



СЗГМУ им. И.И. Мечникова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Введение в генетику. Организация и экспрессия генов у про- и эукариот. Понятие о генной инженерии

К.б.н., доцент кафедры медицинской биологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова
Прачёва Анна Александровна

План лекции:

1 История развития генетики

2 Основные понятия генетики

3 Организация и работа генов

4 Генная инженерия



Генéтика (от греч. γένησις (генезис) – «порождающий, происходящий от кого-то»)

– это наука о закономерностях и механизмах наследственности и изменчивости, а так же способах управления ими

Развитие генетики:

1 этап Классическая генетика

(с 1900 по 1925 г.)

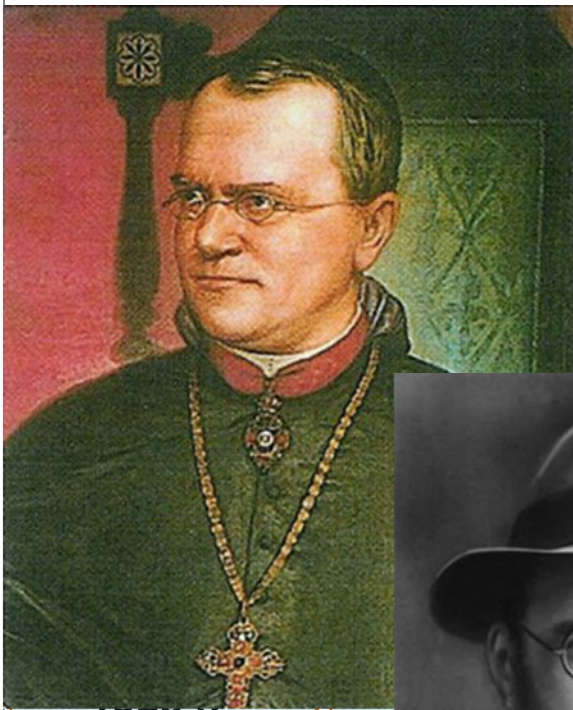
2 этап Эра ДНК

(с 1926 по 1953 г.)

3 этап Геномная эра

(1954 г. – по настоящее время)

→ Этапы развития генетики

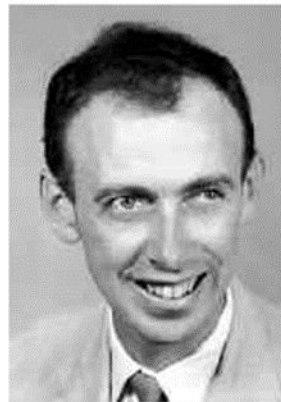


г. Х
анд
ани
рии

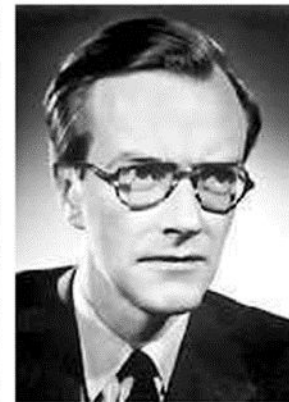
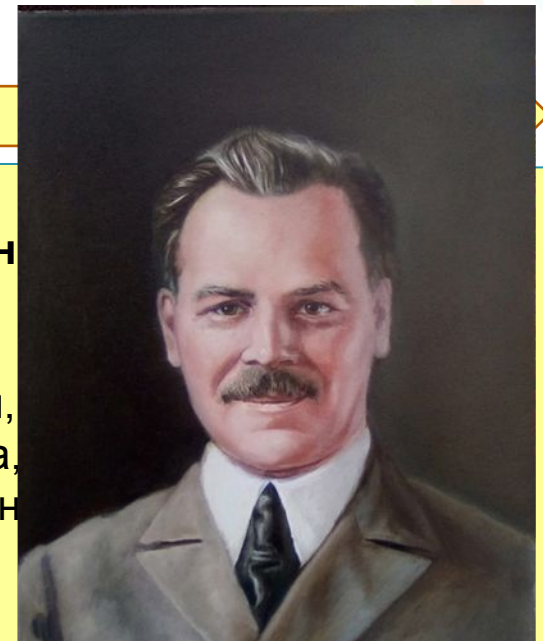
1822 г.
Грегор Иоганн Мендел
1928 г.
Фредерик
Гриффит
открытие
феномена
трансформац
ии
трансдукции



