

Классификация биологических систем (биообъектов биотехнологий):

- Вирусы;
 - Целостный живой одноклеточный организм;
 - Целостный живой многоклеточный организм;
 - Изолированные клетки многоклеточного организма;
 - Выделенные из клеток ферменты или их комплексы
-
- Биообъект (БО) – обязательный элемент биотехнологического производства.
 - Функция БО – биосинтез целевого продукта, поэтому его часто называют ПРОДУЦЕНТОМ.

Наиболее часто используемые БО - МИКРООРГАНИЗМЫ

Кишечная палочка

Escherichia Coli – прокариот, 1 мкм



Одноклеточные дрожжи,
Saccharomyces cerevisiae
– эукариот, 5 мкм



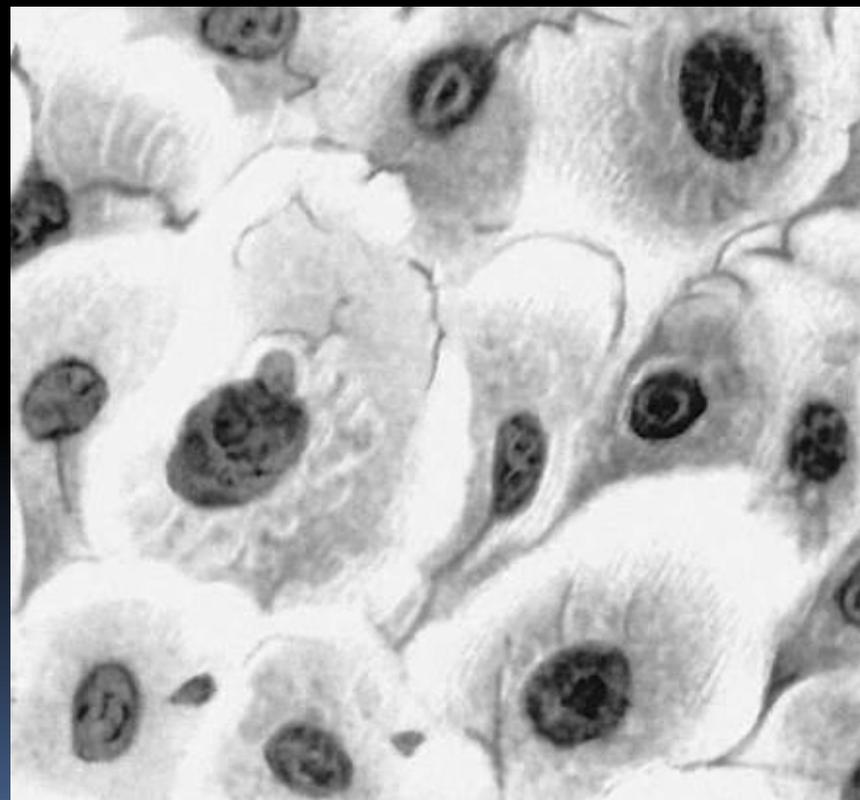
- **термофилы** – оптим. температур. режим развития от **45** до **90°C**;
- **мезофиллы** – от **10** до **47°C**;
- **психрофилы** – от **-5** до **35°C**.

Биообъекты БТ: КУЛЬТУРЫ КЛЕТОЧНЫХ ТКАНЕЙ МАКРООРГАНИЗМОВ

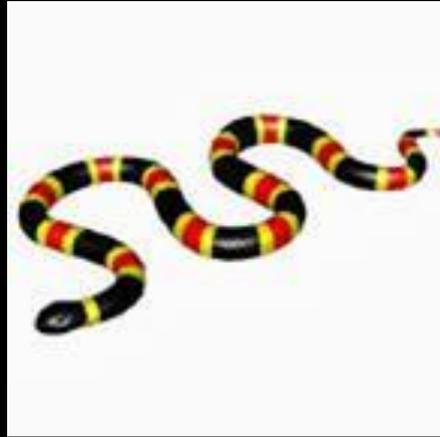
**Суспензионные культуры
растительных клеток**



**Эпителиоподобные клетки
животного в культуре ткани**



Биобъекты БТ. МАКРООБЪЕКТЫ: млекопитающие, рептилии, рыбы, насекомые, растения



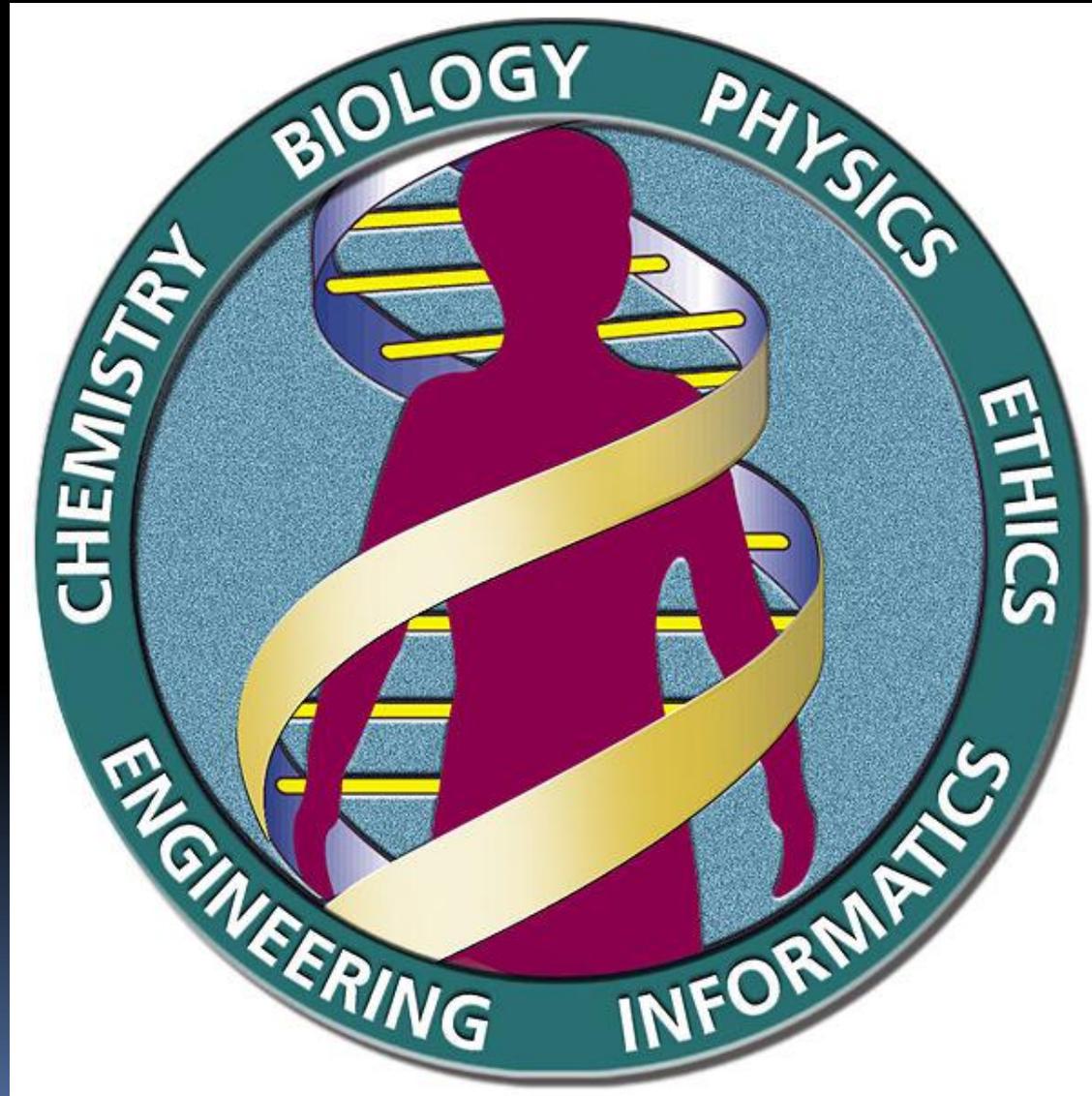
Биообъекты БТ: человек

можно воздействовать только на отдельные гены. Против использования человека как биообъекта в плане мутагенного действия

возражает этика.

Человека можно использовать:

1. донор крови – необходимо, чтобы человек был здоров, кровь не должна быть заражена, при взятии крови не должен нарушаться гомеостаз.
2. донор органов и тканей (после его смерти).



