

# Курс молекулярной биологии

Тема лекции

## *Понятие молекулярной биологии и основные этапы её развития*

Захарова Ирина Борисовна,  
к.б.н., доцент

# Определение

***Молекулярная биология - это наука о механизмах хранения, воспроизведения, передачи и реализации генетической информации, о структуре и функциях нерегулярных биополимеров – нуклеиновых кислот и белков.***

# Предмет

**Молекулярная биология исследует проявления жизни на неживых структурах или системах с элементарными признаками жизнедеятельности (которыми могут быть отдельные биологические макромолекулы, их комплексы или органеллы)**



Фрэнсис Крик

Термин **«молекулярная биология»** был впервые употреблен английским учёным Уильямом Астбери (W.T.Astbury) в контексте исследований, касавшихся выяснения зависимостей между молекулярной структурой и физическими и биологическими свойствами фибриллярных белков

Широкое распространение термин **«молекулярная биология»** получил благодаря нобелевскому лауреату Фрэнсису Крику, которому «надоело в ответ на вопрос о его профессии объявлять себя смесью кристаллографа, биохимика, биофизика и генетика».



# История

**«А мы только что  
открыли секрет  
жизни!»**

**Через несколько месяцев вышла публикация работы двух исследователей в журнале Nature**  
**Watson J.D., Crick F.H.C. Molecular structure of nucleic acids // Nature. 1953. V. 171. P. 738-740.**

– сказал один из двоих мужчин, вошедших в кембриджский Игл паб (Eagle pub) 28 февраля 1953 года.

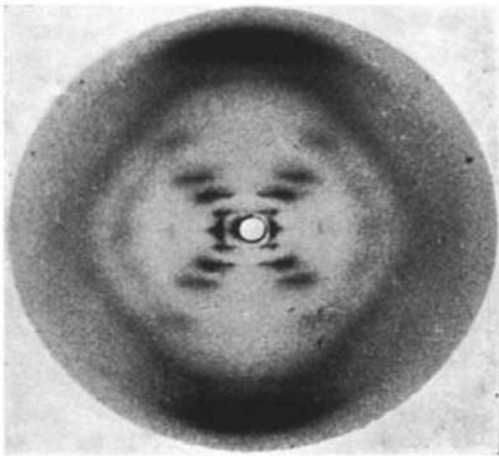
**Статья заканчивалась предположением о том, что открытие структуры ДНК может объяснить механизмы копирования генетического материала.**

# **Датой рождения молекулярной биологии принято считать апрель 1953 года**

**Джеймс Уотсон и Фрэнсис Крик установили двухспиральную структуру молекулы ДНК. Основанием для построения этой модели послужили работы по рентгеноструктурному анализу Розалинд Франклин и Мориса Уилкинсона**



- В 1951 году Розалинд Франклин подготовила доклад, в котором пришла к выводу о спиралевидной структуре ДНК.
- В 1952-м ей удаётся сделать свою знаменитую рентгенограмму натриевой соли ДНК, которая сегодня известна историкам науки как «Фотография №51».



**Джеймс Уотсон: «Это была настоящая гонка за ДНК-молекулой. Битва интеллектуалов, если хотите. Помимо меня и Крика, а также команды Уилкинса, за ДНК сражался Лайнус Полинг. В этой битве победили трое – Крик, Уилкинс и я. Жаль, что Розалинд умерла так рано. Она заслуживала Нобелевской премии не меньше нас». Уилкинса включили в число номинантов после письма Крика, в котором он оценил его заслуги в рентгеноструктурном анализе ДНК.**



**В 1962 году Уотсон, Крик и Уилкинс были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине “за открытия, касающиеся молекулярной структуры нуклеиновых кислот и их значения для передачи информации в живых системах”.**



## Предыстория



Это основополагающее открытие было подготовлено длительным этапом исследований генетики и биохимии

- РНК считалась компонентом растений и грибов
- ДНК - типичный компонент животных клеток

1935 год - Андрей Николаевич Белозерский выделил ДНК гороха

Это открытие установило тот факт, что **ДНК является универсальной нуклеиновой кислотой**, присутствующей в клетках растений и животных