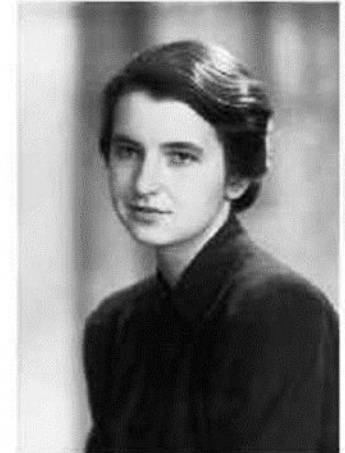
Александр Сергеевич
Серебровский 1892-1948



Джеймс
Уотсон



Морис
Уилкинс



Розалинд
Франклин



Этапы развития генетики

1977 г.

1977 г. Независимо друг от друга **Фр. Сенгер, У. Гилберт и А. Максем** открыли способ расшифровки (секвенирования) генома ДНК

1978 г.

1978-1981 гг. К.Г. Скрыбин определение полной последовательности ДНК, кодирующих рибосомные РНК эукариотического организма.

1983 г.

1983 г. Кэри Бэнкс Муллис открытие полимеразной цепной реакции (ПЦР)

1985 г.

1985 г. С. Паабо извлечение из мумий генетического материала. Рождение нового направления – **палеогенетики**

1990 г.

1990-2003г. Расшифровка генома человека. Международный проект

1996 г.

1996 г. Ян Вилмут, К. Кэмпбелл. Клонировано первое млекопитающее - овца Доли.

2019 г.

2019 г. создание синтетической транскрибируемой ДНК с восьмibuквенным алфавитом.

2020 г.

2015-2020 гг. Дж. Дудна и Э. Шарпантье и др. Разработка метода редактирования генов с помощью белка CRISPR-Cas9

...



Основные понятия генетики

Наследственность - свойство организмов передавать свои признаки от одного поколения к другому.

Хромосомная (ядерная)
обусловленная генами,
расположенными в ядре
клетки

Истинная
обусловлена генами организма
(ядра и цитоплазмы)

Цитоплазматическая (внеядерная)
обусловленная органоидами
клетки, которые имеют
собственные гены (митохондрии и
пластиды). Например: у человека
все митохондрии наследуются от
мамы (митохондрии яйцеклетки)

Ложная
Обусловлена генами
возбудителей болезней
(бактерии, вирусы)



Основные понятия генетики

Изменчивость - свойство организмов приобретать новые по сравнению с родителями признаки

Наследственная

Мутационная

-генные (точечные мутации внутри гена: вставки, выпадение нуклеотида...);
-хромосомные (изменение части хромосомы: делеции, дуплекации, транслокации...);
-геномные (изменение всего генома: поли-анеуплоидии)

Комбинативная

Перекомбинирование исходных родительских признаков в результате: кроссинговера, независимого расхождения хромосом, хроматид в анафазах мейоза, случайной встречи гамет при оплодотворении

Не наследственная (фенотипическая)

Онтогенетическая (старение)

Случайная (морфозы - шрамы, ампутации...);

Модификационная (изменение массы тела, загар...)



Основные понятия генетики

Ген — функционально неделимая единица генетического материала, участок молекулы ДНК, кодирующий первичную структуру полипептида, молекулы транспортной или рибосомной РНК. В широком смысле ген — участок ДНК, определяющий возможность развития отдельного элементарного признака (1 ген отвечает за синтез 1 белка).

Генотип — совокупность генов организма.