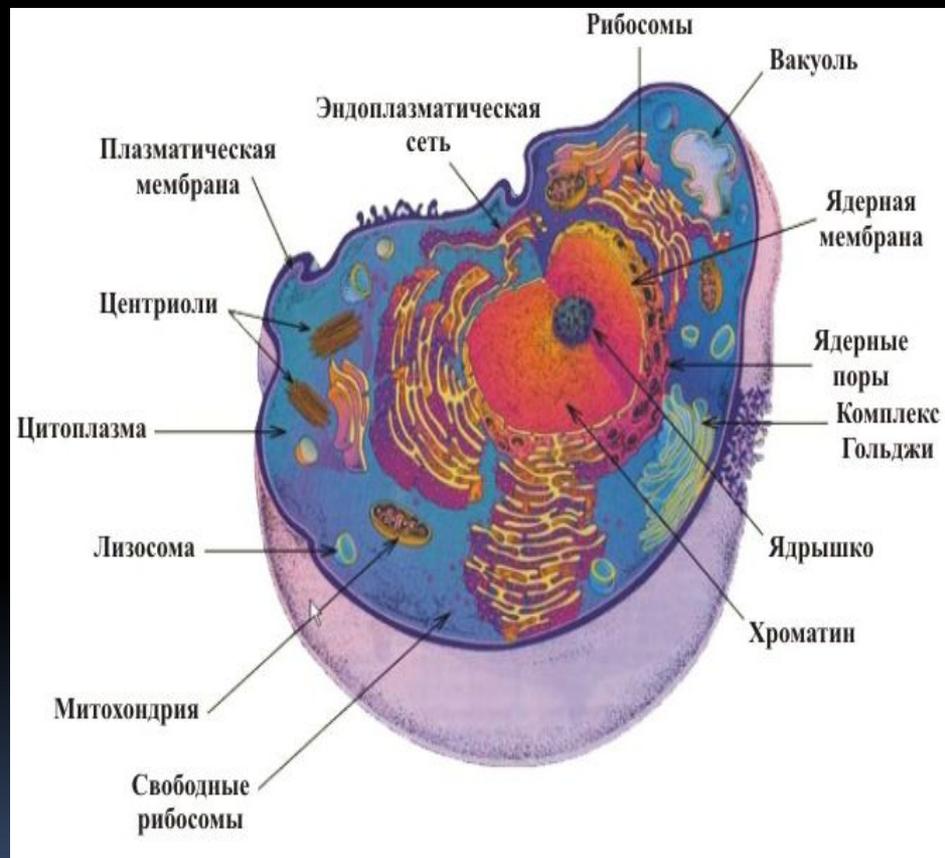
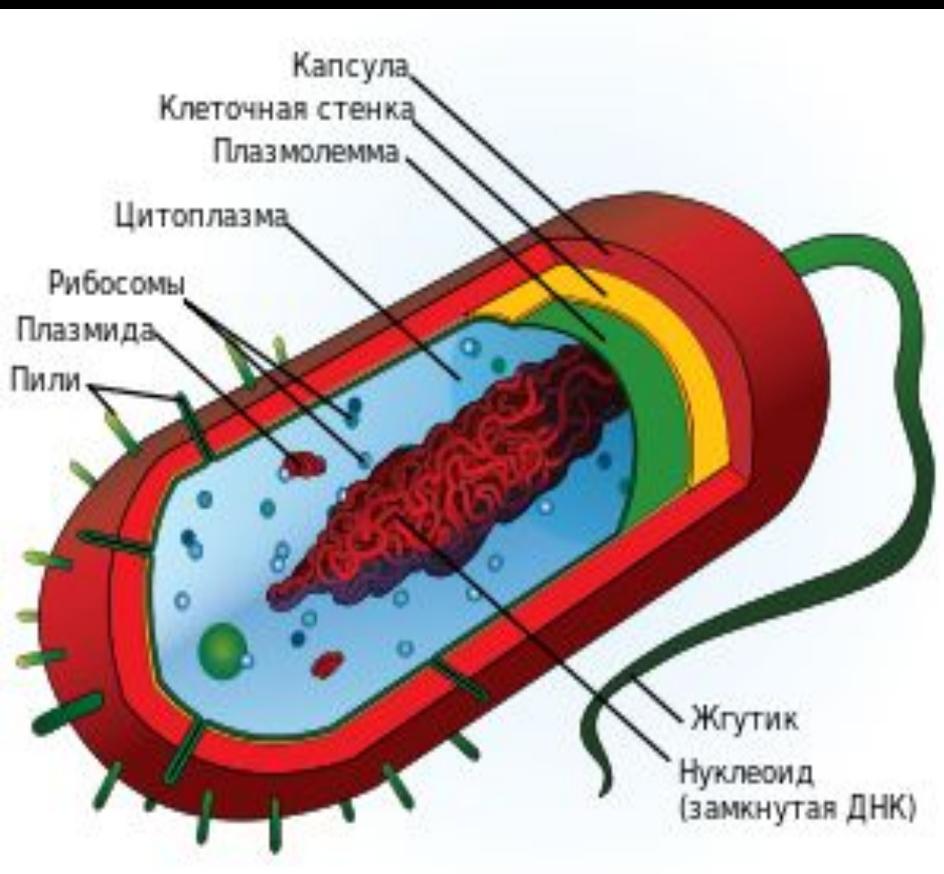
Биотехнологические процессы основываются на функционировании клетки и изолированных из них биологических структур, чаще всего ферментов..

Общие закономерности жизнедеятельности клетки необх. знать чтобы управлять ростом и метаболизмом биологических агентов и получать целевой продукт с максимальным выходом при высокой интенсивности процесса

ДНК, РНК, СИНТЕЗ БЕЛКА

Основные структурные различия

про- и эукариот (лат. *Procaryota*, от др.греч. про «перед» и *κάρυον* «ядро»)



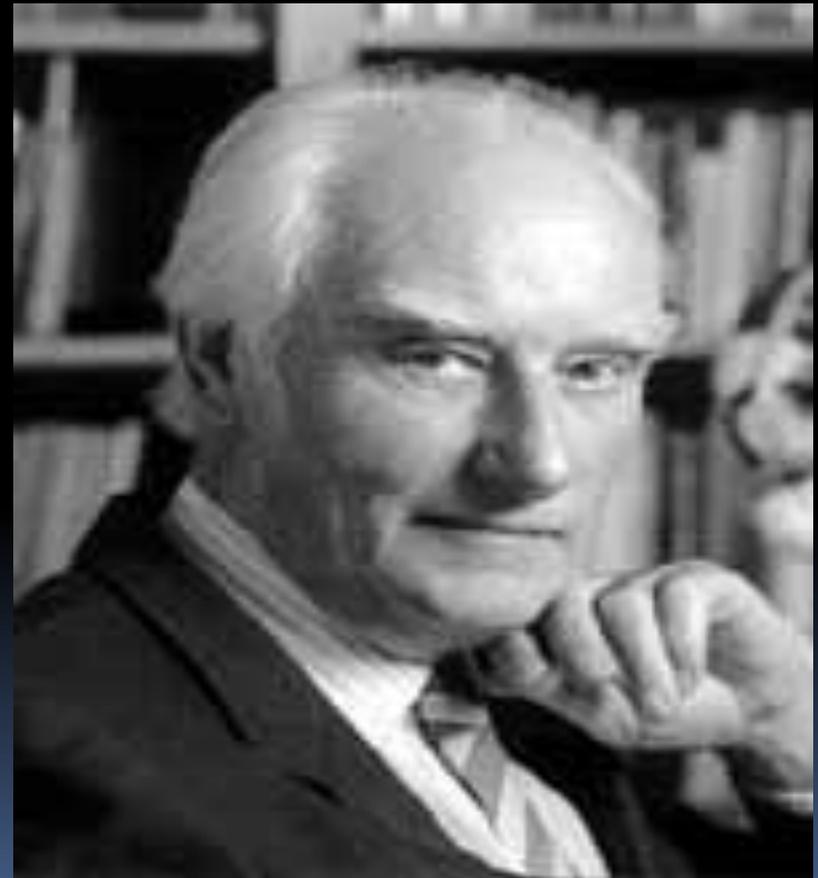
Модель бактериальной клетки, созданная на основе электронной микроскопии

Схема строения клетки эукариотов

Модель пространственной структуры ДНК - основа молекулярной генетики **(1953)**

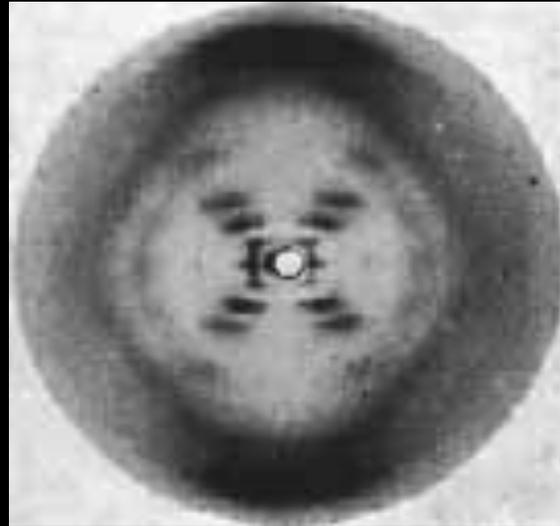
Джеймс Уотсон
(Watson)

Фрэнсис Крик

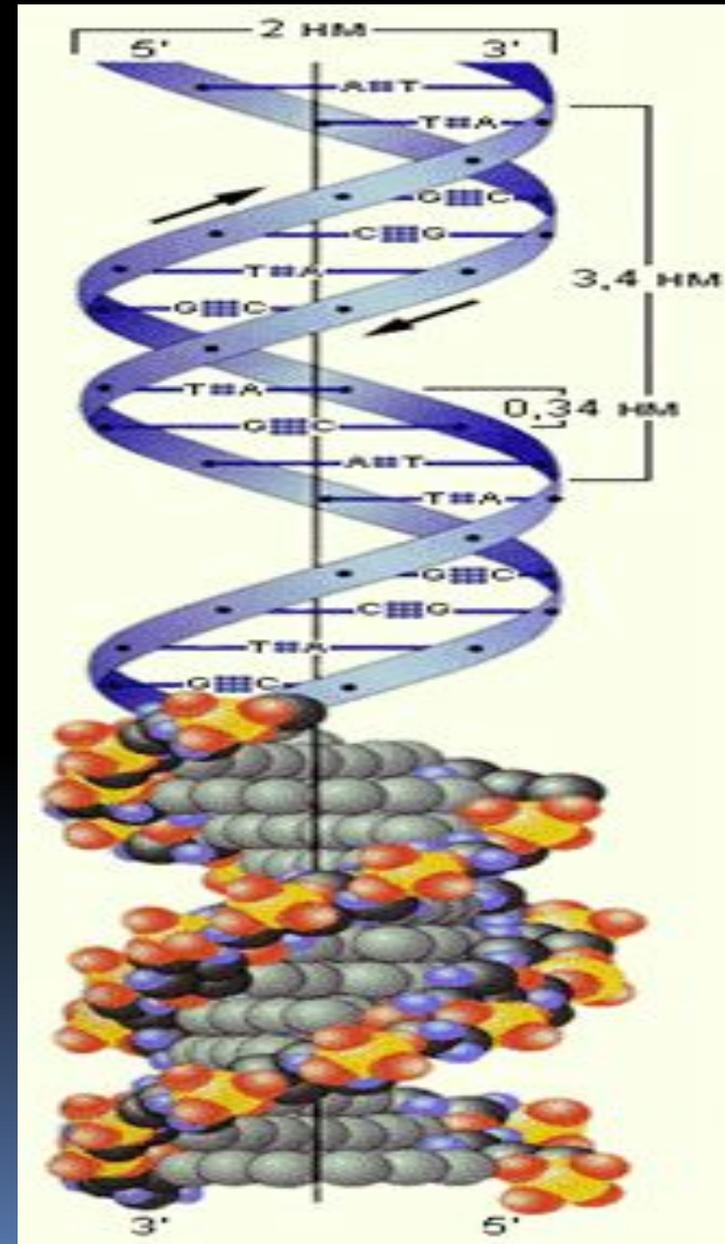


Рентгенограмма волокон натриевой соли тимусной ДНК (1952)