# Предыстория

- В 1940 году Альбер Клод выделил из цитоплазмы животных клеток цитоплазматические РНК-содержащие гранулы. В 1958 году на первом симпозиуме, посвящённом этим частицам, было принято решение называть эти частицы *рибосомами*
- 1944 г. *Доказательство генетической роли ДНК*. Освальд Эйвери, Колин Мак-Лауд, Маклин Мак-Картти
- В начале 50-х годов Фредерик Сэнгер показал, что *белковая цепь является уникальной последовательностью аминокислотных остатков*

# Предыстория

В 1950-1952 гг. Чаргафф с сотрудниками проводил хроматографические исследования ДНК (уже было известно, что в состав ДНК входят четыре типа нуклеотида, но о спирали еще не знали).

Результатом исследований стало **Первое правило Чаргаффа**:

в молекулах ДНК количество тимина (Т) равно количеству аденина (А), а количество гуанина (G) равно количеству цитозина ©

$$A=T, G=C$$

Это правило явилось одним из ключевых результатов, на который опирались Уотсон и Крик при построении своей модели

## 1928г. *Опыты Фредерика Гриффита.*

Гриффит работал с *пневмококками* - бактериями, вызывающими пневмонию. Он брал два штамма пневмококков:

- **капсульный** - вирулентный, при инфицировании таким штаммом мыши погибают
- **бескапсульный** - авирулентный.

При введении мышам смеси убитых нагреванием капсульных пневмококков и живых бескапсульных авирулентных бактерий, животные погибали в результате размножения капсульных вирулентных форм. Обнаруженное явление Гриффит интерпретировал как трансформацию

## Доказательства генетической роли нуклеиновых кислот



**Трансформация** - это приобретение одним организмом некоторых признаков другого организма за счет захвата части его генетической информации

# Доказательства генетической роли нуклеиновых кислот

В 1944г. этот эксперимент был повторен

Эйвери (*Oswald Theodore Avery*),

Мак-Лаудом (*Colin MacLeod*) и

Мак-Карти (*Maclyn McCarty*)

в варианте смешивания бескапсульных пневмококков с взятыми от капсульных белками, полисахаридами или ДНК. В результате этого эксперимента была выявлена природа трансформирующего фактора.

*Трансформирующим фактором оказалась ДНК.*

# Доказательства генетической роли нуклеиновых кислот

*1952 г. Эксперимент  
Альфреда Херши и Марты Чейз*

**Суть опыта:** фаги, у которых белковая оболочка была мечена радиоактивной серой ( $^{35}\text{S}$ ), а ДНК - радиоактивным фосфором ( $^{32}\text{P}$ ), инкубировали с бактериями. Затем бактерии отмывали. В смывных водах не обнаруживали  $^{32}\text{P}$ , а в бактериях –  $^{35}\text{S}$

Следовательно, внутрь попала только ДНК. Через несколько минут из бактерии выходили десятки полноценных фагов, содержащих и белковую оболочку, и ДНК.

**Отсюда следовал однозначный вывод о том, что**

***именно ДНК выполняет генетическую функцию - несет информацию как о создании новых копий ДНК, так и о синтезе фаговых белков***

# Доказательства генетической роли нуклеиновых кислот

## 1957г. *Опыты Френкеля–Конрата*

Френкель-Конрат работал с вирусом табачной мозаики (ВТМ). В этом вирусе содержится РНК, а не ДНК. Было известно, что разные штаммы вируса вызывают разную картину поражения листьев табака. После смены белковой оболочки "переодетые" вирусы вызывали картину поражения, характерную для того штамма, чья РНК была покрыта чужим белком.

