



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КАФЕДРА ОБЩЕЙ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

МЕТОДИЧЕСКИЕ РАЗРАБОТКИ

**Для самостоятельной подготовки студентов института клинической
медицины, института стоматологии, института педиатрии, института
профилактической медицины и института социально-гуманитарного и
цифрового развития медицины**

**ТЕМА: ОРГАНИЗАЦИЯ НАСЛЕДСТВЕННОГО МАТЕРИАЛА
У ПРО- И ЭУКАРИОТ.**

Составители: Ю.В. Мякишева – д.м.н., профессор
Д.С. Громова – старший преподаватель

Самара, 2025

Методические разработки предназначены для самостоятельной работы обучающихся на практических занятиях, а также для внеаудиторной работы для подготовки к занятиям и экзамену по дисциплине «Биология».

Методические разработки составлены в соответствии с рабочей программой дисциплины, а также согласно требованиям Федерального государственного образовательного стандарта.

ТЕМА: Организация наследственного материала у про и эукариот.

Актуальность темы. Молекулярная генетика, как один из разделов молекулярной биологии, является одной из наиболее стремительно развивающихся областей науки. Ее методы и достижения позволили осуществить настоящий прорыв в исследованиях других областей биологии. Так, в области иммунологии удалось идентифицировать антигенраспознающие рецепторы иммунокомпетентных клеток и выяснить механизмы иммунологического распознавания, в области онкологии – изучить молекулярно-генетические аспекты патогенеза злокачественных опухолей и т.д. Можно с уверенностью сказать, что в настоящее время нет ни одной области науки, в которой не использовались бы методы и достижения молекулярной биологии и генетики. Методы молекулярной биологии индуцировали возникновение новейших методов лечения заболеваний человека, а именно метода генной терапии, направленного на исправление генетических механизмов заболевания. В настоящее время в мире 22 заболевания лечатся таким методом.

Цель занятия: изучить особенности строения нуклеиновых кислот, их свойства и функции; познакомиться с основными современными методами и перспективами развития молекулярной генетики.

Формируемые компетенции. В процессе изучения темы у обучающихся формируются следующие универсальные, общепрофессиональные и профессиональные компетенции:

- УК-8: Способен создавать и поддерживать в повседневной жизни и профессиональной деятельности безопасные условия жизнедеятельности для сохранения природной среды, обеспечения устойчивого развития общества, в том числе при угрозе и возникновении чрезвычайных ситуаций и военных конфликтов
- ОПК-2: Способен проводить и осуществлять контроль эффективности мероприятий по профилактике инфекционных и неинфекционных заболеваний у населения (детей), формированию здорового образа жизни и санитарно-гигиеническому просвещению населения
- ОПК-2: Способен выявлять и оценивать морфофункциональные, физиологические состояния и патологические процессы в организме человека, моделировать патологические состояния *in vivo* и *in vitro* при проведении биомедицинских исследований
- ОПК-4: Способен проводить и осуществлять контроль эффективности мероприятий по профилактике, формированию здорового образа жизни и санитарно-гигиеническому просвещению населения
- ОПК-5: Способен оценивать морфофункциональные, физиологические состояния и патологические процессы в организме человека для решения профессиональных задач
- ОПК-8: Способен использовать основные физико-химические, математические и естественно-научные понятия и методы при решении профессиональных задач
- ПК-13: Способен проводить и осуществлять контроль эффективности

мероприятий по профилактике инфекционных и неинфекционных заболеваний у населения (детей), формированию здорового образа жизни и санитарно-гигиеническому просвещению населения

- ПК-19: Оценка морфофункциональных, физиологических состояний, физических, патологических процессов и генетических факторов в организме человека, управление живым организмом как сложной системой для решения профессиональных задач

- ПК-20: Способен проводить и осуществлять контроль эффективности мероприятий по профилактике инфекционных и неинфекционных заболеваний у населения (детей), формированию здорового образа жизни и санитарно-гигиеническому просвещению населения

Студент должен **знать**:

- исторические этапы формирования представлений об организации генетического материала
- современные методы исследования молекулярной генетики
- строение и химический состав нуклеиновых кислот
- виды и функции РНК
- принцип и этапы репликации ДНК
- виды и механизмы репарации ДНК
- механизмы сохранения нуклеотидной последовательности ДНК

Студент должен **уметь**:

- работать со специальной литературой по биологии
- решать задачи по молекулярной генетике

Студент должен **владеть**:

- навыками научно-исследовательской работы
- владеть техникой изготовления слайдов по концептуальным вопросам молекулярной генетики

ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

Молекулярная генетика, раздел генетики и молекулярной биологии, ставящий целью познание материальных основ наследственности и изменчивости живых существ путём исследования протекающих на субклеточном, молекулярном уровне процессов передачи, реализации и изменения генетической информации, а также способа её хранения. Молекулярная генетика выделилась в самостоятельное направление в 40-х гг. 20 в. в связи с внедрением в биологию новых физических и химических методов (рентгеноструктурный анализ, хроматография, электрофорез, высокоскоростное центрифугирование, электронная микроскопия, использование радиоактивных изотопов и т. д.), что позволило гораздо глубже и точнее, чем раньше, изучать строение и функции отдельных компонентов клетки и всю клетку как единую систему.

Одно из главных достижений молекулярной генетики – выяснение химической природы гена. Классическая генетика установила, что все наследственные потенции организмов (их генетическая информация) определяются

дискретными единицами наследственности - генами, локализованными главным образом в хромосомах клеточного ядра, а также в некоторых органеллах цитоплазмы (пластидах, митохондриях и др.). Однако методы классической генетики не позволяли вскрыть химическую природу генов, что было отмечено ещё в 1928 выдающимся советским биологом Н. К. Кольцовым, обосновавшим необходимость изучения механизма наследственности на молекулярном уровне. Первый успех в этом направлении был достигнут при изучении генетической трансформации у бактерий. В 1944 американский учёный О.Т. Эйвери с сотрудниками обнаружил, что наследственные признаки одного штамма пневмококков могут быть переданы другому, генетически отличному штамму путём введения в его клетки дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), выделенной из первого штамма. Впоследствии подобная генетическая трансформация с помощью ДНК была осуществлена у других бактерий, а в последнее время - и у некоторых многоклеточных организмов (цветковые растения, насекомые). Т. о., было показано, что гены состоят из ДНК. Этот вывод был подтвержден опытами с ДНК-содержащими вирусами: для размножения вируса достаточно введения молекул вирусной ДНК в клетку восприимчивого хозяина; все др. компоненты вируса (белки, липиды) лишены инфекционных свойств и генетически инертны.

Выяснение генетической роли ДНК и РНК послужило мощным стимулом для изучения нуклеиновых кислот биохимическими, физико-химическими и рентгеноструктурными методами. В 1953 американский учёный Дж. Уотсон и английский учёный Ф. Крик предложили модель структуры ДНК, предположив, что её гигантские молекулы представляют собой двойную спираль, состоящую из пары нитей, образованных нуклеотидами, расположенными аperiодически, но в определённой последовательности.