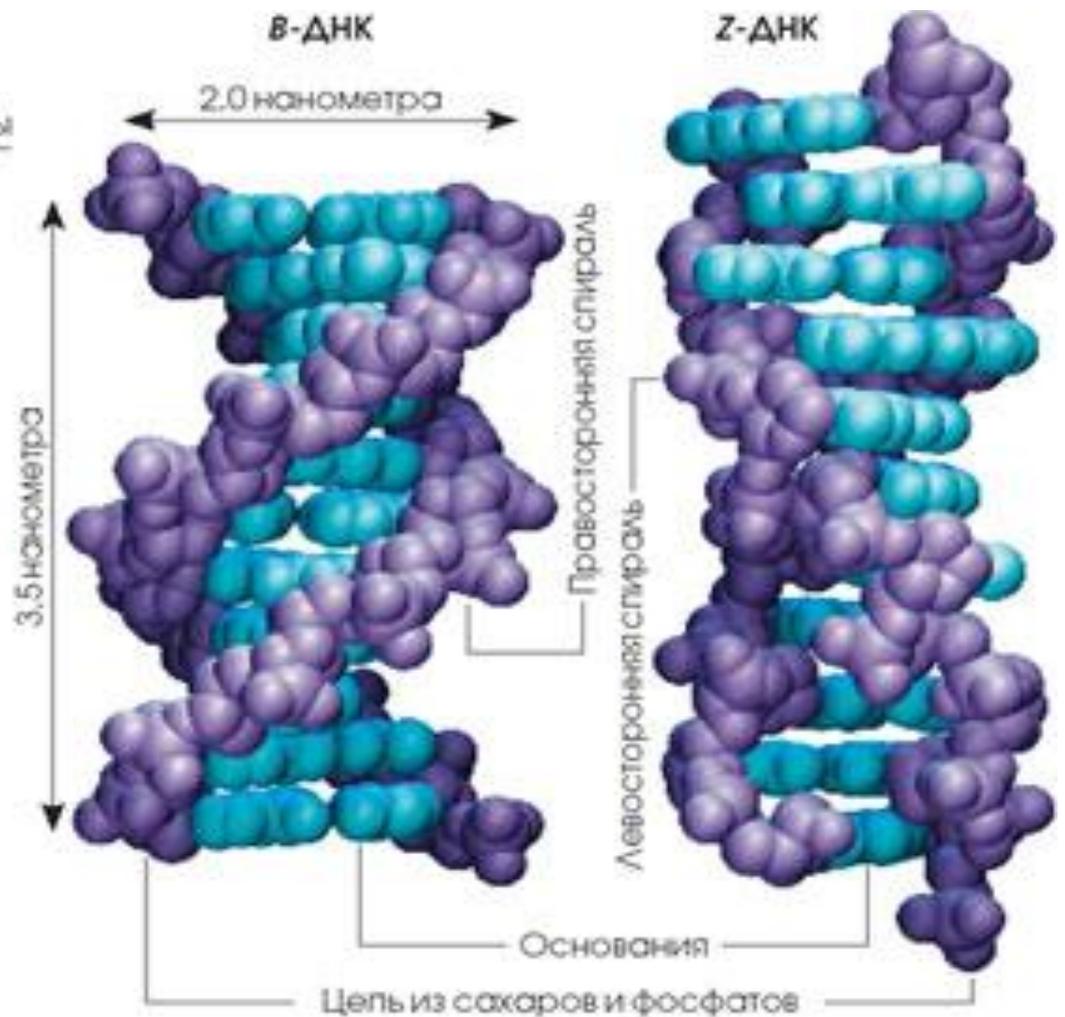
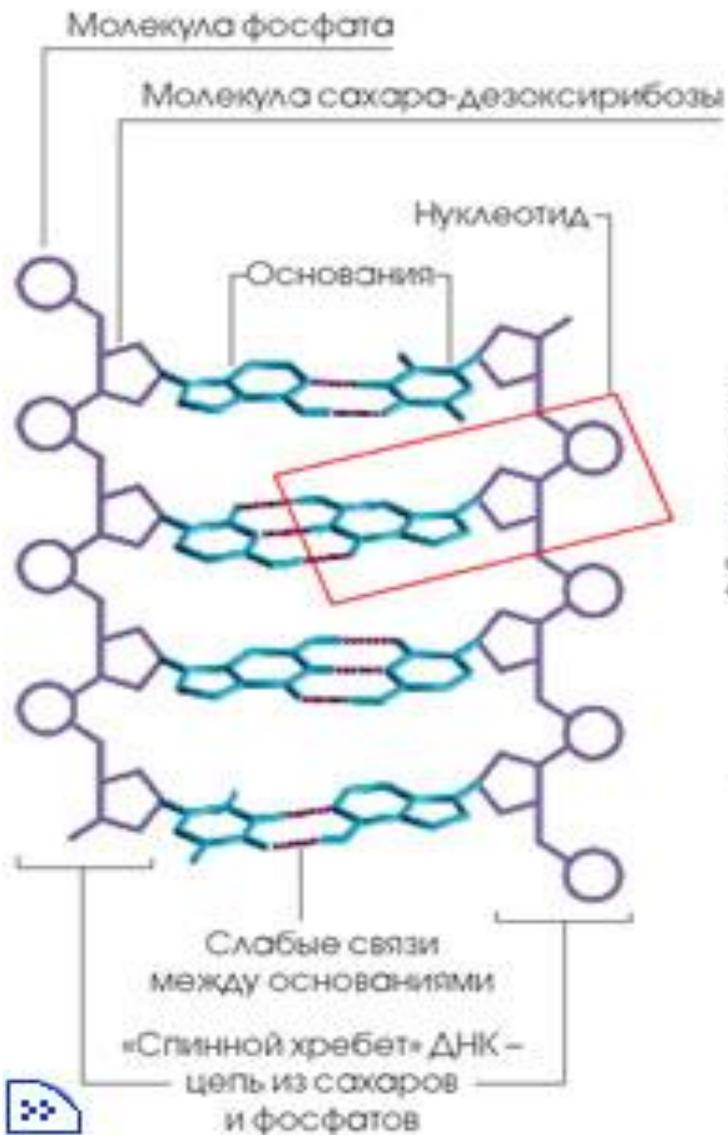
Эта рентгенограмма послужила главным толчком к открытию двуспиральной структуры ДНК и построению модели структуры ДНК Уотсоном и Криком.



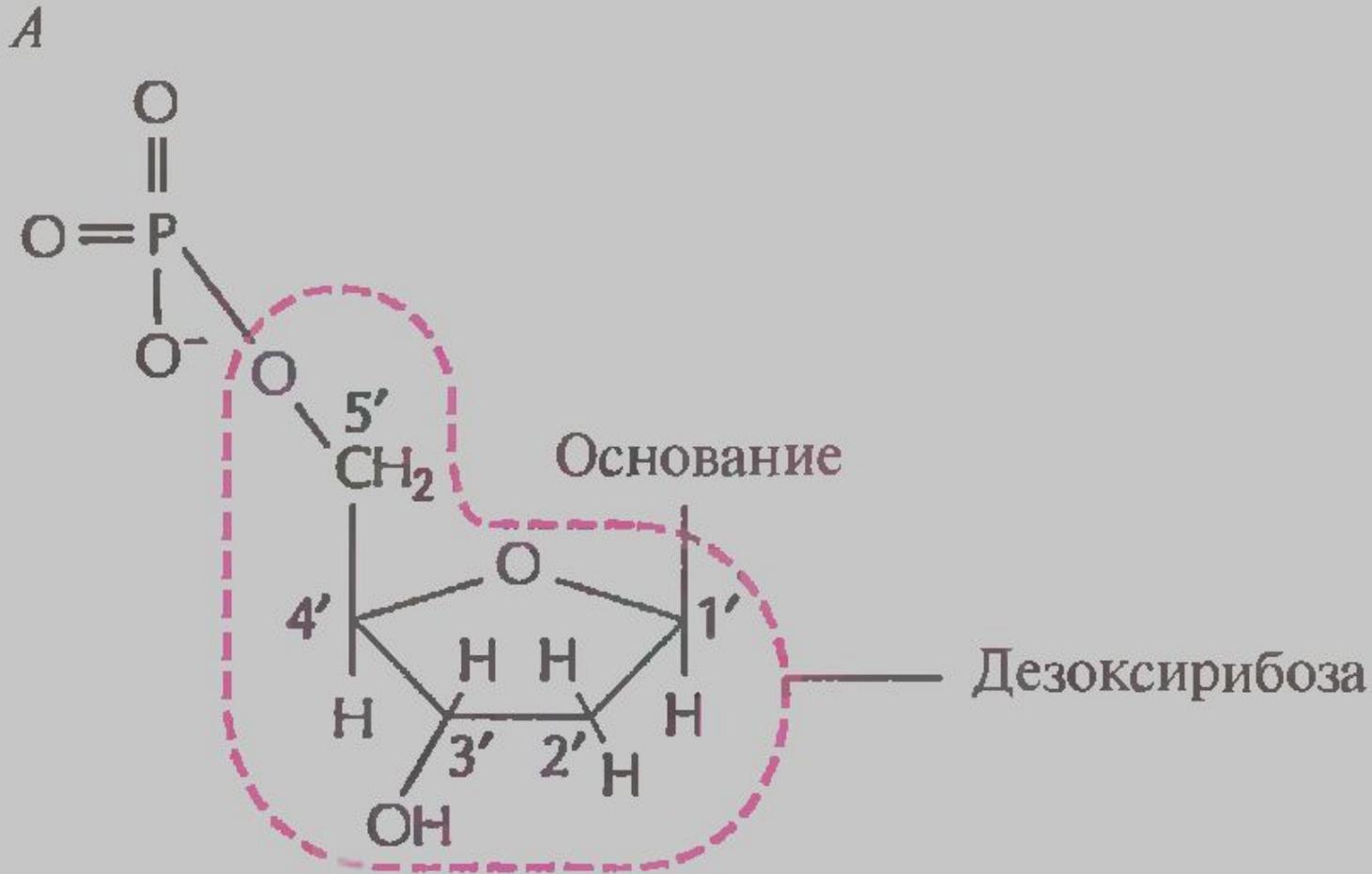
*Уотсон: «Как только я увидел рентгенограмму, у меня открылся рот и бешено забило сердце...
Распределение рефлексов было неизмеримо проще, чем все, полученные раньше для А-формы»*