Следовательно, *носителем генетической информации может служить не только ДНК, но и РНК*



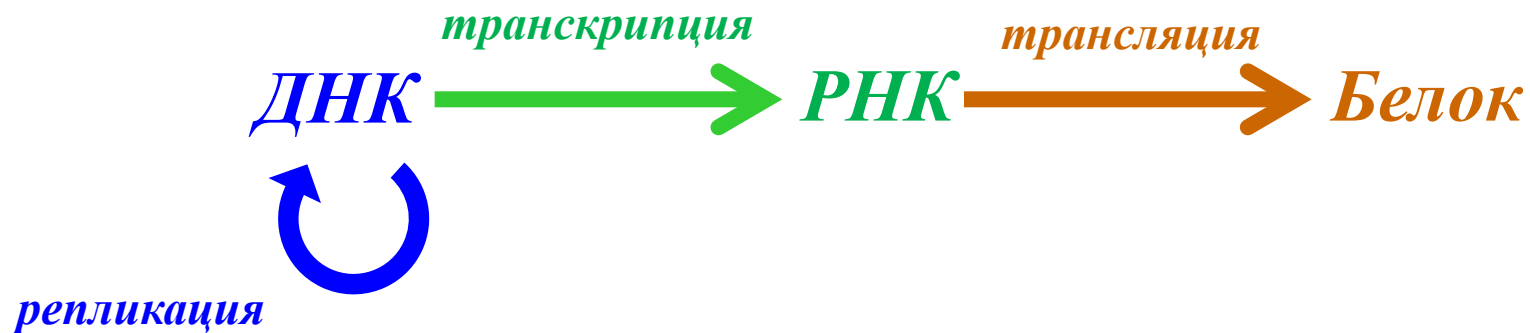
## Основные открытия

- **1953 г. Установление структуры ДНК. Джеймс Уотсон, Френсис Крик.**
- **1953 г. сформулирован принцип комплементарности азотистых оснований. Джеймс Уотсон, Френсис Крик**
- **1958 г. Фрэнсис Крик сформулировал центральную догму молекулярной биологии**



# Центральная догма молекулярной биологии:

перенос информации идет в направлении



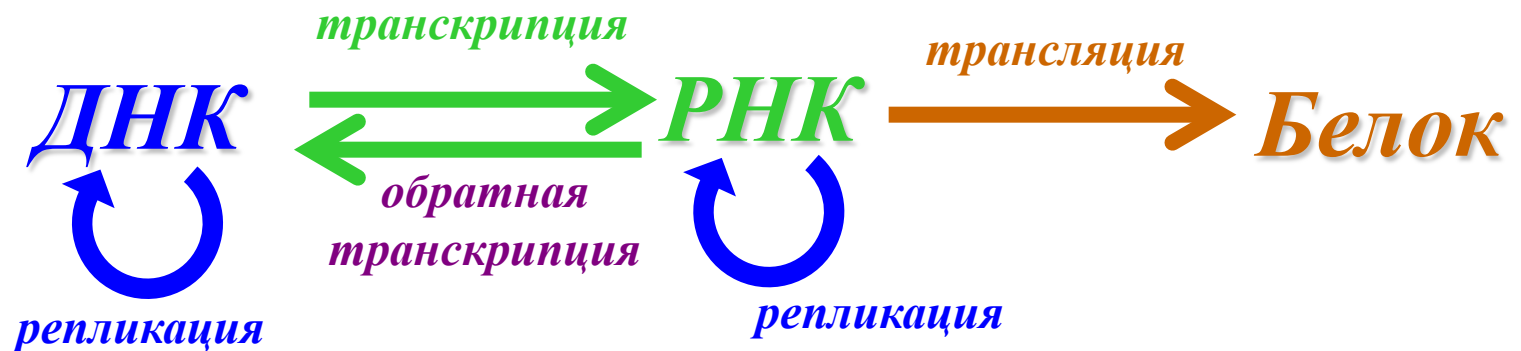
**Репликация** - воспроизведение и передача генетической информации в поколениях клеток и организмов