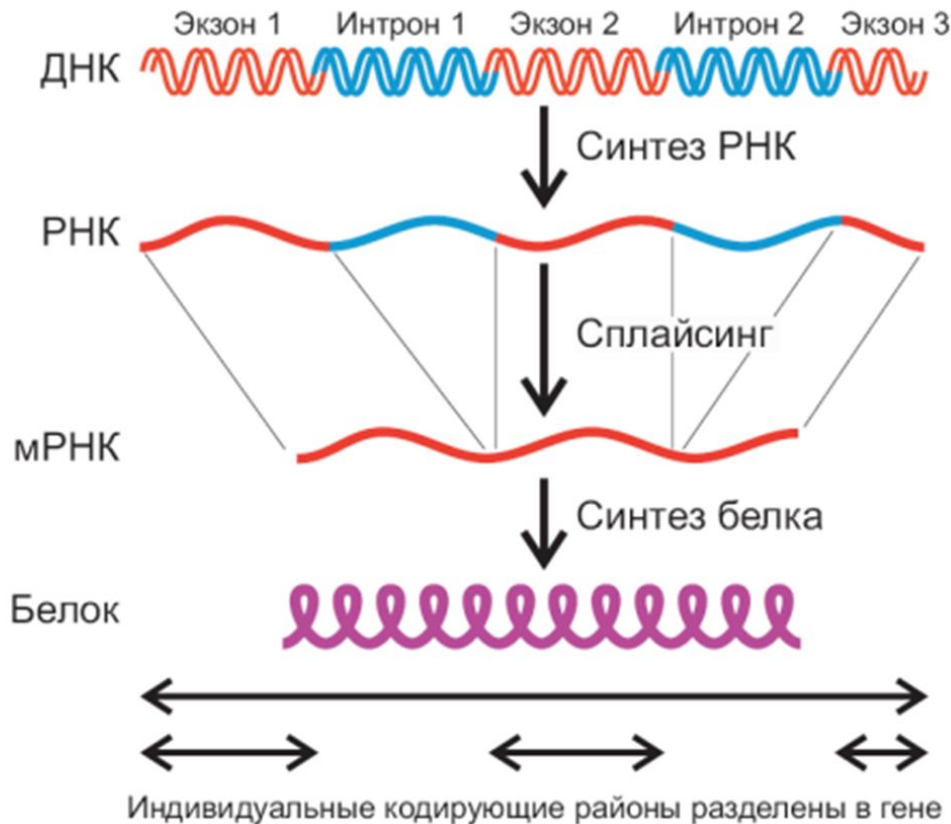
Признак - любая особенность строения, любое свойство организма. Развитие признака зависит как от присутствия других генов, так и от условий среды, формирование признаков происходит в ходе индивидуального развития особей. Поэтому каждая отдельно взятая особь обладает набором признаков, характерных только для нее.

Фенотип - совокупность всех внешних и внутренних признаков организма (внешнее проявление генотипа).



Работа гена

Экспрессия гена – процесс перевода наследственной информации, закодированной в последовательности нуклеотидов ДНК, в функциональный продукт – РНК или белок.



Экспрессия гена эукариот

Процесс передачи информации от ДНК до белка



Классификация генов по активности

Репрессированные гены – это большая часть (90%) генов, находящаяся в неактивном состоянии;

Дерепрессированные гены – около 10% генов, которые активно транскрибируются. Среди дерепрессированной части генома различают:

а) **конститутивные гены** (гены «домашнего хозяйства») активны всегда, кодируют белки-ферменты метаболических процессов клетки, ;

б) **регулируемые гены** (гены «роскоши») контролируют специфические функции данной клетки например: синтез гемоглобина, иммуноглобулина и др.



Классификация последовательностей генов в геноме

- **Часто повторяющиеся последовательности (быстрые повторы)**

Частота встречаемости на гаплоидный геном больше 10^5 (например: сателлитная ДНК, занимает около 10% генома, генов не содержит);

- **Умеренно повторяющиеся**

Частота встречаемости на гаплоидный геном от 10 до 10^5 (например: транскрибируемые и транслируемые гены белков рибосом, гистоновые гены, гены мембранных, цитоскелетных белков, гены иммуноглобулинов;

регуляторные участки: транскрибируемые, но не нетранслируемые гены рРНК, тРНК. Регуляторные участки: Эхансерные модули, промоторы и терминаторы транскрипции. Некодирующие последовательности.

- **Уникальные последовательности**

содержится 1-10 копий на геном. Например: «гены роскоши» (одна копия на геном (ген группы крови по системе АВ0)); гены домашнего хозяйства (повторяющиеся (гены белков гистонов))



Регуляция экспрессии генов

Генетическими факторами регуляции транскрипции генов являются:

- гены-регуляторы – определяют синтез белков-регуляторов, способных в активном состоянии соединяться с генами-операторами;
- гены-операторы – они включают или выключают транскрипцию структурных генов, в зависимости от наличия или отсутствия связи с белком-регулятором.

