

ДНК және РНК құрылымы мен қасиеттері.
ДНК және РНК құрамдас бөліктері. ДНК
денатурациясы және ренатурациясы

Дәріскер: Мамытова Н.С.

Жоспары:

1. Нуклеин қышқылдарының
классификациясы

2. қДНҚ мен РНҚ арасындағы
айырмашылықтары

3. РНҚ функциялары

4. ДНҚ қасиеттері: денатурация және
ренатурация

шқылдарының классификациясы

Уотсон мен Крикті ДНҚ қос спираль моделін құруға әкелген жаңалықтардың хронологиясы (DNA-ағылшынша, ADN-французша, DNS-немісше)

1868 Нуклеин табылды. Қазіргі атауы - хроматин. Фридрих Мишер

1889 Нуклеин нуклеин қышқылы және белок болып бөлінеді. «Нуклеин қышқылы» термині пайда болды. Ричард Альтман

1900 Барлық азотты негіздерін химиктер сипаттаған.

1909 Нуклеин қышқылдарының құрамында фосфор қышқылы мен рибоза табылған. Левин

1930 Дезоксирибоза табылды. Левин

1938 Рентгендік дифракциялық талдау ДНҚ-дағы нуклеотидтер арасындағы қашықтық $3,4 \text{ \AA}$ екенін көрсетті. Бұл жағдайда азотты негіздер қабаттастырылады. Уильям Астбери. Вилкинс, Франклин

(1948-1950) - Кинг колледжі, Англия

Тікелей және кері титрлеуді қолдана отырып, ДНҚ-да N-H және C=O топтары арасында сутектік байланыс бар екені анықталды. Гулланд

1953 ДНҚ-ның қышқылдық гидролизі, содан кейін хроматография және сандық талдау арқылы заңдылықтар орнатылды. Эрвин Чаргафф

Нуклеин қышқылдарының классификациясы

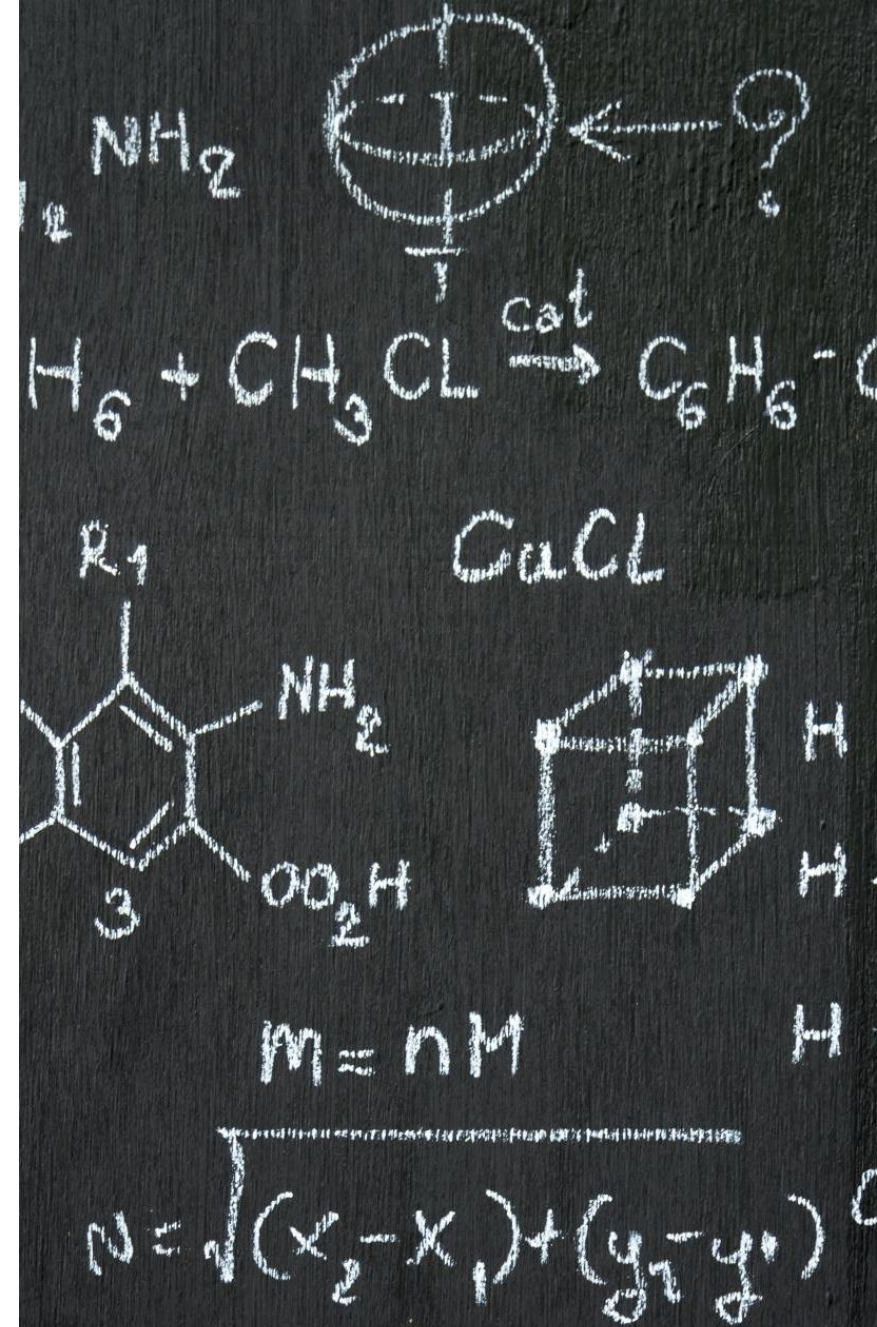
НУКЛЕИН ҚЫШҚЫЛДАРЫ (полинуклеотидтер) – барлық тірі организмдерде генетикалық ақпаратты сақтайтын және тасымалдайтын, сонымен қатар ақуыз биосинтезіне қатысатын биополимерлер.

ДНҚ: ядролық – 99,8%, сателлитті (митохондрия, плазмидтар) – 0,2%

Сателиттік ДНҚ – ұзындығы әдетте 5-500 п.қ болатын миллиондаған көшірмелерден тұратын өсімдіктер мен жануарлар геномындағы қайталанатын ДНҚ; көптеген сателиттік ДНҚ локализациялау орындарының әрқайсысында тандемде (басқұйрық) орналасқан мыңдаған көшірмелері бар. Қалған геномдық ДНҚ-дан тығыздық градиентінде центрифугалау арқылы бөлуге болады.