**Транскрипция** - это синтез всех видов РНК по матрице ДНК, осуществляемый ферментом ДНК-зависимой РНК-полимеразой

**Трансляция** - синтез полипептидной цепи рибосомой на РНК матрице из аминокислот

# Центральная догма молекулярной биологии

Современное представление  
центральной догмы молекулярной биологии

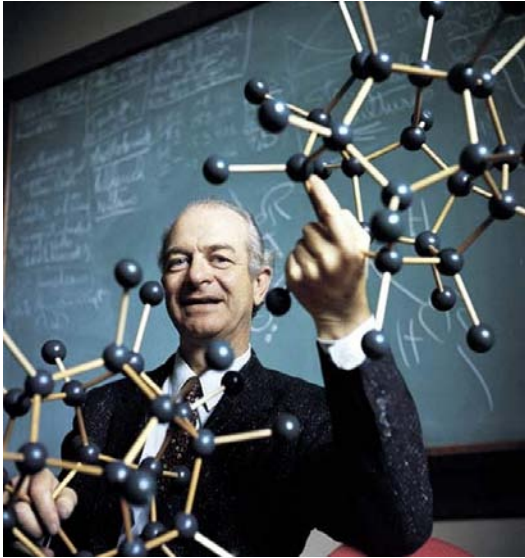


# Основные открытия

- 1961 г. *Открытие генетической регуляции синтеза ферментов.* Андре Львов, Франсуа Жакоб, Жак Моно.
- 1962 г. *Расшифровка генетического кода.* Маршалл Нирнберг, Генрих Маттеи, Северо Очоа.
- 1963 г. Сформулированы представления о репликоне. Франсуа Жакоб, Сидней Бреннер и Франсуа Кузин
- 1967 г. *Синтез in vitro биологически активной ДНК.* Артур Корнберг (неформальный лидер молекулярной биологии).
- 1968 г. Рейджи Оказаки установил, что синтез второй цепи ДНК осуществляется также в направлении от 5'- к 3'-концу, но не непрерывно, а многочисленными короткими фрагментами.
- 1970 г. *Химический синтез гена.* Гобинд Корана.
- 1970 г. *Открытие фермента обратной транскриптазы и явления обратной транскрипции.* Говард Темин, Дэвид Балтимор, Ренато Дульбеко.
- 1974 г. *Открытие рестриктаз.* Гамильтон Смит, Даниэль Натанс, Вернер Арбер.

# **К началу 70-х годов были сформулированы основные принципы функционирования нуклеиновых кислот и белков в живом организме:**

- **Белки и нуклеиновые кислоты синтезируются по матричному механизму**
- **Молекула-матрица несёт в себе информацию о последовательности биополимера:**
  - **при репликации (удвоении ДНК) или транскрипции (синтезе мРНК) такой матрицей служит ДНК**
  - **при трансляции (синтезе белка) или обратной транскрипции – РНК.**



**1958 г. – «За установление структур белков, особенно инсулина».**

**1980 г. – «За фундаментальные исследования биохимических свойств нуклеиновых кислот, в особенности рекомбинантных ДНК».**

**Фредерик Сенгер** - единственный в истории человек, получивший Нобелевскую премию по химии дважды

# Развитие прикладных направлений молекулярной биологии

## Генная инженерия

**1972 г. – появление  
методологии**

**Пол Берг сконструировал  
рекомбинантную ДНК из  
фрагмента ДНК вируса  
*SV40*, бактериофага  $\lambda$  и  
оперона *E. coli***



**Berg, Paul (США)  
Нобелевская премия по  
химии, 1980**



1972 г. **Анни Чанг**  
**Пол Берг**  
**Герберт Бойер**  
**Стенли Коэн**

установили, что при помощи ферментов *рестриктаз* можно порезать две любые молекулы ДНК и сделать из них одну *рекомбинантную ДНК*

# Изобретение ПЦР



Лауреат Нобелевской  
премии по химии  
1993 года Кэри Маллис  
(Kary Mullis)

Впервые идею полимеразной цепной реакции (ПЦР) озвучил **Кэри Маллис (Kary Mullis)** весной 1983 года будучи сотрудником биотехнологической компании “Cetus Corporation”, Калифорния, США.

Статью, в которой Маллис впервые описал метод ПЦР-амплификации, редакции журналов *Science* и *Nature* отклонили с формулировкой:

журнал публикует только статьи, которые имеют общенаучное значение, а **метод ПЦР-амплификации технический и представляет интерес только для специалистов**



## Кстати

Термостабильную ДНК-полимеразу, необходимую для этой реакции, впервые выделили и исследовали за несколько лет до этого советские ученые из института ВНИИгенетика **А.С. Каледин, А.Г. Слюсаренко и С.И. Городецкий**. Их статья вышла в апреле 1980 года в журнале «Биохимия».