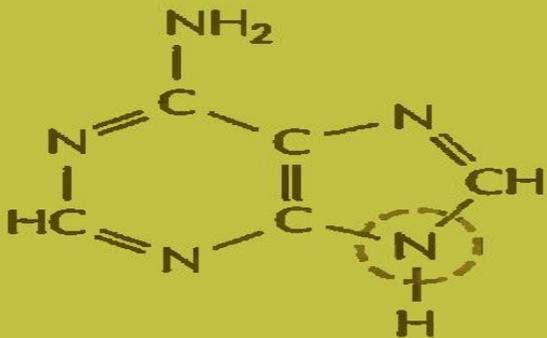
ДНК - структура



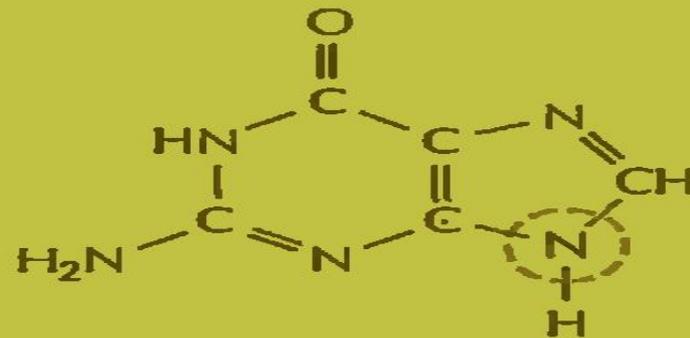
Структура нуклеотида



Азотистые основания ДНК: пуриновые и пиримидиновые



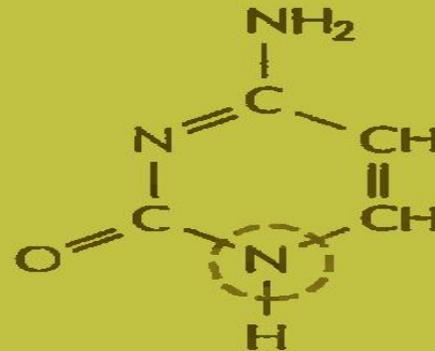
Аденин



Гуанин



Тимин



Цитозин

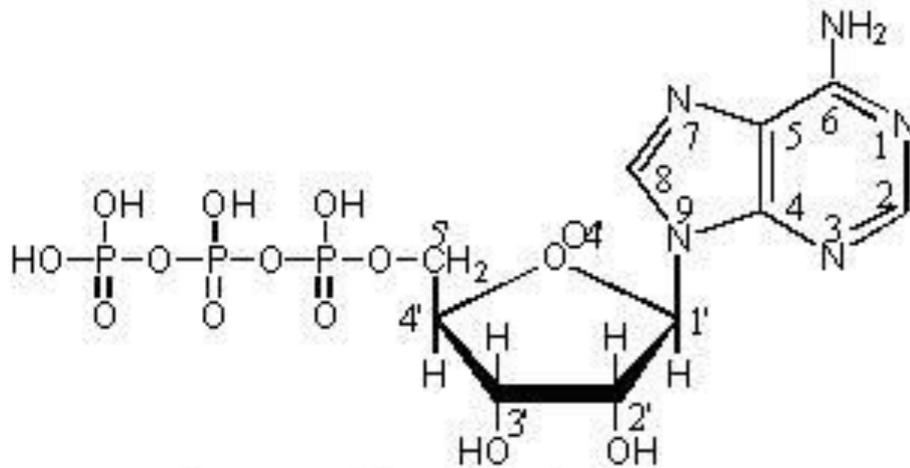
основание - аденин

нуклеозид - аденозин

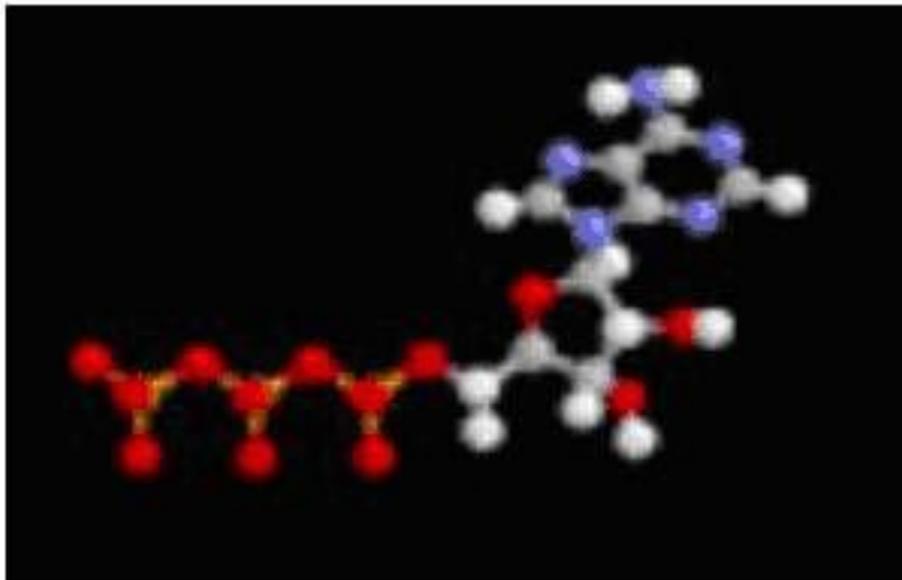
нуклеотид - АТФ

АДФ

АМФ

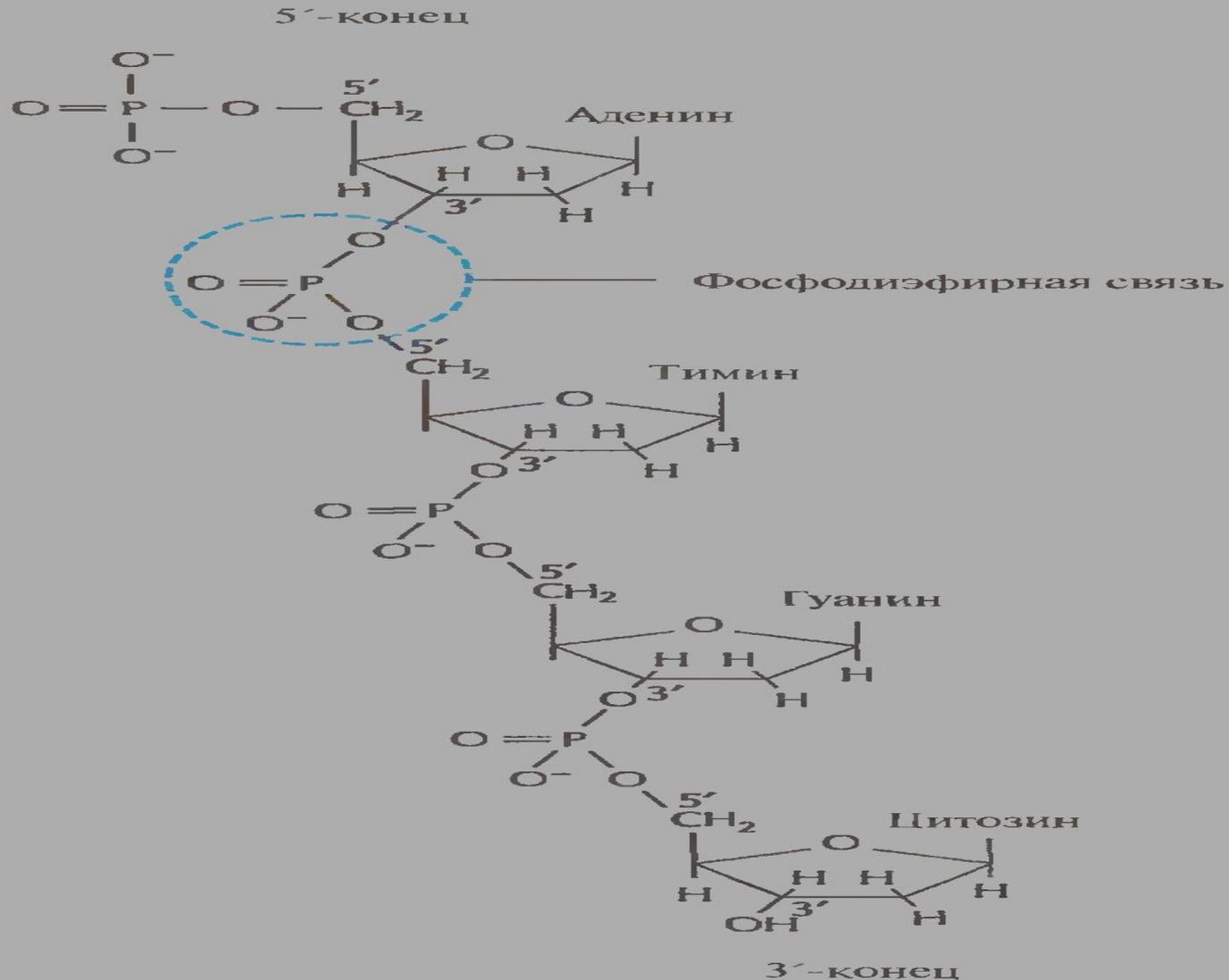


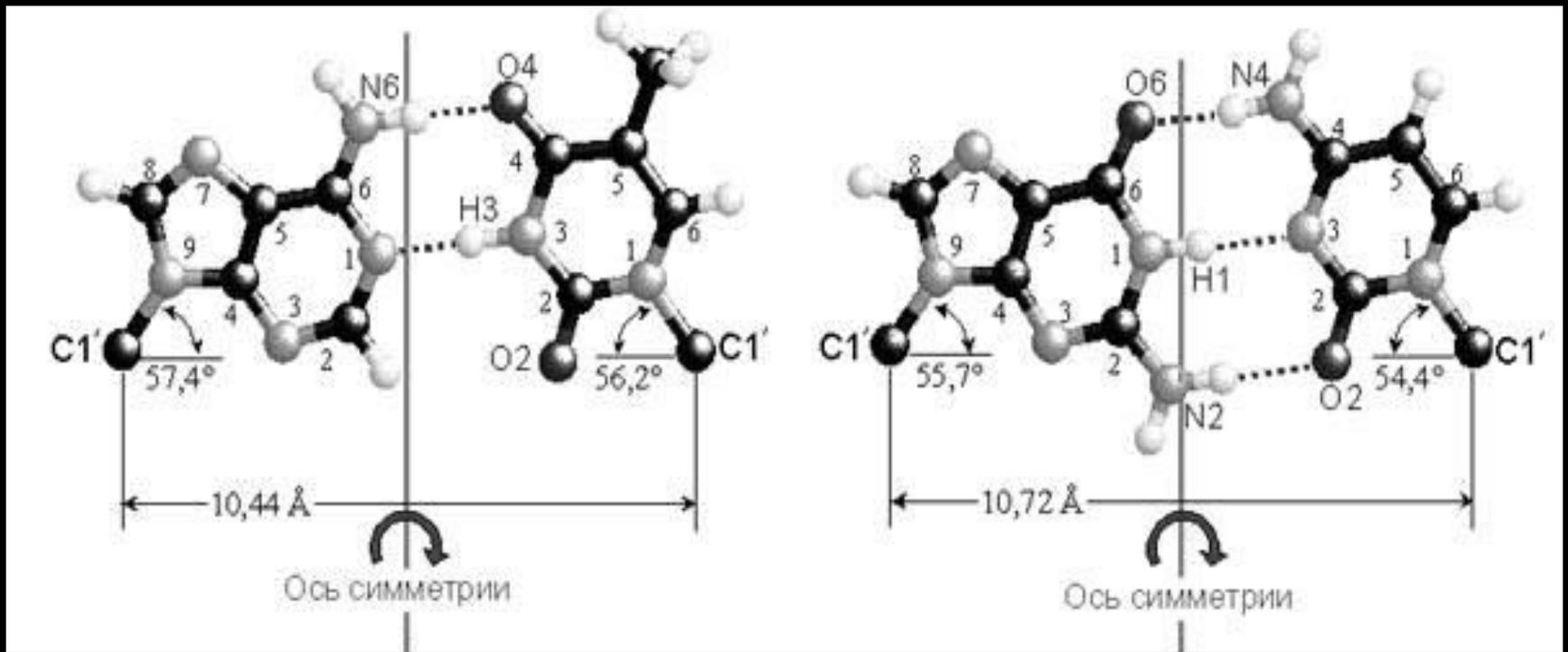
Аденозин-5'-трифосфат
5'-АТФ



Нуклеотид = аденин, гуанин, тимин, цитозин

Одна из цепей молекулы ДНК





Пара оснований А = Т стабилизируется двумя водородными связями;

Пара С ≡ G – тремя, является более прочной.

Нуклеотиды способны образовывать пары как угодно. Причина, по которой в структуре ДНК они соединяются так, и никак иначе, заключается в том, что угол между «хвостиками», которые идут к сахарам (54,4°), совпадает только в этих парах, и, кроме того, совпадают их размеры. Никакая другая пара не образует такой конфигурации. А поскольку они совпадают, то их через сахаро-фосфатный остов можно связать друг с другом

