

М. С. ТЕМНОВ, Д. С. ДВОРЕЦКИЙ

ВВЕДЕНИЕ В МОЛЕКУЛЯРНУЮ БИОЛОГИЮ

В ДВУХ ЧАСТЯХ

ЧАСТЬ 2



**Тамбов
Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ»
2023**

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Тамбовский государственный технический университет»

М. С. ТЕМНОВ, Д. С. ДВОРЕЦКИЙ

ВВЕДЕНИЕ В МОЛЕКУЛЯРНУЮ БИОЛОГИЮ

В двух частях

Часть 2

Утверждено Ученым советом университета
в качестве учебного пособия для студентов 2 курса бакалавриата,
обучающихся по направлениям: 19.03.01 «Биотехнология»,
19.03.02 «Продукты питания из растительного сырья»,
очной и заочной форм обучения, и магистрантов, обучающихся
по направлению 19.04.01 «Биотехнология»

Учебное электронное издание



Тамбов
Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ»
2023

УДК 577.21
ББК 28.070
Т32

Рецензенты:

Доктор химических наук, профессор,
директор Центра коллективного пользования
научным оборудованием
«Получение и применение полифункциональных
наноматериалов» ФГБОУ ВО «ТГТУ»
Т. П. Дьячкова

Доктор технических наук, профессор,
главный научный сотрудник ФГБНУ «ВНИИТиН»
С. А. Нагорнов

Темнов, М. С

Т32 Введение в молекулярную биологию : учебное пособие :
в 2-х ч. / М. С. Темнов, Д. С. Дворецкий. – Тамбов : Изда-
тель-
ский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ».

ISBN 978-5-8265-2389-6

Ч. 1. – 2021. – 80 с. – 100 экз.

ISBN 978-5-8265-2390-2

Ч. 2. – 2023. [Электронный ресурс]. – 1 электрон. опт. диск
(CD-ROM). – Системные требования : ПК не ниже класса
Pentium II ; CD-ROM-дисковод ; 3,5 Mb ; RAM ; Windows 95/98/
XP ; мышь. – Загл. с экрана.

ISBN 978-5-8265-2656-9

Содержит сведения о хромосомной теории наследственности,
строении, структуре и химическом составе нуклеиновых кислот (ДНК).
Материал в представленном пособии дает базовые представления
об истории открытия нуклеиновых кислот. Приведены определения их
химического состава и структуры в прокариотических и эукариоти-
ческих клетках.

Предназначено для студентов 2 курса бакалавриата, обучающихся
по направлениям: 19.03.01 «Биотехнология», 19.03.02 «Продукты пита-
ния из растительного сырья», очной и заочной форм обучения, и маги-
странтов, обучающихся по направлению 19.04.01 «Биотехнология».

УДК 577.21
ББК 28.070

ISBN 978-5-8265-2389-6 (общ.) © Федеральное государственное бюджетное
ISBN 978-5-8265-2656-9 (ч. 2) образовательное учреждение высшего образования
«Тамбовский государственный технический
университет» (ФГБОУ ВО «ТГТУ»), 2023

ВВЕДЕНИЕ

*Молекулу ДНК ничего не волнует,
и она ничего не знает.*

Она просто есть.

А мы пляшем под ее дудку.

Ричард Докинз

Молекулярная биология – это динамично развивающаяся научная дисциплина, изучающая основы жизнедеятельности организмов на уровне макромолекул. Большую роль в развитии этой науки сыграли ученые других специальностей, ведь задачи молекулярной биологии лежат в областях, находящихся на пересечении таких наук, как физика, химия и биология. Исследование этих новых областей позволяет понять многие загадки биологических систем.

В пособии описан большой спектр вопросов: хромосомная теория наследственности, строение, структура и химический состав нуклеиновых кислот (ДНК).

Изучение материала данного пособия позволяет студентам очного и заочного отделений и магистрантов направлений подготовки 19.03.01, 19.04.01 «Биотехнология» овладеть следующими компетенциями:

ОПК-1. Способен изучать, анализировать, использовать биологические объекты и процессы, основываясь на законах и закономерностях математических, физических, химических и биологических наук и их взаимосвязях.

ОПК-7. Способен проводить экспериментальные исследования и испытания по заданной методике, наблюдения и измерения, обрабатывать и интерпретировать экспериментальные данные, применяя математические, физические, физико-химические, химические, биологические, микробиологические методы.

1. НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ

Наследственность – это способность живых биологических систем к рождению себе подобных организмов, которые более похожи на своих родственников, чем на других представителей того же вида [1, 4, 10].

Хотя виды имеют свой собственный уровень изменчивости, отдельные представители одного вида также могут отличаться друг от друга. Сюда входят близкие родственники, такие как братья и сестры, которые не являются точными копиями друг друга или своих родителей из-за генетических факторов и факторов окружающей среды [1, 4].

Грегор Мендель, австрийский монах и ботаник (рис. 1), в середине XIX века проводил эксперименты над растениями гороха. Благодаря своим тщательным наблюдениям и анализу он открыл основные принципы наследственности, которые сейчас известны как законы

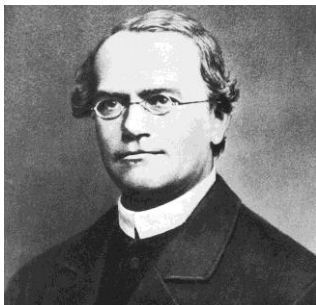


Рис. 1. Грегор (Иоганн) Мендель – австрийский естествоиспытатель, основоположник учения о наследственности (1822 – 1884).

Фото: Public domain
(<https://ria.ru>)

Менделя. Эти законы описывают, как черты передаются от одного поколения к другому.

Ученый провел тщательное исследование, количественно документируя растения каждого поколения по различным признакам. Результаты показали, что все гибриды первого поколения напоминали одного из родителей.

Выводы эксперимента привели к формулированию первого закона Менделя (рис. 2), также известному как закон единообразия гибридов первого

поколения. Согласно этому закону признак, наблюдаемый у гибридов первого поколения, Мендель назвал доминантным, а ненаблюдаемый признак – рецессивным [1, 3, 4, 10].

Второй закон Менделя, также известный как закон сегрегации или закон разделения признаков, гласит, что при скрещивании особей с контрастными признаками потомство наследует по одной аллели от каждого родителя. Эти аллели разделяются при образовании гамет, поэтому каждая гамета несет только одну аллель для каждого признака. Этот закон объясняет соотношение доминантных и рецессивных признаков 3:1, наблюдаемое во втором поколении самоопыляющихся гибридов (рис. 3) [1, 3, 10].

Закон наследования, открытый Менделем, применим не к отдельным семьям, а к большим выборкам. При изучении потомства, полученного в результате скрещивания всего двух гибридов в одной семье, соотношения по признакам могут варьировать в широких пределах. Чтобы установить закономерности, Мендель обобщил результаты своего анализа, изучая потомство от скрещивания многих гибридных растений, в ходе которого было исследовано более 10 000 растений. [1, 10].

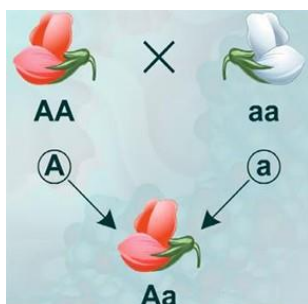


Рис. 2. Первый закон Менделя – закон единообразия гибридов первого поколения

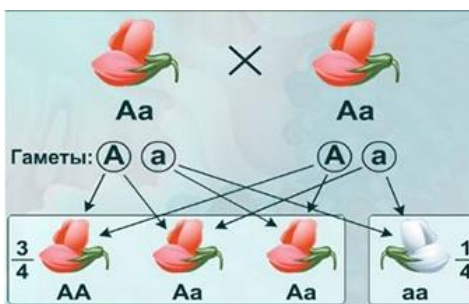


Рис. 3. Второй закон Менделя – закон расщепления признаков

Ученый предположил, что за каждый изучаемый признак ответственны два наследственных фактора: доминантный (А) и рецессивный (а). Далее они предположили, что только один из этих факторов присутствует в зародышевых клетках или гаметах. Установлено, что исходные сорта гороха несут два идентичных наследственных фактора – АА или Аа – по изучаемому признаку. [1, 3, 10].

У гибридных растений первого поколения наследственные факторы А и а сосуществуют, причем А является доминантным, а – рецессивным. Рецессивный фактор не проявляется при наличии доминантного, но все же присутствует в генетическом составе растения. Эти два фактора остаются отдельными и имеют равные шансы передаться различным зародышевым клеткам. При этом как гаметы с доминантным фактором, так и гаметы с рецессивным фактором имеют равные шансы участвовать в оплодотворении.

В результате образуются растения трех типов: АА, Аа и аа в соотношении 1:2:1 [1, 10].

Позднее для описания вышеизложенных закономерностей была предложена решетка Пеннета – таблица, в первой строке и первом столбце которой записываются типы женских и мужских гамет, а на их пересечении типы образующихся потомков (табл. 1).

Рецессивный признак не виден при наличии доминантного признака, в результате чего растения с генотипами АА и Аа кажутся идентичными. Согласно гипотезе Менделя о чистоте гамет, в зависимости от признака будет наблюдаться соотношение 3:1. В случае неполного доминирования распределение наследственных факторов совпадает с распределением признаков (см. рис. 2).

1. Решетка Пеннета

Гаметы	А	а
А	АА	Аа
а	Аа	аа

При описании схемы скрещивания обычно используются следующие обозначения [1, 10]:

- родители – P (от лат. parentes – родитель);
- особи женского пола – ♀ (зеркало Венеры);
- мужского – ♂ (щит и копьё Марса);
- скрещивание – x (знак умножения),
- потомство от скрещивания – F (от лат. filialis – сыновний)

с цифровым индексом: F1 – первое поколение, F2 – второе и т.д.

Черточка, стоящая справа от доминантного фактора (A_) означает то, что на этом месте может стоять как доминантный, так и рецессивный фактор [1, 10].

Успех Менделя в его экспериментах действительно был обусловлен его тщательным ведением записей и количественным анализом растений. Гибридологический анализ, в частности дигибридное скрещивание, показал, что два признака ведут себя независимо друг от друга. Во втором поколении можно наблюдать четыре группы растений с соотношением 9:3:3:1 для растений, имеющих оба доминантных признака, только один из двух доминантных признаков или недоминантные признаки соответственно [1, 10].

Рассмотрим этот опыт более подробно: обозначим доминантный и рецессивный наследственные факторы A и a (первый признак), B и b (второй признак) соответственно. В этих обозначениях исходные родительские сорта будут иметь наследственные факторы AABV и aabb (рис. 4).

Революционные исследования Менделя подготовили почву для установления закона независимого сочетания характеристик. Однако позже было обнаружено, что этот закон справедлив только в том случае, если наследственные факторы, известные как гены, расположены на разных хромосомах. К сожалению, работа Менделя осталась незамеченной его современниками, и только в начале XX века трое исследователей независимо друг от друга заново открыли его законы.

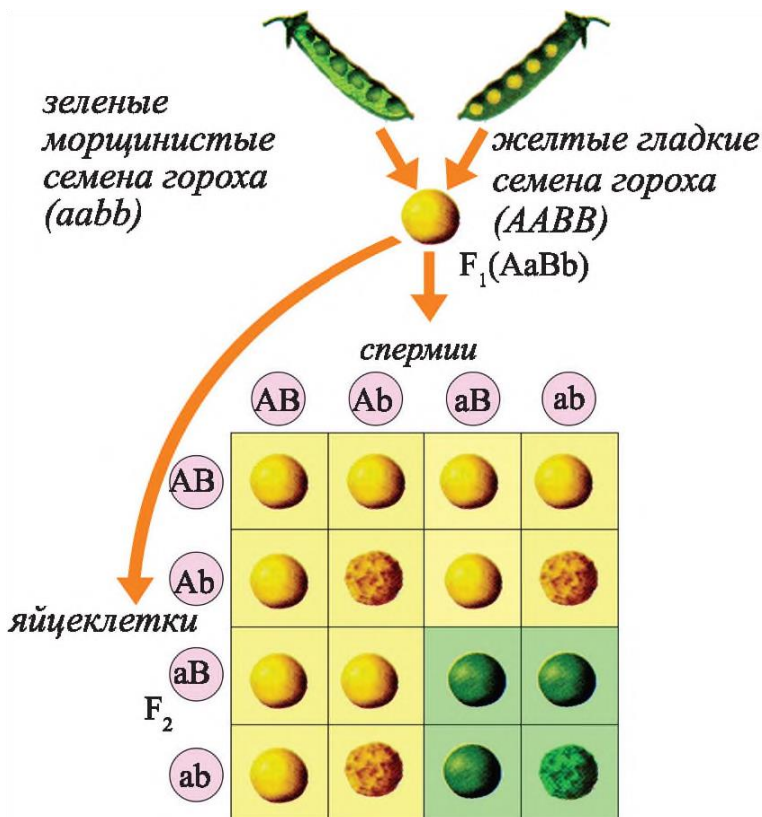


Рис. 4. Решетка Пеннета для дигибридного скрещивания

Среди них В. Йохансен ввел термин «гены» для описания наследственных факторов, предложенный Менделем. Кроме того, Йохансен ввел термины «генотип» для обозначения набора генов и «фенотип» для описания общих черт организма [1, 10].

Аллели, являющиеся вариантами наследственных факторов или альтернативными состояниями генов, определяют характер развития признаков и делятся на доминантные, рецессивные и кодоминантные. Генотип может быть гомозиготным, если особь обладает двумя одинаковыми аллелями (AA или aa), или гетерозиготным, если аллели

разные (Aa). В некоторых случаях оба аллеля выражены в фенотипе без какой-либо связи доминантности-рецессивности. Такое взаимодействие аллелей называется кодоминантностью [1, 10].