[Biokhimiia](#). 1980 Apr;45(4):644-51.

**Isolation and properties of DNA polymerase from extreme thermophilic bacteria *Thermus aquaticus* YT-1.**

[Article in Russian]

[Kaledin AS](#), [Sliusarenko AG](#), [Gorodetskiĭ SI](#).

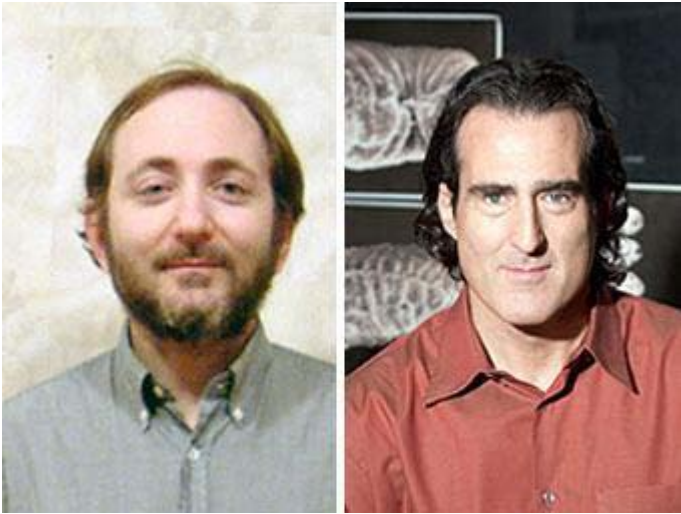
[Science](#). 1985 Dec 20;230(4732):1350-4.

**Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia.**

**Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N.**

**Abstract**

Two new methods were used to establish a rapid and highly sensitive prenatal diagnostic test for sickle cell anemia. The first involves the primer-mediated enzymatic amplification of specific beta-globin target sequences in genomic DNA, resulting in the exponential increase (220,000 times) of target DNA copies. In the second technique, the presence of the beta A and beta S alleles is determined by restriction endonuclease digestion of an end-labeled oligonucleotide probe hybridized in solution to the amplified beta-globin sequences. The beta-globin genotype can be determined in less than 1 day on samples containing significantly less than 1 microgram of genomic DNA.



Andrew Z. Fire    Craig C. Mello

**2006 Нобелевская премия по  
Физиологии и Медицине за  
«за открытие механизма  
РНК-интерференции  
(подавления экспрессии  
генов двухцепочечной РНК)»**



nature

Vol 455 | 4 September 2008 | doi:10.1038/nature07228

## ARTICLES

### **Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs**

Matthias Selbach<sup>1</sup>, Björn Schwanhäusser<sup>1\*</sup>, Nadine Thierfelder<sup>1\*</sup>, Zhuo Fang<sup>1</sup>, Raya Khanin<sup>2</sup> & Nikolaus Rajewsky<sup>1</sup>

Animal microRNAs (miRNAs) regulate gene expression by inhibiting translation and/or by inducing degradation of target messenger RNAs. It is unknown how much translational control is exerted by miRNAs on a genome-wide scale. We used a new proteomic approach to measure changes in synthesis of several thousand proteins in response to miRNA transfection or endogenous miRNA knockdown. In parallel, we quantified mRNA levels using microarrays. Here we show that a single miRNA can repress the production of hundreds of proteins, but that this repression is typically relatively mild. A number of known features of the miRNA-binding site such as the seed sequence also govern repression of human protein synthesis, and we report additional target sequence characteristics. We demonstrate that, in addition to downregulating mRNA levels, miRNAs also directly repress translation of hundreds of genes. Finally, our data suggest that a miRNA can, by direct or indirect effects, tune protein synthesis from thousands of genes.