РНҚ

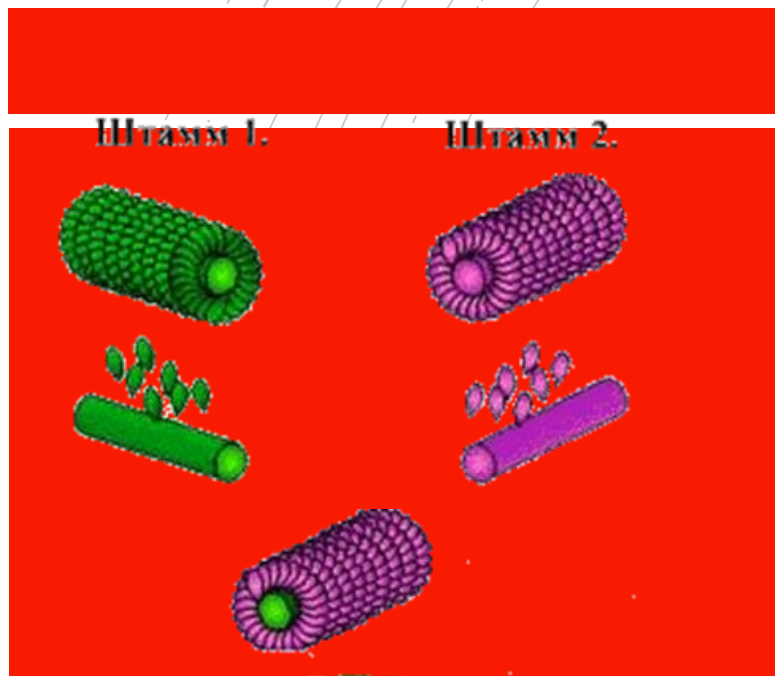
- РНҚ: рибосомалық (рРНҚ) - 82%, тасымалдаушы (тРНҚ) - 16%, матрицалық (ақпарат) (мРНҚ) - 2%
- Эукариоттарда: гетероядролық (гяРНҚ) және кіші ядролық (кяРНҚ)



ДНҚ мен РНҚ
арасындағы
айырмашылықтар

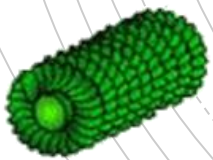
	ДНҚ	РНҚ
Көмірсу	Дезоксирибоза	Рибоза
Азотты негіз	А, Т, Г, Ц	А, У, Г, Ц
Молекуладығы тізбек саны	99.99% қос спираль 0.01% тізбек	99.99% бір тізбек 0.01% қос тізбек
Молекула формасы	Барлық бір жіптер дөңгелек. Қос жіптердің көпшілігі сызықты, кейбіреулері дөңгелек	Сызықтық молекулалар

Френкел мен Конраттың тәжірибесі



Френкель-Конрат темекінің мозаикалық вирусымен (ТМВ) жұмыс істеді. Бұл вируста ДНҚ емес, РНҚ бар. РНҚ белокты қабықпен қапталған. Вирусты қайтадан «бөліп алуға» және «жинақтауға» болады, бірақ бір штаммның вирусының РНҚ-сы басқа штамм вирусының ақуыз қабығымен қоршалған болады.

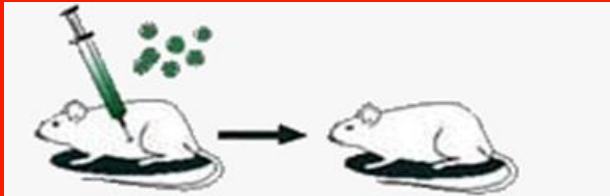
Вирустың әртүрлі штамдары темекі жапырақтарына әртүрлі зақым келтіреді. Протеин қабығын өзгерткеннен кейін «жасырын» вирустар РНҚ-сы бөгде ақуызбен жабылған штаммға тән зақымдану үлгісін тудырды (суреттегі штамм 1). Кейінірек зақымдалған өсімдіктерден 1 штамм вирустары бөлініп алынды.



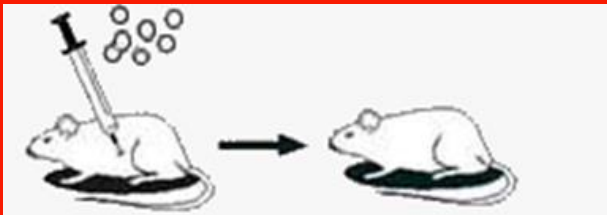
Эвери және Гриффиттің тәжірибесі



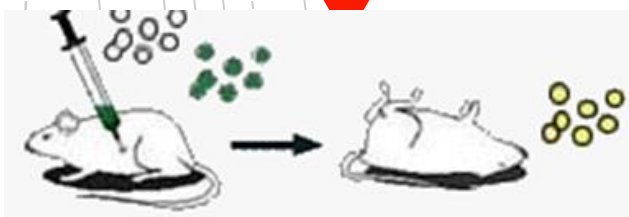
Пневмококктардың капсулалық патогенді (вирулентті) штамдарымен инфекциядан кейін тышқандар өледі. Капсулалық пневмококктар көбейеді.



Пневмококктарды капсулалық емес патогенді емес штаммен жұқтырған кезде жануарлар өлмейді. Капсулалық пневмококктар көбеймейді.



Бұрын қыздыру арқылы өлтірілген капсулалық патогенді (вирулентті) штамның пневмококктарымен инфекциядан кейін тышқандар өлмейді. Пневмококктар көбеймейді.



Тышқандарға капсулалық, вирулентті емес пневмококктарды және қыздыру кезінде өлген капсулалық пневмококктарды бір мезгілде енгізгенде, жануарлар өледі. Капсулалық пневмококктар көбейеді.

Капсулалық емес вирулентті пневмококктар өлтірілген капсулалық бактериялардың кейбір қасиеттеріне ие болды. Трансформация орын алды.

ДНҚ функциясы:

1. ДНҚ – генетикалық ақпараттың тасымалдаушысы

Функция «ГЕНЕТИКАЛЫҚ КОДТЫҢ болуымен қамтамасыз етіледі»