Комбинация аллелей и состояний генов влияет на проявление признаков, что приводит к фенотипической изменчивости. Кроме того, факторы окружающей среды играют значительную роль в развитии признаков. Хотя нормальные аллели или аллели дикого типа широко распространены, их частота может варьироваться в зависимости от популяции. Полиморфные аллели, частота которых превышает определенную частоту, а также мутантные аллели или мутации, приводящие к патологическим признакам, встречаются реже из-за их негативного влияния на жизнеспособность и давления естественного отбора [1, 10].

Различные генные мутации связаны с наследственными заболеваниями человека. Законы Менделя в первую очередь применимы к моногенным признакам, которые контролируются одним геном. Эти черты часто демонстрируют различные качественные альтернативы, такие как цвет глаз или наличие определенных заболеваний.

Индивидуальные различия определяются комбинациями нормальных и мутантных аллелей, что способствует их уникальному наследственному составу. В формировании определенных характеристик, таких как рост, вес, тип телосложения или поведение, участвуют десятки и даже сотни генов. Выражение таких черт у людей часто можно измерить количественно, что приводит к их классификации как количественные черты [1, 10].

Вопросы к главе 1

1. Что такое решетка Пеннета?
2. Дайте определение термину «аллель».
3. Что такое полиморфизм?

4. Рост – это менделирующий признак?
5. Опишите эксперимент, выводы их которого позволили сформулировать первый закон Менделя.
6. Что такое фенотип?
7. Сформулируйте третий закон Менделя.
8. Что обозначает термин «кодоминирование»?
9. Какие обозначения используются при описании схемы скрещивания?
10. Что такое доминантный и рецессивный признаки?
11. Какой объект изучал Г. Мендель?
12. Что такое мутация?
13. Что значит независимое комбинирование признаков?
14. Что значит полное и неполное доминирование признака?
15. Что такое генотип?

2. ХРОМОСОМЫ И ТЕОРИЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

В начале 1900-х годов ученые определили стадии клеточного деления и ввели понятие «клеточный цикл», под которым понимается продолжительность жизни клетки от ее формирования до деления (рис. 5). Клеточный цикл состоит из различных стадий, наиболее заметной стадией является митоз, поскольку он включает в себя фактическое деление клеток. Период времени между двумя делениями клеток известен как интерфаза (рис. 6) [10].

Хромосомы, получившие свое название от греческих слов *chroma* (цвет) и *soma* (тело), играют важную роль в процессе деления клеток. Термин «хромосома», придуманный в 1888 г., относится к структурам, присутствующим в ядрах клеток, которые можно визуализировать с помощью специальных методов окрашивания под световым микроскопом.

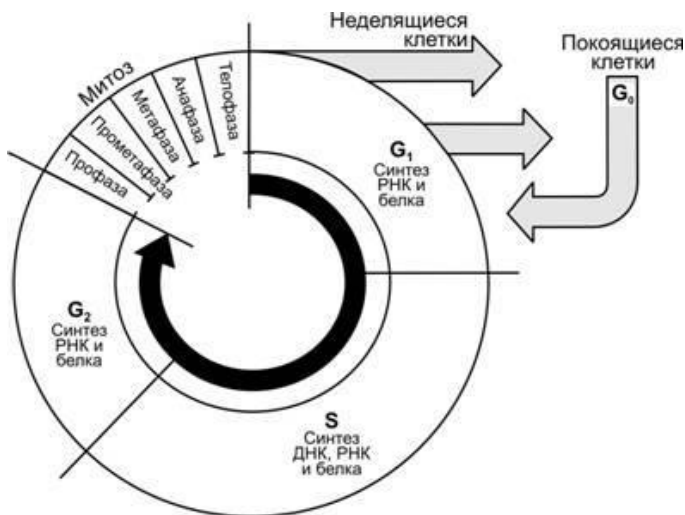


Рис. 5. Клеточный цикл (<https://studfile.net>)

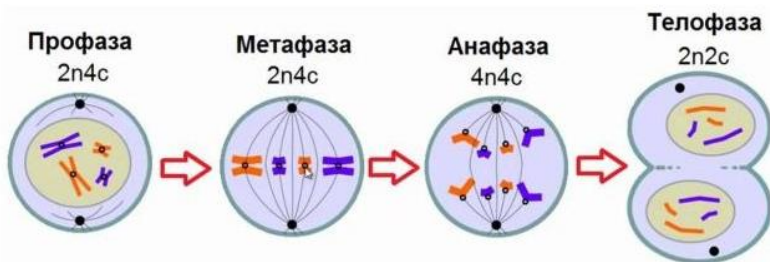


Рис. 6. Митоз (<https://vk.com>)

Совокупность хромосом внутри клетки называется кариотипом. Характеристики вида тесно связаны с числом и строением его хромосом [1, 10].

Отдельные виды обладают уникальными кариотипами, которые включают количество, размер и расположение хромосом. Обычно

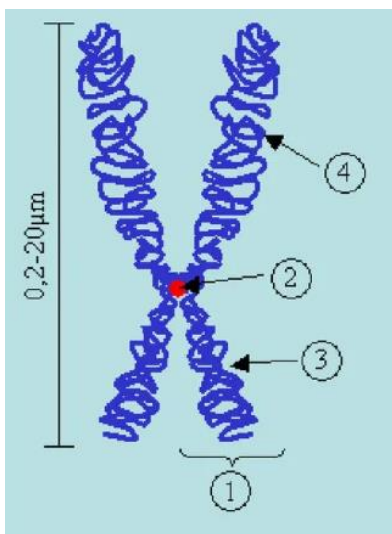


Рис. 7. Строение хромосомы: хромосома состоит из двух хроматид (1), на хромосоме имеется первичная перегибка (2) – центромера, которая делит хромосому на короткое плечо (3) и длинное плечо (4)

особи одного вида имеют одинаковые кариотипы. Отклонения от нормального кариотипа, такие как структурные или численные аномалии, часто коррелируют с тяжелыми патологическими состояниями. Центромера, жизненно важная функциональная область, делит каждую хромосому на два плеча: короткое плечо (p) и длинное плечо (q). В зависимости от длины и расположения центромер хромосомы подразделяются на различные группы (рис. 7) [4].

В соматических клетках высших каждая хромосома

представлена двумя копиями, т.е. *диплоидным набором*, в половых клетках наблюдается одинарный – *гаплоидный набор* хромосом. Это обеспечивается за счет *мейоза* – формы деления половых клеток (рис. 8). Рассмотрим более подробно основные этапы жизнедеятельности клетки – рис. 5, этапы митоза – рис. 6 и мейоза – рис. 8.

Клеточный цикл состоит из различных стадий. Стадия G0 – состояние покоя, а G1 – самая продолжительная стадия интерфазы перед вступлением в деление. Стадия S включает удвоение хромосом, в результате которого образуются две хроматиды, соединенные центромерой. Стадия G2 – подготовка к митозу, за ней следует стадия M, включающая несколько фаз:

1. Профаза: ядерная мембрана исчезает, хромосомы спирализуются, центриоли расходятся к противоположным полюсам, и формируется веретено микротрубочек.

2. Метафаза: хромосомы выстраиваются вдоль экватора клетки.

3. Анафаза: Центромеры разделяются, хроматиды становятся самостоятельными хромосомами и движутся к противоположным полюсам.

4. Телофаза: хромосомы деспирализуются, веретено исчезает, ядерная мембрана реформируется, цитоплазма делится. На стадии интерфазы при обычной световой микроскопии хромосомы как отдельные структуры не видны, окрашены только зерна хроматина, случайным образом распределенные по ядру [1, 10].

Мейоз характерен только для половых клеток и включает два клеточных деления: мейоз I и мейоз II. Во время профазы мейоза I гомологичные хромосомы конъюгируют (сливаются) друг с другом по всей длине, образуя *бивалент*. В это время может происходить обмен участками между несестринскими хроматидами – *кроссинговер* или *гомологичная рекомбинация* (рис. 9) [4, 10].

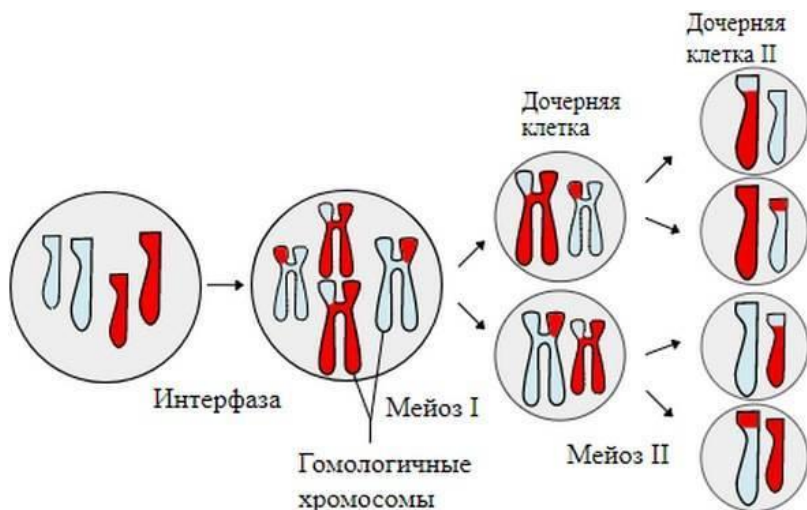


Рис. 8. Мейоз (<https://colibris62bethune.org>)

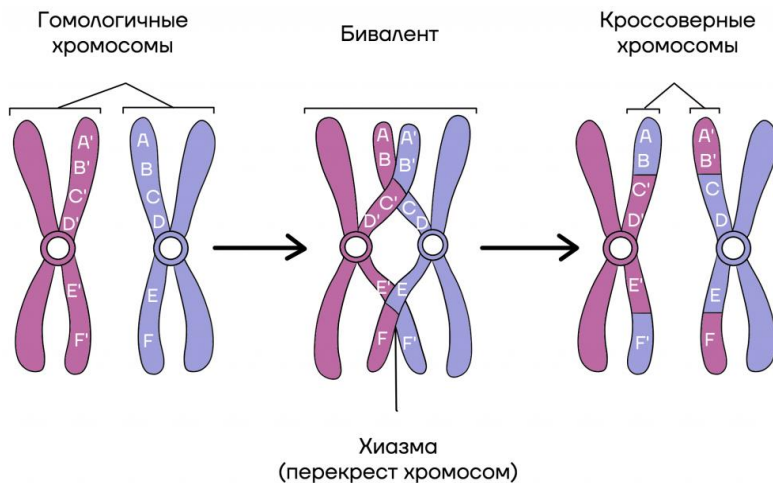


Рис. 9. Кроссинговер (<https://umschool.net>)

При рекомбинации или кроссинговере образуется хиазма или крестообразная структура. Эти хиазмы видны под световым микроскопом и включают обмен генетическим материалом между двумя

из четырех хроматид. Образование хиазм – случайный процесс, количество хиазм зависит от длины хромосомы. Более длинные хромосомы, как правило, имеют большее количество хиазм.

Во время метафазы мейоза I биваленты (пары гомологичных хромосом) выравниваются в экваториальной плоскости клетки. Ориентация центромер случайна относительно полюсов клетки.

В анафазе мейоза I гомологичные хромосомы отделяются друг от друга и движутся к противоположным полюсам клетки. Однако центромеры остаются интактными, а сестринские хроматиды по-прежнему связаны. Важно отметить, что сестринские хроматиды могут стать неодинаковыми из-за возникновения кроссинговера при рекомбинации. Промежуток между первым и вторым делениями мейоза называется *интеркинезом*, который может быть достаточно продолжительным, при этом хромосомы декомпактизируются и выглядят так же, как в интерфазе. На этой стадии не происходит удвоения хроматид.

Для профазы мейоза II характерно восстановление веретена деления, хромосомы располагаются в экваториальной плоскости.

На анафазе II осуществляется расщепление центромер, и хромосомы двигаются к противоположным полюсам.

По завершении телофазы II диплоидная родительская клетка делится на четыре гаплоидные половые клетки, причем образовавшиеся гаметы не идентичны друг другу – фрагменты материнских и отцовских хромосом находятся в них в различных комбинациях.

Исследуя в начале XX века процессы митоза и мейоза, ученые пришли к выводу, что наследственные факторы или гены (описанные в гипотезах Менделя) находятся в хромосомах, так как поведение хромосом соответствует поведению этих наследственных факторов [2, 10].



Рис. 10. Томас Хант Морган (1866 – 1945) – американский биолог, один из основоположников генетики, лауреат Нобелевской премии по физиологии и медицине(<https://scientificrussia.ru/>)

Прямые доказательства локализации генов в хромосомах были получены позднее Т. Морганом (1910) в опытах на дрозофиле (рис. 10).

Исследование особенностей функционирования хромосом при делении клеток Т. Морганом позволило сделать вывод, что хромосомы – это те самые «факторы», которые описывал Г. Мендель.

Морган проводил свои опыты на небольшой плодовой мушке дрозофиле (*Drosophila melanogaster*), которая разводится на опавших и прелых фруктах, ее размеры не превышают 2,0...2,5 мм, а весит она около 1 мг. Дрозофилу легко разводить в лабораторных условиях (жизненный цикл составляет около двух недель). Одна пара

особей дает потомствов несколько сотен новых организмов, при этом в соматических клетках насекомого содержится всего четыре пары хромосом.

У самок дрозофилы первая пара хромосом, известная как половые хромосомы, идентична и состоит из двух X-хромосом. Однако у самцов половые хромосомы разные: одна X-хромосома и одна Y-хромосома. X-хромосома удлинена и присутствует в двойном количестве у самок, тогда как Y-хромосома изогнута и встречается только у самцов. Эти уникальные характеристики половых хромосом дрозофилы сделали их популярным и удобным объектом для лабораторных исследований.

