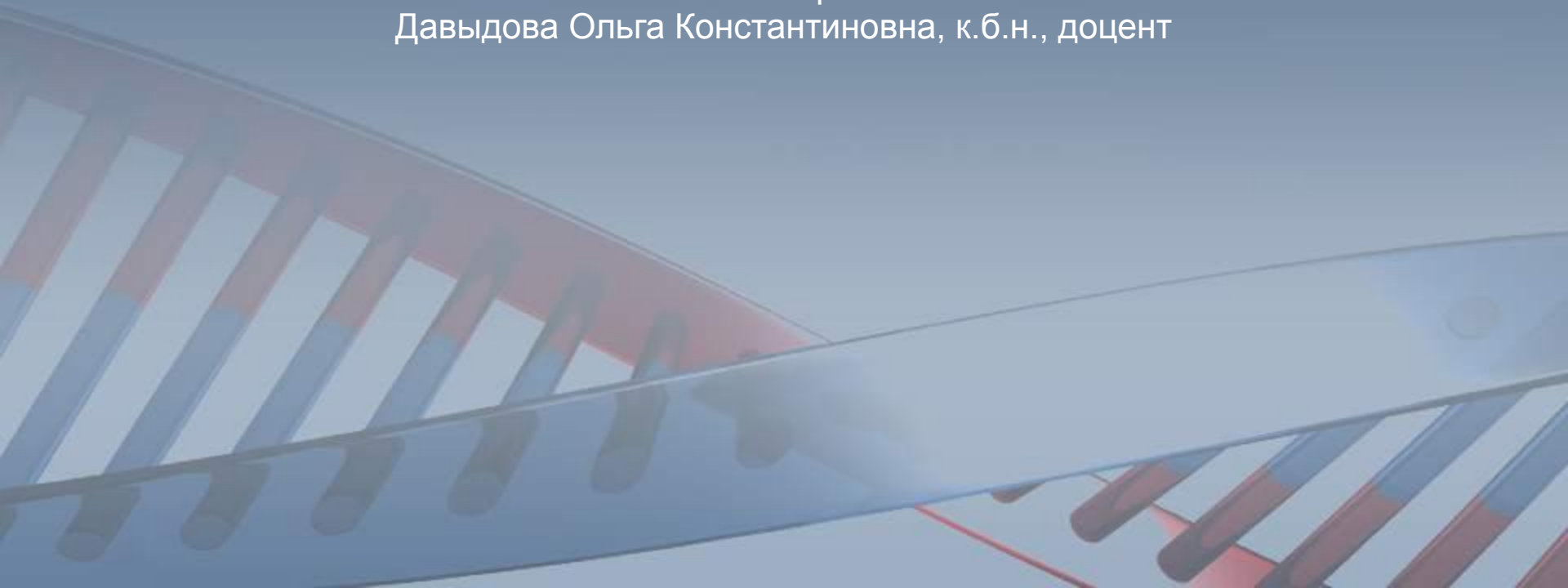


Министерство образования и науки Российской Федерации  
Федеральное бюджетное государственное образовательное учреждение  
высшего образования «Оренбургский государственный университет»  
Химико-биологический факультет  
Кафедра биохимии и микробиологии

# Введение в генетику микроорганизмов

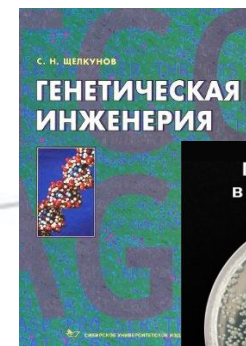
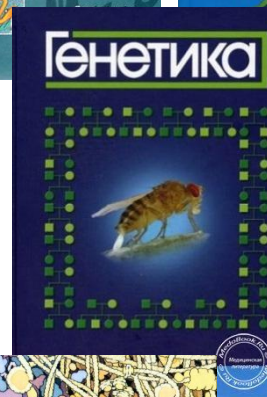
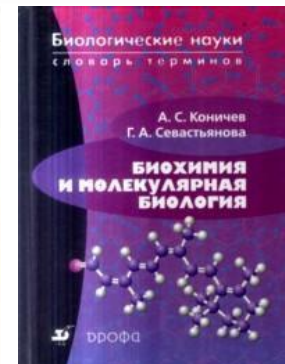
## Лекция №1

Лектор:  
Давыдова Ольга Константиновна, к.б.н., доцент



# Рекомендуемая литература:

- **Жимулев, И.Ф.** Общая и молекулярная генетика: учеб. пособие для вузов - Новосибирск : Сибирское ун-ое изд-во, 2006. - 479 с.
- **Коничев А.С., Севастьянова Г.А.** Молекулярная биология. – М., Изд. Центр «Академия», 2005.
- **Генетика:** учеб. для вузов / В. И. Иванов [и др.]; под ред. В. И. Иванова. - М. : Академкнига, 2006. - 638 с.
- **Щелкунов С.Н.** Генетическая инженерия: Учеб. справ. пособие. – Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2004. – 496с.
- **Давыдова О. К.** Методы генетических исследований микроорганизмов: учебн. пособие. - Оренбург. – 2013. – 132 с. Режим доступа: [http://artlib.osu.ru/site/index.php?option=com\\_find](http://artlib.osu.ru/site/index.php?option=com_find)
- **Давыдова О.К.** Генетика бактерий в вопросах и ответах : уч. пособие – Оренбург ; ОГУ, 2015. Режим доступа: [http://artlib.osu.ru/site/index.php?option=com\\_find](http://artlib.osu.ru/site/index.php?option=com_find)



## Темы лекций:

- Введение в генетику микроорганизмов
- Организация генома прокариот
- Механизмы репликации
- Транскрипция и регуляция экспрессии генов на уровне транскрипции
- Механизмы возникновения мутаций и репарации ДНК
- Механизмы рекомбинации
- Пути обмена генетической информацией у микроорганизмов
- Мигрирующие генетические элементы. Основы селекции микроорганизмов