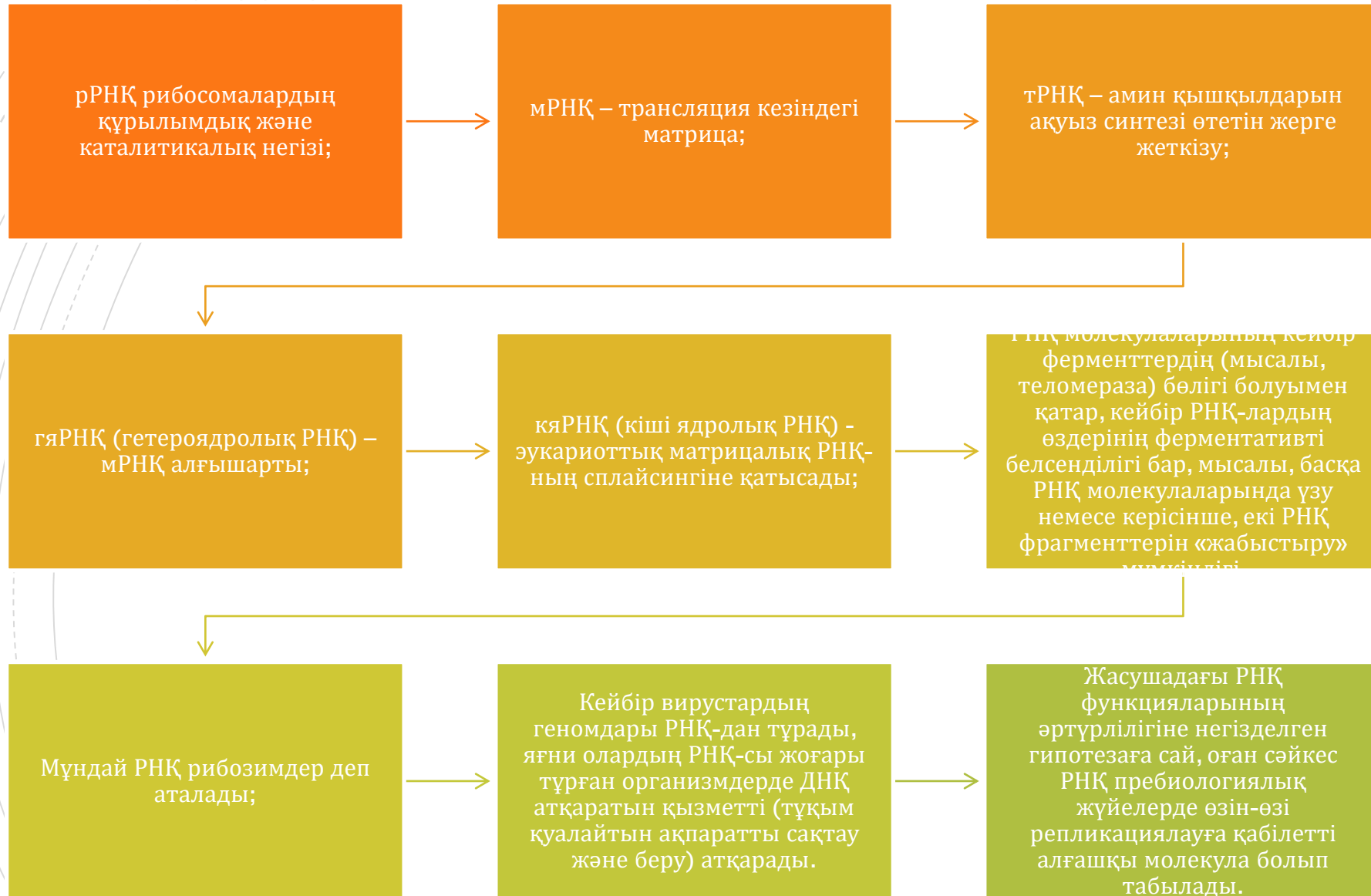
2. Жасушалар мен ағзалардың ұрпақтарында генетикалық ақпараттың берілуі және көрінуі

Функция репликация процесі арқылы қамтамасыз етіледі

3. Генетикалық ақпаратты белоктар, сондай-ақ ферменттік белоктардың көмегімен түзілетін кез келген басқа қосылыстар түрінде жүзеге асыру

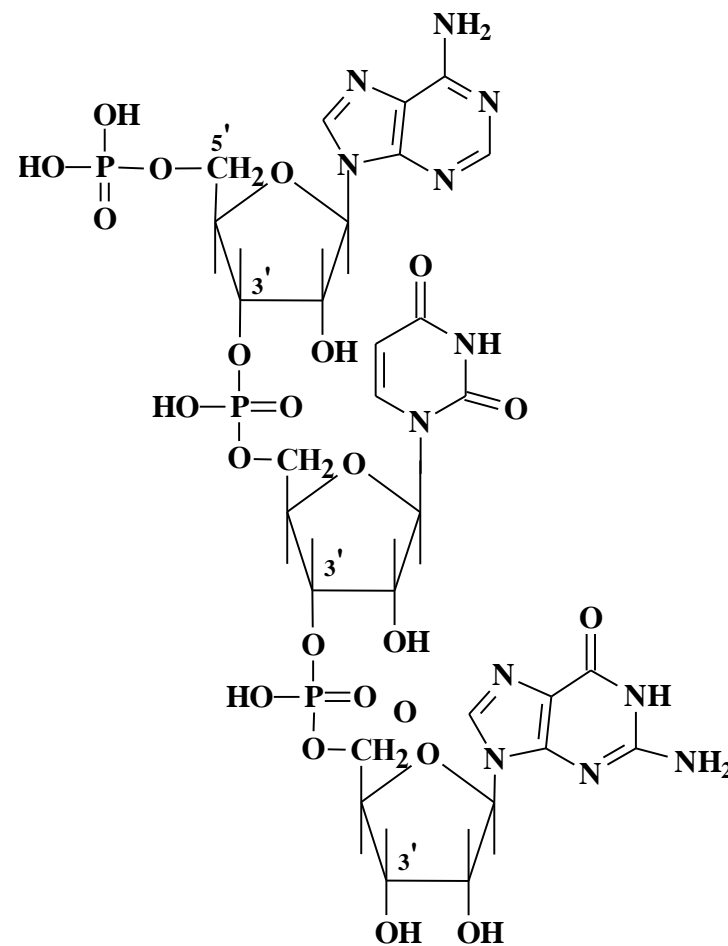
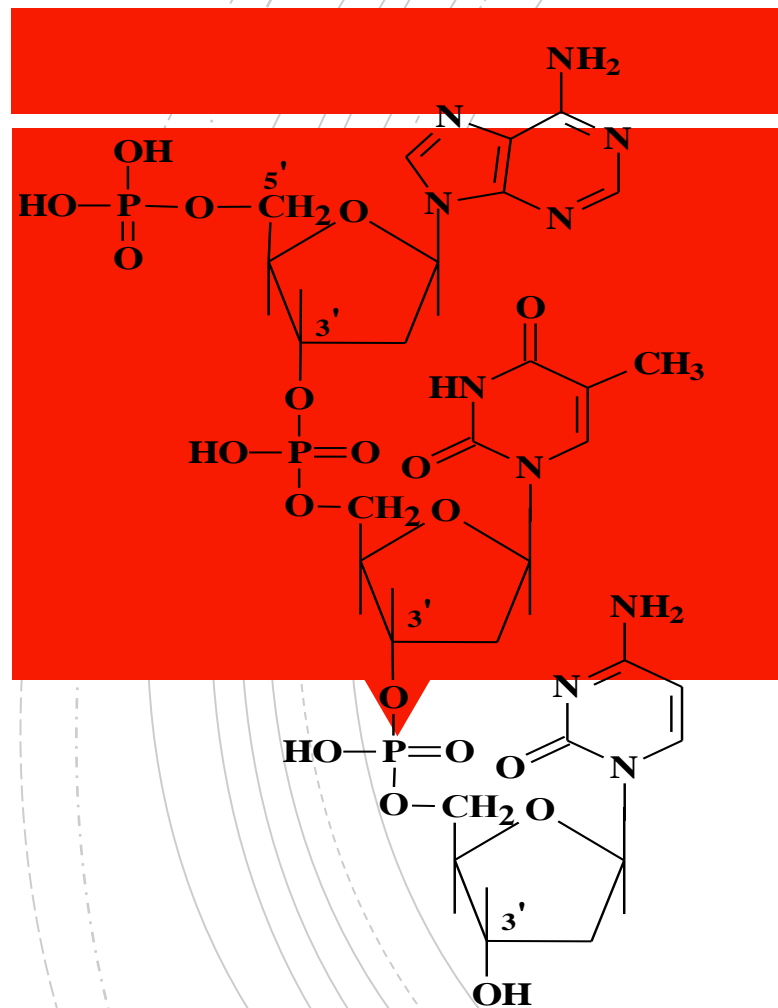
Функция ТРАНСКРИПЦИЯ ЖӘНЕ трансляция процестерімен қамтамасыз етіледі