При постановке опытов Морган (рис. 11) отбирал чистые линии дрозофил: сразу после вылета мух из куколок разделял самцов и самок, так как в течение 6 – 8 ч после вылупления дрозофилы не могут оплодотворяться, т.е. являются девственными.



Рис. 11. Т. Морган в лаборатории за работой

Вылетевших мух Морган вытряхивал на стекло и отделял самок от самцов с помощью мягкой кисточки, после чего помещал их в разные стекла, а затем – в пробирки. Далее из 3 – 5 отобранных девственных самцов и 3 – 5 девственных самок формировал родительское поколение. Мух помещал в пробирку с питательной средой для личинок на 3 – 5 сут, по истечении времени мух оттуда удалял.

Чистую линию выводят, контролируя в ряду поколений проявление признака.

Опыт, на основе которого Морган открыл сцепленные гены, заключался в следующем: гибриды первого поколения, полученные в результате скрещивания мух-дрозофил с доминантными аллелями окраски тела и формы крыльев и мух с соответствующими рецессивными аллелями, имели серое тело и нормальные крылья. Это говорит о том, что признаки цвета тела и формы крыльев разделились независимо, и гибриды были гетерозиготны по обоим признакам (рис. 12).

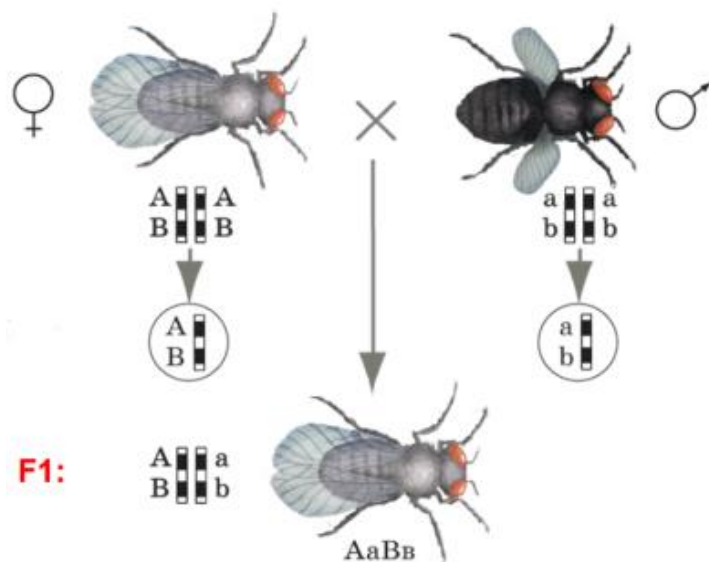


Рис. 12. Эксперимент Т. Х. Моргана

Далее Т. Х. Морган скрестил гетерозиготных самок первого поколения с самцами гомозиготных по рецессивным аллелям (черное тело – недоразвитые крылья). Если бы гены, обуславливающие окрас тела и форму крыльев, наследовались независимо, расщепление должно быть таким: 25% особей с серым телом и нормальными крыльями, 25% – с серым телом и недоразвитыми крыльями, 25% – с черным телом и нормальными крыльями и 25% – с черным телом и недоразвитыми крыльями. Однако в ходе эксперимента получилось расщепление – 41,5% особей имели серое тело и нормальные крылья, 41,5% – черное тело и недоразвитые крылья, 8,5% – серое тело и недоразвитые крылья и 8,5% – черное тело и нормальные крылья (рис. 13).

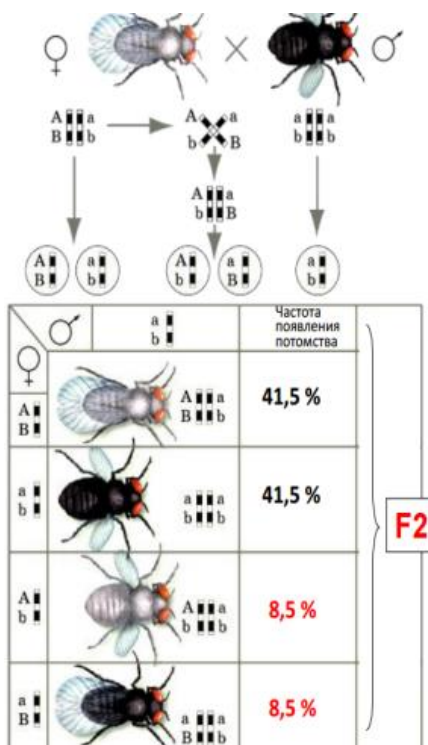


Рис. 13. Эксперимент № 2 Т. Моргана

Исследование Моргана показало, что гены А и В связаны, т.е. расположены в одной хромосоме и имеют тенденцию наследоваться вместе. Это открытие подтвердило представление о хромосомах как о «факторах», описанных Менделем в его законах наследственности.

Исследования, проведенные Морганом по поведению хромосом в клетках дрозофилы, привели к формулировке хромосомной теории наследственности. Эта теория предполагала, что гены, наследственные факторы, расположены в хромосомах и передаются от одного поколения к другому. Это также установило концепцию гена как определенного участка или локуса хромосомы, ответственного за определенный признак. Кроме того, гены были признаны единицами, которые подвергаются рекомбинации и мутациям, что приводит к изменениям наблюдаемых характеристик или фенотипа [1, 10].

У организмов более высокой сложности их хромосомы состоят из двух разных типов хроматина, известных как эухроматин и гетерохроматин (рис. 14). Гетерохроматин остается плотно упакованным на протяжении всего клеточного цикла и во время интерфазы может быть визуализирован в виде цветных гранул под световой микроскопией. Он сосредоточен преимущественно в центромерной области и теломерах хромосом. Гетерохроматин играет решающую роль в поддержании структуры хромосом, обеспечении точной сегрегации при делении клеток и регуляции работы генов. С другой стороны, эухроматин выглядит светлее и содержит большую часть активно функционирующего генома [1, 4].

В первой половине XX века хромосомная теория наследственности получила широкое признание и представила несколько фундаментальных принципов.

Было установлено, что гены расположены в хромосомах линейно, причем гены на одной хромосоме образуют связанные группы, которые наследуются вместе.

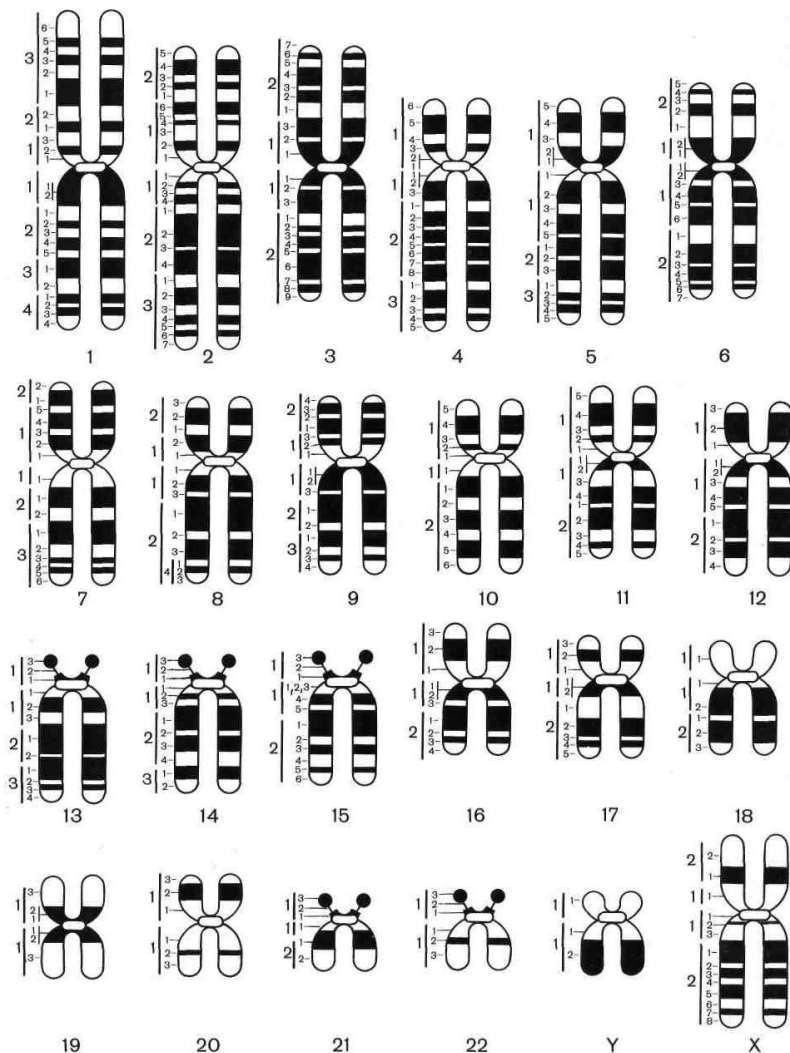


Рис. 14. Схема дифференциального окрашивания хромосом человека

Кроме того, теория объясняет, что кроссинговер может генерировать новые комбинации аллелей генов на одной хромосоме, и вероятность этого увеличивается с увеличением расстояния между генами.

Для количественной оценки генетической дистанции были введены единицы измерения, известные как сантиморганы или морганиды, названные в честь Томаса Моргана, основателя хромосомной теории наследственности.

Генетическое расстояние в 1 сантиморган (сМ) между двумя генами на одной и той же хромосоме означает 1%-ную вероятность кроссинговера во время мейоза.

Однако современная теория наследственности подчеркивает, что сантиморганы не являются абсолютными единицами измерения хромосомного расстояния, поскольку они зависят от частоты кроссинговера, которая варьируется в разных областях хромосом.

Важно отметить, что описанные процессы митоза и мейоза специфичны для эукариотических клеток.

Прокариотические организмы, такие как бактерии и археи, не имеют ядра и обычно имеют одну кольцевую хромосому на клетку. Прокариотические клетки также содержат более мелкие кольцевые структуры, называемые плазмидами.

Кроме того, в 1961 году М. Лион предложил гипотезу инактивации X-хромосомы у самок млекопитающих и женщин, которая впоследствии подтвердилась. Это явление относится к инактивации одной из X-хромосом в каждой клетке [1, 2, 4].



Рис. 15. Мэри Фрэнсис Лайон – британская исследовательница генетики (1925 – 2014)

Интересно отметить, что X-хромосомы как отца, так и матери могут подвергаться инактивации в разных клетках. В женских кариотипах инактивированная X-хромосома выглядит как конденсированная, хорошо окрашенная структура округлой формы вблизи ядерной мембраны. Эта структура, известная как тельце Барра или половой гетерохроматин, легко идентифицируется и служит простым методом цитогенетической диагностики пола. В отличие от X-хромосомы, Y-хромосома не имеет гомологичных генов. Следовательно, когда одна из X-хромосом инактивируется, это гарантирует, что дозировка большинства генов, расположенных на половых хромосомах, остается сбалансированной между мужчинами и женщинами. Такая инактивация X-хромосомы у женщин является одним из механизмов компенсации дозы гена. Процесс инактивации X-хромосомы называется лионизацией и происходит случайным образом. В результате доля клеток с инактивированной X-хромосомой как от отца, так и от матери в организме женщины будет примерно одинаковой [1, 4].

Вопросы к главе 2

1. Расскажите о фазах клеточного цикла.
2. Для каких клеток характерен митоз?
3. Что такое кариотип?
4. Что такое лайонизация?
5. Что характерно для профазы митоза?
6. Что такое бивалент?
7. Дайте определение термину «кроссинговер».
8. Нарисуйте хромосому и опишите ее строение.
9. Какой кариотип характерен для мужчин? Женщин?
10. Что такое эухроматин?
11. Что такое интеркинез?

12. Что такое диплоидный набор хромосом?
13. В каком виде в бактериальной клетке чаще всего находится наследственный материал?
14. Что такое 1 сантиморган?
15. Опишите синтетическую фазу клеточного цикла.
16. В чем преимущества *Drosophila melanogaster* как объекта для изучения законов наследования?
17. Расскажите, какие выводы сделал Т. Морган после проведения серии своих знаменитых экспериментов.
18. Как объяснил отклонения результатов своих экспериментов от результатов классических экспериментов Г. Менделя?
19. Сформулируйте основные положения хромосомной теории наследственности.
20. Что такое тельце Барра?

3. ПОНЯТИЕ ГЕНА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАЗМЕРА ГЕНА

Хромосомная теория Моргана, разработанная в начале XX века, представила новую задачу: теория утверждала, что гены (наследственные факторы) являются постоянными и неизменными, но окружающий мир говорит обратное: все вокруг находится в постоянном изменении. В то время, когда Гуго де Фриз (рис. 16) открыл мутации (от «мутаре» – изменяющиеся), наследуемые изменения передаются от родителей к последующим поколениям [1, 2]. Но Морган возражал, посмотрите на менделевские признаки. Многие ученые утверждали, что мутации – это «наследуемые факторы» Менделя, которые просто не проявляются у гибридов первого поколения, а сами «наследственные факторы» (гены) остаются неизменными [1, 2].



Рис. 16. Гуго де Фриз – голландский исследователь (1848 – 1935)

Со временем стало понятно, что мутации все же встречаются – с частотой один раз на миллион или даже на сто миллионов.

Ученые задались вопросом, что же лежит в основе этих мутаций, как это происходит на молекулярном уровне? Как установить природу и размер гена?

Этим вопросом занялись М. Дельбрюк, Н. В. Тимофеев-Ресовский и К. Циммер (рис. 17 – 19), которые провели серию экспериментов для определения объема гена с использованием рентгеновских лучей. Излучение X-лучами можно легко фокусировать, с их помощью можно определять интенсивность и дозу, делать более «мягким» или «жестким», в результате чего будет повреждаться меньшее или большее количество генов [1].