Установление тонкого строения генов позволило значительно углубить представление о механизме генетической рекомбинации и закономерностях возникновения генных мутаций, оно способствовало также выяснению механизма функционирования генов. Данные о химической природе и тонком строении генов позволили разработать методы их выделения. Впервые это было выполнено в 1969 американским учёным Дж. Бэквитом с сотрудниками для одного из генов кишечной палочки. Затем то же удалось осуществить у некоторых высших организмов (земноводных). Ещё более значительный успех молекулярной генетики - первый химический синтез гена (кодирующего аланиновую транспортную РНК дрожжей), осуществленный Х. Корана в 1968.

С развитием молекулярной генетики более глубоким стало понимание мутационного процесса. Изучение репарации открыло новые подходы к исследованию механизма рекомбинации сцепленных генов, представляющей одну из причин комбинативной изменчивости, которая наряду с мутациями играет важную роль в эволюции.

Молекулярная генетика своими открытиями оказала плодотворное влияние на все биологические науки. Перспективность практического применения достижений молекулярной генетики подтверждается успехами, достигнутыми на модельных объектах. Так, у наиболее изученных в генетическом отношении

видов бактерий удаётся получать мутации любого гена, лишать клетку какого-либо гена или привносить в неё желаемый ген извне, регулировать функции многих генов. Уже сейчас данные молекулярной генетики используют при создании медикаментов, применяемых для профилактики и лечения новообразований, лейкозов, вирусных инфекций, лучевых поражений, при изыскании новых мутагенов и т. д.

Современные методы молекулярной генетики позволяют:

- идентифицировать мутации в гене. Примером выявления мутантного гена является диагностика серповидно-клеточной анемии в эмбриональном периоде;
- диагностировать моногенное наследственное заболевание путем определения нуклеотидной последовательности генов (гемофилия, гемоглобинопатия) и выявления мутантных генов (фенилкетонурия, муковисцидоз);
- осуществлять генетический анализ полиморфизма ДНК родителей и детей;
- определять индивидуальную изменчивость ДНК человека по вариабельным точкам ДНК, молекулярный анализ которых позволяет проводить идентификацию личности человека);
- выделять и синтезировать гены (выделение, синтез и клонирование генов является одним из этапов генной инженерии).

В настоящее время существует большое количество методов молекулярной генетики, направленных на изучение молекулы ДНК как в норме, так и при ее повреждении, а также на «манипуляции» с молекулами ДНК и РНК.

- Структуру генома изучают с помощью метода секвенирования. Секвенированием называют процесс определения точного порядка расположения нуклеотидов в молекуле ДНК. Открытия, сделанные в 70-х гг. прошлого века Сэнгером и Максамом – Гилбертом, позволили совершить революцию в мире биологических наук. Одним из первых методов секвенирования ДНК было секвенирование по Сэнгеру. Секвенирование Сэнгера помогло исследователям определить мутации и первопричину генетических заболеваний. Это лучший метод для идентификации коротких tandemных повторов и секвенирования отдельных генов. Однако самым большим недостатком этого метода является количество времени, которое он потребляет, что связано с низкой пропускной способностью. Методом, так называемого, второго поколения является секвенирование путем синтеза Illumina/Solexa. Существенным преимуществом технологии является возможность парноконцевого чтения последовательностей ДНК и возможность одновременной работы с большим количеством образцов. К методам секвенирования третьего поколения относится одномолекулярное секвенирование в реальном времени и нанопоровое секвенирование. Использование данной методики позволяет осуществлять диагностику кардиомиопатий, нарушений, которые ассоциированы с расстройствами аутистического спектра, изучать возможность переносимости лекарственных препаратов, проводить активный эпидемиологический надзор за динамикой развития и распространения лекарственной устойчивости, осуществлять анализ специфических участков, ассоциированных с некоторыми аутоиммунными

заболеваниями, такими как рассеянный склероз, нарколепсия, глютеновая болезнь, ревматоидный артрит и др.

- Изучение транскрипции генов осуществляют преимущественно с помощью методов, основанных на различных вариантах ПЦР (полимеразная цепная реакция). Метод изобрёл в 1983 году Кэри Мюллис. Впоследствии он получил за это изобретение Нобелевскую премию. В основе метода ПЦР лежит многократное удвоение определённого участка ДНК при помощи ферментов в искусственных условиях (*in vitro*). В результате нарабатываются количества ДНК, достаточные для визуальной детекции. При этом происходит копирование только того участка, который удовлетворяет заданным условиям, и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце. Кроме простого увеличения числа копий ДНК (этот процесс называется амплификацией), ПЦР позволяет производить множество других манипуляций с генетическим материалом (введение мутаций, сращивание фрагментов ДНК). С помощью ПЦР можно выявить возбудителей многих урологических и гинекологических инфекций, туберкулёза, гепатитов, дифтерии, цитомегаловирусной инфекции, онковирусов. Его используют для выявления хеликобактериоза, в качестве экспресс-метода диагностики сальмонеллёза, для дифференциальной диагностики вирусных и бактериальных пневмоний.

Также используются различные варианты блоттинга (Саузерн-блоттинг, назерн-блоттинг и др.). Метод блоттинга был разработан британским молекулярным биологом Эдвином Саузерном и позволяет разделить, перенести и определить нужные нуклеиновые кислоты в образцах. Метод показал себя как высокоэффективный и точный во многих медицинских областях, это диагностика инфекций, аутоиммунных, аллергических заболеваний и многое другое.

- Масс-спектрометрический анализ позволяет идентифицировать единичные нуклеотидные полиморфизмы, что может дать информацию о предрасположенности к наиболее распространённым заболеваниям: патологии свертываемости крови (тромбозы), невынашивание беременности и патология плода; онкологические заболевания (рак груди, простаты, яичников, толстой кишки, легких); индивидуальная реакция к некоторым лекарственным препаратам (варфарин, препараты химиотерапии); болезни обмена веществ.

В 1990 году, под руководством Джеймса Уотсона под эгидой Национальной организации здравоохранения США был начат международный проект «Геном человека». В апреле 2022 года было сообщено, что международная команда исследователей секвенировала последние 8% генома человека и таким образом полностью его расшифровала.

Общебиологическое значение исследований в рамках проекта «Геном человека»:

- создание основы для нового направления в биологии – сравнительной геномики. Исследования генома человека «потянули» за собой секвенирование геномов огромного числа других организмов, гораздо более простых; без геномного проекта эти данные были бы получены гораздо позже и в гораздо меньшем объеме. Их расшифровка ведется все возрастающими темпами.

- вопрос о соотношении кодирующих и некодирующих областей в геноме («эгоистическая», или «мусорная» ДНК). Основная доля «эгоистической» ДНК сохраняется в ходе эволюции и даже увеличивается, т.е. почему-то дает ее обладателю эволюционные преимущества.