РНҚ функциялары



- Нуклеин қышқылдарының негізгі құрылымы полинуклеотидтер тізбегіндегі нуклеотидтердің кезектесіп орналасу тәртібі болып табылады

5' тен 3': ATCGTAGGCAA... – ДНК
AUGGCAUGAGA... – РНК



- Мономер аралық байланыс фосфодиэфирлік байланыс деп аталады. рН 7 кезінде фосфат топтары толығымен иондалған, сондықтан НҚ полианиондар (тұздар) болып табылады.

- НҚ құрылымдық ерекшеліктері:

полярылы молекулалар

5', 3' аяқталады

Көмірсу-фосфатты бөлігі тұрақты

Н.қ өзгермелі – әрбір НҚ молекуласына тән

Адамдарда ДНҚ сәйкестігі басқа адамдармен шамамен 99% құрайды, 1% - даралықты анықтайтын айырмашылықтар.

Адамда ДНҚ ұзындығы шамамен 2 м (ядролық ДНҚ), ішек таяқшасында - 1,4 мм.

- Барлығы – 10^{13} жасуша, ДНҚ ұзындығы (барлығы) – 2×10^{13} м немесе 2×10^{13} км (4×10^4 км – Жерді айнала, $1,5 \times 10^8$ км – Жерден Күнге дейін)

НҚ-ның біріншілік құрылымын (нуклеотидтер тізбегін) анықтау

- Рестрикциялық эндонуклеазалардың ашылуы – НҚ-ның белгілі бір нүктелердің салыстырмалы түрде аз санында ыдырататын ферменттер (ДНҚазалар, РНазалар, Рестрикциялық ферменттер) 2. ДНҚ фрагменттерін олардың құрамындағы нуклеотидтер қалдықтарының санына сәйкес бөлудің электрофоретикалық әдістерін жетілдіру: - полиакриламидті геледегі э/форез – 200 нуклеотидке дейін; - капиллярлық электрофорез 1500 нуклеотидке дейін, 1 нуклеотидпен ерекшеленеді.
- 3. ДНҚ клондау әдістерінің дамуы – жүйелілікті анықтау үшін бастапқы материал – таза гендердің көп санын алу мүмкіндігі.

Нуклеотид
тізбектерін
анықтау
әдістері

Химиялық әдіс (Максам-Гильберт әдісі,
1977)

Ферментативті әдіс (қабаттау әдісі)

Тізбекті терминациялау әдісі (Сенгер,
1977)

Пиросеквенирлеу (Пол Нирен, 1996)

Наносеквенирлеу (жартылай өткізгіш
нанопора, 2009)

Максим Гильберт
әдісі (1977) – қысқа
нуклеотидтерді
секвенирлеудің
химиялық әдісі

НҚ препаратын рестритаза көмегімен ұсақ
фрагменттерге бөлу

2. 5'-терминалды қалдыққа радиоактивті белгіні
енгізу(α - ^{32}P -АТР-полинуклеотидкиназа)

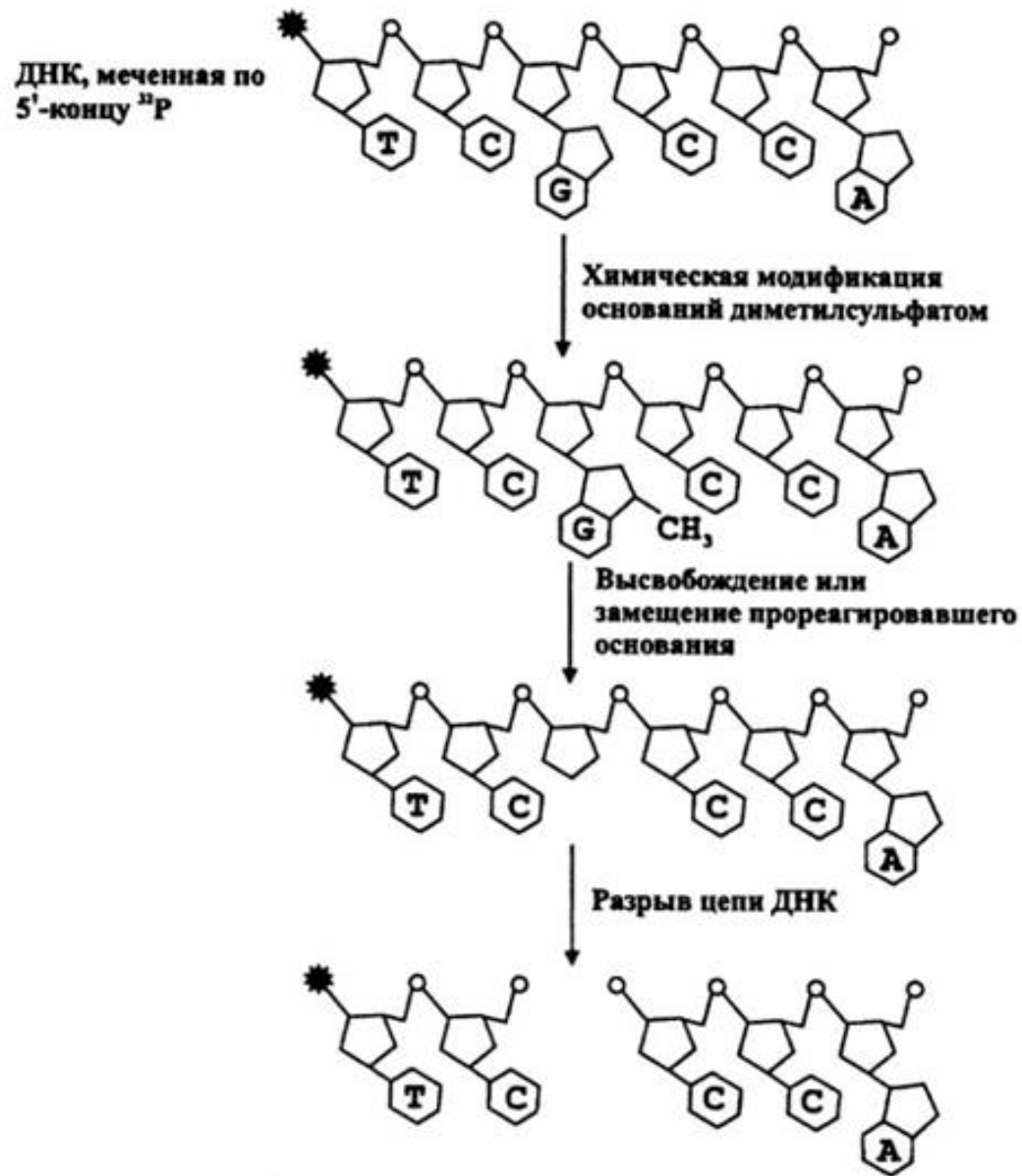
3. Нуклеотидтерді 4 бөлікке бөлу және бөлшектеу
(химиялық реагенттерді қолдану)

4. ПААГ кезінде электрофорез (рентгенография).