В то время было известно, что ген – это наследственная единица, расположенная в хромосоме. Однако понимания о том, что именно представляет собой ген, не было. В то же время было известно, что воздействие рентгеновских лучей, т.е. потоков квантов электромагнитного излучения, вызывает мутации [1].

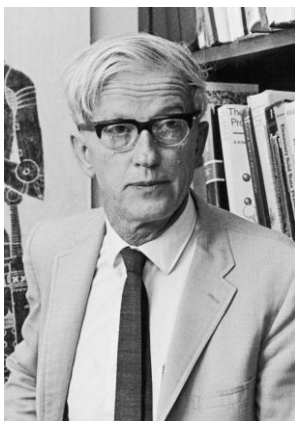


Рис. 17. Макс Людвиг Дельбрюк (1906 – 1981) – американский биофизик немецкого происхождения

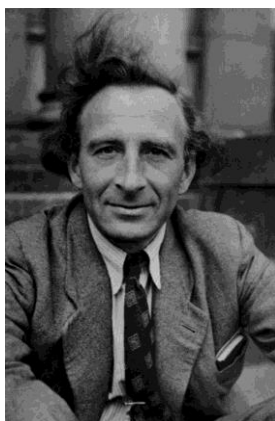


Рис. 18. Николай Владимирович Тимофеев-Ресовский (1900 – 1981) – русский советский биолог, генетик



Рис. 19. Карл Циммер (1911 – 1988) – немецкий биофизик, специалист по радиобиологии

После открытия природы гена, которая заключается в хранении наследственной информации в молекуле нуклеиновых кислот, классическое определение гена было изменено. Ген стал рассматриваться как наследственный фактор, который несет информацию о конкретном признаке или функции организма. Он является структурной и функциональной единицей наследственности. Это определение было предложено генетиком Вильгельмом Йоханнсенем. В дальнейшем ген был определен как участок ДНК (или у некоторых вирусов – участок РНК), который определяет последовательность мономеров в полипептиде или функциональной РНК.

С постепенным накоплением знаний о структуре и функционировании генов определение понятия «ген» продолжало эволюционировать, и в настоящее время не существует универсального определения, которое бы удовлетворило всех исследователей. Одно из современных определений гена звучит следующим образом: ген представляет собой последовательность ДНК, которая содержит информацию о формиро-

вании одного или нескольких продуктов в виде белка или РНК. Продукты гена функционируют в составе генетических регуляторных сетей, результаты работы которых проявляются на уровне фенотипа [1, 4].

Вопросы к главе 3

1. Что такое мутация?
2. Дайте определение гена в классической генетике.
3. Дайте современное определение гена?
4. Кто предложил термин «ген»?
5. Опишите эксперимент, который позволил установить размер гена.
6. Какие новые вопросы появились перед исследователями после определения размера гена?
7. Ознакомившись с дополнительной литературой, поясните, почему рентгеновские лучи провоцируют образование мутаций.
8. Подготовьте презентацию о жизни и научной деятельности ученого Николая Владимировича Тимофеева-Ресовского.
9. Изучив дополнительную литературу, расскажите, в чем состоят научные заслуги Макса Дельбрюка.
10. Подумайте, какие физические или химические воздействия на хромосомы могут вызывать образование мутаций.

4. МОЛЕКУЛЫ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ – ХРАНИТЕЛИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ

Фридриху Мишеру (рис. 20) впервые удалось получить нуклеиновую кислоту в виде нуклеина. В 1871 году он опубликовал в «Журнале медицинской химии» статью, в которой объяснил, как он выделил нуклеин из лейкоцитов пациентов. Термин «нуклеин» произошел от латинского слова *nux*-, что означает «ядро ореха», а суффикс *-in* указывал на присутствие азота, относясь к азотсодержащим веществам, таким как белки [1, 4].



Рис. 20. Фридрих Мишер (1844 – 1895) – швейцарский физиолог, гистолог и биолог

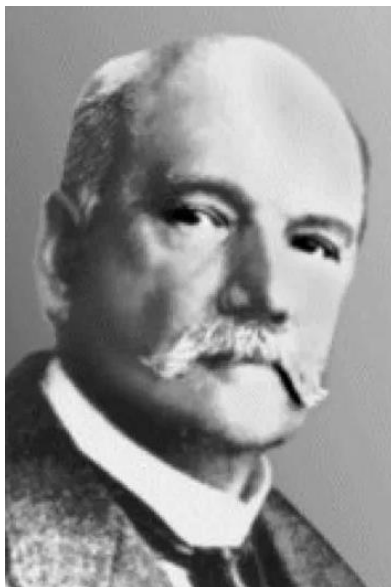


Рис. 21. Карл Альбрехт Коссель (1853 – 1927) – немецкий биохимик, физиолог

В 1879 году исследователь К. Альбрехт Коссель (рис. 21) открыл причину подагры, также известной как «нога в капкане». Он определил наличие нуклеина в суставах, что побудило его исследовать его химический состав. В ходе своего анализа он обнаружил, что нуклеин содержит желтое соединение под названием гуанин, которое является производным мочевой кислоты. Интересно, что ранее, в 1858 году, А. Стрекером из перуанского гуано был выделен гуанин (рис. 22) – ценное удобрение, получаемое из птичьего помета [1, 4].

Для проведения экспериментов ученый извлек нуклеин из вилочковой железы быков. В греческой культуре вилочковая железа называлась «адена», что означает «твердый». В результате ученый назвал два вещества, выделенные из нуклеина, тимином и аденином (рис. 23, 24). Позже из клеток вилочковой железы было выделено еще одно соединение, названное цитозином (рис. 25).

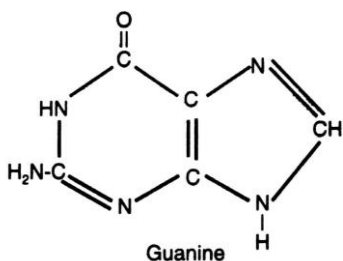


Рис. 22. Гуанин

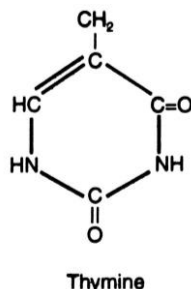


Рис. 23. Тимин

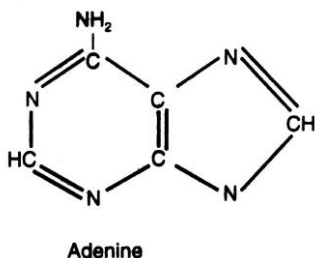


Рис. 24. Аденин

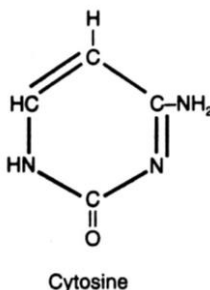


Рис. 25. Цитозин

За это исследование Коссель получил Нобелевскую премию по медицине в 1910 г. Эксперимент Косселя показал, что нуклеин содержит четыре соединения: аденин (А), гуанин (G), цитозин (С) и тимин (Т). Химик Фебус Левен далее определил, что, помимо этих азотистых оснований, нуклеин также содержит фосфорную кислоту и моносахарид дезоксирибозу (рис. 26).

Левен успешно выделил рибозу во время исследования нуклеина в 1909 г. (рис. 27). Следовательно, он стал первым человеком, определившим структуру мономеров, образующих нуклеин, также известный как нуклеиновые кислоты. Первичным компонентом нуклеотида (рис. 28) является азотистое основание (А, G, С, Т), за которым следует сахар дезоксирибоза, а фосфорная кислота охватывает всю структуру, придавая нуклеину кислотные свойства [1, 4].

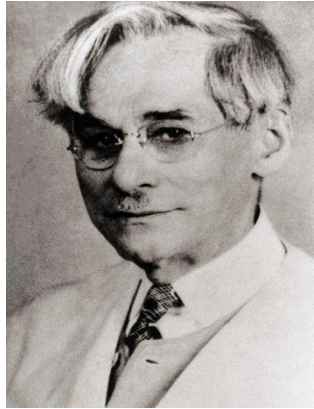


Рис. 26. Фейб Левен (1869 – 1940) – американский биохимик русского происхождения

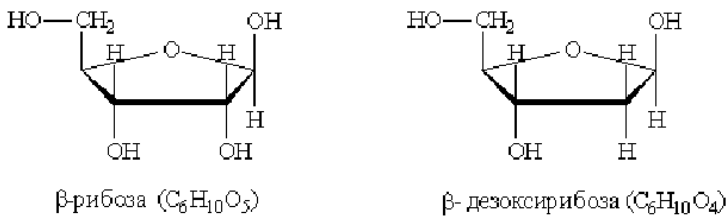


Рис. 27. Сахара нуклеиновых кислот

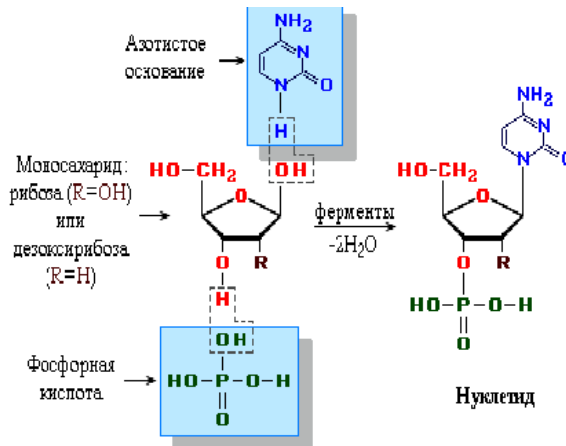


Рис. 28. Структура и составные части нуклеотида



Рис. 29. Фредерик Гриффит (1877 – 1941) – британский бактериолог

В 1923 году микробиолог из Оксфорда Ф. Гриффит опубликовал небольшую работу (рис. 29), в которой обсуждалось понятие «трансформация», предполагающая превращение пневмококков – бактерий, ответственных за пневмонию. Пневмококки при культивировании образуют колонии двух типов: с «оболочкой» и без. Гриффит обнаружил, что колонии со скорлупой смертельны для мышей, тогда как колонии без скорлупы безвредны. Он заметил, что, уничтожая бактерии с оболочкой путем нагревания и затем смешивая их с безвредными, некоторые из ранее безвредных бактерий становились вирулентными (рис. 30).

Уже было известно, что нагревание приводит к денатурации белков и потере биологической активности. Это позволило предположить, что в генетической трансформации участвовало другое соединение. К сожалению, в то время научное сообщество не уделяло должного внимания работе Гриффита.

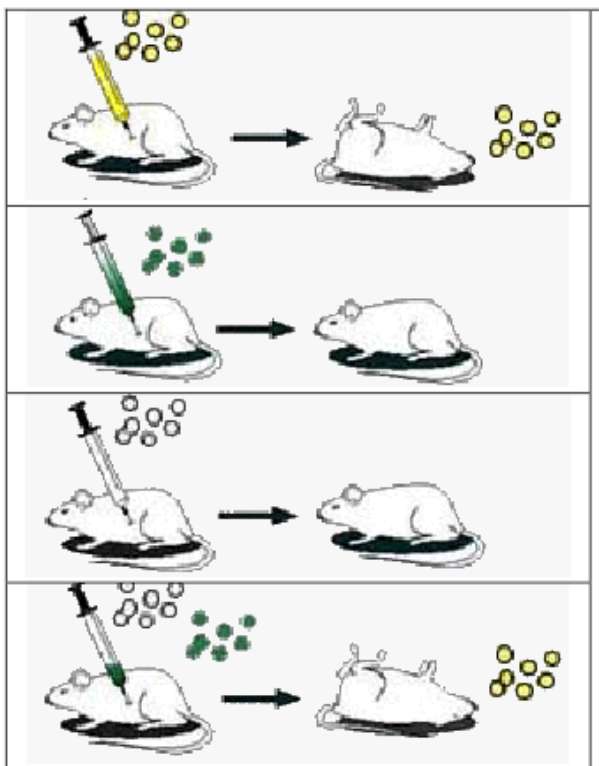


Рис. 30. Схема эксперимента Ф. Гриффита

В 1943 году Освальд Эйвери, изучая пневмококки, наткнулся на статью Ф. Гриффита. Он незамедлительно поручил своим сотрудникам проверить британские данные. Они подтвердили ее точность и обнаружили, что трансформация пневмококков может происходить и в лабораторных условиях, что облегчает изучение этого молекулярного явления. Эйвери был уверен, что это действительно молекулярный феномен [1, 4 – 6, 9] (рис. 31).

Маккарти С. М. и Маклеодом К. (рис. 32, 33) доказали, что за трансформацию ответственна «кислота дезоксирибозного типа», о чем они и написали в статье, вышедшей в свет 4 февраля 1944 г.



Рис. 31. Освальд Теодор Эвери (1877 – 1955) – американский молекулярный биолог



Рис. 32. Маклин Маккартни (1911 – 2005) – американский биолог

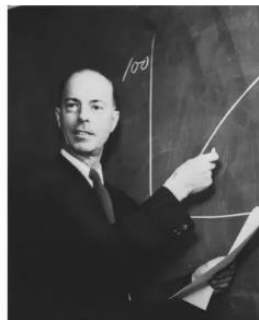


Рис. 33. Колин Маклеод (1909 – 1972) – канадско-американский генетик

К тому времени физики предоставили биологам радиоактивные изотопы, известные теперь как радионуклиды, которые стали незамеченными в экспериментах. Чтобы понять роль ДНК и белков, ученые сочли полезным использовать изотопы фосфора и серы, ведь ДНК не содержит серы, а белки не содержат фосфора. В 1952 году А. Херши и М. Чейз решили изучить эффекты мечения белков и ДНК фага радиоактивной серой и фосфором соответственно [9] (рис. 34).