# План лекции:

- Определения
- Поиски вещества наследственности
- Доказательства генетической роли нуклеиновых кислот
- Основные структурные элементы ДНК и РНК Основные структурные элементы ДНК и РНК. С Основные структурные элементы ДНК и РНК. Структура нуклеиновых кислот Основные структурные элементы ДНК и РНК. Структура нуклеиновых кислот. Альтернативные двуспиральные структуры ДНК
- Рождение молекулярной биологии
- Организация генома прокариот
- История отечественной генетики
- История развития генной инженерии
- Современные методы и подходы к изучению геномов (геномика).
- Заключение
- Задания для самоконтроля



# Определения

- **Генетика микроорганизмов** – это наука, которая изучает наследственность и изменчивость микроорганизмов
- **Молекулярная биология** - комплекс биологических наук, изучающих механизмы хранения, передачи и реализации генетической информации, строение и функции нерегулярных биополимеров (белков, нуклеиновых кислот)
- **Молекулярная генетика** - область биологии на стыке молекулярной биологии и генетики. По сути является одним из разделов молекулярной биологии
- **Геномика** - раздел молекулярной генетики, посвящённый изучению генома и генов живых организмов
- **Генная инженерия** - совокупность приёмов, методов и технологий получения рекомбинантных РНК и ДНК, выделения генов из организма (клеток), осуществления манипуляций с генами и введения их в другие организмы

# Поиски вещества наследственности

- **V в. до н.э. Гиппократ**

- Половые задатки (т.е. в нашем понимании яйцеклетки и сперматозоиды) формируются из клеток всех органов, в результате чего признаки родителей непосредственно передаются потомкам.

- **1868 г. Теория пангенеза Ч.Дарвина**

- От всех клеток отделяются мельчайшие частицы – «геммулы», которые циркулируя с током крови по сосудистой системе организма, достигая половых клеток. После их слияния в ходе развития организма следующего поколения геммулы превращаются в клетки того типа, из которого произошли.
- Выражения «голубая кровь», «полукровка» и т.д.

- **1871 г. Ф.Голтон**

- Двоюродный брат Дарвина в эксперименте с белыми кроликами опроверг эту теорию.

# Поиски вещества наследственности



**Мендель (Mendel) Грегор Иоганн**  
( 1822-1884)

рис. из книги Дж. Трефила «200 законов  
мироздания»

©<https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%B0%D0%B9%D0%BB:MendelCOLOR1884.jpg>

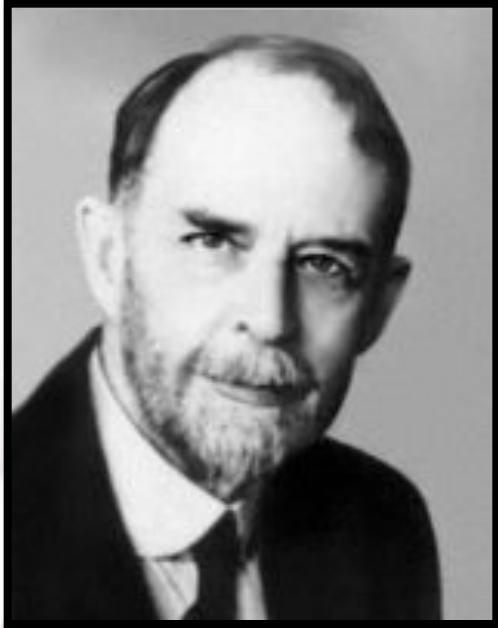
- **Конец XVIII начало XIX вв.**
  - Выводы о наследовании потомками признаков родителей.
- **1865 г. Законы Г.Менделя**
  - В результате скрещивания растений, обладающих двумя парами контрастных признаков, обнаружил, что каждый из них наследуется независимо от другого, не теряются и проявляются в последующих поколениях. Обнаруженные правила наследования описываются математическими символами и схемами.
- **1900 г. Г. де Фриз, К. Корренс, Э. Чермак**
  - Вторичное открытие законов Менделя. Год рождения генетики как науки.

# Поиски вещества наследственности

- **1868 г. Ф. Мишер**
  - выделяет «нуклеин».
- **1879 г. А Коссель**
  - начал изучение нуклеина, что привело к открытию нуклеиновых кислот.
- **1882 г. В. Флеминг**
  - обнаруживает и описывает «хроматин», часть структуры клеточного ядра, которые позже назвали хромосомами.
- **1889 г. Р. Альтман**
  - Нуклеин разделен на нуклеиновую кислоту и белок. Появился термин "нуклеиновая кислота".
- **1900 г.**
  - Все азотистые основания описаны химиками.



# Поиски вещества наследственности



**Морган (Morgan) Томас Хант** •  
(1866—1945)

©

<http://100v.com.ua/ru/Morgan-Tomas-Hant-per-son>

- **1903 г. Т. Бовери и У. Сэттон**
  - предположили, что гены должны располагаться в хромосомах
- **1906 г. У. Бэтсон**
  - предложил термин «генетика»
- **1910-1927 гг. Т.Морган и его ученики**
  - сформулировал современную концепцию о линейном расположении генов в хромосомах, построил первую карту гена (А. Стёртевант), доказал взаимосвязь между конкретными генами и конкретными хромосомами (К. Бриджес), обнаружил, что можно искусственно вызывать изменения генов (Г. Мёллер).
- **1925-1928 гг.**
  - доказана возможность вызывать мутации под действием ионизирующего (Надсон и Филлипов), рентгеновского (Мёллер) и ультрафиолетового (Стадлер) излучений.

