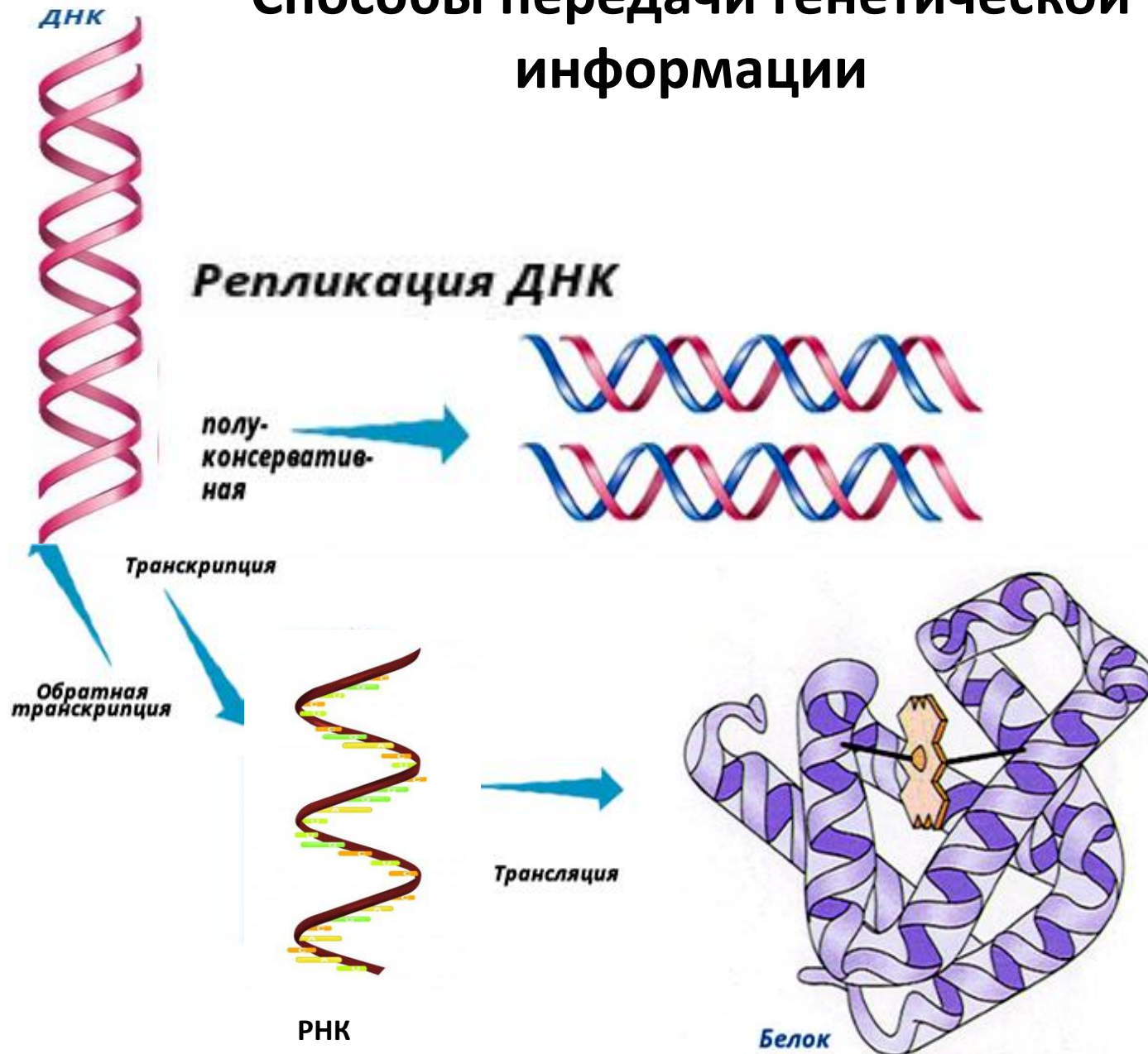
6. В потомстве появляется трансгенная гигантская мышь, если введен ген гормона роста



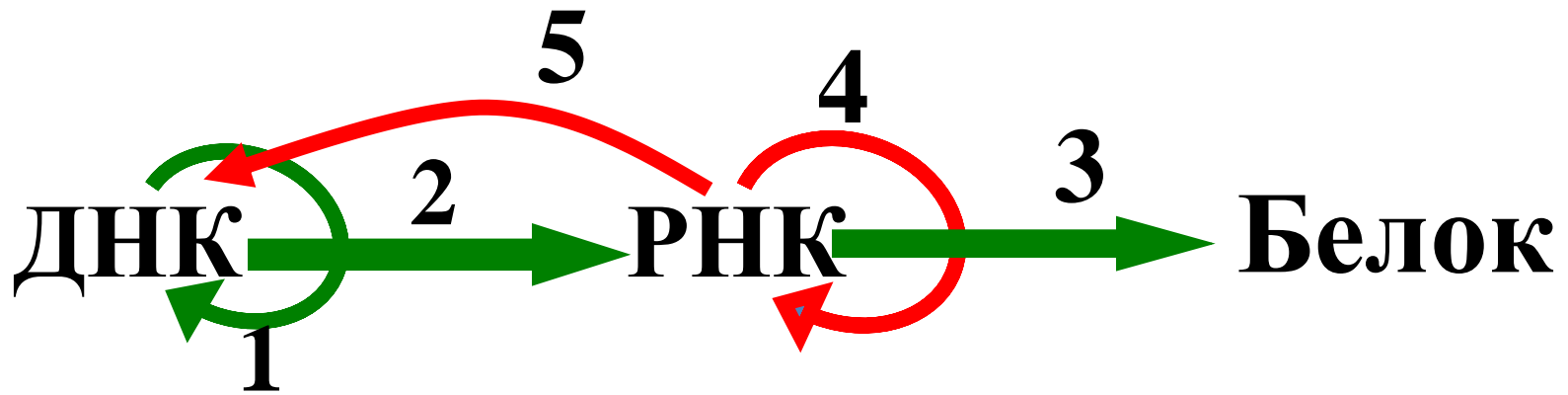
Генная инженерия



Способы передачи генетической информации



Основной постулат молекулярной биологии



1. Репликация ДНК
2. Транскрипция
3. Трансляция
4. Репликация РНК
5. Обратная транскрипция