Рис. 34. Марта Чейз (1927 – 2003) и Альфред Херши (1908 – 1997) – американские бактериологи и генетики

Bacteriophage T4

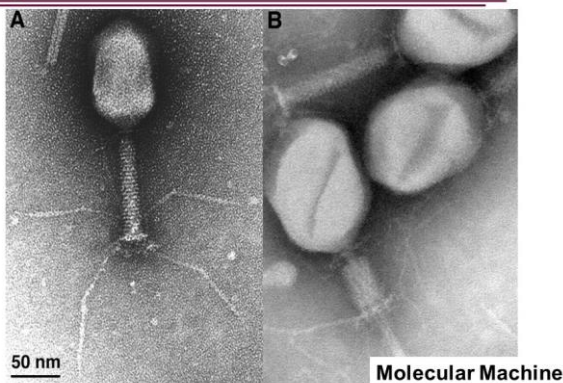


Рис. 35. Бактериофаг под электронным микроскопом (<https://serg-crb.ru>)

Оказалось, что в клетку микроорганизма проникает только ДНК вируса, меченная по фосфору, а его белковая оболочка остается снаружи. Этот эксперимент доказал справедливость вывода Эйвери: генетическим материалом является ДНК, а не белок (рис. 36).

Окончательную точку в вопросе о том, какая же молекула является хранителем наследственной информации, поставили опыты Френкеля-Конрата (1957) (рис. 37), который работал с вирусом табачной мозаики (ВТМ). В этом вирусе содержится РНК, а не ДНК. Вирус можно «разобрать» и «собрать» снова, но уже так, что РНК вируса одного штамма будет окружена белковой оболочкой вируса другого штамма [9].

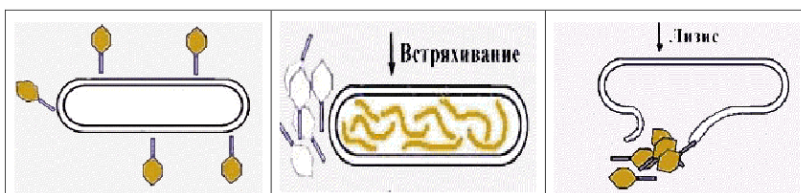


Рис. 36. Схема эксперимента А. Херши и М. Чейз

Разные штаммы вируса вызывают различные симптомы поражения листьев табака. После изменения белковой оболочки «переодетые» вирусы вызывали симптомы, характерные для штамма, чья РНК была покрыта чужим белком. Позднее из пораженных растений были выделены вирусы штамма 1. Это свидетель-



Рис. 38. Хайнц Людвиг Френкель-Конрат (1910 – 1999) – немецко-американский биохимик

ствует о том, что не только ДНК, но и РНК могут служить носителями генетической информации. На сегодняшний день существует множество доказательств генетической роли нуклеиновых кислот. Приведенные три примера являются классическими [1, 2, 9].

Вопросы к главе 4

1. Что обозначает термин «нуклеин»?
2. Какой ученый впервые выделил нуклеин?
3. Перечислите азотистые основания, входящие в состав нуклеотидов ДНК?
4. Расскажите, что вам известно о строении нуклеотида ДНК.
5. Расскажите о научных достижениях Ф. Гриффита.
6. Опишите эксперимент А. Херши и М. Чейза.
7. Какой новый метод (для 50-х годов XX века) использовался при проведении эксперимента А. Херши и М. Чейза?
8. Опишите эксперимент Френкеля-Конрата.
9. Используя дополнительную литературу, расскажите о ретровирусах.
10. Что такое бактериофаг?

5. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ДНК. МОДЕЛЬ ДНК КРИКА–УОТСОНА

В 1950-е годы ученые накопили значительный объем знаний о нуклеиновых кислотах и активно изучали их состав. Было понятно, что нуклеиновые кислоты представляют собой крупные природные полимеры с молекулярной массой до миллиона. Строительные блоки этого полимера были названы нуклеотидами.

Чаргафф Э., исследователь из Колумбийского университета в Нью-Йорке сделал важное открытие, известное как правило Чаргаффа (рис. 38). Он обнаружил, что в ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоте) количество аденина А всегда равняется количеству тимина Т, а количество гуанина G – количеству цитозина С. Это открытие позже привело к пониманию структуры двойной спирали ДНК.

Сам Чаргафф отметил, что, поделившись своими результатами, он наблюдал, как двое энтузиастов (Уотсон и Крик) пытались собрать нуклеотиды в спираль, не до конца понимая структуру соединений,

которые должны образовать эту спираль [1, 4 – 7].

Значительных результатов в этой области достигла группа М. Уилкинса (рис. 39) из Кембриджа, сотрудники этой лаборатории исследовали ДНК с помощью метода кристаллографии. Уилкинс утверждал, что согласно его данным, ДНК представляет собой спираль, а Розалин Франклин (рис. 40) – сотрудница его лаборатории не соглашалась. Тем не менее именно фотография, полученная



Рис. 38. Эрвин Чаргафф (1905 – 2002) – американский биохимик

Р. Франклин, сыграла решающую роль в прозрении Д. Уотсона и Ф. Крика [1, 2, 7].

Из разговора с Уилкинсом Уотсон узнает о другой, не А-, а В-форме ДНК, которую получила на своих рентгенограммах Р. Франклин (рис. 41).

Уотсон Дж.: «И вдруг я заметил, что пара аденин–тимин, соединенная водородными связями, имеет точно такую же форму, как и пара гуанин–цитозин» [2].



Рис. 39. Мóрис Уйлкинс (1916 – 2004) – английский физик и молекулярный биолог



Рис. 40. Розалинд Франклин (1920 – 1958) – английский биофизик и ученая-рентгенограф

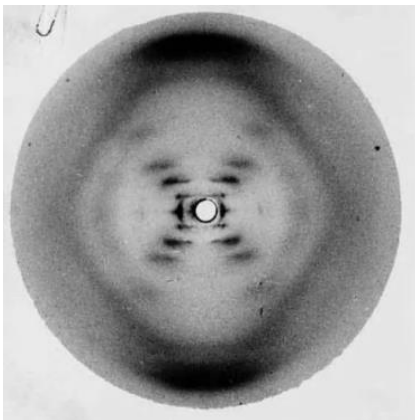


Рис. 41. Знаменитая фотография 51 – рентгенограмма волокон натриевой соли тимусной ДНК в В-форме (<https://ru.wikipedia.org>)

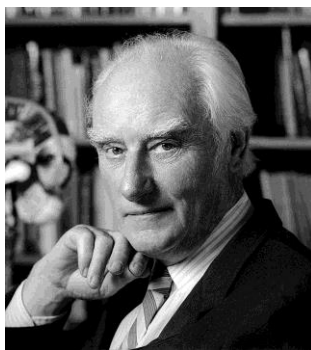
Вскоре Дж. Уотсон и Ф. Крик (рис. 42) написали свою знаменитую статью (рис. 43), где описывали строение молекулы ДНК, которое знакомо каждому [2].

«Мы предлагаем вашему вниманию структуру ДНК, имеющую некоторые новые свойства, которые представляют значительный биологический интерес...» именно так начиналась их статья в номере международного научного журнала Nature от 27 апреля 1953 года [1, 2, 4].

В этой статье они предлагали модель двухцепочечной спирали ДНК (рис. 44). В 1962 году Уотсон, Крик и Уилкинс за свое открытие были удостоены Нобелевской премии по медицине. Франклин Р., к сожалению, к этому времени умерла от рака. Сейчас известно, что ДНК и РНК (рибонуклеиновая кислота) представляют собой линейные полимеры, построенные из нуклеотидов, каждый из которых состоит из трех компонентов: азотистого основания, являющегося производным пурина или пиримидина, пентозы (рибозы или дезоксирибозы) и остатка фосфорной кислоты.



а)



б)

Рис. 42. Ученые, установившие структуру молекулы ДНК:

а – Джеймс Дьюи Уотсон (род. 1928 г.) – американский молекулярный биолог, генетик и зоолог; *б* – Фрэнсис Крик (1916 – 2004) – британский молекулярный биолог, биофизик и нейробиолог

equipment, used to Dr. G. E. B. Donson and the captain and officers of R.R.S. *Discovery II* for their part in making the observations.

Young, V. B., Gerrard, H., and Brown, W., *Phil. Mag.*, **44**, 343 (1949).

Thorne, H. K., *Ann. Roy. Soc. Austr. Soc. Geophys. Expt.*, **1**, 205 (1948).

Young, V. B., *Weeks Slide Papers in Phys. Geology, Volume II* (1949).

Young, V. B., *Ann. Roy. Soc. Austr. Soc. Geophys. Expt.* **2**(1) (1953).

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey¹. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons: (1) We believe that the material which gives the X-ray diagram is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

Another three-chain structure has also been suggested by Fraser (in the press). In his model the phosphates are on the outside and the bases on the inside, linked together by hydrogen bonds. This structure as described is rather ill-defined, and for this reason we shall not comment on it.



The fibre is made up essentially of two chains, one phosphate-sugar chain, and the bases, which form the rungs between the chains. The vertical line marks the fibre axis.

We wish to put forward a radically different structure for the salt of deoxyribose nucleic acid. This structure has two helical chains each coiled round the same axis (see diagram). We have made the usual chemical assumptions, namely, that each chain consists of phosphate diester groups joining 5'-deoxy-ribose residues with 3',5' linkages. The two chains (but not their bases) are related by a dyad perpendicular to the fibre axis. Both chains follow right-handed helices, but owing to the dyad the sequences of the atoms in the two chains run in opposite directions. Each chain loosely resembles Furberg's model No. 1; that is, the bases are on the inside of the helix and the phosphates on the outside. The configuration of the sugar and the atoms near it is close to Furberg's 'standard configuration', the sugar being roughly perpendicular to the attached base. There

is a residue on each chain every 3.4 Å, in the z-direction. We have assumed an angle of 36° between adjacent residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distance of a phosphate atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, rungs have easy access to them.

The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure would become more compact.

The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so that the two lie side by side with identical z-co-ordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 1; purine position 6 to pyrimidine position 6.

If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric forms (that is, with the keto rather than the enol configurations) it is found that only specific pairs of bases can bond together. These pairs are: adenine (purine) with thymine (pyrimidine), and guanine (purine) with cytosine (pyrimidine).

In other words, if an adenine forms one member of a pair, on either chain, then on those assumptions the other member must be thymine; similarly for guanine and cytosine. The sequence of bases on a single chain does not appear to be restricted in any way. However, if only specific pairs of bases can be formed, it follows that if the sequence of bases on one chain is given, then the sequence on the other chain is automatically determined.

It has been found experimentally^{2,3} that the ratio of the amounts of adenine to thymine, and the ratio of guanine to cytosine, are always very close to unity for deoxyribose nucleic acid.

It is probably impossible to build this structure with a thiose sugar in place of the deoxyribose, as the extra oxygen atom would make too close a van der Waals contact.

The previously published X-ray data^{4,5} on deoxyribose nucleic acid are insufficient for a rigorous test of our structure. So far as we can tell, it is roughly compatible with the experimental data, but it must be regarded as improved until it has been checked against more exact results. Some of these are given in the following communications. We were not aware of the details of the results presented there when we devised our structure, which rests mainly though not entirely on published experimental data and stereochemical arguments.

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material. Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of co-ordinates for the atoms, will be published elsewhere.

We are much indebted to Dr. Jerry Donohue for constant advice and criticism, especially on interatomic distances. We have also been stimulated by a knowledge of the general nature of the unpublished experimental results and ideas of Dr. M. H. F. Wilkins, Dr. R. E. Franklin and their co-workers at

Рис. 43. Статья Дж. Уотсона и Ф. Крика

В состав любой из нуклеиновых кислот входят два производных пурина (аденин, гуанин) и два производных пиримидина: в РНК – цитозин и урацил, а в ДНК – цитозин и тимин (табл. 2, 3).

2. Строение нуклеотидов РНК [4 – 11]

Азотистое основание	Пентоза	Нуклеозид	Нуклеотид	Однобуквенный код
Аденин	Рибоза	Аденозин	Аденозин-монофосфат (АМФ)	А
Гуанин	Рибоза	Гуанозин	Гуанозин-монофосфат (ГМФ)	Г
Урацил	Рибоза	Уридин	Уридин-монофосфат (УМФ)	У
Цитозин	Рибоза	Цитидин	Цитидин-монофосфат (ЦМФ)	С

3. Строение нуклеотидов ДНК [4 – 11]

Азотистое основание	Пентоза	Нуклеозид	Нуклеотид	Однобуквенный код
Аденин	Дезоксирибоза	д-Аденозин	Дезоксиаденозин-монофосфат (дАМФ)	А
Гуанин	Дезоксирибоза	д-Гуанозин	Дезоксигуанозин-монофосфат (дГМФ)	Г
Тимин	Дезоксирибоза	д-Тимидин	Дезокситимидин-монофосфат (дТМФ)	Т
Цитозин	Дезоксирибоза	д-Цитидин	Дезоксицитидин-монофосфат (дЦМФ)	С

Первичная структура нуклеиновых кислот (НК) – это порядок чередования нуклеотидов в полинуклеотидной цепи, связанных между собой 3'-5'-фосфодиэфирной связью. Образующиеся полимеры имеют фосфатный остаток на 5'-конце и свободную –ОН-группу пентозы на 3'-конце (рис. 44). Штрихами обозначают углеродные атомы пентозы для того, чтобы отличать их от атомов, входящих в азотистые основания.

Для краткого изображения последовательности нуклеотидов в нуклеиновых кислотах пользуются однобуквенным кодом. При этом запись осуществляют слева направо таким образом, что первый нуклеотид имеет свободный 5' фосфатный конец, а последний –ОН-группу в 3'-положении рибозы или дезоксирибозы [4].