ДНК - носитель генетической информации

Функция обеспечена свойствами:

1. ДНК реплицируется с высокой точностью.
Это свойство обусловлено комплементарностью дезоксирибонуклеотидов в обеих цепях ДНК.
2. ДНК кодирует (детерминирует) синтез белковых молекул. Генетическая информация каждой клетки закодирована в последовательности азотистых оснований ее полинуклеотидов.

Репликация

(лат. *replicatio*, возобновление, повторение)

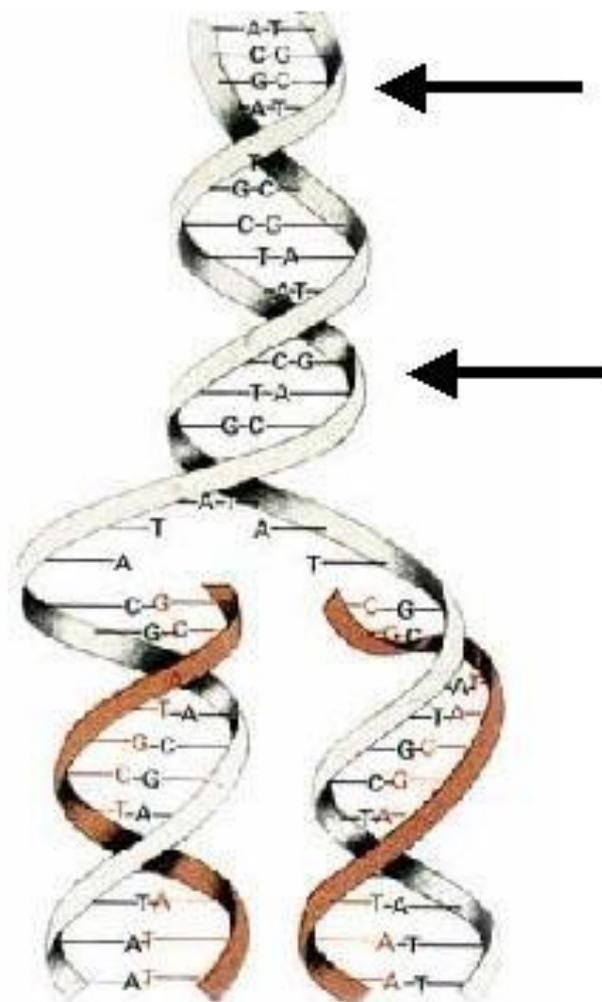
Процесс синтеза дочерней молекулы ДНК на матрице родительской молекулы ДНК.

Происходит в процессе деления клетки

РЕПЛИКАЦИЯ

При расплетении нитей ДНК к каждой нити можно достроить комплементарную копию, таким образом получая две нити молекулы ДНК, копирующие исходную.

Диаметр двойной спирали ДНК
20 ангстрем



Шаг спирали - 34 ангстрема на полный виток - 10 пар оснований

Матрицей для синтеза новой цепи молекулы ДНК служит каждая из 2 цепей расплетенной материнской ДНК

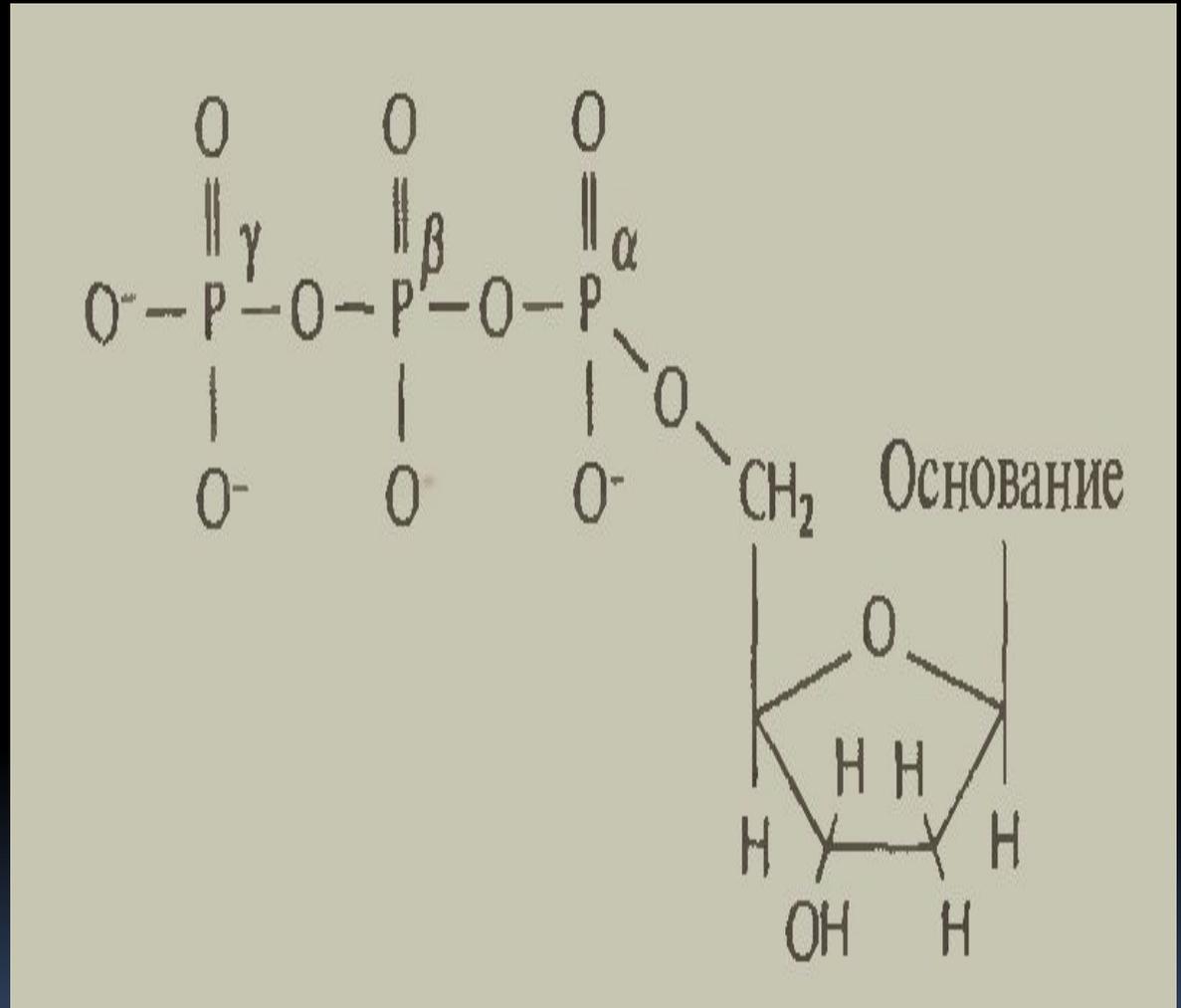


В репликации участвуют активированные мономеры

Активация происходит при присоединении к нуклеозиду трех фосфатных групп.