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

5' C-A-G-A-T-C-G-A-T-C 3'

Гуанин
қалдықтары
бойынша бөліну
(схема):



ДНҚ екіншілік құрылымы

- Чаргафф ережелері (1949-1953):
 - 1. ДНҚ молекулаларында қалдық саны $A=T$, $G=C$, т.е.
 - ✓ $A/T=1$, $G/C=1$
 - $(G+C)/(A+T)=K$ - арнайы коэффициенті, әр түр үшін тұрақты
 - $A+G=T+C$ (пуриндік негіздердің саны = пиримидиннің саны)
 - $A+C=T+G$ (4 немесе 6 позициялардағы амин тобы бар негіздердің саны осы позициялардағы оксо тобы бар негіздер санына тең)
 - 2. Бір организмнің әр түрлі жасушаларынан алынған ДНҚ-ның нуклеотидтік құрамы бірдей
 - 3. Ағзалар филогенетикалық жағынан неғұрлым жақын болса, олардың ДНҚ-ның нуклеотидтік құрамының ұқсастығы соғұрлым жоғары болады.

- 1953 жылы 25 сәуірде «Nature» журналында үш мақала жарияланды:

- **Уотсон мен Крик модель**

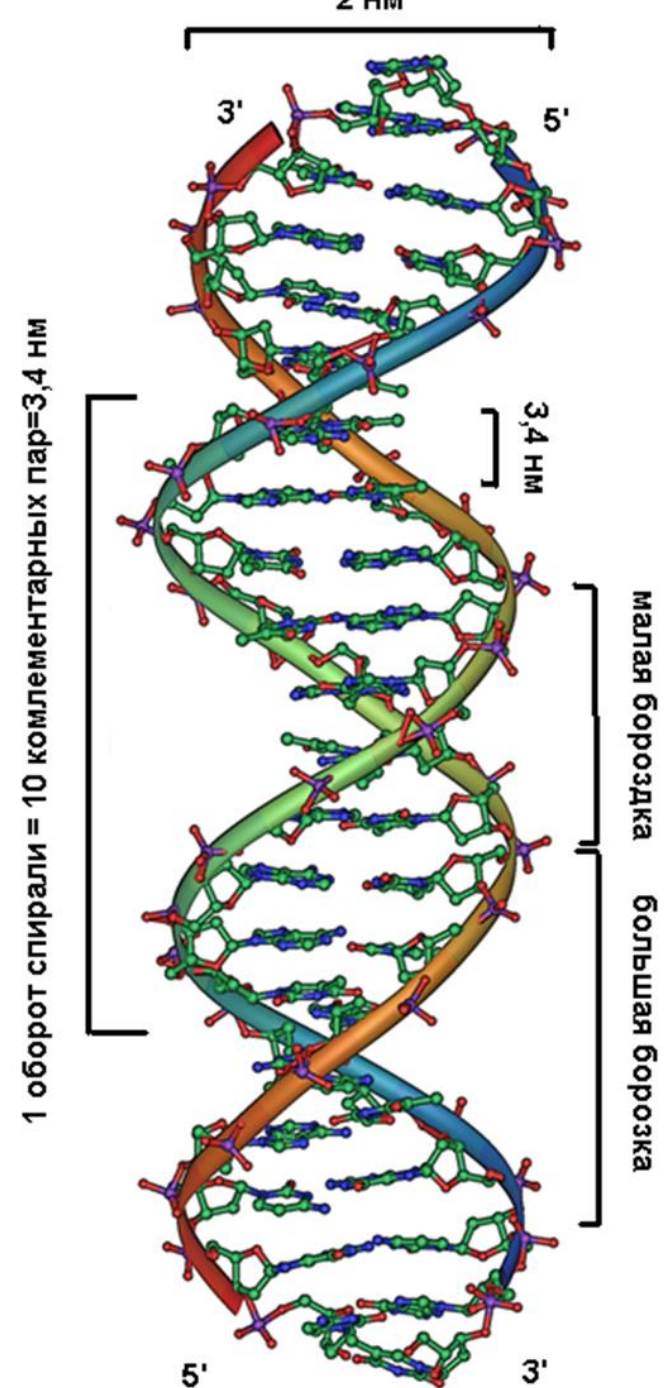
- [**Watson JD, Crick FHC (1953). «A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid». Nature 171**]

- **Уилкинс тобының нәтижелері [Wilkins MHF, Stokes AR, Wilson HR (1953) «Molecular Structure of Deoxyribose Nucleic Acids». Nature 171]**

- **Франклин мен Р. Гослинг мәліметтері [Franklin RE, Gosling RG (1953) «Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate». Nature 171].**

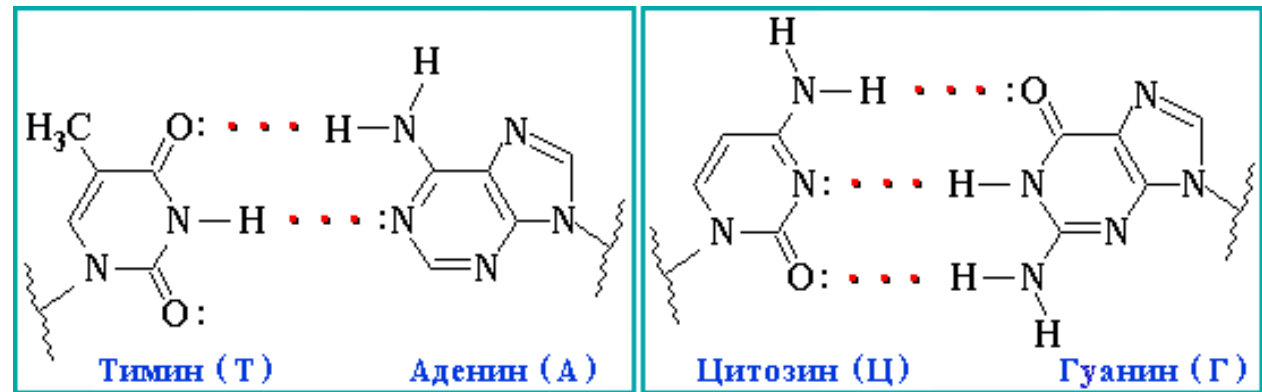
- **30 мамырда Уотсон мен Крик генетикалық ақпараттың репликациясындағы ДНҚ құрылымының рөлі туралы мақала жариялады, ал 30 шілдеде Франклин мен Гослинг қос тізбекті ДНҚ дәлелі бар мақаланы жариялады. Бұл еңбектер молекулалық биологияның негізін қалады және 20 ғасырдың негізгі ғылыми жетістіктерінің бірі ретінде танылды.**

- 1. Тұрақсыздық Біркелкі емес азотты негіздер бекітілген тұрақты көмірсу-фосфаты бар. Олардың алмасуы тұрақты емес.
- 2. Антипараллельдік ДНҚ антипараллельді бағытталған екі полинуклеотидтік тізбектен тұрады. Бірінің 3' ұшы екіншісінің 5' ұшына қарама-қарсы.
- 3. Комплементарлық (қосымшалық) Бір тізбектің әрбір азотты негізі басқа тізбектің қатаң анықталған азотты негізіне сәйкес келеді. Пурин мен пиримидин жұбы сутектік байланыс түзеді. А=Т жұбында екі сутектік байланыс бар, ал Г≡Ц жұбында үш байланыс бар.
- 4. Тұрақты екінші реттік құрылымның болуы Екі комплементарлы, антипараллельді полинуклеотидті тізбектер ортақ осі бар оң жақ бұрандаларды құрайды.