Практические приложения проекта:

- лечение генетических заболеваний. К настоящему времени в мире идентифицировано множество генов, ответственных за многие болезни человека, в том числе и такие серьезные, как болезнь Альцгеймера, муковисцидоз, мышечная дистрофия Дюшенна, хорея Гентингтона, наследственный рак молочной железы и яичников и др.
- идентификация новых генов и выявление среди них тех, которые обуславливают предрасположенность к тем или иным заболеваниям.
- фармакогенетика, которая изучает, как особенности строения ДНК могут повлиять на эффективность лечения
- идентификации личности – судебная экспертиза, установление отцовства, опознание останков погибших.
- этногеномика позволит выявлять генетические возможности этноса, что востребовано в истории, лингвистике и др. науках.
- палеогеномика, занимающаяся исследованием древней ДНК, извлеченной из останков, найденных в могильниках и курганах

23 сентября 2010 года в Сиднее объявлено о запуске Проекта, который является логичным продолжением проекта «Геном человека». Основная цель проекта «Протеом человека» - инвентаризация всех белков человека и выяснение взаимодействий между ними. Цель российской части проекта – определение протеома 18-й хромосомы человека на уровне чувствительности 1 копия белка (пептида) на 1 мкл плазмы крови или на 10^7 клеток печени и HepG2, выяснение путей взаимодействия белков 18-й хромосомы человека со всеми остальными белками этих клеток (расшифровка интерактома) и создание базы данных. От реализации проекта ждут дешевые и доступные каждому методы медицинской диагностики, которые позволяют определять самые ранние стадии развития заболеваний; индивидуальные методы лечения заболеваний, которые в настоящее время считаются неизлечимыми; создание новых методов биоинформатики и новых технологий.

Нуклеиновые кислоты ДНК и РНК.

В 1868 году швейцарский химик Иоганн Фридерих Мишер выделил из гноя больничных бинтов вещество, которое разделил на две фракции – кислую (названную нуклеином) и основную (щелочную). Кислая азотсодержащая фракция получила название нуклеиновых кислот.

Нуклеиновые кислоты – полимеры, состоящие из мономеров – нуклеотидов. Нуклеотид состоит из азотистого основания, пятиуглеродного сахара - пентозы, и остатка фосфорной кислоты. Азотистые основания – сложные гетероциклические соединения, содержащие в циклах кроме углерода атомы азота. По химической структуре они делятся на две группы: производные пурина (аденин, гуанин) и производные пиримидина (тимин, цитозин, урацил).

Азотистое основание присоединяется к первому углероду пентозы (в циклической форме), а остаток фосфорной кислоты к пятому углеродному атому пентозы. Нуклеотиды объединяются в полимеры – полинуклеотиды – ковалентной связью через остаток фосфорной кислоты (фосфодиэфирной связью), соединяющей между собой третий и пятый атомы углерода пентозы. В цепи нуклеиновой кислоты всегда будет два конца: 5' (со стороны, где нет связи со следующим нуклеотидом у 5-го углеродного атома сахара) и 3' (со свободным 3-м атомом углерода в сахаре). 5' конец принято считать началом полинуклеотидной цепи, 3' концом (5'→3'). В живых клетках встречается два основных типа нуклеиновых кислот: РНК – рибонуклеиновая кислота и ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота. Они отличаются типом пятиатомного сахара (рибоза и дезоксирибоза) и азотистыми основаниями. В состав РНК входят азотистые основания: аденин, урацил, тимин, цитозин. В состав ДНК – аденин, гуанин, тимин и цитозин.

Первичная структура есть последовательность чередования нуклеотидов в цепи ДНК и РНК. В первой половине XX века Эрвин Чаргафф, анализируя нуклеотидный состав ДНК различных организмов, обнаружил следующие закономерности, получившие названия «Правил Чаргаффа»:

1. Количество аденина равно количеству тимина, а гуанина – цитозину: $A=T$, $G=C$.

2. Количество пуринов равно количеству пиримидинов: $A+G=T+C$.

3. Отношение $(A+T)/(G+C)$ различается у разных организмов. Вторичная структура ДНК представляет собой свернутые в спираль две комплементарно взаимодействующие и антипараллельные полинуклеотидные цепи. Образование вторичной структуры нуклеиновых кислот возможно вследствие проявления эффектов комплементарности и стэкинг-взаимодействий. Джеймс Дью Уотсон и Френсис Крик предложили модель структуры молекулы ДНК в виде «двойной спирали» с шагом в 3,4 нм (10 пар нуклеотидов на виток), в которой две цепи нуклеотидов обращены друг к другу азотистыми основаниями, а наружу – остатками сахаров и фосфорной кислоты (пентозофосфатным остовом). При этом азотистые основания цепей комплементарны друг другу – напротив аденина всегда находится тимин, а напротив гуанина – цитозин. Природа комплементарности состоит в том, что между комплементарными основаниями образуются водородные связи (две в паре А-Т и три в паре Г-Ц), и в том что комплементарные пары оснований обладают сходными геометрическими характеристиками и могут быть уложены в регулярную структуру, стабилизируемую дополнительными взаимодействиями между гетероциклами (стекинг-взаимодействиями).

Стэкинг-взаимодействия – особого рода (Ван-дер-Ваальсовы) взаимодействия между выложенными в стопку (как монеты) друг над другом азотистых оснований. Комплементарное спаривание нуклеотидов возможно, только если взаимодействующие цепи располагаются антипараллельно (5'-конец первой цепи нуклеотидов напротив 3'-конца второй цепи). Из принципа комплементарности следует, что последовательность нуклеотидов одной цепи определяет последовательность нуклеотидов другой. Этого можно добиться

двумя способами. Могут взаимодействовать две комплементарные цепи нуклеиновых кислот или же одна цепь нуклеиновых кислот может содержать комплементарные участки внутри себя самой. Первый вариант использует ДНК, второй - РНК. Третичная структура ДНК образуется в результате дополнительного скручивания в пространстве двуспиральной молекулы - ее суперспирализации.

Виды РНК. Роль различных структур РНК в синтезе белка.

Пространственные структуры молекул РНК это трехмерные конструкции, в состав которых входят спиральные и не спиральные элементы. Комплементарные участки в РНК перемежаются с некоплементарными.

Проект «Геном человека» позволил установить достаточно точную классификацию всех РНК (рис. 1).