Дезоксирибонуклеозид-5'-трифосфат

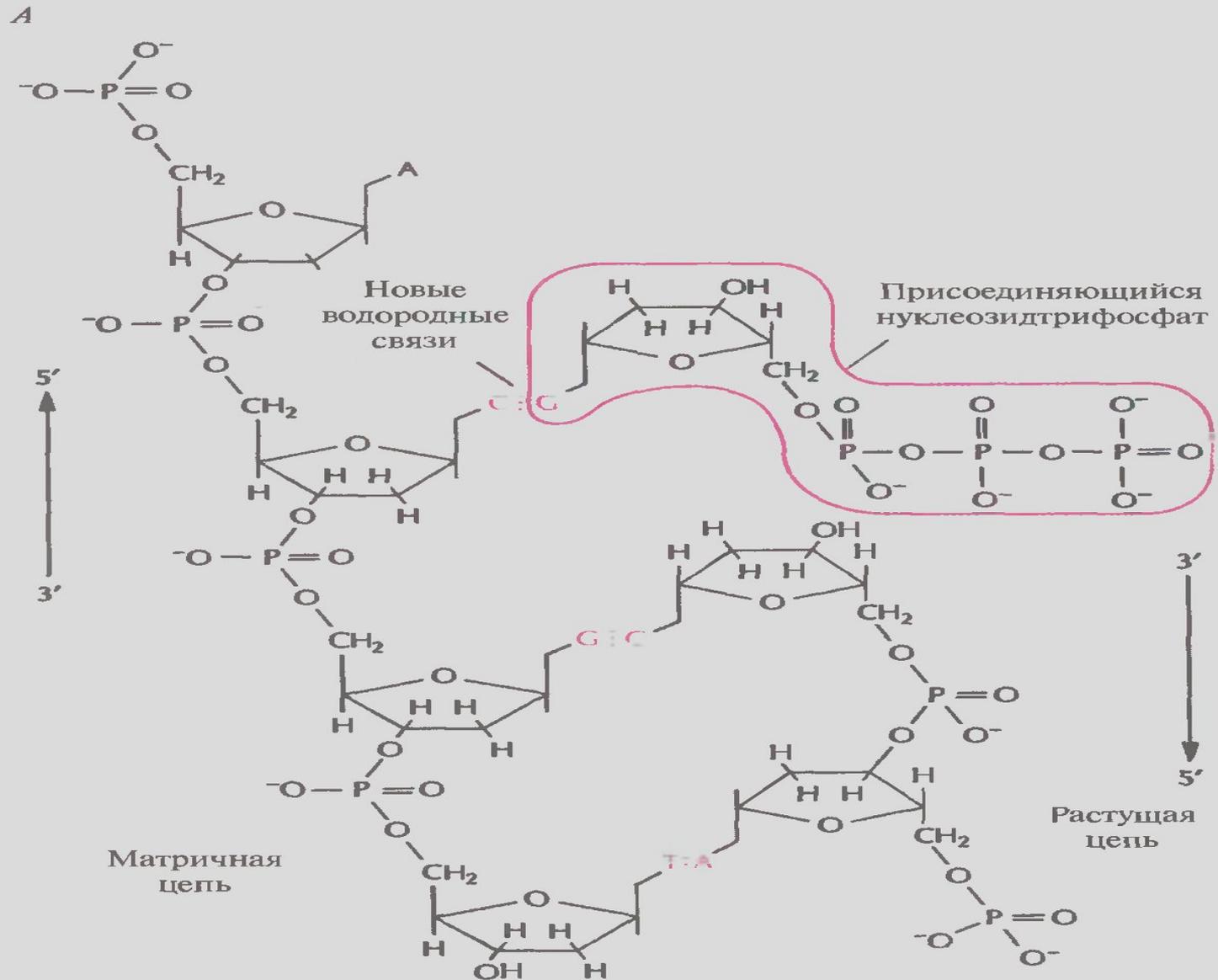
α -фосфатная группа связана с 5'-атомом углерода дезоксирибозы



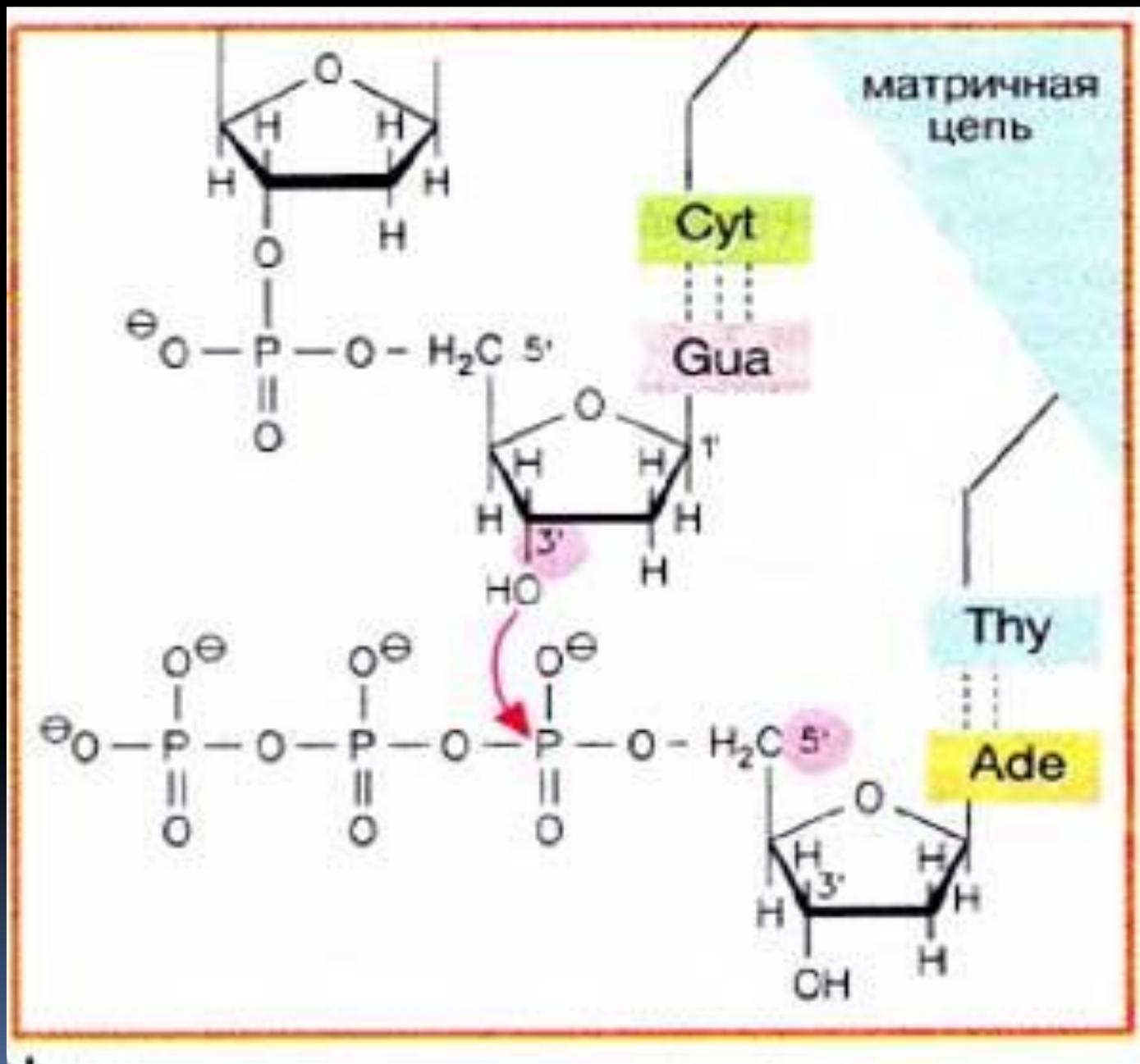
Структурная формула активированного нуклеотида

Пошаговый механизм синтеза ДНК:

Спаривание подходящего нуклеотида с комплементарным основанием ДНК-матрицы. Образование водородных связей между комплементарными азотистыми основаниями