Негенетические факторы регуляции транскрипции структурных генов:

- эффекторы – это вещества небелковой природы, расщепляемые или синтезируемые в клетке при участии различных ферментов.

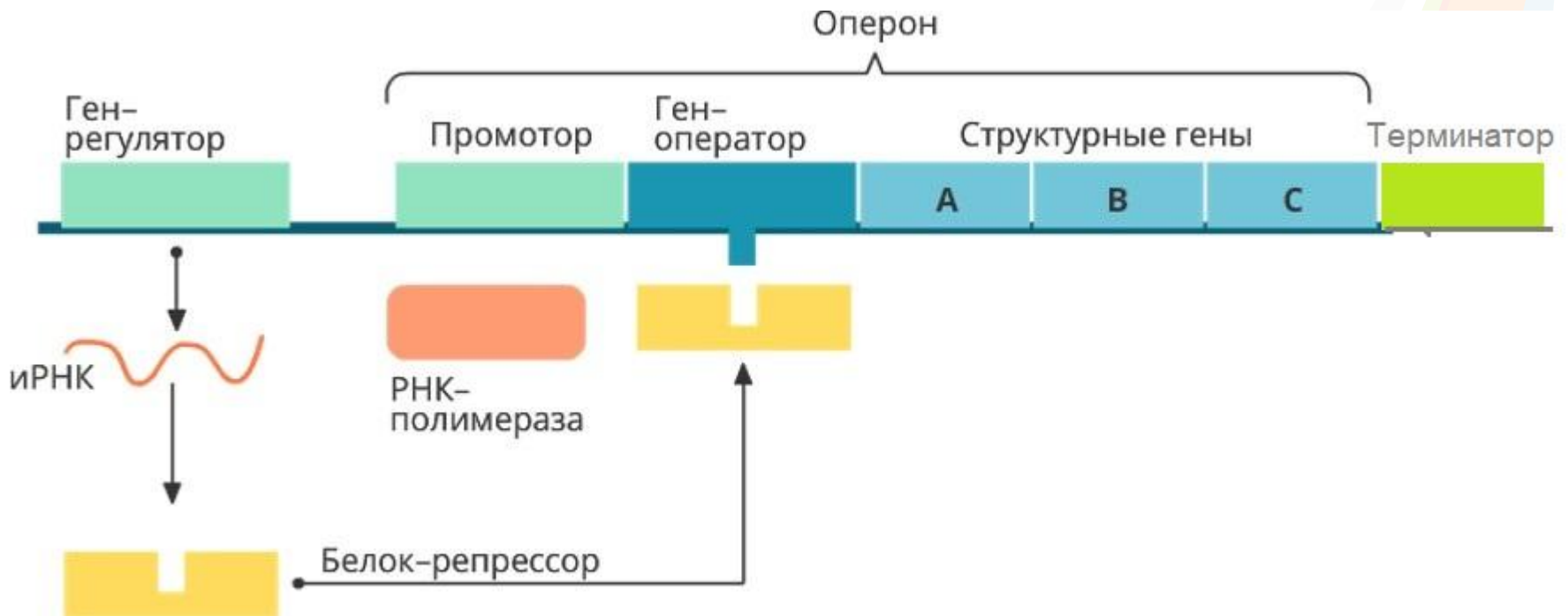
В зависимости от того, как эффектор воздействует на активность генов, различают:

- индукторы, включающие транскрипцию генов;
- корепрессоры, выключающие транскрипцию генов.



Регуляция экспрессии генов у прокариот. Теория оперона

1961 г. модель оперона (Жакоб и Моно). **Оперон** – это тесно связанная последовательность структурных генов, определяющих синтез группы ферментов для какой-либо одной цепи биохимических реакций и регулируемая как единое целое.





Лактозный оперон отвечает за синтез ферментов, расщепляющих молочный сахар-лактозу.

Ген регулятор (находится на отдалении от оперона) синтезирует белок-репрессор, который соединяется с оператором и не дает РНК-полимеразе присоединиться к промотору и начать синтез РНК. Оперон «выключен» синтеза ферментов нет.