# Доказательство генетической роли нуклеиновых кислот

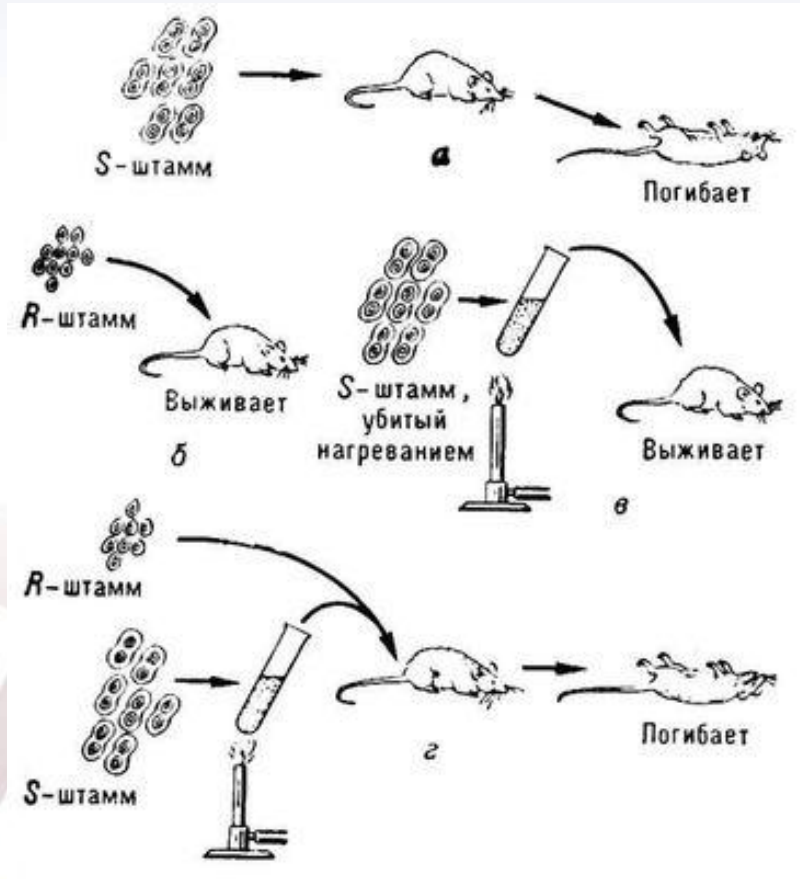
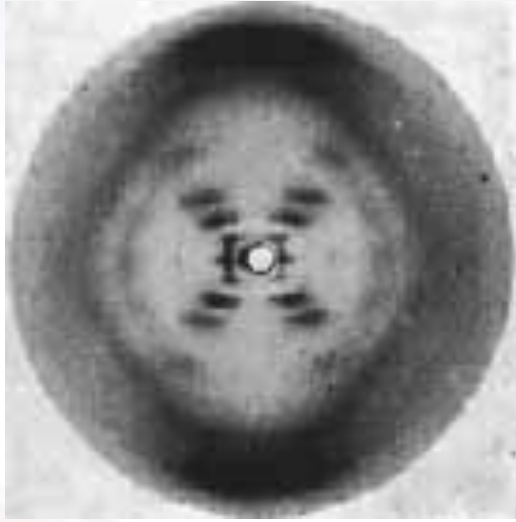


Схема эксперимента Гриффита в Большой Советской Энциклопедии  
© <http://bse.sci-lib.com/article032119.html>

- **1928г. Опыты Фредерика Гриффита**

- два штамма пневмококков: капсульный и бескапсульный. Капсульный - патогенный (вирулентный), при инфицировании таким штаммом мыши погибают, бескапсульный - непатогенный. При введении мышам смеси убитых нагреванием (и, следовательно, потерявших вирулентность) капсульных пневмококков и живых бескапсульных невирулентных бактерий, животные погибали в результате размножения капсульных вирулентных форм. Обнаруженное явление Гриффит интерпретировал как трансформацию.

# Поиски вещества наследственности



Фотография 51 – рентгенограмма волокон натриевой соли тимусной ДНК в В-форме, полученная Розалин Франклин. Эта рентгенограмма послужила главным толчком к открытию двуспиральности ДНК.

©[https://en.wikipedia.org/wiki/File:Photo\\_51\\_x-ray\\_diffraction\\_image.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Photo_51_x-ray_diffraction_image.jpg)

- **1929 г. Ф. Левин**
  - впервые обнаружил дезоксирибозу.
- **1934 г. Д.Бернал**
  - показал, что белки могут быть исследованы с помощью рентгеноструктурного анализа.
- **1935 г. Н.Кольцов**
  - выдвинул гипотезы о молекулярной организации и матричном синтезе гена. Материалом хромосомы считал белок с различными радикалами – различные гены.
- **1935-1939 гг. А Белозерский**
  - выделил чистую ДНК, доказал наличие ДНК и РНК в бактериях.
- **1939 г. У. Астбюри, Ф. Белл**
  - Рентгеноструктурный анализ показал, что расстояние между нуклеотидами в ДНК  $3,4 \text{ \AA}$ , а азотистые основания уложены стопками.
  - Введение термина «молекулярная биология».