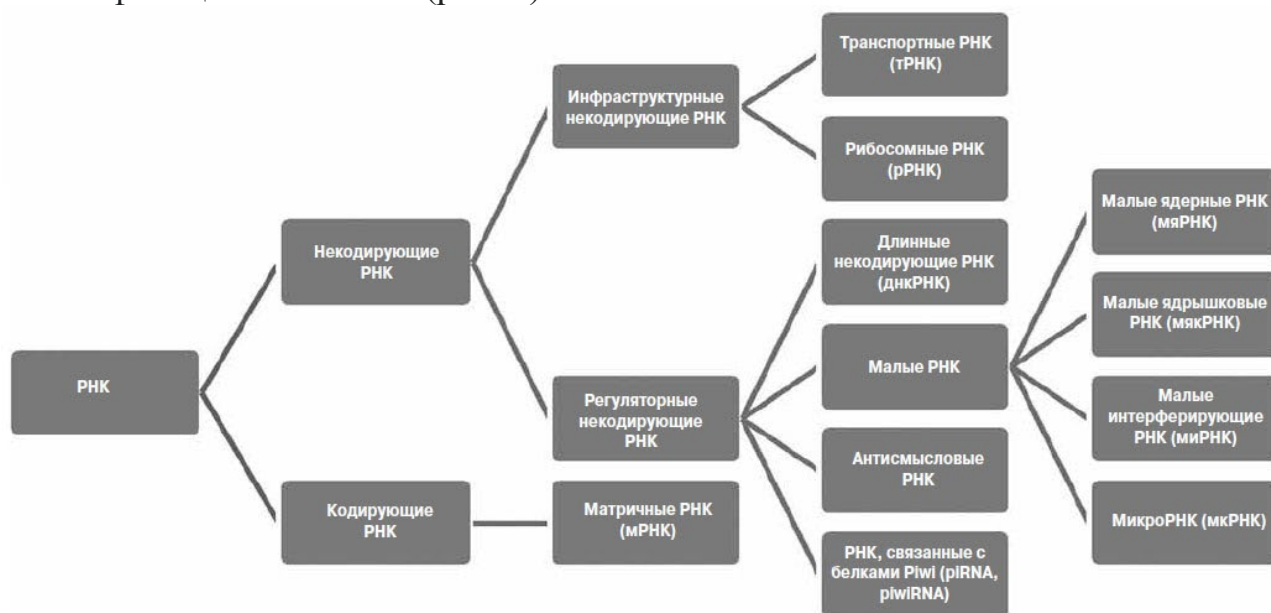


Рис. 1. Виды РНК

РНК подразделяются на некодирующие РНК (нкРНК), которые не транслируются в белки, и кодирующие, или матричные РНК (мРНК), служащие матрицей для синтеза белков. У некодирующих РНК более сложная классификация. Они бывают инфраструктурными и регуляторными. Инфраструктурные РНК известны нам из школьных учебников — это рибосомные РНК (рРНК) и транспортные РНК (тРНК). Молекулы рРНК составляют основу рибосомы — молекулярной машины, которая и строит белок на матричной РНК (проводит трансляцию). Последовательность из трех нуклеотидов в мРНК указывает, какую аминокислоту следуют включить в белок. Молекулы тРНК приносят указанные аминокислоты на рибосомы в ходе трансляции.

Регуляторные нкРНК очень широко представлены в организме, классифицируются в зависимости от размера и выполняют важные функции (рис. 2)

Название		Длина (нуклеотиды)	Функции
Длинные некодирующие РНК (днкРНК, lncRNA)		200	1. Регулируют избирательное метилирование ДНК 2. Руководят избирательной посадкой на хроматин белковых комплексов, подавляющих активность генов
Малые РНК	Малые ядерные РНК (мяРНК, snRNA)	150	1. Участвуют в сплайсинге 2. Регулируют активность факторов транскрипции 3. Поддерживают целостность теломер
	Малые ядрышковые РНК (мякРНК, snoRNA)	60–300	1. Участвуют в химической модификации рРНК, тРНК и мяРНК 2. Возможно, участвуют в стабилизации структуры рРНК и защите от действия ферментов гидролаз
	Малые интерферирующие РНК (миРНК, siRNA)	21–22	1. Обеспечивают противовирусную иммунную защиту 2. Подавляют активность собственных генов
	МикроРНК (мкРНК, miRNA)	18–25	Подавляют трансляцию путем РНК-интерференции
Антисмысловые РНК (asRNA)		1. Короткие: менее 200 2. Длинные: более 200	Блокируют трансляцию, образуя гибриды с мРНК
РНК, связанные с белками Piwi (piRNA, piwiRNA)		26–32	Их называют «стражами генома», они подавляют активность мобильных генетических элементов во время эмбриогенеза

Рис. 2. Некодирующие регуляторные РНК

- проматричная РНК. Образуется в результате транскрипции, имеет кодирующие (экзоны) и некодирующие (интроны) участки
- информационная (матричная) РНК - иРНК (мРНК) – образуется в результате сплайсинга (процесс вырезания интронов и сшивания экзонов) проматричной РНК. Функции иРНК: перенос генетической информации от ДНК к рибосомам, матрица для синтеза молекулы белка, определение аминокислотной последовательности первичной структуры белковой молекулы
- транспортная РНК – тРНК. Функции тРНК: транспорт аминокислот к месту синтеза белка, к рибосомам; трансляционный посредник. Имеет акцептирующий

участок (присоединяет АК, при участии АТФ), общий участок (петля дигидроуридина) обеспечивает связь со специфическим ферментом, характерный участок (петля псевдоуридина) всегда содержит последовательность 5'-ТЦГ-3', этой петлей взаимодействует с рибосомой. Антикодоновая петля - содержит 3 нуклеотида, комплементарных кодону данной аминокислоты в мРНК, например, кодону 5'-ГЦЦ-3' в мРНК соответствует антикодон 3'-ЦГГ-5' в тРНК, чем обеспечивается специфичность взаимодействия с матричной РНК.

- рибосомная РНК - рРНК. Функции рРНК: необходимый структурный компонент рибосомы и, таким образом, обеспечение функционирования рибосом; обеспечение взаимодействия рибосомы и тРНК; первоначальное связывание рибосомы и кодона-инициатора иРНК и определение рамки считывания, формирование активного центра рибосомы.

- микроРНК – малые некодирующие молекулы РНК, они участвуют в подавлении активности генов, ингибируя трансляцию мРНК. Мишенями микроРНК являются от 30 до 60 % генов человека.

Информация о строении всех видов РНК хранится в ДНК. Процесс синтеза РНК на матрице ДНК называется транскрипцией.

Репликация ДНК.

В ходе репликации ДНК в клетке каждая из двух исходных цепей ДНК служит матрицей для формирования полноразмерной новой цепи. Поскольку каждая из двух «дочерей» делящейся клетки наследует новую двойную спираль ДНК, содержащую одну исходную и одну новую цепи, говорят, что двойная спираль ДНК реплицируется ДНК-полимеразой «полуконсервативно». В процессе репликации ДНК выделяют фазы инициации (начало, старт), элонгации (удлинение, приращение) и терминации (завершение, окончание).

Точками инициации (начала) репликации являются участки, богатые парами А-Т, т.к. в них две, а не три водородных связи, где начинается денатурация ДНК с расхождением молекул двойной спирали. Образующиеся при этом одноцепочечные участки ДНК связываются дестабилизирующими белками. В точках начала репликации образуются репликативные вилки. Разделение закрученных в биспираль полинуклеотидных цепей ДНК осуществляется ферментами геликазой. Ферментом, катализирующим образование дочерних полинуклеотидных цепей, является ДНК-полимераза.