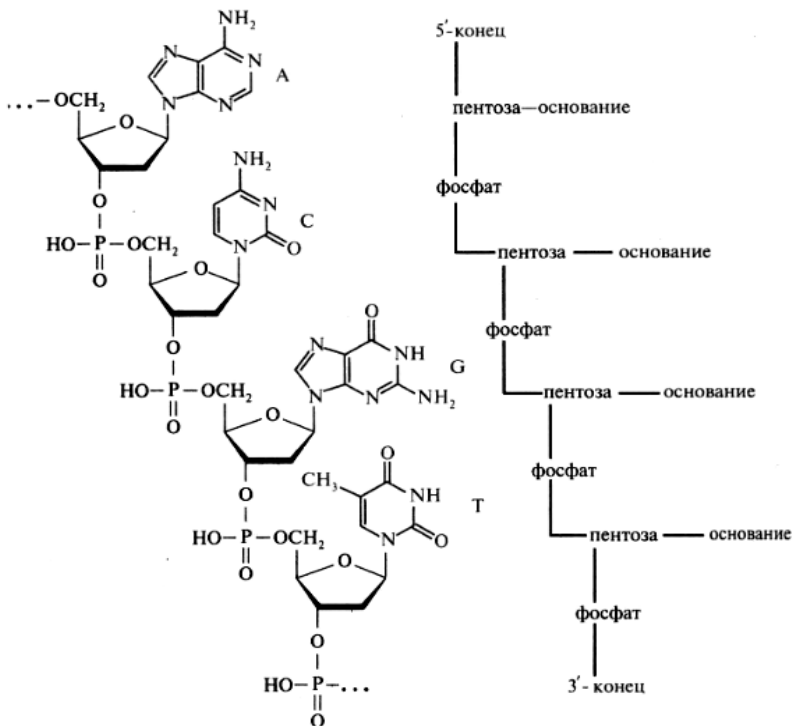


Рис. 44. Первичная структура нуклеиновых кислот

Пространственная структура ДНК [4 – 11]. Вторичная структура представляет собой правозакрученную спираль, в которой количество адениновых нуклеотидов (А) в одной цепи соответствует количеству тиминовых нуклеотидов (Т) в другой цепи, или количество сериновых нуклеотидов (С) в одной цепи соответствует количеству цитозиновых нуклеотидов (G) в другой цепи. В связи с этим в молекуле ДНК количество адениловых нуклеотидов равно количеству тимидиловых нуклеотидов ($A = T$), а количество гуаниловых нуклеотидов равно количеству цитидиловых нуклеотидов ($G = C$) (правило Чаргаффа). На рисунке 45 приведена вторичная структура ДНК, которая представляет собой правозакрученную спираль.

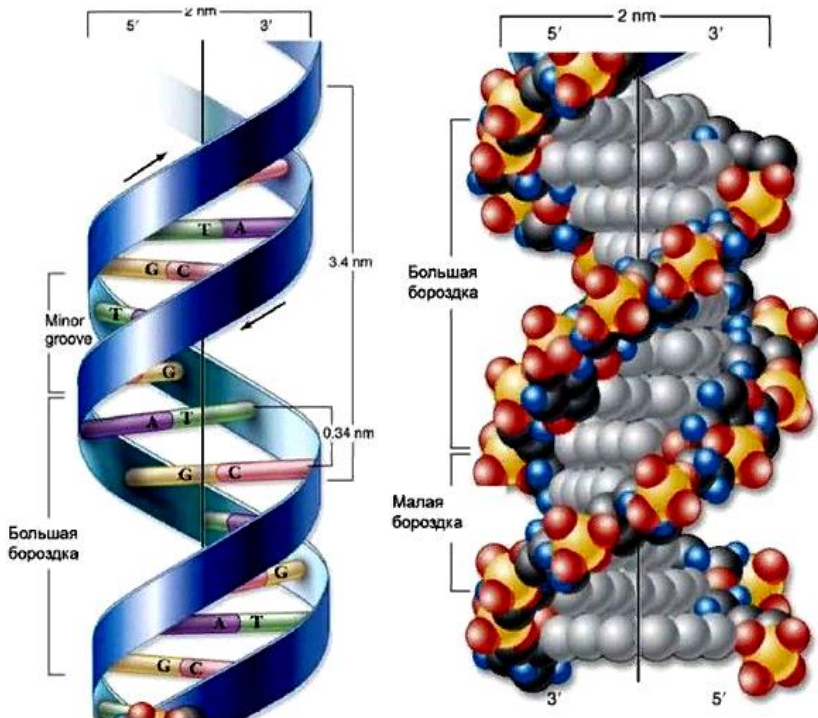


Рис. 45. Вторичная структура ДНК

Соотношение $A + T / G + C$ – величина постоянная и является видоспецифической характеристикой организма. Благодаря способности нуклеотидов к спариванию, образуется жесткая, хорошо стабилизированная двухцепочечная структура, обладающая следующими свойствами:

- две цепи расположены антипараллельно, не идентичны по составу, но комплиментарны друг другу;
- соседние основания одной цепи внутри двойной спирали находятся на расстоянии 0,34 нм друг от друга;
- вся структура повторяется через каждые 3,4 нм, совершая полный виток двойной спирали за 10 пар оснований;

– ДНК представляет собой двойную спираль (дуплекс), которая удерживается двумя силами: водородными связями между парами оснований (рис. 46) и стекинг-взаимодействиями между параллельными плоскостями соседних оснований. Главный вклад в стабильность двойной спирали вносят стекинг-взаимодействия (рис. 47) между соседними основаниями одной цепи, которые менее специфичны в отношении типа оснований [4].

Существует три формы ДНК (наиболее изученные формы), которые различаются диаметром и шагом спирали, числом пар оснований в витке, углом наклона плоскости оснований по отношению к оси молекулы (рис. 48) [4].

1. А-форма ДНК.
2. В-форма ДНК.
3. Z-форма ДНК.

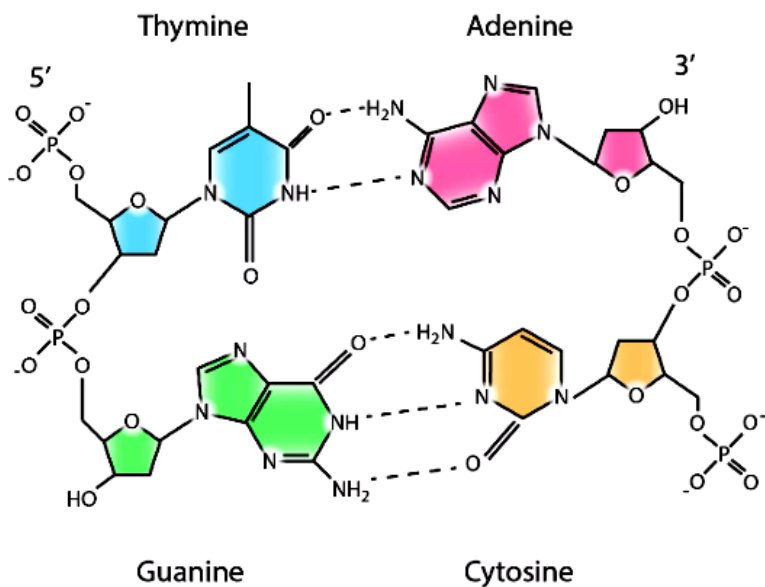


Рис. 46. Водородные связи между азотистыми основаниями

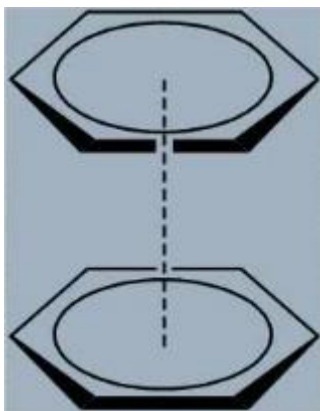


Рис. 47. Стекинг-взаимодействие оснований – межплоскостное нековалентное взаимодействие расположенных друг над другом оснований в нуклеиновых кислотах

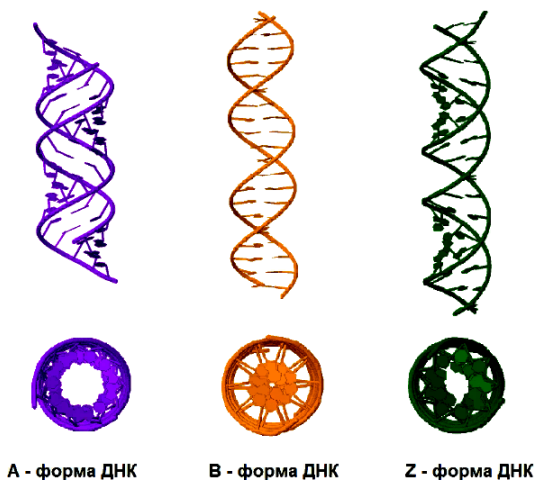


Рис. 48. Типы двойных спиралей ДНК

В-форма ДНК – это классическая уотсон-криковская двойная спираль, которая имеет диаметр 2 нм, шаг 3,4 нм, 10 пар оснований в витке и угол наклона оснований к оси спирали 6° . Для этой формы угол скручивания двойной опирали φ равен 36° . В-форма,

по-видимому, благоприятна для процесса репликации, так как она обеспечивает большое количество пар оснований в витке, что позволяет более эффективно кодировать информацию.

A-форма ДНК – это уотсон-криковская двойная спираль, которая имеет диаметр 2,6 нм, шаг 2,6 нм, 11 пар оснований в витке и угол наклона оснований к оси спирали 20° . При таком расположении правая двойная спираль сохраняется, но основания уже не перпендикулярны оси, а находятся под другим углом. Форма А является предпочтительной для процессов транскрипции, так как она обеспечивает большое количество пар оснований в витке, что позволяет более эффективно кодировать информацию.

Z-форма ДНК – это левозакрученная двойная спираль, которая имеет диаметр 11-буквенный, шаг 5-буквенный, 24 пары оснований в витке и фосфоэфирный остов, расположенный зигзагообразно вдоль оси. Она обладает только одной бороздкой и может образовываться в участках В-ДНК, богатых GC, при совершенно ином расположении нуклеотидов: двойная спираль скручена влево, а остов имеет характерную зигзагообразную форму. Z-форма может участвовать в регуляции экспрессии генов, так как регуляторные белки могут специфически взаимодействовать с определенными атомами нуклеотидных оснований, что позволяет контролировать экспрессию генов.

Описанные формы ДНК способны к взаимно обратимым переходам в зависимости от условий среды.

Третичная структура ДНК формируется в результате ее взаимодействия с белками. Каждая молекула ДНК упакована в отдельную хромосому, в составе которой разнообразные белки связываются с отдельными участками ДНК и обеспечивают суперспирализацию и компактизацию молекулы. В период покоя комплексы ДНК с белками распределены равномерно по объему ядра, образуя хроматин. Белки хроматина включают две группы: гистоны и негистоновые белки.

Гистоны – это небольшие белки с молекулярной массой от 11 000 до 22 000 Да и высоким содержанием лизина и аргинина. Четыре типа гистонов в количестве восьми молекул (по две каждого вида) образуют комплекс – нукleosомный кор. Этот комплекс за счет ионных связей взаимодействует с отрицательно заряженными фосфатными группами участка ДНК длиной около 146 нуклеотидов. Между нукleosомами находятся участки ДНК длиной около 30 нуклеотидных пар – линкерные нуклеотидные цепи, которые расположены антипараллельно и удерживаются относительно друг друга за счет водородных связей между комплементарными азотистыми основаниями: А = Т и G – С (рис. 49).

Негистоновые белки состоят из множества ферментов и белков, которые участвуют в синтезе ДНК. РНК, которая регулирует процессы синтеза и компактизации ДНК, также является видоспецифической характеристикой организмов. Значительное количество знаковых клеток, таких как нуклеиновые кислоты, денатурирует негистоновые белки при нагревании до 80...90 °С, разрушая их пространственную структуру и образуя одноцепочечные молекулы [4 – 11].

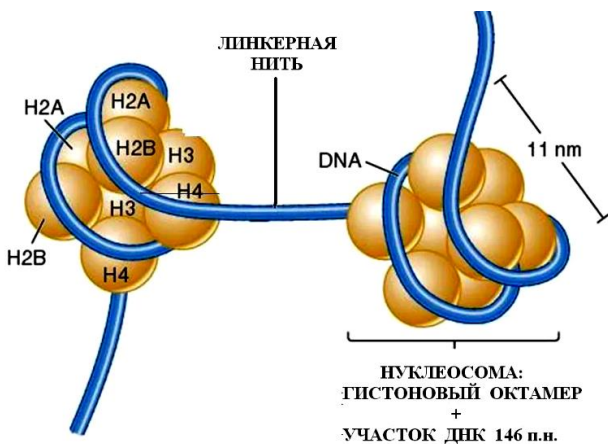


Рис. 49. ДНК-нукleosомная нить

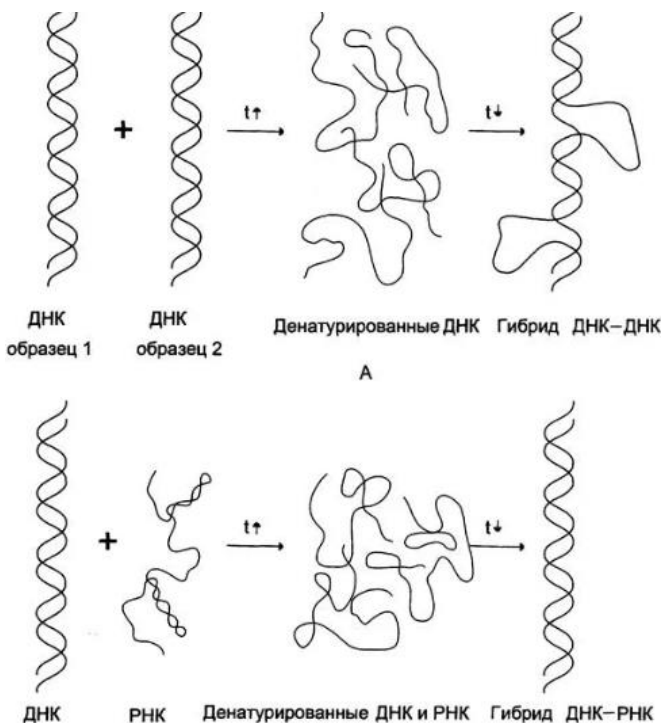


Рис. 50. Гибридизация нуклеиновых кислот

При медленном охлаждении одиночные нити нуклеиновых кислот могут восстанавливать двойную спираль и приобретать исходную структуру, либо образовывать гибриды, которые могут быть совершенными или несовершенными, в зависимости от комнатной структуры нитей друг друга по всей длине цепей. Образование гибридов осуществляется методом молекулярной гибридизации, который позволяет устранить различия в строении принадлежащих им негистоновых белков и образовать совершенные гибриды (рис. 50). ДНК, выделенная из тканей определенного организма, содержит информацию о структуре всех видов РНК данного организма. Это свидетельствует о специфичности ДНК для каждого вида и о том, что большая филогенетическая дистанция между видами может привести к большему количеству различий в строении принадлежащих им ДНК.