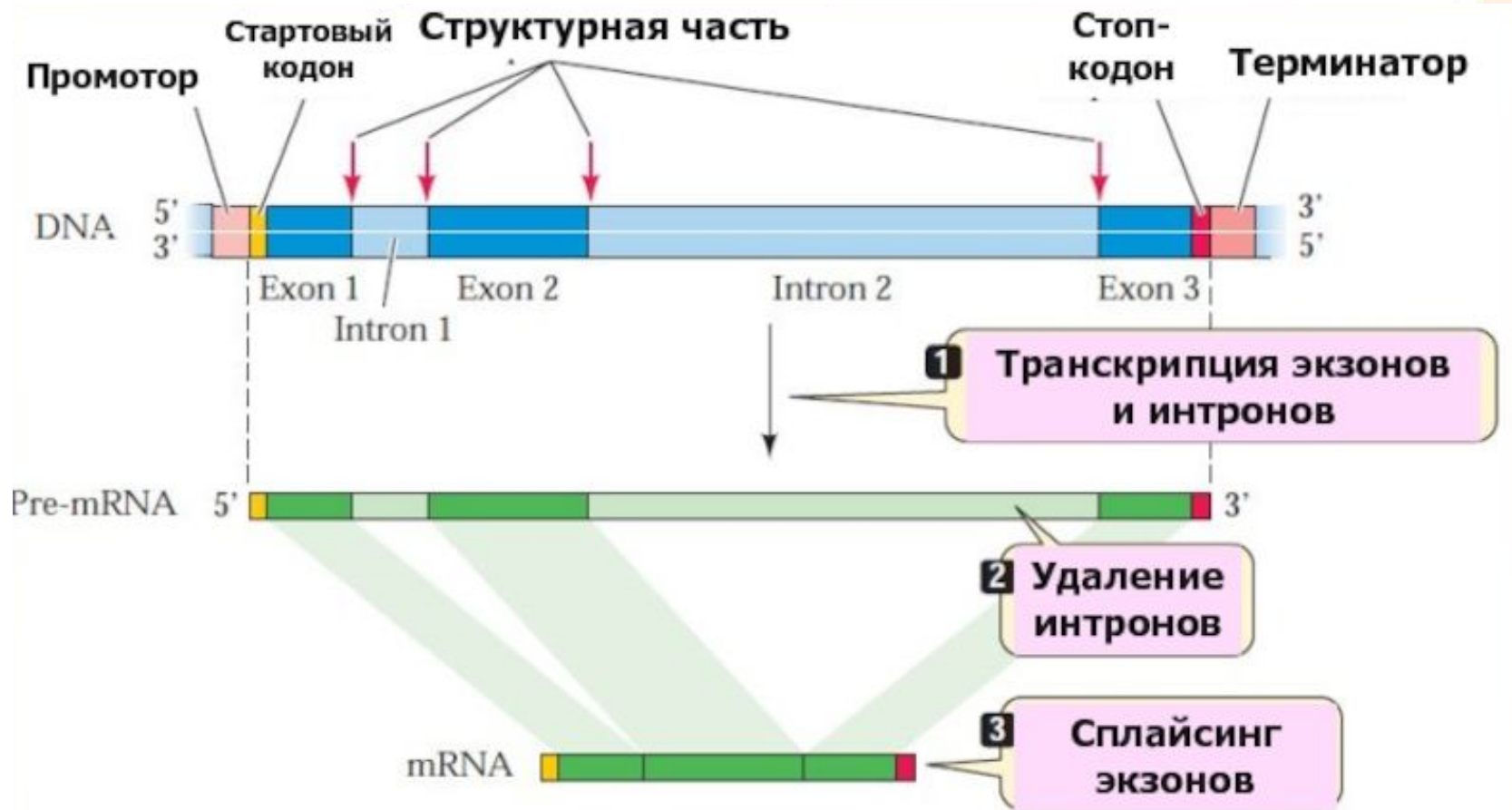
Оперон «включен»: лактоза поступает в клетку (она является индуктором для данного оперона) и связывается с белком – репрессором, который «сидит» на операторе, репрессор освобождает оператор и РНК-полимераза соединяется с промотором; осуществляется процесс транскрипции. Синтезируется фермент, который расщепляет лактозу (лактаза).

Если в среде лактозы больше нет, то белок репрессор снова «садится» на оператор. Таким образом, лактоза является индуктором, который включает синтез расщепляющих ее ферментов.



Регуляция экспрессии генов у эукариот. Транскриптон

Транскриптон – участок ДНК, ограниченный промотором и терминирующим кодоном, представляет единицу транскрипции. У эукариот в состав транскриптона входит, как правило, только один ген.