Построение одной из дочерних полипептидных цепей (лидирующая) на материнской матрице опережает построение второй (запаздывающая). Элонгацию обеих полинуклеотидных цепей ДНК катализирует ДНК-полимераза, однако существуют также белки, которые блокируют наращивание РНК-праймера на 3-конце сверх требуемой длины. Участки лидирующей цепи синтезируются как непрерывные достаточно длинные фрагменты, тогда как ДНК запаздывающей цепи образуется короткими участками – фрагментами Оказаки. Каждый фрагмент начинается с короткой РНК-затравки, необходимой для функционирования ДНК-полимеразы. Праймер синтезируется специальной РНК-полимеразой (праймазой), ДНК-полимераза III достраивает этот праймер до фрагмента ДНК длиной 1000-2000 дезоксирибонуклеотидных звеньев.

Завершение репликации (терминация) состоит в удалении РНК-праймеров, «сшивании» фрагментов ДНК для восстановления целостности молекул. В этой фазе участвует нуклеаза Н (удаляет праймер), ДНК-лигаза, бета-ДНК-полимераза. У эукариот репликационный синтез ДНК прекращается при встрече репликационных вилок соседних репликонов (рис. 3).

Репликация бактериальной ДНК является двунаправленным процессом с одним сайтом инициации. В отличие от этого хромосома эукариот состоит из отдельных участков репликации — репликонов и имеет много сайтов инициации. Репликоны могут реплицироваться в разное время и с разной скоростью. Скорость репликации ДНК в эукариотических клетках значительно ниже, чем в прокариотических.

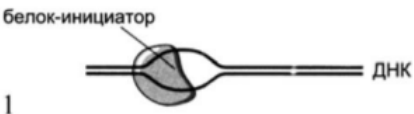

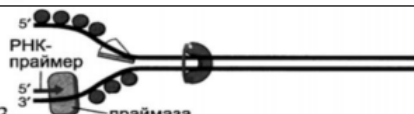


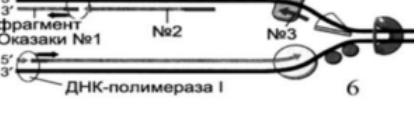
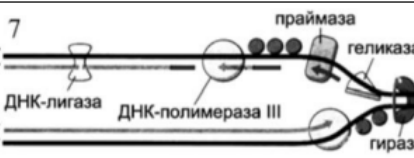
Схема процесса	Описание процесса
 <p>1</p>	Иницирующий белок связывается с ДНК, используя энергию АТФ, локально расширяет ДНК на две полинуклеотидные цепи и образует «глазок» репликации.
 <p>2</p>	Геликаза прикрепляется к ДНК и продолжает ее расширять, а гириза (топоизомераза) раскручивает спираль ДНК. Одноцепочные ДНК удерживаются стабилизирующими белками и служат матрицей для репликации.
 <p>3</p>	Праймаза синтезирует короткий РНК-праймер на 3'-конце, где будет синтезироваться лидирующая цепь дочерней ДНК.
 <p>4</p>	ДНК-полимераза III использует праймер для начала синтеза дочерней нити на 3'-конце. Этот синтез продолжается непрерывно.
 <p>5</p>	РНК-праймер на отстающей цепи ДНК. ДНК-полимераза работает в том же направлении (5'→3'), синтезируя фрагмент дочерней цепи ДНК.
 <p>6</p>	На отстающей цепи ДНК синтезируются фрагментами, что требует серии РНК-праймеров, которые удаляются затем ДНК-полимеразой I. Она же замещает пробел недостающими нуклеотидами.
 <p>7</p>	ДНК-лигаза связывает фрагменты Оказаки, после чего ДНК-лигаза, полимеразы I, III, праймаза, геликаза и гириза работают в репликационной вилке одновременно.

Рис. 3. Репликация ДНК

Репарация ДНК.

Поддержание генетической стабильности требует не только чрезвычайно точного механизма репликации ДНК, но также и механизмов исправления многих случайных повреждений, которые непрерывно происходят в ДНК. В большинстве своем такие самопроизвольные изменения в ДНК кратковременны, потому что они незамедлительно исправляются набором процессов, которые в совокупности называют репарацией ДНК. Недавно проведенные исследования

по выяснению последствий сниженной способности к репарации ДНК у людей позволили связать многие болезни человека именно с этой проблемой (рис. 4). По отношению к процессу репликации различают два основных типа репарации ДНК:

- Дорепликативную (тип репарации ДНК, не связанный с процессом репликации и происходящий согласно механизмам разъединения пиримидиновых димеров (фотореактивация) или вырезания повреждённых участков ДНК (эксцизионная репарация))

- Пострепليкативную (тип репарации, имеющей место в тех случаях, когда процесс эксцизионной репарации недостаточен для полного исправления повреждения: после репликации с образованием ДНК, содержащей повреждённые участки, образуются одноцепочечные бреши, заполняемые в процессе рекомбинационной или репарационной репликации).

С позиций молекулярного механизма первичные повреждения в молекулах ДНК могут быть устранены тремя путями:

1. Прямым возвращением к исходному состоянию;
2. Вырезанием поврежденного участка и заменой его нормальным;
3. Рекомбинационным восстановлением в обход поврежденного участка.

Каждая из систем репарации включает следующие компоненты:

- ДНК-геликаза — фермент, «узнающий» химически изменённые участки в цепи и осуществляющий разрыв Н-связей вблизи от повреждения; фермент, удаляющий повреждённый участок;

- ДНК-полимераза — фермент, синтезирующий соответствующий участок цепи ДНК взамен удалённого;

- ДНК-лигаза — фермент, замыкающий последнюю связь в полимерной цепи и тем самым восстанавливающий её непрерывность.

Наиболее распространёнными способами репарации является вырезание повреждённых участков ДНК, первоначальная последовательность ДНК восстанавливается ДНК-полимеразой, которая использует неповрежденную нить в качестве матрицы, и остающийся разрыв в двойной спирали «заделывается» ДНК-лигазой.

Репарация вырезанием оснований, вовлекает батарею ферментов, называемых ДНК-гликозилазами, каждый из которых может распознавать в ДНК определенный тип видоизмененного основания и катализировать его гидролитическое удаление.

У бактерий имеются по крайней мере 3 ферментные системы, ведущие репарацию: прямая (*наиболее простой путь устранения повреждений в ДНК, в котором обычно задействованы специфические ферменты, способные быстро устранять соответствующее повреждение, восстанавливая исходную структуру нуклеотидов*), эксцизионная (*включает удаление повреждённых азотистых оснований из ДНК и последующее восстановление нормальной структуры молекулы*), пострепليкативная (*осуществляется в тех случаях, когда повреждение доживает до фазы репликации или имеет такую природу, которая делает невозможным его исправление с помощью эксцизионной репарации. Эта система играет особенно важную роль у эукариот, обеспечивая*

возможность копирования даже с поврежденной матрицы). У эукариот к ним добавляется еще Miss-matthe (Во время репликации ДНК бывают ошибки спаривания, когда вместо комплементарных пар А-Т, Г-Ц образуются некомплементарные пары. Неправильное спаривание затрагивает только дочернюю цепь. Система репарации мисмэтч должна найти дочернюю цепь и произвести замену некомплементарных нуклеотидов) и Sos-репарация (включается тогда, когда повреждений в ДНК настолько много, что они угрожают жизни клетки. Индуцируется синтез белков, которые присоединяются к ДНК-П комплексу и строят дочернюю цепь ДНК напротив дефектной матричной. В результате ДНК удваивается с ошибкой и может произойти клеточное деление. Но если были задеты жизненно важные функции клетка погибнет).