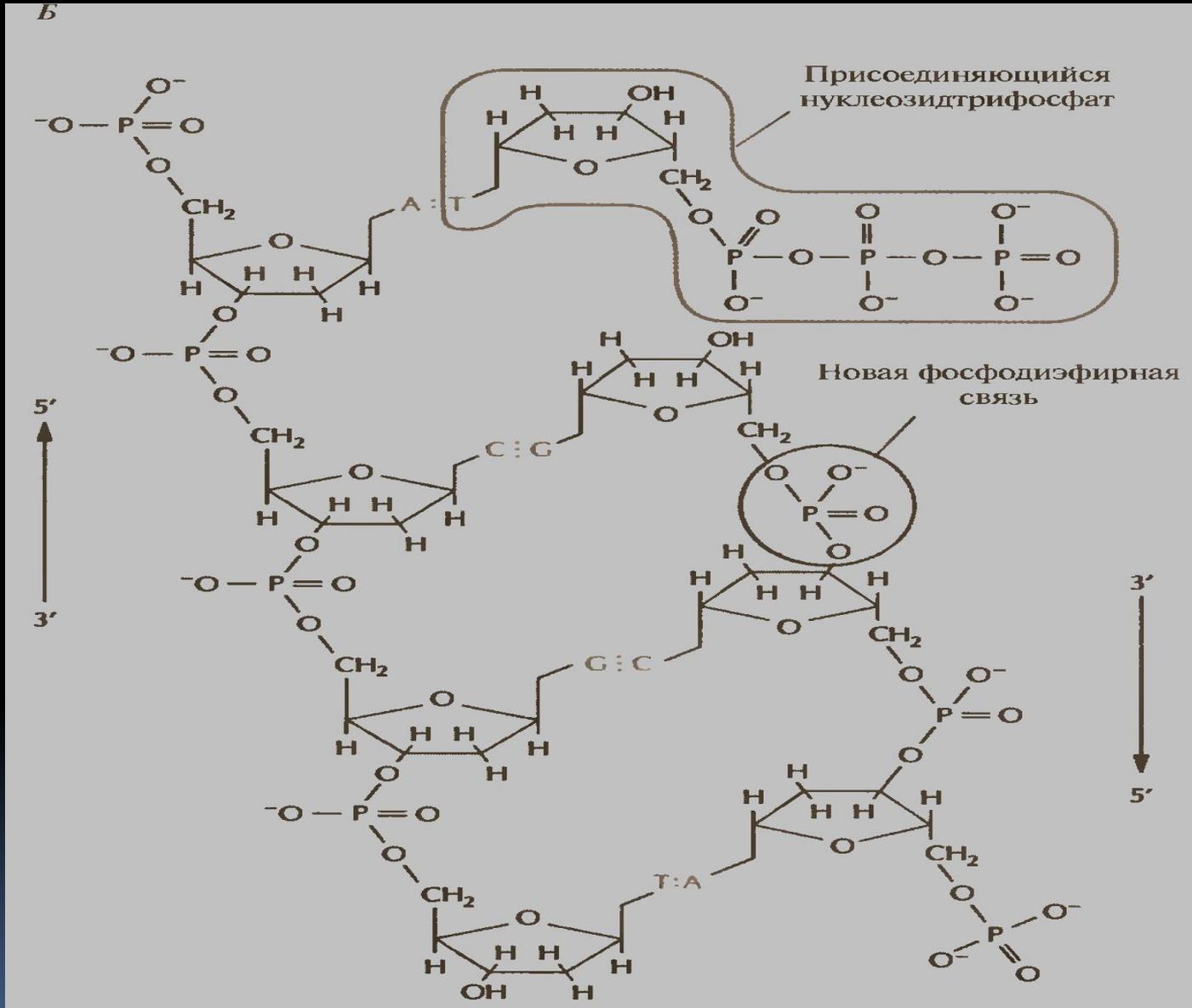
α -фосфатная группа связывающегося нуклеотида (подошедшего) подвергается **нуклеофильной атаке** со стороны 3'-ОН-группы предыдущего нуклеотида.



α-фосфатная группа образует фосфодиэфирную связь с 3'-ОН группой дезоксирибозы последнего нуклеотида растущей цепи;

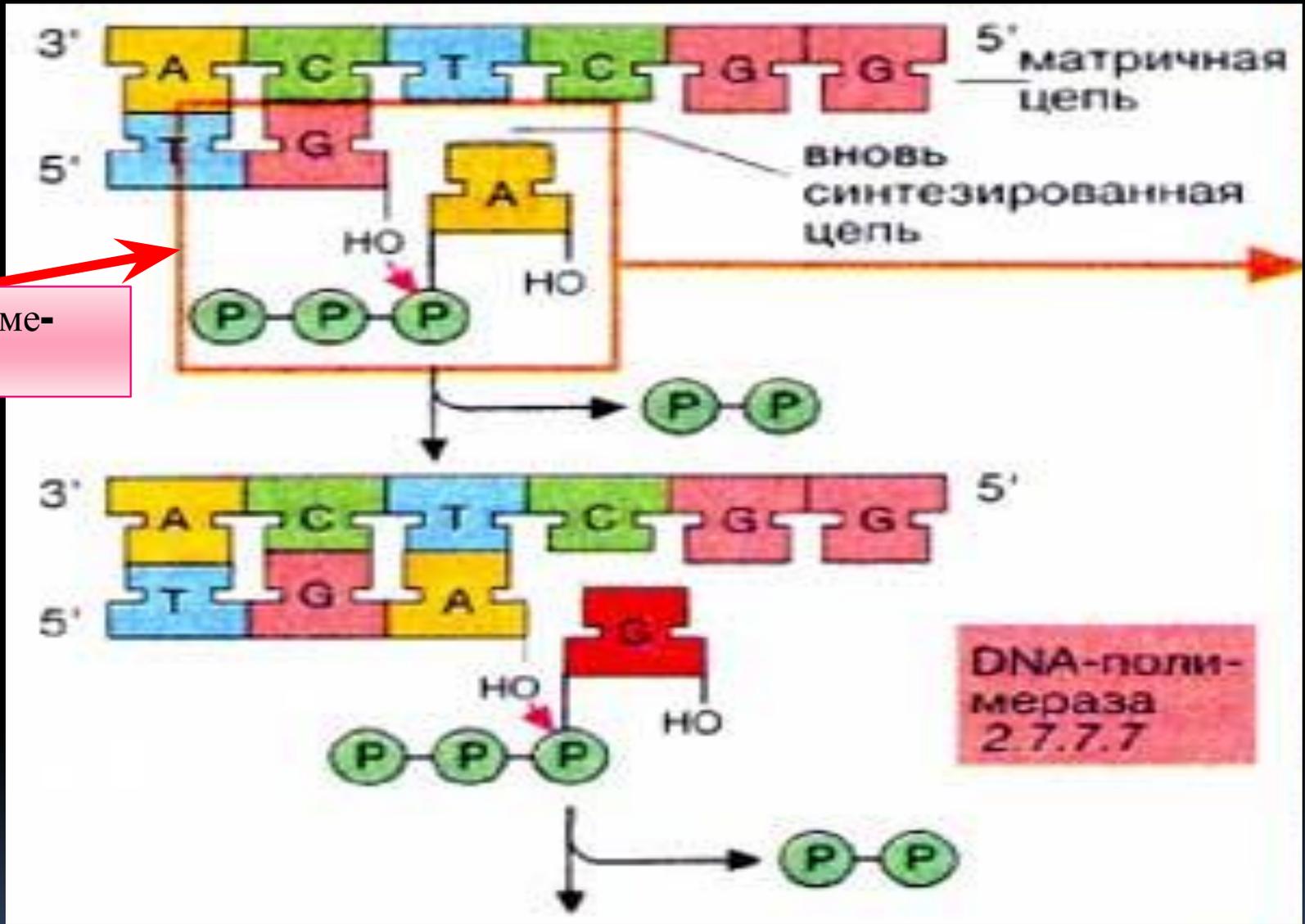
β - и **γ** - фосфатные группы отщепляются в виде пиродифосфата

К комплементарному спариванию готов следующий дезоксирибонуклеозидтрифосфат



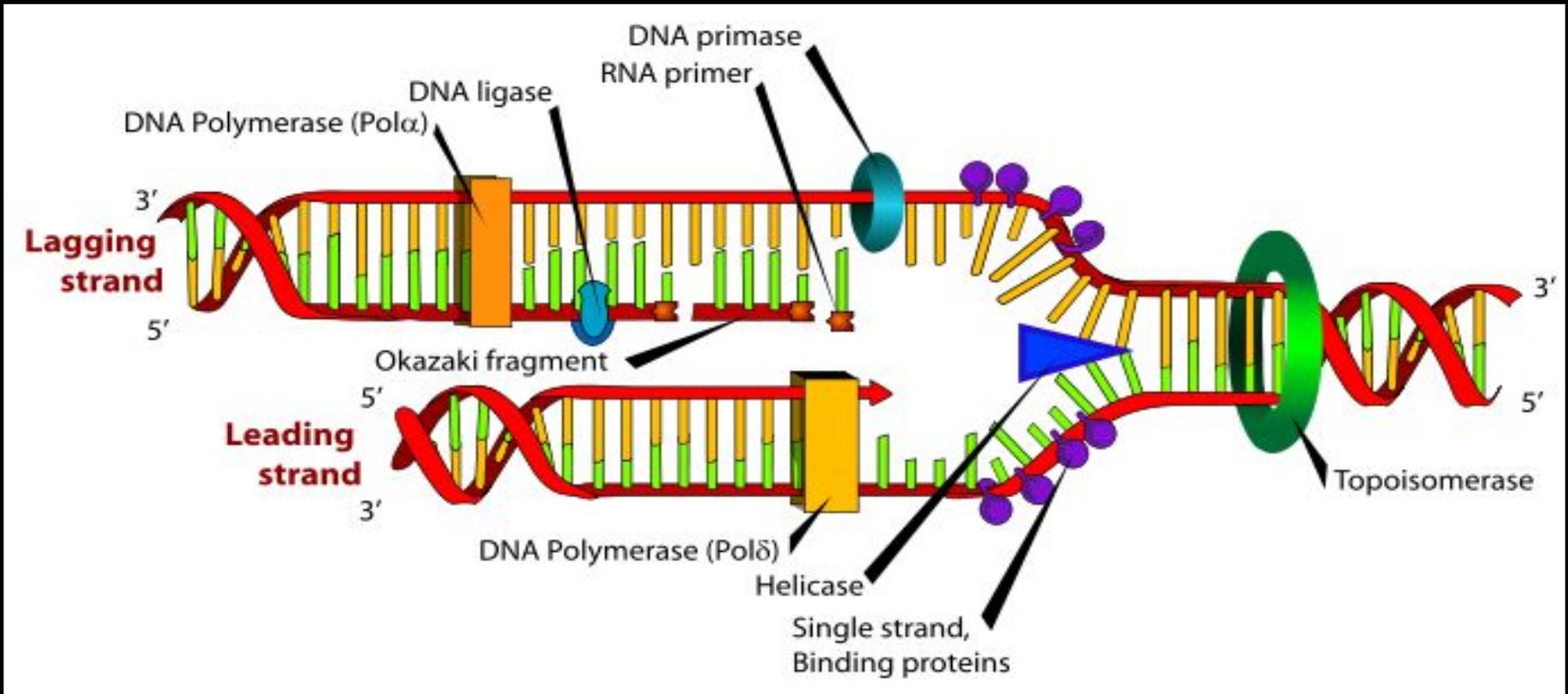
ФЕРМЕНТЫ РЕПЛИКАЦИИ

ДНК-полимераза



ДНК-полимераза. Механизм действия

ДНК-праймаза и другие ферменты



ДНК-полимераза не может начать процесс синтеза ДНК сама, ей нужна «затравка». В качестве такой затравки используется короткий фрагмент РНК – **РНК-праймер**.