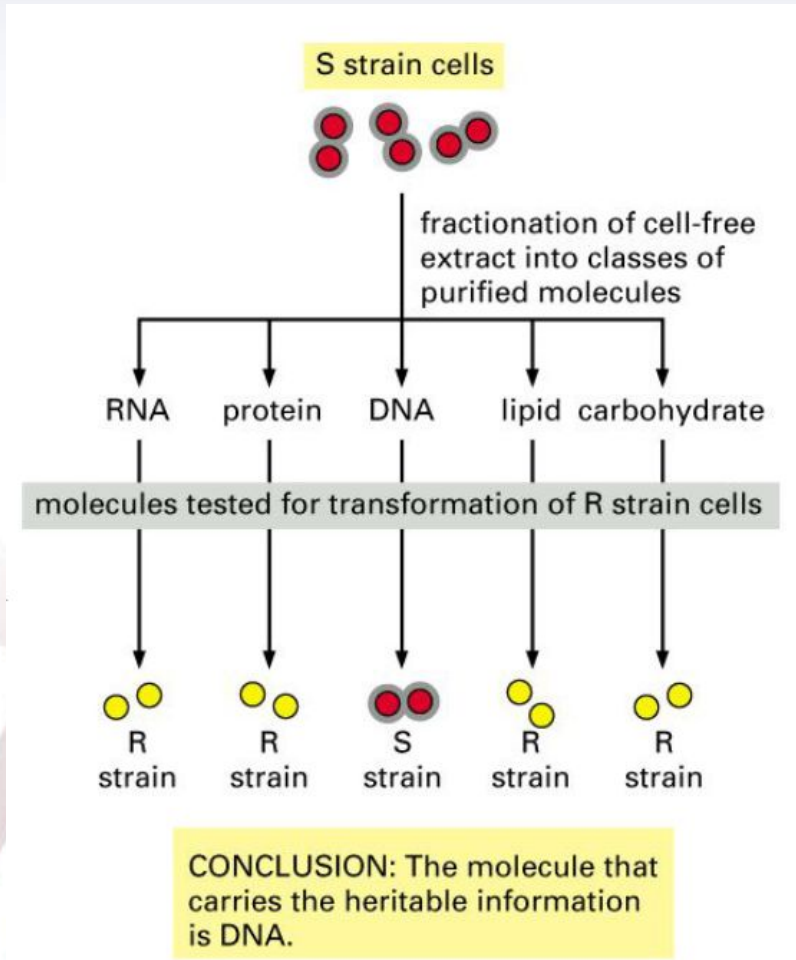
**Эрвин Рудольф Йозеф  
Александр Шрёдингер**  
(1887 - 1961) - физик-теоретик

© <http://www.calend.ru/person/5116/>

- **1941 г. Дж.Бидл и Э.Тейтем**
  - разработали гипотезу «один ген – один фермент», т.е., каждый нормальный ген продуцирует определенный фермент, необходимый для организма.
- **1944 г. Э. Шрёдингер**
  - опубликовал книгу «Что такое жизнь? С точки зрения физика». Роль носителя наследственности также приписывал белку, считая ДНК слишком простым органическим соединением.



# Доказательство генетической роли нуклеиновых кислот



- **1944г. Эксперимент Освальда Эйвери, Колина Мак-Леод и Маклина Мак-Карти**
  - Эксперимент Гриффита был повторен в варианте смешивания бескапсульных пневмококков с взятыми от капсульных белками, полисахаридами или ДНК. В результате этого эксперимента была выявлена природа трансформирующего фактора, которым оказалась ДНК.

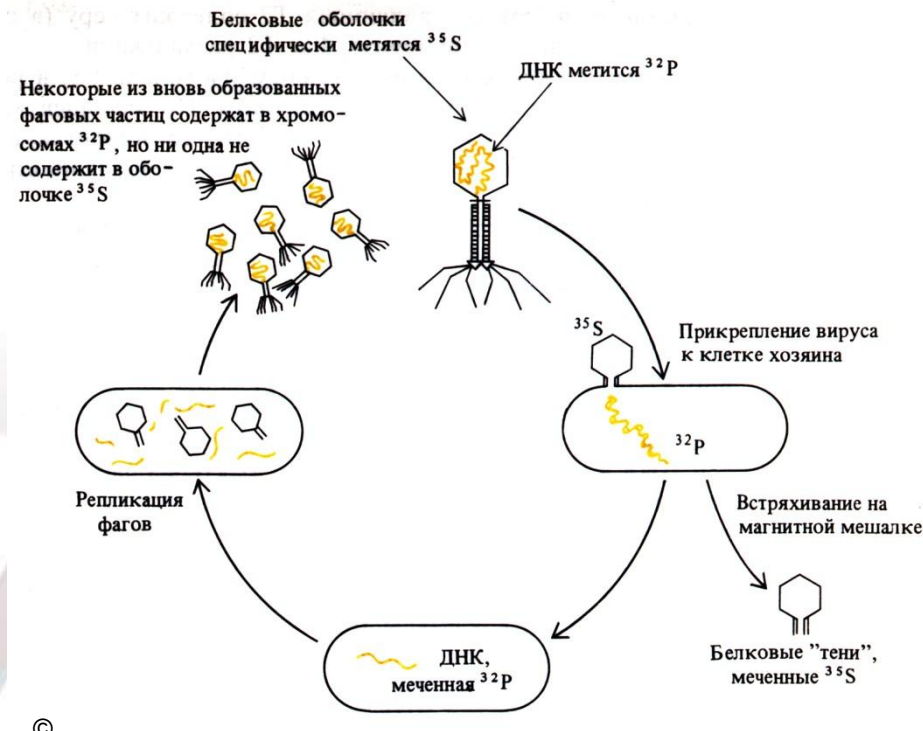


# Поиски вещества наследственности

- **1946 Ледерберг и Э.Тейтем**
  - продемонстрировали, что может происходить обмен генетической информацией и возникать новые генетические комбинации.
- **1947 г. Б. Мак-Клинток**
  - открытие подвижных генетических элементов
- **Гулланд**
  - установил, что в ДНК есть водородные связи между группами N-H и C=O
- **1950 г. Э. Чаргафф**
  - пришел к выводу, что в ДНК общее количество аденина равно общему количеству тимина ( $A=T$ ), а количество гуанина – количеству цитозина ( $G=C$ ).
- **1952 г. Дж.Ледерберг**
  - Ввел название «плазмида».
- **У. Хейс**
  - Обнаружил эффект конъюгации – однонаправленный перенос ДНК из одной контактирующей бактериальной клетки в другую.