НАЗВАНИЕ	ФЕНОТИП	ЗАТРОНУТЫЙ ФЕРМЕНТ ИЛИ ПРОЦЕСС
мутации генов MSH2, 3, 6; MLH1; PMS2	колоректальный рак	исправление ошибок спаривания
пигментная ксеродерма (XP), типы A-G XP-вариант	рак кожи, повышенная чувствительность к УФ-лучам, неврологические расстройства повышенная чувствительность к УФ-лучам, рак кожи	эксцизионная репарация нуклеотидов синтез «через повреждения» ДНК-полимеразой η
атаксия-телеангиэктазия (AT)	лейкемия, лимфома, повышенная чувствительность к γ -лучам, нестабильность генома	белок АТМ, протеинкиназа, активируемая двухцепочечными разрывами ДНК
мутации гена BRCA2	рак молочной железы, яичников и предстательной железы	репарация с помощью гомологичной рекомбинации
синдром Вернера	преждевременное старение, склонность к злокачественным новообразованиям, нестабильность генома	акцессорные 3'-экзонуклеаза и ДНК-хеликаза
синдром Блума	склонность к злокачественным новообразованиям, задержка роста, нестабильность генома	акцессорная ДНК-хеликаза для репликации
анемия Фанкони, типы A-G 46 BR пациент	врожденные пороки развития, лейкемия, нестабильность генома гиперчувствительность к повреждающим ДНК агентам, нестабильность генома	репарация межцепочечных поперечных сшивок ДНК ДНК-лигаза I

Рис. 4. Некоторые наследственные заболевания, связанные с дефектами в системе репарации ДНК.

Геном содержит полную информацию о формировании признаков и свойств организма в онтогенезе, информацию о том, как выжить в сложных условиях и как предотвратить повреждения в наследственном аппарате. Геном человека формировался вместе с эволюцией человека. Организация генома любой эукариотической клетки иерархична: нуклеотиды – кодоны – домены – гены с межгенными участками – сложные гены – плечи хромосом – хромосомы – гаплоидный набор вместе с хромосомной и внеядерной ДНК.

Термин «ген» был предложен в 1909 году учёным В. Иогансеном для

определения элементарной материальной единицы наследственности. В 50-е годы под термином ген стали понимать фрагмент ДНК, ответственный за синтез одного белка. В настоящее время под термином ген понимают структурно-функциональную единицу наследственной информации, которая представляет собой участок молекулы ДНК, содержащий информацию о последовательности аминокислот в полипептиде или о последовательности нуклеотидов в молекуле РНК.

В генах у эукариот есть участки, которые несут информацию о строении белка — *экзоны*, и участки, которые такой информации не несут — *интроны*. Гены, контролирующие синтез одного белка, нередко могут находиться даже в разных хромосомах. Так, гемоглобин взрослого человека состоит из четырех полипептидных цепей: двух цепей I и двух цепей (3. Синтез цепей (3 контролируется геном, локализованным в 16-й хромосоме, а синтез 1-цепей находится под контролем гена, локализованного в 11-й хромосоме. Биологический смысл такой структуры гена, вероятно, связан прежде всего с повышенной устойчивостью такого гена к действию мутагенов: мутация возможна лишь при изменении структуры экзона; не исключено, что разрывы ДНК при кроссинговере идут по интронам, что также способствует сохранению устойчивости гена как единицы функции. Известны гены, в которых чередования экзонов и интронов повторяются 17 и даже 51 раз. Нередко экзоны составляют всего 1/10 часть гена. Наличие интронов является типичным, хотя и не обязательным свойством эукариотических генов.

Свойства гена:

1. Специфичность. Каждый структурный ген обладает только ему характерным порядком расположения нуклеотидов и детерминирует синтез определенного полипептида.
2. Целостность. При программировании синтеза полипептида ген вступает как неделимая единица.
3. Дискретность. Наличие субъединиц (мутон, рекон).
4. Стабильность. Гены относительно устойчивы.
5. Лабильность. Способность мутировать.
6. Плейотропия. Один ген отвечает за проявление нескольких признаков.
7. Экспрессивность – степень фенотипического проявления гена.
8. Пенетрантность – частота фенотипического проявления гена.

Накопление знаний о структуре, функциях, характере взаимодействия и других свойствах генов породили несколько вариантов классификации генов:

- По месту локализации генов в хромосомах различают аллельные гены и неаллельные гены
- По влиянию на физиологические процессы в клетке различают летальные (активность данных генов несовместима с жизнью), условно летальные (снижают жизнеспособность организма), протоонкогены – группа генов, регулирующих нормальное клеточное деление и дифференцировку клеток. Измененные мутацией, но активные формы протоонкогенов носят название онкогенов – способных стимулировать развитие опухолевых клеток, последние могут возникать также

в результате снижения активности антионкогенов (продукты этих генов угнетают митотическую активность клеток, участвуют в репарации ДНК и контролируют клеточный цикл).

- По функциональным особенностям выделяют структурные и регуляторные гены. К структурным генам относятся гены, которые контролируют (кодируют) первичную структуру матричных, или информационных, РНК, а через них последовательность аминокислот в синтезируемых полипептидах. Другую группу структурных генов составляют гены, определяющие последовательность нуклеотидов в полинуклеотидных цепях рибосомной РНК и транспортной РНК, т.е. структурные гены отвечают за передачу генетического кода от одного поколения клеток к другому, а также управляют синтезом белков.

Регуляторные гены контролируют синтез специфических веществ, так называемых ДНК-связывающих белков, которые регулируют активность структурных генов. Регуляторные гены взаимодействуют со структурными и регулируют все биохимические процессы в клетке, позволяя ей тем самым приспосабливаться к изменениям окружающей среды, например, к изменениям количества и качества поступающих в нее питательных веществ. Если околочлеточная среда стабильна, регуляторные гены тормозят (репрессируют) структурные.

Современная молекулярная генетика чаще пользуется следующей классификацией генов (рис. 5).



Рис. 5. Классификация генов

РНК кодирующие гены определяют синтез РНК, необходимой для обеспечения процесса сплайсинга, синтеза рибосом и процессов трансляции. РНК кодирующие гены дают информацию для синтеза молекул РНК, обладающих регуляторным действием, т.е. влияющих на функции других генов. Например, РНК для выключения или инактивации одной из X хромосом у женщин.

Гены «домашнего хозяйства» - это гены, необходимые для поддержания важнейших жизненных функций организма, которые экспрессируются практически во всех тканях и клетках на относительно постоянном уровне. Гены домашнего хозяйства функционируют повсеместно, на всех стадиях жизненного цикла организма. Основными функциями данных генов в организме являются обеспечение процессов: репликации ДНК, транскрипции, трансляции, анаболизма и катаболизма.