Регуляция экспрессии генов у эукариот

1. На этапе транскрипции:

- Наличие множества **генов-регуляторов**, синтезирующих большое количество белков-регуляторов. Такие гены располагаются в разных частях генома.
- Наличие регуляторных сайтов ДНК ускоряющих (**энхансеры**) и тормозящих (**сайленсеры**) транскрипцию.
- Наличие генов-регуляторов, которые могут управлять несколькими генами, оказывая различные эффекты.
- Индукторами транскрипции чаще всего выступают гормоны.
- Наличие гистонной регуляции – потеря связи ДНК с гистоном H_1 инициирует транскрипцию.
- Амплификация генов – многократное увеличение числа копий одинаковых генов с целью интенсификации синтеза молекул белка



Регуляция экспрессии генов у эукариот

2. На этапе процессинга:

- Альтернативный сплайсинг.
- Интроны могут кодировать фермент (матураза), который изменяет специфичность ферментов, участвующих в сплайсинге, следовательно, отвечает за правильность сплайсинга.

3. На этапе трансляции:

- На стадии инициации возникает блок, препятствующий связи и-РНК–т-РНК—формилметионин. В результате транскрипция не происходит.

4. На этапе посттрансляционных процессов:

- Селективная активация, инактивация или компартиментация молекул белка после синтеза



Особенности регуляции экспрессии генов

Прокариоты

- Дерепрессировано 95% генов
- Основная форма организации генов - оперон
- Структурные гены состоят только из кодирующих последовательностей
- Регуляция экспрессии на уровне транскрипции (один ген-регулятор для нескольких структурных генов)
- Координация экспрессии генов по принципу: «все или ничего»
- Преобладает негативный контроль регуляции экспрессии

Эукариоты

- Дерепрессировано 10% генов
- Основная форма организации генов - транскриптон
- Структурные гены состоят из интронов и экзонов (мозаичные гены)
- Регуляция экспрессии на всех уровнях реализации генетической информации. Большое число регулируемых генов
- Комбинационная координация экспрессии
- Преобладает позитивный контроль регуляции экспрессии



Генная инженерия

– совокупность приемов, методов и технологий выделения генов из организма (клеток), осуществления манипуляций с генами (в том числе получения рекомбинантных РНК и ДНК) и введения их в другие организмы.

Опыт Гриффитса (1928 г.) Трансформация

Трансформация – включение чужеродной ДНК в бактериальную клетку. Это перенос наследственной информации от одной клетки прокариот к другой посредством ДНК бактерии – донора или клетки – донора.

живые бактерии
R-штамма
(невирулентный)



мышь выжила

живые бактерии
S-штамма
(вирулентный)