# Доказательство генетической роли нуклеиновых кислот

- **1952г. Эксперимент Альфреда Херши и Марты Чейз**

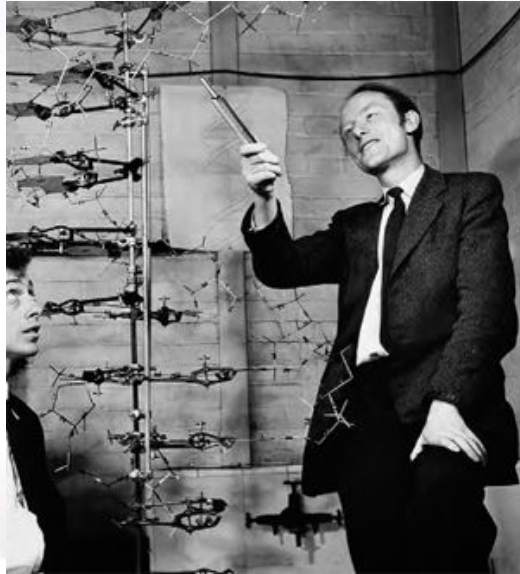


– фаги, у которых белковая оболочка была мечена радиоактивной серой ( $\text{S}^{35}$ ), а ДНК - радиоактивным фосфором ( $\text{P}^{32}$ ), инкубировали с бактериями. Затем бактерии отмывали. В смывных водах не обнаруживали  $\text{P}^{32}$ , а в бактериях -  $\text{S}^{35}$ . Следовательно, внутрь попала только ДНК. Через несколько минут из бактерии выходили десятки полноценных фагов, содержащих и белковую оболочку, и ДНК.

©

<http://files.school-collection.edu.ru/dlrstore/3614dc7e-1631-974e-9b4c-4429124537a1/00149192421681799/00149192421681799.htm>

# История возникновения молекулярной биологии

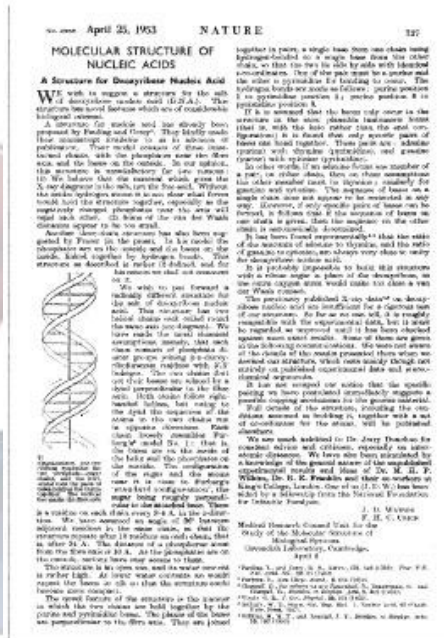


Фрэнсис Крик указывает Джеймсу Уотсону на металлическую модель ДНК, которую они собрали 7 марта 1953 года в комнате 103 в Кавендишской лаборатории, Кембридж

©

<http://www.brain-food.ru/wp-content/uploads/2013/06/crick.jpg>

Публикация в журнале Nature статьи Уотсона и Крика «Молекулярная структура нуклеиновых кислот»



- 1953 г. Модель Уотсона-Крика
  - Ф. Крик и Дж. Уотсон, опираясь на результаты опытов генетиков и биохимиков и на данные рентгеноструктурного анализа, создали структурную модель ДНК в форме двойной спирали, указав, что информация, необходимая для репликации ДНК заключена в самой её структуре, т.к. основания комплементарны.
  - Дата рождения молекулярной биологии.

# Структура нуклеиновых кислот

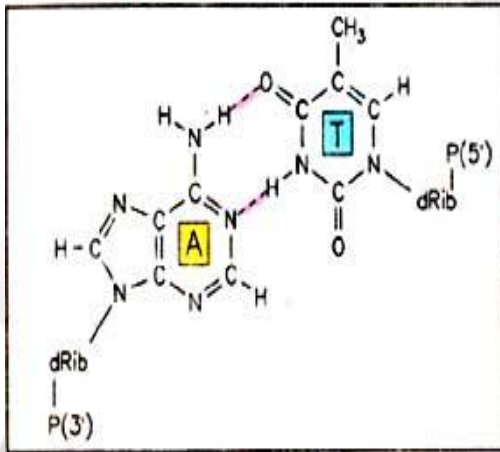


- Основные структурные элементы ДНК и РНК
  - Молекула ДНК представляет собой чрезвычайно длинный неразветвленный линейный полимер, состоящий только из четырех типов нуклеотидов: двух пуринов - аденина (А) и гуанина (G), а также двух пиримидинов - тимина (Т) и цитозина (С).