Гены терминальной дифференцировки (гены роскоши) обеспечивают специализированные функции клеток. Они транскрибируются ограниченное время или не во всех клетках (гормоны, ферменты пищеварения).

Гены транскрипционных факторов, контролирующие особые ядерные белки, способные соединяться с регуляторными областями многих структурных генов, вызывая либо активацию, либо подавление транскрипции.

Гены в геноме собраны в домены. Домены образуют петли, которые прикрепляются к внутренней ядерной мембране. Длина петли сильно варьирует, так как один домен может содержать либо один ген, либо несколько генов, образующие кластеры или тандемы. Петли фиксируются к мембране инсуляторными участками ДНК. Спейсеры – отделяют один ген от другого. Транскрипцию домена целиком усиливают энхансеры, а выключают сайленсеры. Эти гены могут находиться на достаточно большом расстоянии от промоторов и действуют через инсуляторные белки.

Особенность организации генома заключается в наличии мобильных (подвижных) генетических элементов, так называемых «прыгающих» генов. Они относятся к диспергированным повторам и составляют 10 – 30% генома животных и 50% генома растений. Это короткие нуклеотидные последовательности, которые активно перемещаются либо внутри генома из одного сайта в другой в пределах одной хромосомы, так и между хромосомами, либо из одного генома в другой геном. Различают два основных класса подвижных генетических элементов: транспозоны и ретротранспозоны. В основу классификации заложен механизм их перемещения. Подвижные генетические элементы, являясь факторами изменчивости генов и участвуя в перестройках хромосом, имеют огромное значение в процессах эволюции генома.

Транспозоны перемещаются с участием комплекса белков, которые обеспечивают активность фермента транспозазы, которая узнает транспозон и переносит его в новое место. Транспозоны на концах имеют инвертированные участки (повторы), которые сближаются и точно отрезаются от участков ДНК – хозяина. Разрыв и зашивание обеспечивает транспозаза и вспомогательные белки. Транспозаза может кодироваться как самим подвижным элементом, так и его копией. Транспозоны:

1. Индуцируют хромосомные перестройки (вставки, делеции, точковые замены);
2. Копии транспозонов обеспечивают возможность рекомбинаций между хромосомами;
3. Участвуют в регуляции активности гена, выполняя функцию промотора;

4. Геном, несущий активные транспозоны, более выживаем. В ходе эволюции эти элементы обеспечивают селективные преимущества организму.

Митохондриальная ДНК.

Согласно эндосимбиотической теории, митохондриальная ДНК произошла от кольцевых молекул ДНК бактерий и поэтому имеет иное происхождение, чем ядерный геном. Сейчас преобладает точка зрения, согласно которой митохондрии имеют монофилетическое происхождение, то есть были приобретены предками эукариот лишь однажды.

МтДНК млекопитающих – кольцевая двуцепочечная молекула, которая всегда находится в митохондриях в форме комплексов с белками, эти комплексы принято называть «нуклеоидами». У большинства высших животных геном митохондрий содержит 37 генов: 13 для белков дыхательной цепи, 22 для тРНК, 2 для рРНК (для большой субъединицы рибосом 16S рРНК и для малой 12S рРНК). Геномы митохондрий разных видов отличаются не только по набору генов, порядку их расположения и экспрессии, но по размеру и форме ДНК. Подавляющее большинство описанных сегодня митохондриальных геномов представляет собой кольцевые суперспирализованные двуцепочечные молекулы ДНК. Как правило, в каждой митохондрии содержится несколько копий ее генома. Так, в клетках печени человека около 2 тыс. митохондрий, и в каждой из них по 10 одинаковых геномов. Две нуклеотидные цепи молекулы мтДНК имеют различный суммарный нуклеотидный состав и обозначаются как L-цепь (light, легкая) и H-цепь (heavy, тяжелая). Различия обусловлены неодинаковым содержанием "тяжелых" пуриновых и "легких" пиримидиновых нуклеотидов. Большая часть генов расположена на H-нити мтДНК: это 14 генов тРНК, оба гена рРНК и 11 генов, кодирующих белки. 8 РНК генов и 2 белковых гена (ND3 и AT8) на L нити. Большая часть молекулы мтДНК содержит консервативные кодирующие последовательности. У человека и других млекопитающих в митогеноме отсутствуют интроны и совсем мало некодирующих участков. Наиболее протяженный некодирующий фрагмент (NCR, non-coding region) имеет длину ~ 700 п.н. Нужно отметить, что генетический код в митохондриях имеет некоторые отличия от универсального: триплеты AGA и AGG служат стоп-кодонами (в универсальном коде они кодируют Arg); AUA кодирует Met (Ile в универсальном коде); UGA кодирует Trp (стоп-кодон в универсальном коде).

У большинства многоклеточных организмов митохондриальная ДНК наследуется по материнской линии. Яйцеклетка содержит на несколько порядков больше копий митохондриальной ДНК, чем сперматозоид. В сперматозоиде обычно не больше десятка митохондрий (у человека — одна спирально закрученная митохондрия), в небольших яйцеклетках морского ежа — несколько сотен тысяч, а в крупных ооцитах лягушки — десятки миллионов. Кроме того, обычно происходит деградация митохондрий сперматозоида после оплодотворения.

Мутации в мтДНК происходят, по разным причинам, намного чаще, чем в ядерной ДНК. Клетки и ткани могут содержать как мтДНК одного вида (гомоплазмия), так и комбинацию нормальной и мутантной мтДНК в различных

соотношениях (гетероплазмия). В мтДНК обнаружены точечные мутации, делеции или дупликации молекулы мтДНК. МтДНК мутации могут вызывать передаваемые по материнской линии наследственные заболевания. Исследования показали, что мутации мтДНК также ускоряют процесс старения и развитие возрастных патологий, например, нейродегенеративных заболеваний. Кроме того, они могут вызывать снижение мужской фертильности, повышать риск невынашивания беременности и эмбриональных нарушений. Снижение числа копий молекул мтДНК также приводит к развитию заболеваний, таких как миопатии, нефропатии, печеночная недостаточность и др. Одним из важных мутационных событий, возникающих в митохондриальном геноме, является формирование больших делеций, приводящих к утрате нескольких генов и, как следствие, к определенному дефициту белков цепи переноса электронов. Повышенное содержание молекул мтДНК с делецией может приводить к нарушению процесса окислительного фосфорилирования и ряду заболеваний. Исследования показали, что большие делеции мтДНК могут вызывать снижение мужской фертильности, невынашивание беременности и эмбрионные нарушения, ускоренное старение, также могут содействовать развитию нейродегенеративных заболеваний и ряда других заболеваний, таких как митохондриальные миопатии (миозит с тельцами-включениями, синдром Кирнса-Сейра, офтальмоплегическая миопатия, синдром Пирсона, митохондриальная нейрогастроинтестинальная энцефаломиопатия, Синдром Лея), кардиомиопатии, панцитопении, нейросенсорная тугоухость. Изучение мтДНК делеций в генетических лабораториях проводится методом ПЦР анализа и ПЦР в реальном времени.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ПРОВЕРКИ

1. Укажите правильные варианты ответа.