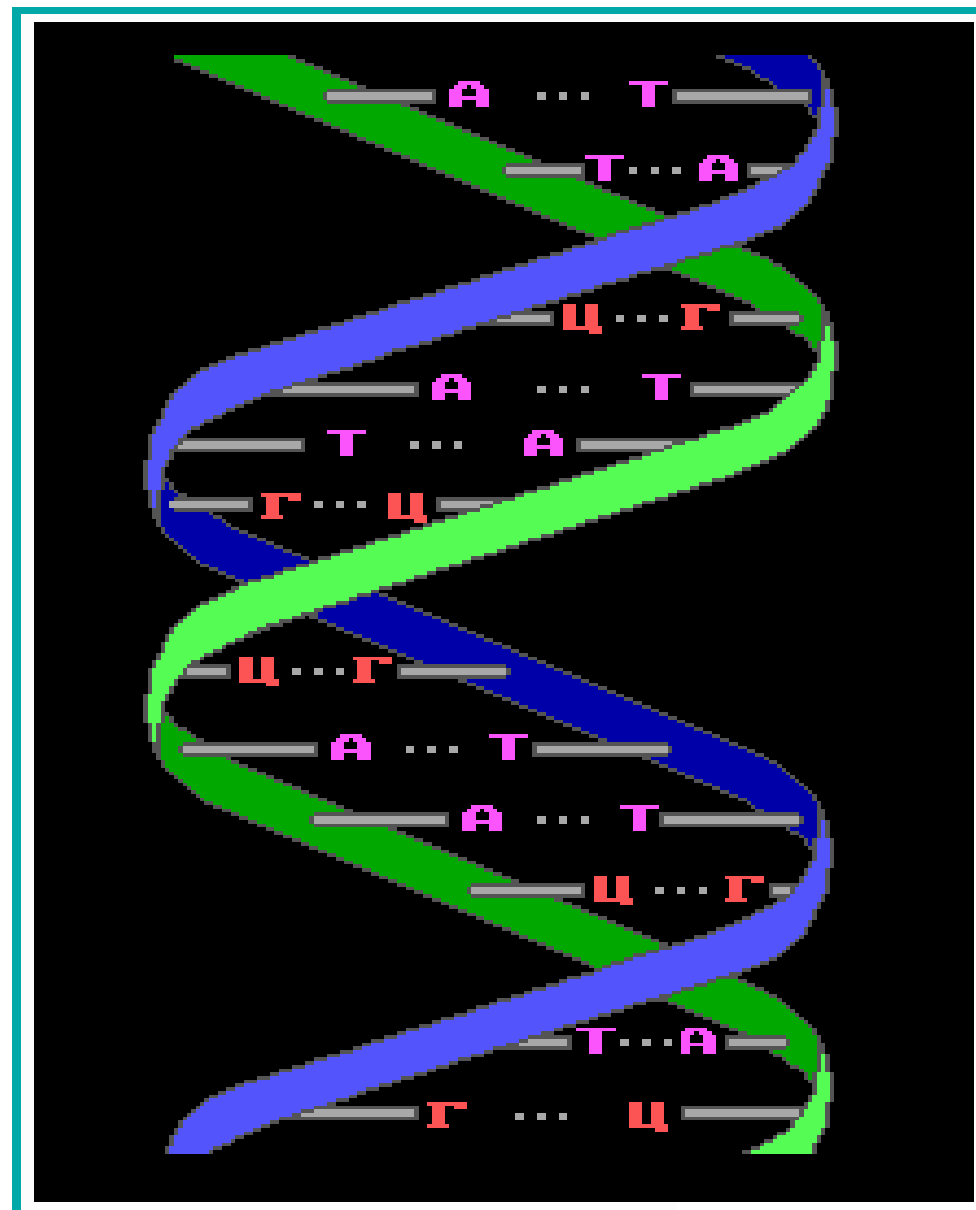
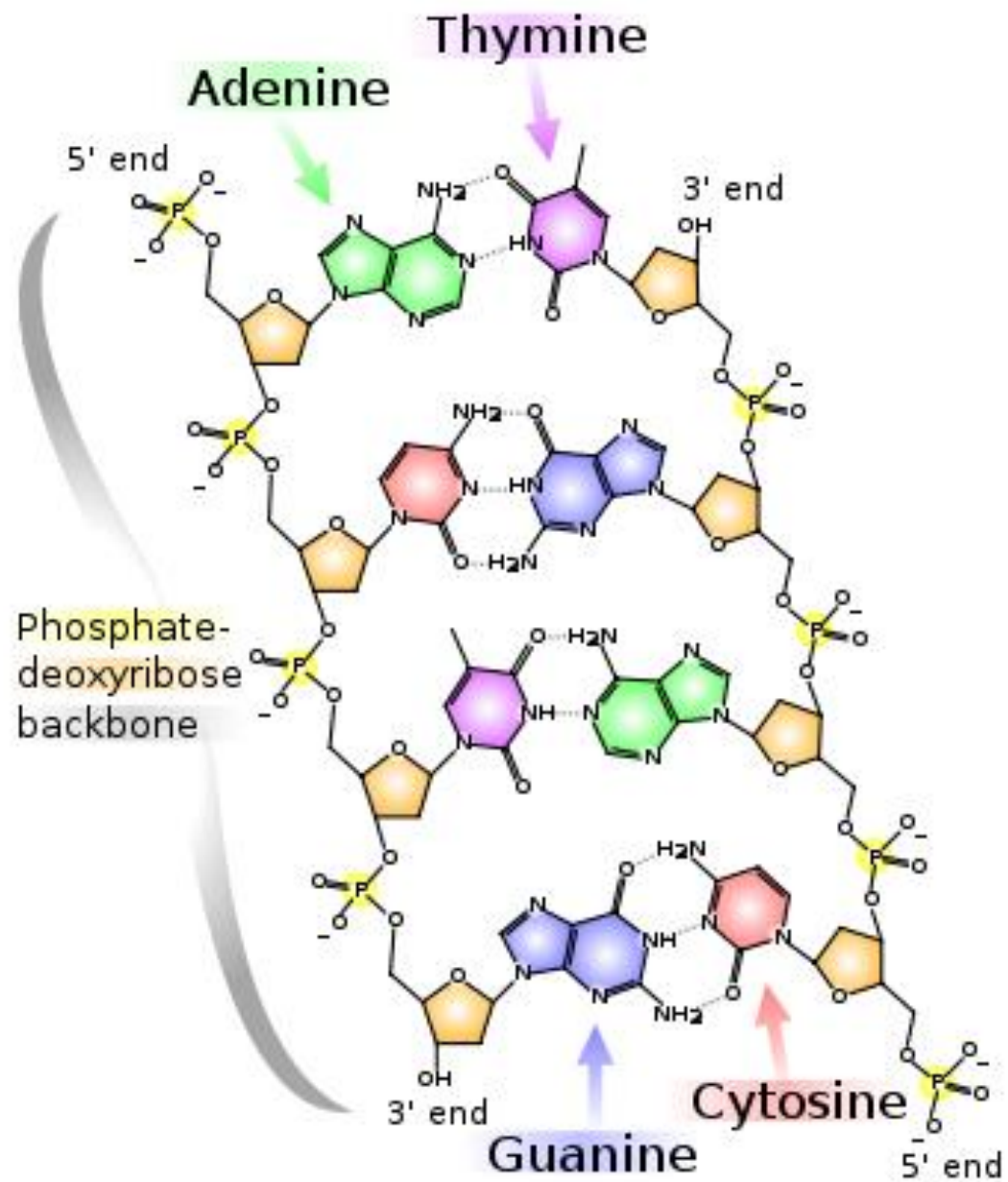
Комплементарлық