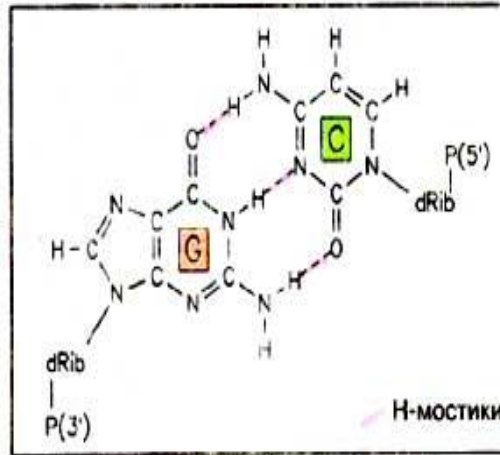


# Структура нуклеиновых кислот

1. А/Т-спаривание

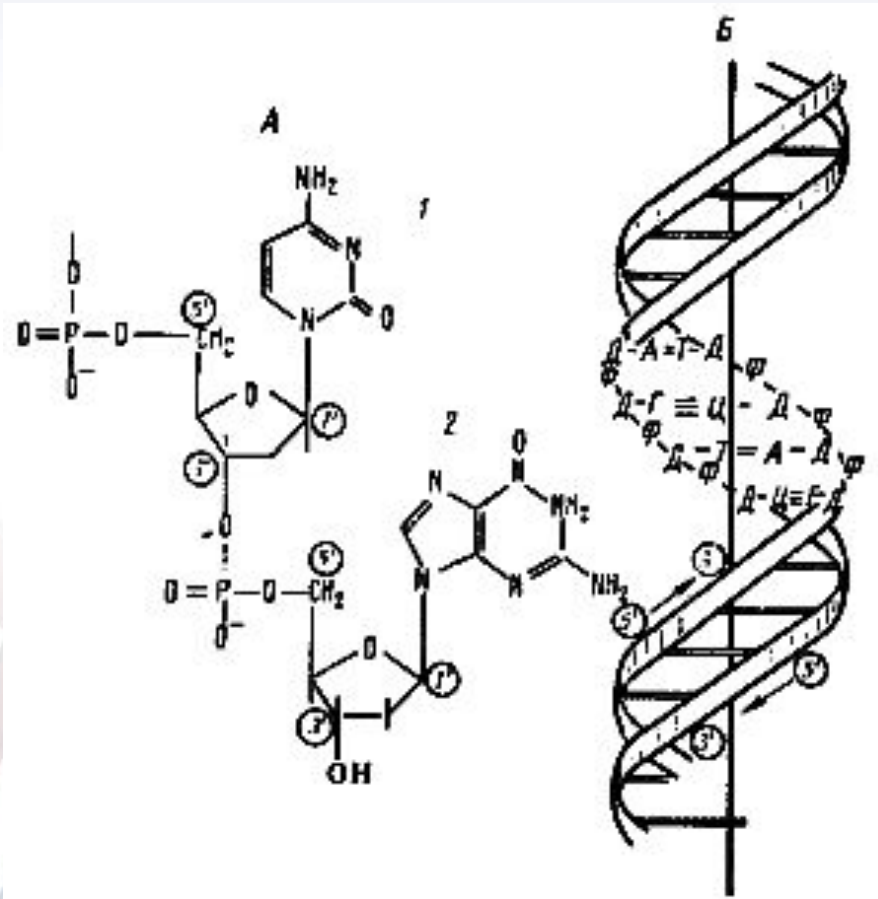


2. G/C-спаривание



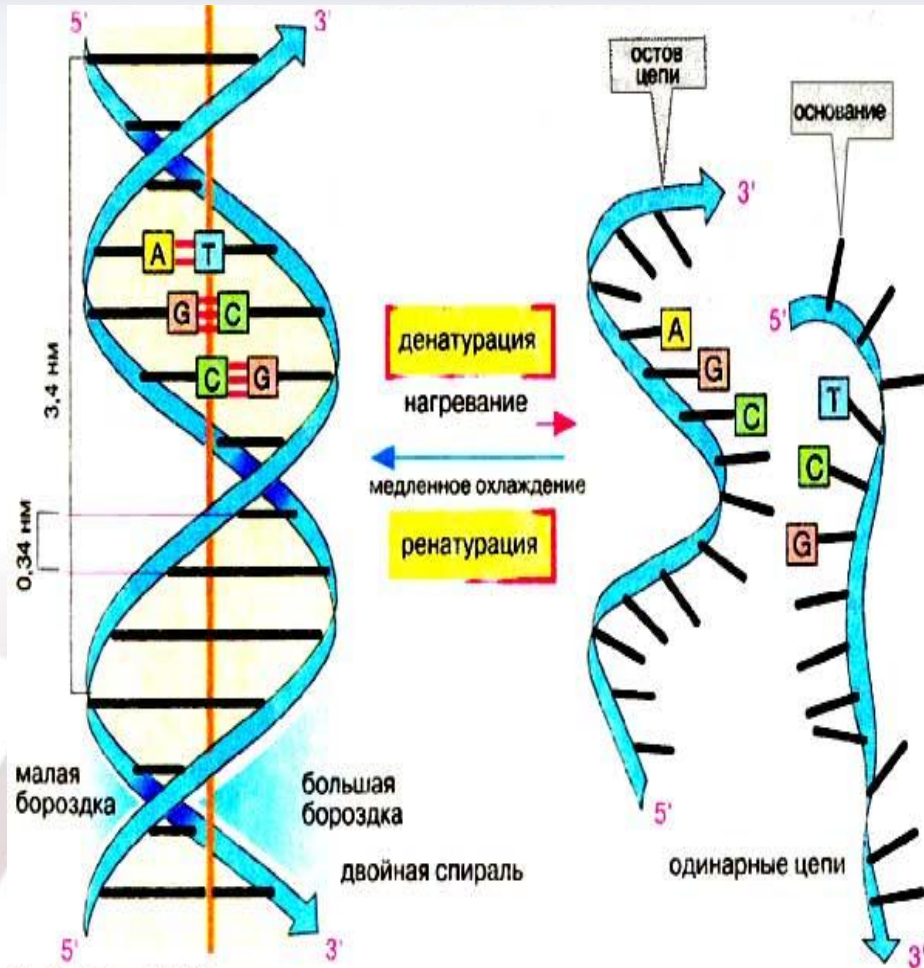
- Спаривание оснований в ДНК
  - Каждое основание одной цепи связано с **комплементарным** ему основанием другой цепи водородными мостиками. Аденин всегда присутствует в клетке в том же количестве, что и тимин, а количество гуанина эквивалентно количеству цитозина (правило Чаргаффа). В то же время соотношение А+Т и G+C пар оснований варьирует в широких пределах от вида к виду, являясь важной таксономической характеристикой каждого из них.