Вопросы к главе 5

1. Расскажите о правиле Чаргаффа.
2. Какой экспериментальный метод позволил сделать фотографии молекулы ДНК, которые использовались для определения ее структуры?
3. Что такое нуклеозид?
4. Какими буквами обозначаются нуклеотиды ДНК и РНК?
5. Что из себя представляет первичная структура ДНК?
6. Чем примечательно соотношение $A + T / G + C$?
7. Что из себя представляет вторичная структура ДНК?
8. Перечислите основные свойства вторичной структуры ДНК.
9. Какие взаимодействия вносят главный вклад в стабильность двойной спирали?
10. Сколько водородных связей образуется между А и Т?
11. Какие формы вторичной структуры ДНК известны?
12. Перечислите основные параметры В-формы молекулы ДНК?
13. Что из себя представляет третичная структура ДНК?
14. Что такое хроматин?
15. Дайте определение термину «гистон».
16. Что такое нуклеосома?
17. Что такое метод молекулярной гибридизации?
18. Какие закономерности позволил установить метод молекулярной гибридизации?
19. Используя дополнительную литературу, прочитайте о том, какую структуру молекулы ДНК предложил Л. Полинг.
20. Для какого процесса предпочтительнее форма А молекулы ДНК?

6. ЦЕНТРАЛЬНАЯ ДОГМА МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

В 1957 году Фрэнсис Крик впервые предложил теорию, описывающую, как генетическая информация, хранящаяся в ДНК, передается белкам через РНК без обратного потока информации (как показано на рис. 51) [13].

Крик, лауреат Нобелевской премии за открытие структуры ДНК, первоначально назвал эту гипотезу «центральной догмой молекулярной биологии» (рис. 52).

Однако позже он признался, что использовал термин «догма», не до конца понимая его значение. На момент своего заявления у Крика не было особых экспериментальных доказательств в поддержку своих рассуждений. Однако с тех пор было доказано, что он был прав [13].



Рис. 51. Центральная догма молекулярной биологии

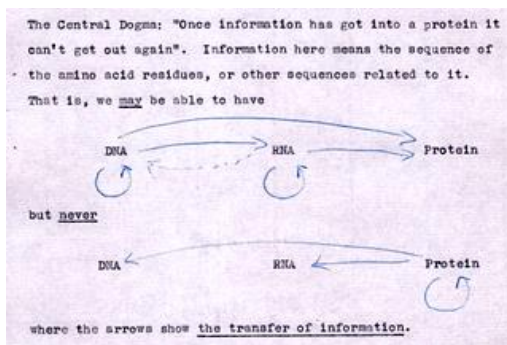


Рис. 52. Черновик, написанный Ф. Криком в 1956 году (Cobb M, PLOS Biology 2017 / Wellcome Library)

Центральная догма теперь кажется очевидной, поскольку ее преподают на школьных уроках биологии. В черновике говорится, что генетическая информация кодируется в ДНК, реплицируется посредством репликации ДНК и используется для создания белков посредством декодирования информационной РНК. Белки, имеющие решающее значение для функций клеток, синтезируются на рибосомах с использованием последовательностей информационной РНК в качестве инструкций и аминокислот в качестве строительных блоков.

Точному декодированию информационной РНК способствуют молекулы транспортной РНК, содержащие антикодоны, соответствующие кодонам РНК (и ДНК) и специфическим аминокислотам.

Этот процесс следует универсальным принципам генетического кода, обнаруженным почти во всех живых организмах.

Крик сформулировал эти принципы в своей лекции еще до того, как большая часть этих знаний стала известна. Он предсказал существование промежуточных РНК, тРНК и принципов генетического кода, которые позже были подтверждены экспериментами. «Догма» остается неоспоримой, поскольку синтез ДНК на белковой матрице не открыт [13].

Вопросы к главе 6

1. Нарисуйте схему, описывающую центральную догму молекулярной биологии.

2. Используя определение слова «догма», поясните, почему Ф. Крик некорректно его употребил.

3. Используя дополнительную литературу, кратко ознакомьтесь с процессом обратной транскрипции.

4. Используя дополнительную литературу, ознакомьтесь с определениями «транскрипция» и «трансляция». Выпишите эти определения себе в тетрадь.

5. Используя дополнительную литературу, прочитайте о белках-прионах. Влияет ли существование таких белков на правильность центральной догмы молекулярной биологии.

6. Используя дополнительную литературу, ознакомьтесь с термином «репликация». Выпишите определение в тетрадь.

7. Для каких биологических систем характерна репликация РНК?

8. Подумайте и порассуждайте, почему формулирование центральной догмы молекулярной биологии в 1957 году – это выдающееся достижение.

7. РЕПЛИКАЦИЯ ДНК

После того как Уотсон и Крик определили структуру двойной спирали ДНК, считалось, что новые спирали образуются с использованием существующих спиралей в качестве шаблонов, в результате чего образуются дочерние спирали, комплементарные родительским нитям [4, 14].

Этот матричный синтез может происходить по консервативному или полуконсервативному механизму.

При консервативном механизме родительская спираль сохраняется, а две дочерние цепи образуют новую двойную спираль.

При полуконсервативном механизме родительские цепи полностью разделяются, и каждая образует новую двойную спираль с дочерними нитями, которые создаются путем спаривания комплементарных нуклеотидов.

Эксперимент Мезельсона и Сталя в 1958 г. предоставил доказательства, подтверждающие полуконсервативный механизм (рис. 53, 54).

Они выращивали клетки *E. coli* в среде, содержащей тяжелый изотоп азота ^{15}N , который и метил исходную ДНК. Затем клетки переносили на среду, содержащую легкий изотоп азота ^{14}N .

Пробы отбирали периодически, и ДНК из каждого образца анализировали с помощью центрифугирования в равновесном градиенте плотности [4, 14].

Это давало возможность зарегистрировать тяжелые (*heavy-heavy*, Н-Н), смешанные (*heavy-light*, Н-Л) и легкие (*light-light*, Л-Л) дуплексы. Если бы репликация проходила по консервативному механизму, то невозможно было бы образование Н-Л-дуплексов, в то время как полуконсервативный механизм в большинстве генерирует как раз

H-L-дууплексы (рис. 54). Эксперимент показал, что первое дочернее поколение состоит из H-L-дууплексов, а во втором примерно поровну H-L- и L-L-дууплексов (рис. 55). В дальнейших поколениях появлялась все большая доля L-L-дууплексов, как и предсказывал полуконсервативный механизм репликации.



Рис. 53. Мэтт Мезельсон (род. 1930) и Фрэнк Сталь (род. 1929) – американские молекулярные биологи и генетики

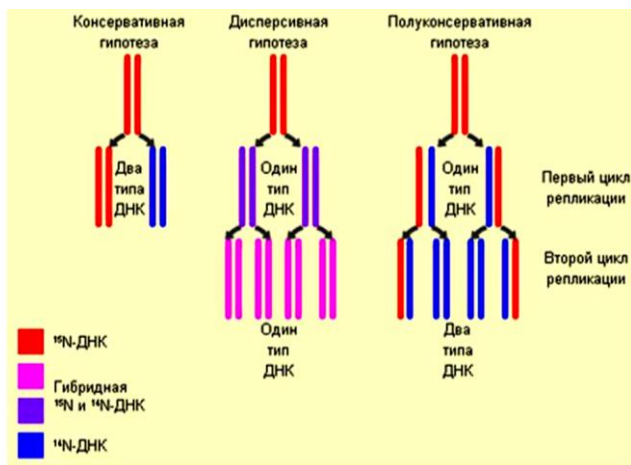


Рис. 54. Схемы консервативного и полуконсервативного механизмов репликации ДНК

Как при репликации ДНК, так и при транскрипции ДНК процесс копирования цепи матрицы в комплементарную цепь является общей чертой. Это гарантирует сохранение информации в исходном шаблоне. Хотя некоторые вирусы используют одноцепочечную РНК в качестве матрицы для синтеза комплементарных цепей ДНК или РНК, большинство молекул РНК и ДНК в клетках синтезируются из существующих двухцепочечных структур. Молекулы как РНК, так и ДНК создаются с помощью дезоксирибонуклеозид-5'-трифосфатов (dNTP), а синтез ДНК, как и РНК, происходит в направлении 5'→3'. Росту цепи ДНК способствует образование фосфодиэфирной связи между 3'-кислородом растущей цепи и фосфатом dNTP аналогично синтезу РНК [4, 14].

Синтез нити ДНК катализируется ферментом *ДНК-полимераза*. Строительными блоками, используемыми ДНК-полимеразой, являются четыре типа молекул, называемых дезоксирибонуклеозидтрифосфатами: dATP, dCTP, dGTP и dTTP.

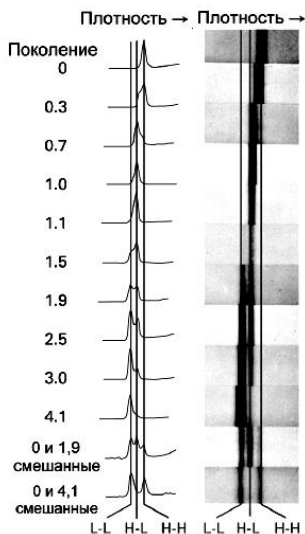


Рис. 55. Анализ репликации ДНК методом центрифугирования



Рис. 56. Схема праймера репликации

В отличие от РНК-полимеразы, ДНК-полимераза не может самостоятельно начинать новую цепь. Для этого требуется существующая цепь ДНК или РНК, известная как праймер (рис. 56).

Когда праймер уже соединен с цепью ДНК-матрицы, ДНК-полимераза добавляет соответствующий строительный блок (dNTP) к гидроксильной группе на 3'-конце праймера, следуя информации, закодированной в цепи матрицы. Если праймером является РНК, вновь синтезированная цепь будет иметь РНК на 5'-конце и ДНК на 3'-конце.

Репликационная вилка [4, 14]. Чтобы произошла репликация, дуплекса ДНК необходимо раскрутить или еще говорят, расплавлены, *melted*.

Это осуществляется ферментами геликазами с помощью гидролиза АТФ.

Процесс репликации начинается с определенных последовательностей, называемых началом репликации (*replication origin*) или просто *ориджином*, которые имеют высокую концентрацию пар АТ.

Хеликаза раскручивает дуплекс, а специализированная РНК-полимераза, называемая праймазой, синтезирует короткий праймер РНК, который дополняет цепь матрицы.

ДНК-полимераза удлиняет праймер с образованием дочерней цепи. Этот процесс происходит на вилке репликации. Торсионные напряжения в ДНК, вызванные движением репликационной вилки, снимаются топоизомеразой I.

Хеликаза постоянно раскручивает дуплекс, а топоизомераза удаляет суперспирали, позволяя ДНК-полимеразе непрерывно копировать ДНК.

Основная проблема во время репликации ДНК на репликационной вилке связана с двумя факторами (рис. 57):

1) нити родительской ДНК идут в противоположных направлениях;

2) ДНК-полимераза (и РНК-полимераза) может удлинять дочернюю цепь только в направлении $5' \rightarrow 3'$.

Ведущую цепь, которая представляет собой непрерывно синтезируемую дочернюю цепь, можно получить, начиная с одного праймера в направлении $5' \rightarrow 3'$, следуя за движением репликационной вилки. Однако возникают сложности при синтезе отстающей цепи. Поскольку он должен расти в направлении $5' \rightarrow 3'$, копирование шаблона происходит противоположно движению репликационной вилки. Чтобы решить эту проблему, клетка периодически генерирует новые праймеры на цепи матрицы по мере раскручивания ДНК, позволяя высвободить дополнительные основания.

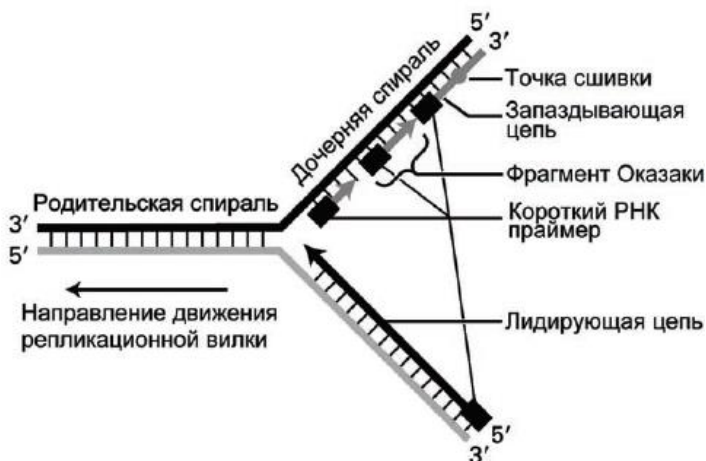


Рис. 57. Схема формирования лидирующей и запаздывающей цепей

Каждый праймер, соединенный с цепью матрицы, простирается в направлении 5'→3', образуя фрагменты Оказаки (в честь Рейджи Оказаки, который их открыл (рис. 58)).