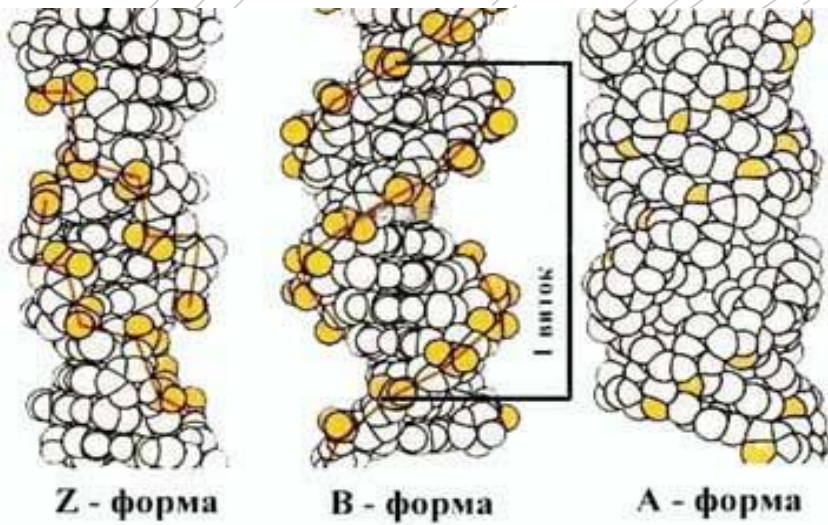
- Комплементарлық принципі: сутектік байланыстардың түзілуімен комплементарлы әрекеттесу есебінен қос спиралдың тұрақтануы:
A=T (11,1 Å), Г°Ц (10,8 Å)
- 1 Т 2Т
- A = T
- C ° G
- G ° C
- T = A
- C ° G
- A



Комплементарлық салдары:

- 1. Ген молекулалық тұлғаға айналды →
- 2. Бір тізбекті матрица, екіншісін реплика (генетикалық ақпаратты көбейту) ретінде қарастыруға болады. →
- 3. Генетикалық ақпараттың берілуі ДНҚ- РНҚ ақуыз (молекулярлық биологияның негізгі догмасы) бағытында жүреді деген болжам бар.
- 4. Жаңа ғылымдар пайда болды: молекулалық биология, молекулалық генетика, т.б.





ДНҚ қос спираль пішіндері:

Негізгі – В-пішінде бір айналымда 10 толықтауыш жұп бар. Азотты негіздердің жазықтықтары спираль осіне перпендикуляр. Көршілес толықтауыш жұптар бір-біріне қатысты 36° -қа бұрылады. Спиральдың диаметрі 20Å , пурин нуклеотиді 12Å , пиримидин нуклеотиді 8Å алады.

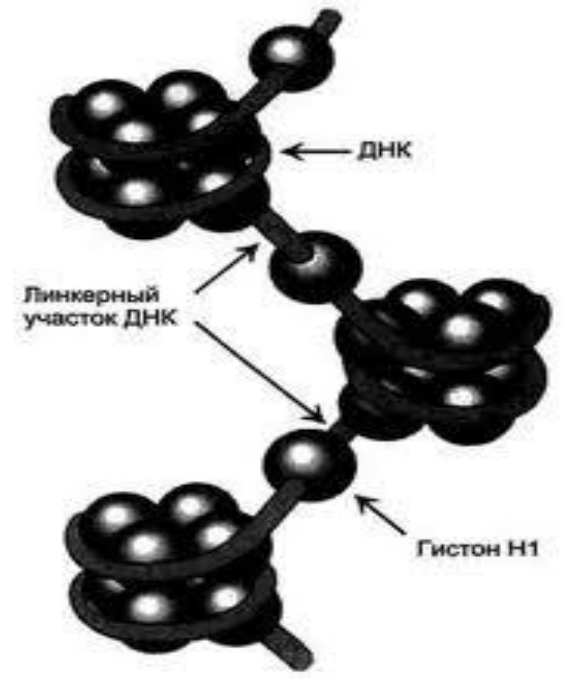
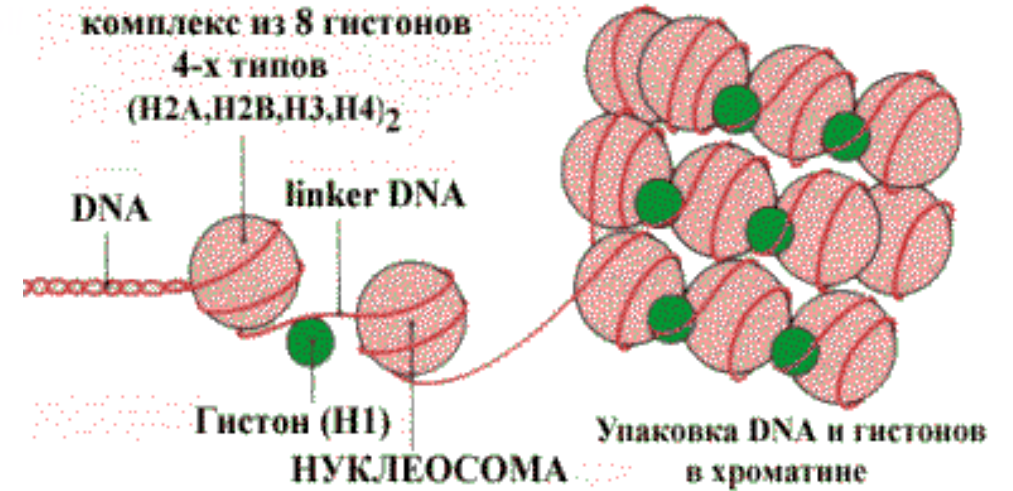
А-формасы – бір айналымда 11 жұп азотты негіздер. Азотты негіздердің жазықтықтары нормальдан спираль осіне 20° ауытқиды. Бұл диаметрі 5Å болатын ішкі қуыстың болуын білдіреді. Орамның биіктігі 28Å . Бір ДНҚ тізбегі мен бір РНҚ тізбегінің гибриді үшін бірдей параметрлер.