# Структура нуклеиновых кислот



- **Первичная структура нуклеиновых кислот**
  - Формирующиеся между нуклеотидами фосфодиэфирные связи обеспечивают образование нити, в которой принято выделять 5'-конец, оканчивающийся фосфатом, и 3'-конец, оканчивающийся пентозой. Целая же молекула ДНК состоит сразу из двух антипараллельных цепей (3'→5' и 5'→3' соответственно).

# Структура нуклеиновых кислот

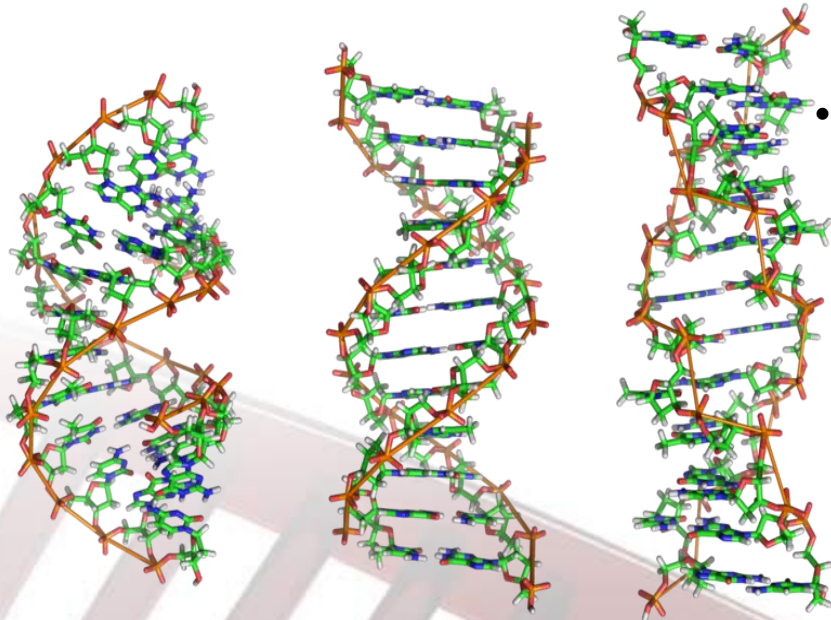


© [http://yanko.lib.ru/books/biolog/nagl\\_biochem/90.htm](http://yanko.lib.ru/books/biolog/nagl_biochem/90.htm)

- **Пространственная структура ДНК**

- Цепи удерживаются вместе водородными и гидрофобными взаимодействиями в результате спаривания комплементарных нуклеотидов А-Т и Г-С.
- Разные пары оснований образуют разное количество водородных связей. АТ связаны двумя, ГЦ — тремя водородными связями, поэтому на разрыв ГЦ требуется больше энергии.

# Структура нуклеиновых кислот



© [https://en.wikipedia.org/wiki/File:A-DNA,\\_B-DNA\\_and\\_Z-DNA.png](https://en.wikipedia.org/wiki/File:A-DNA,_B-DNA_and_Z-DNA.png)

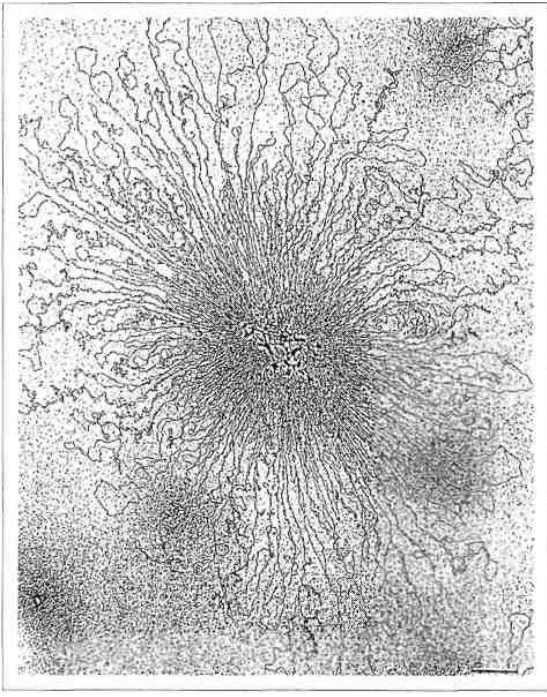
- **А-форма** - 11 пар азотистых оснований на виток. Плоскости азотистых оснований отклонены от нормали к оси спирали на  $20^\circ$ . Отсюда следует наличие внутренней пустоты диаметром  $5\text{\AA}$ . Высота витка  $28\text{\AA}$ .
- В основной - **В-форме** на виток приходится 10 комплементарных пар. Плоскости азотистых оснований перпендикулярны оси спирали. Соседние комплементарные пары повернуты друг относительно друга на  $36^\circ$ . Диаметр спирали  $20\text{\AA}$ , причем пуриновый нуклеотид занимает  $12\text{\AA}$ , а пиримидиновый -  $8\text{\AA}$ .
- Левая спираль (**З-форма**). Высота витка в Z-форме  $-44.5\text{\AA}$ , на виток приходится 12 пар нуклеотидов. Ни А-, ни Z- формы не могут существовать в водном растворе без дополнительных воздействий (белки или суперспирализация).