MicroRNAs are key *trans*-acting factors that post-transcriptionally regulate metazoan gene expression, and identifying miRNA targets as well as the effect that miRNAs exert on them is a fundamental question for understanding life, health and disease<sup>1-5</sup>. The first identified miRNA targets in *Caenorhabditis elegans* were found to be translationally repressed whereas target mRNA levels were only mildly downregulated. Subsequently, similar cases were reported in mammalian systems<sup>6,7</sup>. Reporter constructs provided experimental evidence that miRNAs can directly repress translation initiation<sup>8-10</sup>. Furthermore, it has been shown that different mechanisms exist by which miRNAs repress protein synthesis or induce mRNA degradation<sup>6,11</sup>. Overexpressing a miRNA in human cell lines causes mostly mild (less than twofold) downregulation of hundreds of mRNAs, of which many are direct targets<sup>12</sup>. Nonetheless, these results do not reveal how much control miRNAs exert on protein synthesis. Because protein synthesis is one of

levels are not stationary. In fundamental biological processes such as differentiation, the expression of miRNAs is strongly induced (or switched off) in a relatively small time window<sup>13</sup>. Thus, to assess endogenous regulation of mRNA translation by miRNAs, a technique is needed to measure directly genome-wide changes in protein synthesis shortly after changes in miRNA expression.

#### **pSILAC measures changes in protein production**

To overcome these problems, we devised a new variant of SILAC (stable isotope labelling with amino acids in cell culture). In SILAC, proteins are metabolically labelled by cultivating cells in growth medium containing heavy isotope versions of essential amino acids<sup>14,15</sup>. Mass spectrometry can distinguish peptides derived from SILAC-labelled proteins. The ratio of peptide peak intensities reflects differences in corresponding protein abundance. We reasoned that by pulse-labelling



**Артур Корнберг**

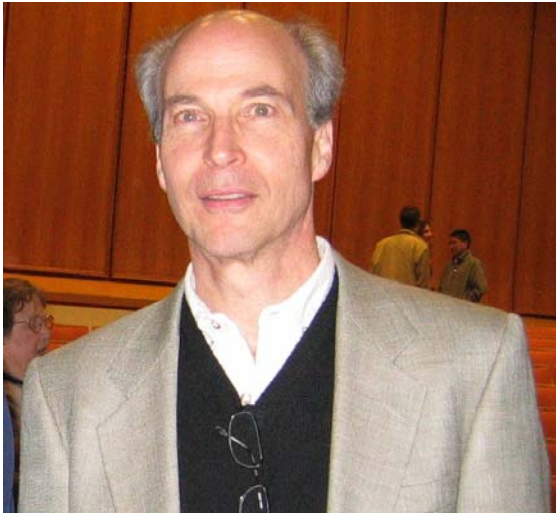
*Arthur Kornberg*



**Северо Очоа**

*Severo Ochoa de Albornoz*

**1959 г. Нобелевская премия по физиологии и медицине  
«за открытие механизмов биологического синтеза  
рибонуклеиновой и дезоксирибонуклеиновой кислот»**



**Роджер Дэвид Корнберг**

*Roger David Kornberg*

**2006 Нобелевская премия  
по химии**

**«За работы о молекулярных  
основах транскрипции эукариот»**



**Артур Корнберг и Роджер Корнберг**





**Элизабет Элен  
Блэкбёрн**

*Elizabeth Helen  
Blackburn*



**Кэрол Грейдер**

*Carol Greider*



**Джек Шостак**

*Jack Szostak*

**2009 Нобелевская премия по Физиологии и Медицине  
за «за открытие механизмов защиты хромосом  
теломерами и фермента теломеразы» по теории, в  
1971 году предложенной **А. Оловниковым****