С-формасы - спираль қадамы 31Å , бір айналымға 9,3 негіз жұбы, перпендикулярға 6° көлбеу бұрышы. Барлық үш пішін де оң жақ спираль болып табылады.

Z-формасы - сол жақ спираль. Орамның биіктігі $-44,5\text{Å}$; бір орамда 12 негізгі жұп бар.

.Адамның жасушаларында 46 хромосома бар ДНҚ ұзындығы - 1,74 мГистондардың жалпы массасы шамамен ДНҚ массасына тең. Әрбір жасушада гистонның әр түрінің 60 миллион молекуласы бар

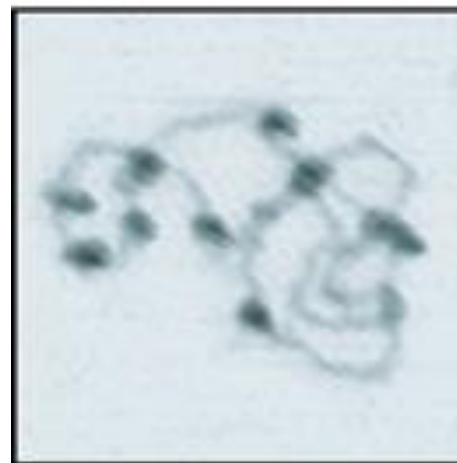
Гистондар модификациялануы мүмкін: ацетилденген, метилденген, жасушалық цикл кезінде убиквитин ақуызымен байланысқан. Бұл жағдайда ДНҚ тығыздалу дәрежесін өзгертеді Гистон Н1 ДНҚ-ны нуклеазалардан қорғайды Гистондардан басқа жүздеген басқа белоктар ДНҚ-мен байланысады.



- Хроматинді қаптама: қос тізбекті ДНҚ гистондар айналасында 2 айналым жасайды (октамер: H2A, H2B, H3 және H4), содан кейін байланыстырушы ДНҚ H1 гистонымен байланысады және моншақ тәрізді құрылым түзіледі.

Is It or Isn't It a Nucleosome?

Prenucleosomes

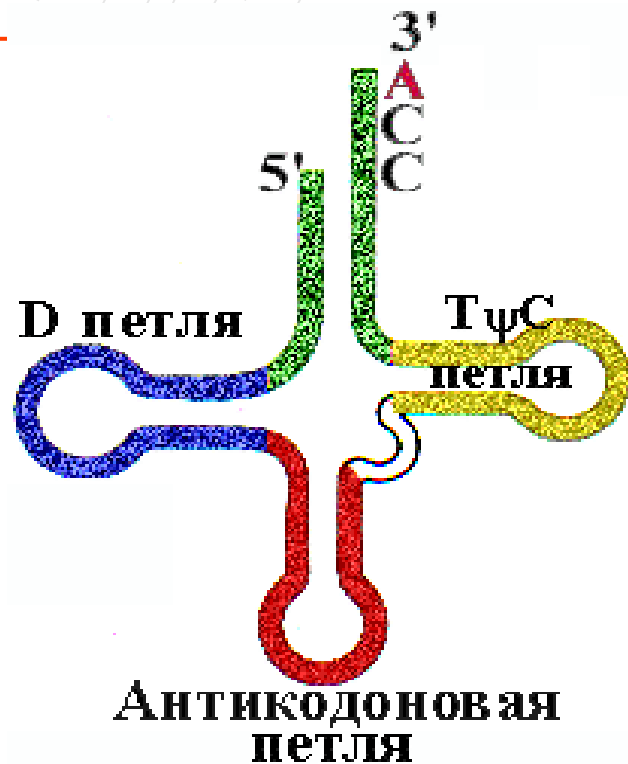


Nucleosomes



Atomic Force Microscopy Images

Транспорттық РНҚ құрылымы



- Транспорттық РНҚ (тРНҚ) қысқа молекулалар (70-90 нуклеотидтер), екіншілік және үшінші реттік құрылымдарға ие.
- 2 реттік құрылым – «беде жапырағы». 3' соңындағы ССА тізбегі барлық тРНҚ үшін бірдей. Амин қышқылы терминалдық аденозинге (А) бекітілген. tRNA-да тиминнің (Т), псевдоурдиннің (у) (ТуС-циклінде) және дигидроурдиннің (DHU) (D-циклінде) болуы шамалы, яғни. РНҚ-да сирек кездесетін нуклеотидтер оның құрылымының ферменттермен қатесіз тану, рибонуклеаза әсерінен қорғау үшін қажетті ерекшеліктерін көрсетеді (сондықтан тРНҚ мРНҚ-ға қарағанда ұзақ өмір сүреді).

3 реттік РНҚ құрылымы



- Жазықтыққа проекциядағы үшінші құрылым бумеранг пішініне ие. тРНҚ-ның бастапқы құрылымдарының әртүрлілігі – $61+1$ – кодондар саны бойынша (тРНҚ-дағы антикодондар санына сәйкес) + формилметионин тРНҚ, ондағы антикодон метионин тРНҚ-мен бірдей. Үшіншілік құрылымдардың әртүрлілігі - 20 (амин қышқылдарының санына сәйкес).

- ДНҚ ерітінділерін қыздырғанда сутектік байланыстар үзіледі, содан кейін құрылым қалпына келеді (денатурация қайтымсыз болуы мүмкін).
- ДНҚ денатурацияланғанда 260 нм толқын ұзындығында жарықтың жұтылуы күшейеді (гиперхромды әсер).

ДНҚ қасиеттері:
денатурация
және
ренатурация



Гибридизация кезінде келесі мәліметтерді алуға болады:

- ДНҚ бір немесе әр түрлі организмдерден алынғаны дәлелденген
- ДНҚ-дағы айырмашылықтар анықталды немесе олардың ұқсастығы анықталды
- ДНҚ-РНҚ будандастыруын жүргізу

Одноцепочечные НК		Двуцепочечные НК
ОП ₂₆₀	>	ОП ₂₆₀
Вязкость	<	Вязкость
Вращение (влево) [α]	>	Вращение (влево) [α]

Бір және екі тізбекті Н.Қ. қасиеттерінің айырмашылығы

Tбалқу - қос спиралдың жартысы «ажыраған» температура.

Tбалқу неғұрлым жоғары болса, соғұрлым **G≡C** жұптары көп болады

ДНК балқу қисығы