# История возникновения молекулярной биологии

- **1957-1958 гг. Ф. Крик и Дж. Гамов**
  - предложили концепцию «центральной догмы» молекулярной биологии о передаче генетической информации: ДНК – мРНК – белок.
- **М. Мезельсон и Ф. Сталь**
  - продемонстрировали полуконсервативный механизм репликации ДНК.
- **1961 г. Ф. Жакоб и Ж. Моно**
  - открыли оперонный принцип организации генов и регуляции генной активности у прокариот.
- **1963-66гг. М.Ниренберг, Г.Маттэй**
  - расшифровали генетический код и продемонстрировали, что каждую из 20 аминокислот в молекуле мРНК (кодон) кодируют три смежных нуклеотида.

# Организация генома прокариот



Изолированный нуклеоид *E.coli*

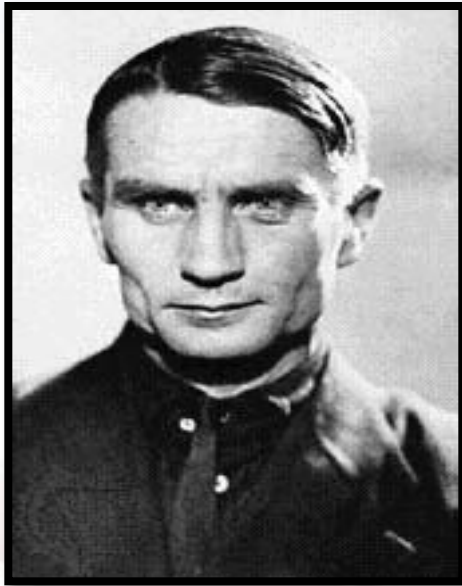
© <http://molbiol.ru/pictures/80886.html>

- 1956 г. Ф.Жакоб и Е.Вильман предложили кольцевую модель бактериальной хромосомы
  - ДНК прокариот представлена кольцевой двуцепочечной суперспирализованной молекулой, расположенной в цитоплазме в виде клубка - **нуклеоида**. Нуклеоид не отделён мембраной, может содержать несколько копий ДНК. Нуклеоид состоит из ДНК, белков и РНК. ДНК составляет около 80%. Она свёрнута в петли, примерно по 40 тыс.н.п. в каждой петле. В геноме примерно 100 таких петель.

# История отечественной генетики

- **1919-1930 гг. первые генетические школы в СССР**
  - Ленинград: Филипченко Ю.А., Вавилов Н.И.,
  - Москва: Кольцов Н.К., Четвериков С.С., Серебровский А.С.
- **1927 г. международный конгресс в Берлине**
  - присутствуют советские учёные.
- **1929 г. съезд генетиков и селекционеров в Ленинграде**
  - «Шире в массы достижения науки»
- **1930-48 гг. Серебровский А.С.**
  - организует и заведует кафедрой генетики МГУ.
- **1930-34 гг. Вавилов Н.И.**
  - организация лаборатории генетики в РАН, преобразование в Институт генетики в Ленинграде, переезд в Москву.
- **до 1934 г. развитие генетики на мировом уровне**

## • 1934-1935 гг. Трофим Лысенко



Т.Д.Лысенко  
1898-1976гг

©

<http://cache-media.britannica.com/eb-media/33/2233-004-89AB11C3.jpg>

- переходит к нападкам на генетику («Генетика – продажная девка науки»). Его воззрения:
- 1. отрицал законы Менделя и существование генов.
- 2. принимал идею наследования приобретённых признаков, отрицал роль отбора в эволюции,
- 3. полагал, что один вид внезапно может превратиться в другой.
- Признаёт только работы Мичурина И.В. и Тимирязева К.А., а также «классиков марксизма». Предлагает рецепты быстрого улучшения сельского хозяйства.
- Сталин И.В. поддерживает Лысенко («народного академика»):
- 1935 – академик ВАСХНИЛ, 1938 – президент этой Академии, 1939 – академик АН СССР, 1940 – директор Института генетики АН СССР, С 1937 по 1966 г. – депутат Верховного Совета СССР и заместитель его председателя, 1945 – Герой Социалистического Труда.



# История отечественной генетики

- **1938-1943 гг. репрессии по отношению к генетикам**
  - расстрелян Карпеченко Г.Ф.; ссылка Четверикова С.С.;
  - арест Вавилова Н.И (1940), смертный приговор (1941), смерть от голода в тюрьме (1943);
  - нападки на Кольцова Н.К и его смерть;
  - гибель учёных-генетиков в годы Второй мировой войны.
- **1948 г. сессия ВАСХНИЛ**
  - запрет генетики, увольнения и ссылки учёных-генетиков, в журналах вырываются страницы и вымарываются слова «ген», «генетика», «хромосома».
- **1950-е гг.**
  - письмо Алиханяна С.И. к Сталину с программой по восстановлению генетики (реализована в 1965-66 гг).
  - разрозненные публикации с критикой Лысенко,
  - полуполегалное преподавание генетики в ЛГУ.
- **1988 г. конференция по генетике**

# Заключение

- Генетика бактерий является разделом общей генетики – науки о наследственности и изменчивости, объектом исследования которого служат бактерии
- Именно на бактериальных клетках были решены многие кардинальные вопросы современные генетики
- Идеи и методы генетики бактерий имеют важное значение для решения проблем медицины, сельского хозяйства и микробиологической промышленности

# Задания для самоконтроля:

- Опишите особенности организации генома прокариот. Объясните термины: хромосома, внехромосомная ДНК, плазмиды.
- Какова зависимость температуры плавления ДНК от содержания ГЦ-пар?
- Расположите олигонуклеотиды по порядку возрастания температуры плавления:  
AAATTGC GGG GCGCGCG AAAAAAAAAAAAAAAAAA  
TTTAACG CCC CGCGCGC TTTTTTTTTTTTTTTT
- На чем основан метод молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот и какое значение он имеет для биологических исследований?