мышь погибла

термически
инактивированные
бактерии S-штамма



мышь выжила

живые бактерии
R-штамма и термически
инактивированные
бактерии S-штамма

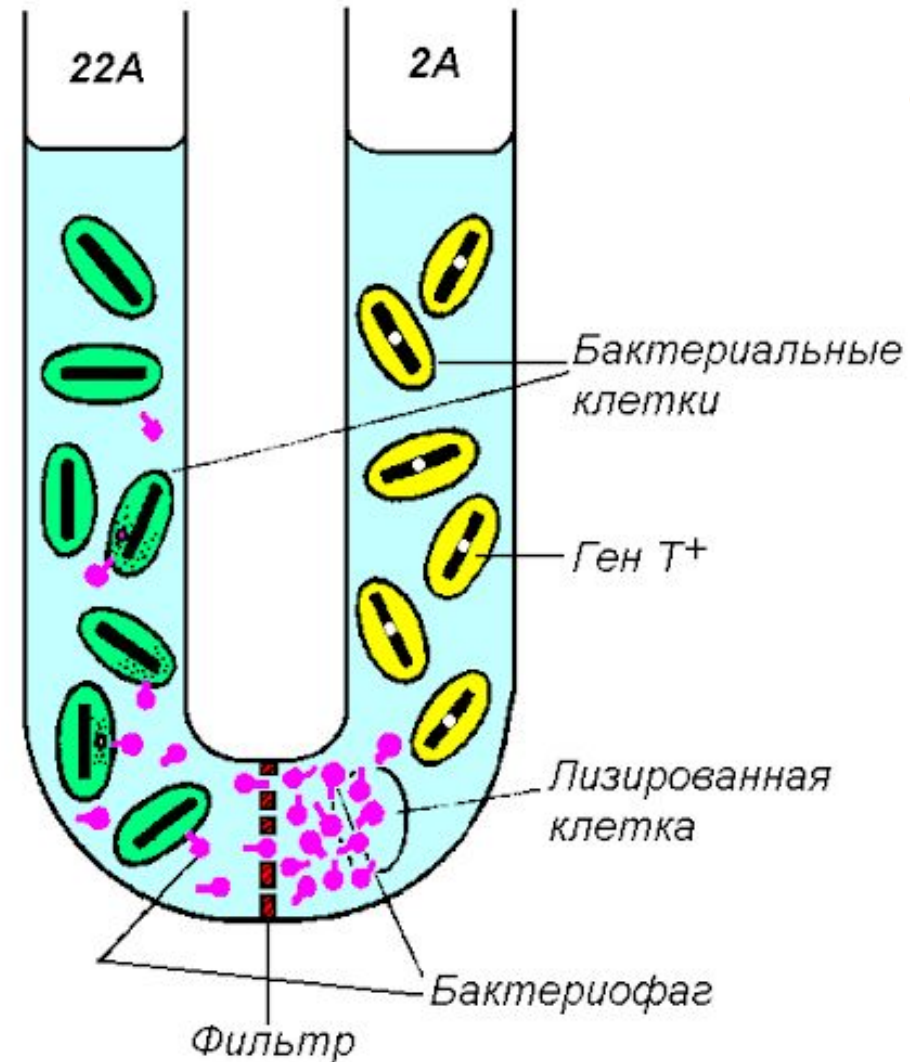


мышь погибла

Трансдукция. Опыт Н. Циндлера и Дж. Лидерберга (1952 г.)

Трансдукция

заключается в том, что вирусы, покидая бактериальные клетки, в которых они паразитировали, могут захватывать с собой часть их ДНК и, перемещаясь в новые клетки, передавать новым хозяевам свойства прежних.





Создание рекомбинантной ДНК

- 1. Создание рекомбинантной молекулы.** Интересующий исследователя фрагмент ДНК ковалентно присоединяется к ДНК вектора. Основное свойство вектора состоит в том, что он может автономно реплицироваться в клетке хозяине. Молекулы ДНК можно соединить путем лигирования (лигирование - сшивание молекул ДНК посредством ферментов ДНК-лигаз).
- 2. Введение в клетку хозяина.** Большинство бактериальных и эукариотических клеток поглощает «голые» молекулы ДНК из среды. Эффективность поглощения низка (примерно 1 на 10^6 молекул ДНК), но в специально подобранных экспериментальных условиях можно трансформировать значительную часть клеток. Существует и другой метод: клетки заражают реконструированными вирионами, содержащими рекомбинантные молекулы ДНК. В таком синтетическом вирусном геноме интересующий исследователя ген замещает участок вирусной ДНК, не имеющий существенного значения для репликации.



Создание рекомбинантной ДНК

3. Отбор. Данный этап состоит в том, чтобы определить, какие клетки несут рекомбинантную молекулу ДНК, содержащую нужный ген. Такие клоны можно отобрать по признаку присутствия вектора или самого встроенного гена. Например, некоторые плазмидные векторы сообщают клетке устойчивость к какому-либо антибиотику. В качестве репортерных генов могут быть использованы гены, кодирующие флуоресцентные белки



Достижения генной инженерии

1978 получение человеческого инсулина в промышленных масштабах при помощи генетически модифицированных бактерий (E. Coli);

1978 синтез гормона роста человека;

1979 клонирование лягушки;


1987 первые генетически модифицированные растения;

1989 генетически модифицированная вакцина против гепатита В;

2006 открытие РНК-интерференции (эффект гашения активности генов);

2010 создание первой искусственной клетки;

2019 создание векторных вакцин от covid-19

The background features a central point from which several colorful rays (green, orange, blue, grey) emanate outwards. Faint binary code (0s and 1s) and a line graph are visible in the background.

Введение в генетику. Организация и экспрессия генов у про- и эукариот. Понятие о генной инженерии

К.б.н., доцент кафедры медицинской
биологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова
Прачёва Анна Александровна