1.1. Молекула ДНК ядер эукариот

- А) линейная двухцепочечная
- Б) линейная одноцепочечная
- В) кольцевидная двухцепочечная
- Г) кольцевидная одноцепочечная
- Д) только кольцевидная

1.2. ДНК у эукариот находится

- А) только в ядре
- Б) в ядре, лизосоме, митохондриях
- В) в ядре, хлоропластах, митохондриях
- Г) в ядре и ЭПС
- Д) в ядре, рибосомах, хлоропластах

1.3. Избирательное соединение нуклеотидов двух цепей ДНК через азотистые основания

- А) антипаралельность
- Б) коллинеарность

В) комплементарность

Г) непрерывность

Д) избыточность

1.4. При репликации дочерние цепи ДНК синтезирует фермент

А) геликаза

Б) праймаза

В) ДНК-полимераза

Г) лигаза

Д) топоизомераза

1.5. При репликации ДНК сшивает фрагменты Оказаки фермент

А) геликаза

Б) праймаза

В) ДНК-полимераза

Г) лигаза

Д) топоизомераза

1.6. Репликация ДНК на лидирующей цепи происходит

А) непрерывно

Б) в направлении $3' \rightarrow 5'$ (новой цепи)

В) фрагментами Оказаки

Г) консервативным способом

Д) в период дифференцировки

1.7. При репликации разрывает водородные связи между цепями ДНК фермент

А) геликаза

Б) праймаза

В) ДНК-полимераза

Г) лигаза

Д) топоизомераза

1.8. Если одна из цепей ДНК имеет нуклеотидную последовательность $3' \text{ААГТТЦЦТТА} 5'$, вторая цепь будет иметь строение

А) $5' \text{УУЦААГГААУ} 3'$

Б) $5' \text{ТТГТТЦЦААТ} 3'$

В) $5' \text{ТТЦААГГААТ} 3'$

Г) $5' \text{ААГТТЦЦТТА} 3'$

Д) $5' \text{УУГТТЦЦТТУ} 3'$

1.9. Основной способ репликации ДНК

А) консервативный

Б) неконсервативный

В) фрагментарный

Г) полуконсервативный

1.10. Основной носитель генетической информации бактерий

А) плазида

Б) нуклеоид

В) нуклеокапсид

Г) ядро

2. Решите ситуационные задачи.

2.1. Исследования показали, что 34% общего числа нуклеотидов изучаемой иРНК приходится на гуанин, 18% на аденин. Какой процентный состав приходится на другие азотистые основания и в каком соотношении?

2.2. Под действием УФ-облучения в молекуле ДНК образовались пиримидиновые димеры (димеры тимина). Какие свойства и особенности ДНК лежат в основе репарации? Какие существуют виды репарации ДНК и в чем их различие? В чем сущность пострепликативной репарации? Укажите ее связь с эксцизионной репарацией?

2.3. Выберите варианты ответа, максимально соответствующие по смыслу. Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) необходимо, в первую очередь, выбрать участок (антигена / гена / генетического кода / молекулы / рибосомы) и сконструировать (азотистые основания / молекулы / нуклеотиды / олигонуклеотиды / праймеры), комплементарные участкам выбранного гена. Праймеры обычно выбирают длиной около (2 / 12 / 20 / 200 / 2000) (азотистых оснований / нуклеотидов / олигонуклеотидов / пар нуклеотидов / пар олигонуклеотидов). Положение праймеров задаёт (длину / массу / пространство / температуру плавления / ширину) конечного продукта. Затем нужно подготовить матрицу ДНК. Далее в пробирке смешивают все необходимые компоненты: ДНК-матрицу, праймеры, реакционный буфер, содержащий (ионы калия / ионы кальция / ионы магния / ионы натрия), (дезоксинуклеозидтрифосфаты / дезокситрифосфаты / нуклеозидтрифосфаты / трифосфаты), фермент ДНК-зависимую ДНК-полимеразу. На приборе, который называется (амплификатор / термостат / хроматограф / центрифуга) задают протокол ПЦР, который обычно состоит из (10-15 / 15-25 / 30-40 / 40-60 / 60-80) циклов, каждый из которых содержит последовательно стадии (денатурации / отжига / элонгации / терминации / элонгации), (денатурации / достройки / плавления / отжига праймеров / удлинения / элонгации) и (денатурации / комплементации / поглощения / ориентации / отжига праймеров / элонгации).

Дополнительная задача повышенной сложности. Полимеразная цепная реакция является исключительно важным современным методом молекулярной биологии. В честь дня рождения Томаса Ханта Моргана лаборант решил получить ПЦР-продукт гена white длиной 152 пары нуклеотидов. Ген white кодирует транспортер прекурсоров пигментов глаза дрозофилы, мутация в нем приводит к формированию белых глаз. Последовательность данного гена в базе данных Gene Bank имеет идентификатор X02974.2. Для амплификации участка ДНК методом ПЦР требуется заказать прямой и обратный праймер. Последовательность праймеров принято записывать от 5'-конца к 3'-концу. Определите последовательность обратного праймера длиной 16 нуклеотидов, если в качестве прямого праймера был использован следующий олигонуклеотид 5'-СТCGCAACGGAAAACC-3'. Введите последовательность обратного праймера латинскими буквами, без знаков 5'-, 3'-, и пробелов.

ЛИТЕРАТУРА ДЛЯ ПОДГОТОВКИ

1. Биология : учебник для студентов вузов / МЗ РФ, ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова; под ред. Н. В. Чебышева. - Москва : МИА, 2016. - 635 с.ил. - ISBN 978-5-9986-0229-0.
2. Биология : учебник : в 2 т.. Т. 1 / под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. - 725 с.ил. - ISBN 978-5-9704-4568-6.
3. Биология : учебник : в 2 т.. Т. 2 / под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. - 553 с.ил. - ISBN 978-5-9704-4569-3.
4. Биология : учебник : в 2 т.. Т. 2 / В. Н. Ярыгин, В. В. Глинкина, И. Н. Волков [и др.] ; под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 553 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-3565-6.
5. Биология : учебник : в 2 т.. Т. 1 / В. Н. Ярыгин, В. В. Глинкина, И. Н. Волков [и др.] ; под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 725 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-3564-9.
6. Биология : учебник : в 2 томах: Т. 2 / под редакцией В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 553 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-5308-7.
7. Биология : учебник : в 2 томах: Т. 1 / под редакцией В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 725 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-5307-0.
8. Практикум по биологии: учебно-методическое пособие / Ю.В. Мякишева, Р.А. Щепеткова, Д.С. Громова, А.Ф. Павлов, И.С. Павлов, Ю.А. Халитова ; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. - Самара: ИД «Би Групп», 2023. - 100 с.
9. Биология. Т. 1.: учебник: в 2 т. / под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2023. - 736 с. - ISBN 978-5-9704-7494-5. - Текст: электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970474945.html>
10. Биология. Т. 2. : учебник : в 2 т. / под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2023. - 560 с. - ISBN 978-5-9704-7495-2. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970474952.html>