Nobelpriset i kemi 2015

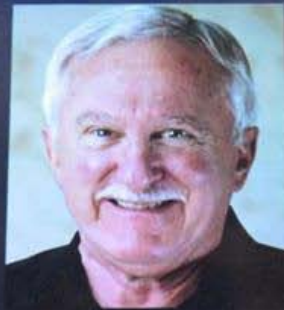
The Nobel Prize in Chemistry 2015

## Nobelpriset i kemi 2015

KUNGL.  
VETENSKAPS  
AKADEMIEN  
THE ROYAL SWEDISH ACADEMY OF SCIENCES



**Tomas Lindahl**  
Francis Crick Institute and  
Clare Hall Laboratory,  
Hertfordshire, UK



**Paul Modrich**  
Howard Hughes Medical  
Institute and Duke University  
School of Medicine, Durham,  
NC, USA



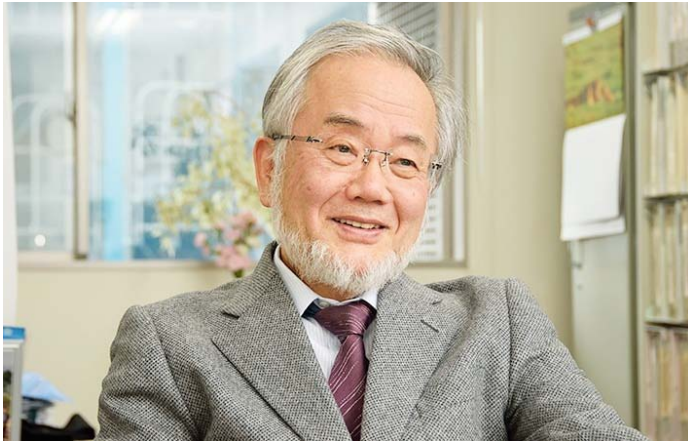
**Aziz Sancar**  
University of North Carolina,  
Chapel Hill, NC, USA

*"för mekanistiska studier av DNA-reparation"*  
*"for mechanistic studies of DNA repair"*



**2015**  
**Нобелевская премия**  
**по химии**  
**«За изучение механизмов**  
**репарации ДНК»**





В 2016 году Нобелевский комитет присудил премию по физиологии и медицине Ёсинори Осуми **за открытие аутофагии и расшифровку ее молекулярного механизма**

**Аутофагия — процесс переработки отработавших органелл и белковых комплексов**

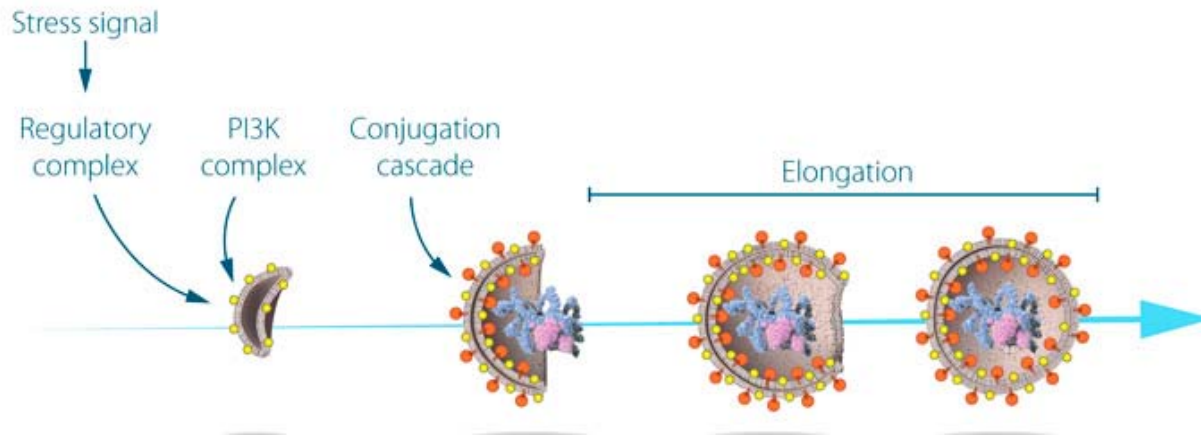


Схема изоляции дефектной органеллы. При поступлении внешнего сигнала рядом с органеллой образуется зародыш мембранного слоя, к нему прикрепляются белки АРG-комплекса (*желтые и красные кружочки*), которые определенным образом связываются друг с другом, регулируя растяжение мембраны вокруг органеллы. В результате концы мембраны сближаются и сливаются, формируется двухслойная оболочка аутофагосомы.