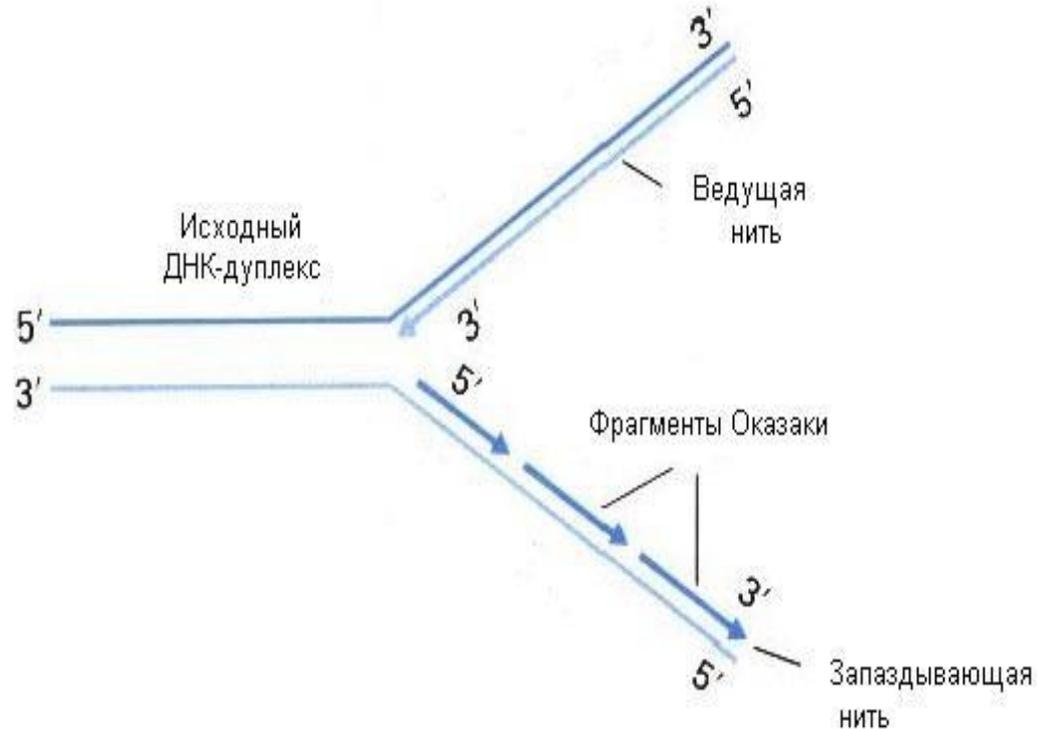
В молекуле ДНК имеются небольшие участки, последовательность нуклеотидов в которых «распознается» РНК-полимеразой - ферментом, синтезирующим РНК. РНК-полимеразы не нуждаются в затравках, и этот фермент синтезирует короткий фрагмент РНК – ту самую «затравку», с которой начинается синтез ДНК. В данном случае этот фермент называется **ДНК-праймазой**.

Фрагменты Оказаки

Молекула ДНК антипараллельна, разные ее концы называются 3'-конец и 5'-конец. При синтезе новых копий на каждой нити одна новая нить удлиняется в направлении от 5' к 3', а другая – в направлении от 3' к 5-концу. Однако 5' конец ДНК-полимераза наращивать не может.

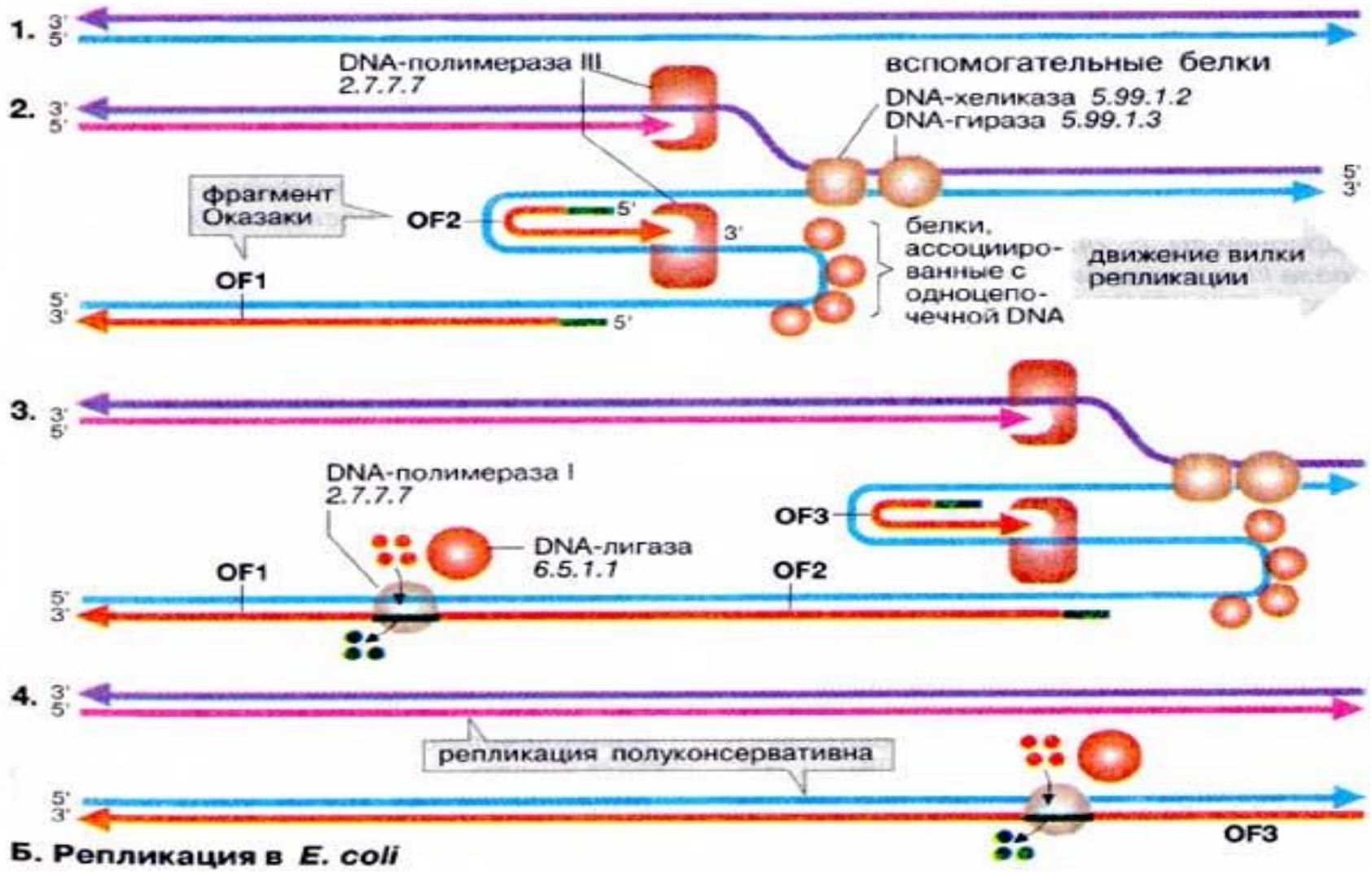
Поэтому синтез одной нити ДНК, той, которая растет в "удобном" для фермента направлении, идет непрерывно - она называется **ведущей** нитью. Синтез другой нити осуществляется короткими фрагментами. Они называются фрагментами Оказаки в честь ученого, который их описал.

РЕПЛИКАТИВНАЯ ВИЛКА



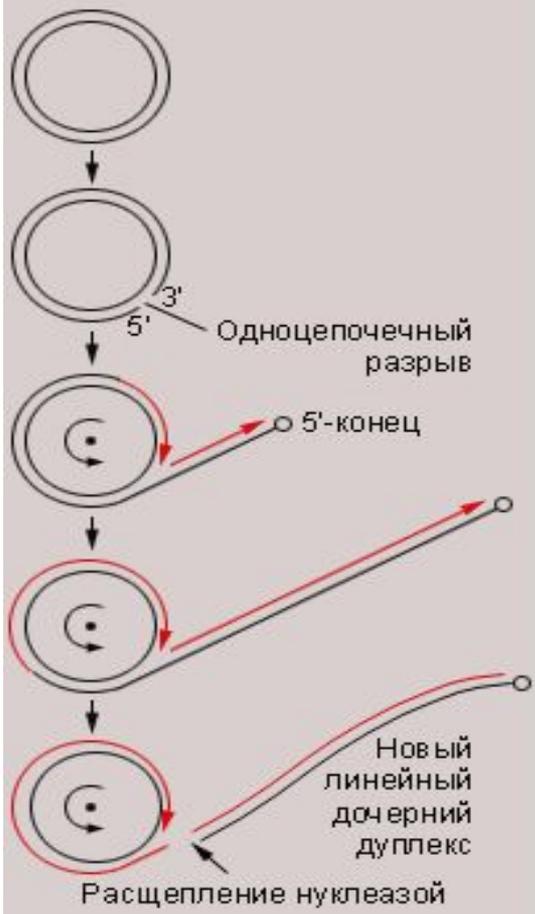
Потом эти фрагменты сшиваются **ДНК-лигазой**. В целом репликация этой нити идет медленней и такая нить называется **запаздывающей**.

Репликация в бактериальных клетках



- исходная цепь DNA
- новая цепь DNA
- RNA- праймер

Кольцевая вирусная ДНК



Кольцевая бактериальная ДНК



ДНК эукариотов



Репликация в вирусах, клетках прокариот и клетках эукариот протекает с различной скоростью, что обусловлено необходимостью воспроизводства различного количества генетического материала (различная длина ДНК).
 Различная скорость репликации обеспечивается разным количеством репликационных вилок и работой различного количества молекул фермента ДНК-полимеразы

Сайт **ORIGIN** репликации

- В геноме бактерий есть специальная точка, называемая сайт **origin** (исток, начало) репликации.

В этой точке находится последовательность нуклеотидов, которая распознается ферментом **ДНК-праймаза** (РНК-полимераза по механизму действия). Этот фермент синтезирует **РНК-праймер** (короткий фрагмент РНК) - «затравку», с которой начинается синтез новой молекулы ДНК

- В ДНК эукариот существует много таких сайтов (= сайты инициации репликации), и репликация может начинаться в каждом из них. Образующиеся сегменты эукариотической ДНК сшиваются друг с другом с помощью фермента **ДНК-лигазы**