РНК-праймер каждого фрагмента Оказаки *удаляется и замещается ДНК-цепью* соседнего растущего фрагмента Оказаки. Фермент *ДНК-лигаза* сшивает соседние фрагменты.

Детальная информация о том, как белки участвуют в репликации ДНК эукариот, была получена благодаря исследованию репликации малых вирусных ДНК, в частности кольцевой ДНК вируса SV40, инфицирующего обезьян (рис. 59).

На рисунке 59 представлены те белки, которые координируют копирование SV40 ДНК в репликационной вилке. Этот многокомпонентный комплекс позволяет клетке реализовывать упорядоченную последовательность событий, которые обеспечивают важные функции клетки.

В молекулярной «машине», которая реплицирует SV40 ДНК, *гексамер вирусного белка*, который называется *большой Т-антиген*, выполняющий функцию геликазы, расплетает родительскую спираль в репликационной вилке.

Все остальные белки, которые участвуют в репликации, это *собственные белки* инфицированной клетки.

Праймеры для дочерних цепей ДНК синтезируются комплексом примаза-Pol α, который включает праймазу и ДНК-полимеразу α.

ДНК-полимераза δ (также известная как ДНК-полимераза III) удлиняет праймер и более точно копирует цепь матрицы. Pol δ образует комплекс с фактором репликации C (Rfc) и ядерным антигеном пролиферирующих клеток (PCNA).



Рис. 58. Рейджи Оказаки (1930 – 1975) – японский молекулярный биолог

PCNA обеспечивает стабильность комплекса и предотвращает диссоциацию цепи матрицы.

Фактор репликации С открывает центральный канал PCNA и закрепляет его на цепи ДНК-матрицы.

Репликационный белок А (RPA) связывается с нитями матрицы в репликационной вилке, поддерживая правильную конформацию ДНК-полимеразы.

Pol α и Pol δ отсоединяют белки RPA, поскольку они синтезируют комплементарные цепи, спаренные с родительскими нитями.

Некоторые эукариотические белки, которые участвуют в репликации ДНК, не показаны на рис. 59.

Фермент *топоизомераза* I связывается с родительской ДНК перед геликазой, чтобы устранять торсионные напряжения, которые возникают при расплетании спирали.

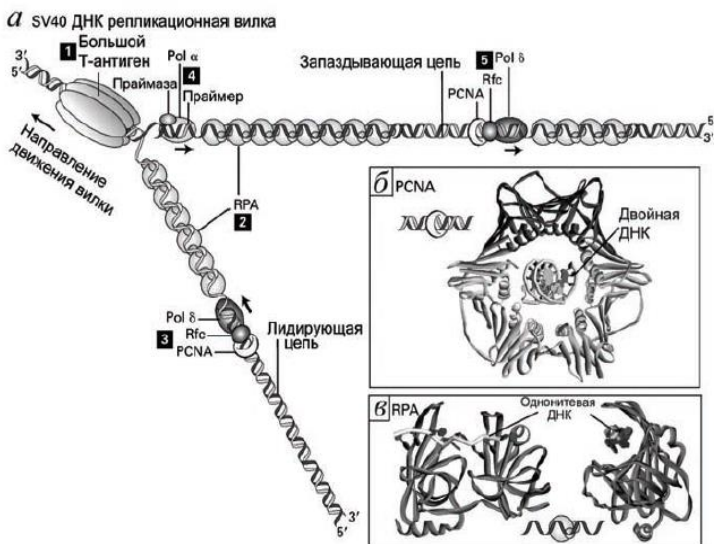


Рис. 59. Схема репликационной вилки SV40 ДНК и ассоциированных белков:

а – репликационная вилка; *б* – схема PCNA, охватывающего дуплекс ДНК; *в* – схема расположения RPA относительно матричной цепи ДНК

Специальные ферменты *рибонуклеаза H* и белок *FEN1* удаляют рибонуклеотиды на 5'-конце фрагментов Оказаки. Эти рибонуклеотиды заменяются на дезоксирибонуклеотиды ДНК-полимеразой Pol δ , когда она достигает соседнего фрагмента Оказаки [4, 14].

Завершенные фрагменты Оказаки сшиваются ферментом *ДНК-лигаза*, катализирующим образование стандартной 5'-3' фосфодиэфирной связи.

В процессе синтеза ДНК ошибки происходят примерно один раз на каждые 10 000 шагов, что приводит к добавлению неправильных оснований к цепи ДНК. Учитывая, что геном человека состоит из 3 миллиардов пар оснований, отсутствие механизмов контроля и исправления ошибок приведет к катастрофической частоте мутаций. К счастью, ДНК-полимераза обладает встроенным механизмом корректуры, позволяющим обнаруживать и исправлять эти ошибки.

ДНК-полимераза содержит два активных центра. Первый активный сайт обеспечивает правильное размещение и совпадение каждого нуклеотида в матричной цепи. Он способствует образованию сахарофосфатной связи между вновь добавленным нуклеотидом и ранее синтезированным участком цепи ДНК.

Как только первый активный сайт завершает свою задачу, второй активный сайт пытается удалить последний нуклеотид из вновь образованной двухцепочечной ДНК. Если связь нового основания слабая, второй активный сайт удаляет ее. Этот дополнительный шаг исключает нестандартное спаривание оснований, значительно повышая точность синтеза ДНК на цепи матрицы.

Двунаправленная репликация [4, 14]. Как показано на рис. 54 и 55, обе родительские нити после расплетения и разъединения репликационной вилкой копируются в дочерние нити.

С одного ориджина может начинаться как единственная репликация, при которой репликационная вилка перемещается в одном

направлении вдоль родительской спирали, так и *двунаправленная репликация (bidirectional growth)* (рис. 60), при которой две репликационные вилки организуются на одном и том же ориджине и двигаются в противоположных направлениях. Двунаправленный рост наблюдался во многих экспериментах, включая представленный на рис. 60. Кольцевая ДНК вируса была разрезана *рестрикционным ферментом*, и затем наблюдался рост области репликации симметрично в обе стороны от ориджина, демонстрируя двунаправленную репликацию.

В настоящее время общепринято, что как прокариотические, так и эукариотические клетки используют двунаправленную репликацию. В ранее упомянутом случае репликация ДНК SV40 начинается, когда две большие геликазы Т-антигена связываются с одним началом SV40. Дополнительные белки объединяются, образуя две репликационные вилки. Эти вилки движутся в противоположных направлениях, исходя из одной и той же точки. Как показано на рис. 57, левая репликационная вилка синтезирует ДНК справа налево, а правая вилка синтезирует ДНК слева направо.

Используя энергию гидролиза АТФ, геликазы двигаются в противоположных направлениях, образуя две одностранные цепи, стабилизированные RPA-белками (рис. 61, этап 1). Комплексы (праймаза-Pol α) синтезируют короткие праймеры на каждой из родительских матричных цепей (рис. 61, этап 2). Комплексы (PCNA-Rfc-Pol δ) замещают комплексы (праймаза-Pol α) и наращивают короткие праймеры, образуя лидирующую цепь на каждой из репликационных вилок (рис. 61, этап 3). Геликазы продолжают расплетать дуплекс, и RPA-белки связываются с новыми свежерасплетенными одностранными участками (рис. 61, этап 4). Комплексы (PCNA-Rfc-Pol δ) продолжают наращивать лидирующие цепи (рис. 61, этап 5). Комплексы (праймаза-Pol α) синтезируют праймеры для синтеза запаздывающих цепей на обеих репликационных вилок (рис. 61, этап 6). Комплексы (PCNA-Rfc-Pol δ)

замещают комплексы (праймаза- Pol α) и наращивают фрагменты Оказки запаздывающих цепей, которые в конце объединяются с 5'-концами лидирующих цепей. Место сшивки показано кружком (рис. 61, этап 7). Репликация продолжается дальнейшим повторением этапов 4 – 7, т.е. расплетанием ДНК и синтезом лидирующих и запаздывающих цепей. Поскольку при репликации область *ориджина* копируется в дочерние цепи в первую очередь, то возможна *инициация нового* раунда репликации еще *до завершения предыдущего*, и возникает разветвленная структура, показанная на рис. 62.

Такая «дихотомическая» репликация позволяет бактериям при благоприятных условиях иметь время генерации генома меньшее, чем время, необходимое на завершение раунда репликации ДНК.

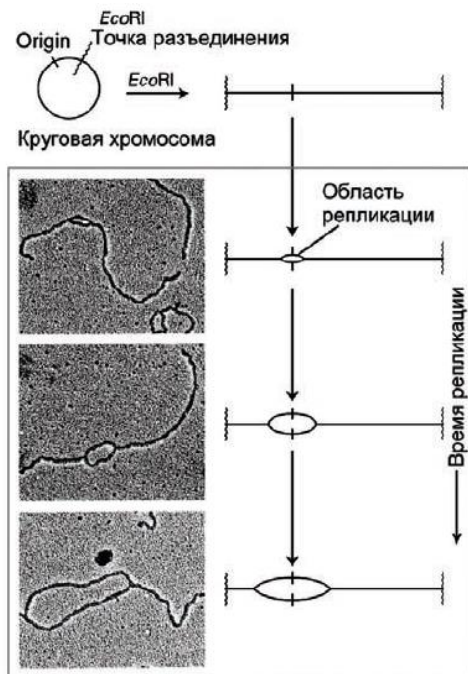


Рис. 60. Двухнаправленная репликация ДНК

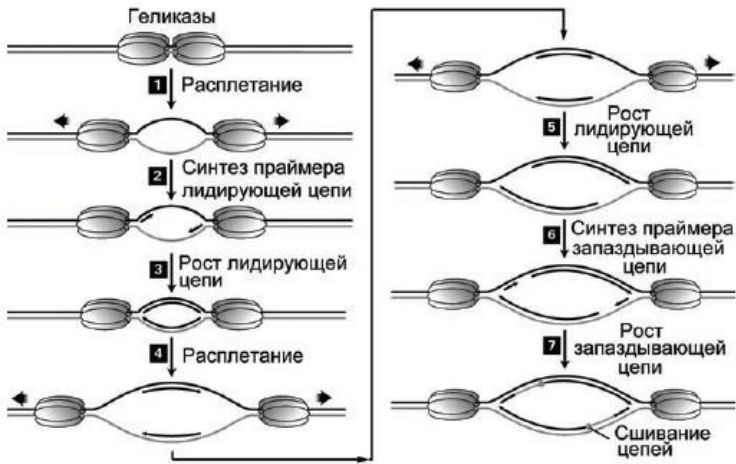


Рис. 61. Схема двунаправленной репликации ДНК

В отличие от SV40 ДНК, эукариотические хромосомные молекулы ДНК содержат множество ориджинов репликации, разделенных сотнями и тысячами килобэзисов (kb, kilobase, тысяча пар оснований). Шестисубъединичный белок, который называется комплекс распознавания ориджина, ORC (*origin recognition complex*), связывается с каждым ориджином и присоединяет к себе белки, необходимые для того, чтобы связать с ДНК клеточные гексамерные геликазы, состоящие из шести гомологичных МСМ-белков [4, 14].

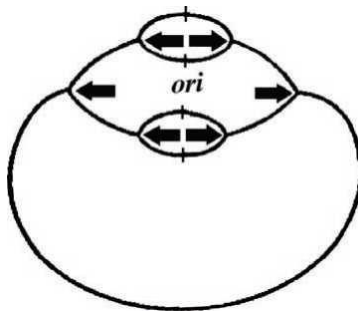


Рис. 62. Дихотомическая репликация бактериальной хромосомы

Две геликазы раскручивают исходную двойную цепь ДНК в противоположных направлениях. Белки RPA связываются с разделенными одиночными нитями, располагая их оптимально для создания новых цепей ДНК. Считается, что синтез праймеров и последующие этапы репликации клеточной ДНК происходят аналогично репликации ДНК SV40.

Репликация клеточной ДНК и другие события, ведущие к росту клеток, имеют сложные регуляторные механизмы, которые обеспечивают производство соответствующего количества клеток для каждой ткани в течение жизни организма.

Подобно транскрипции генов, контроль инициации является основным средством регуляции репликации ДНК в клетках. Активация хеликаз, необходимых для инициации репликации, регулируется специфическими протеинкиназами, известными как циклин-зависимые киназы S-фазы. Дополнительные циклин-зависимые киназы регулируют различные аспекты деления клеток, включая митоз – сложный процесс, посредством которого эукариотические клетки делятся на две дочерние клетки [4, 14].

Вопросы к главе 7

1. В чем состояла суть эксперимента М. Мезельсона и Фрэнка Сталя?
2. Каким ферментом катализируется синтез новой нити ДНК?
3. Что такое праймер?
4. Какая функция у ферментов геликаз?
5. Какую функцию при реализации процесса репликации выполняет фермент топоизомераза I?
6. Что такое фрагменты Оказаки?
7. Опишите основную функцию при репликации ДНК фермента лигаза.

8. Для чего в процессе репликации белки RPA связываются с одонитевой молекулой ДНК?
9. Дайте определение термину «репликация».
10. Что такое репликативная вилка?
11. Какое количество ориджинов репликации содержат эукариотические хромосомные молекулы ДНК?
12. Что такое механизм прюфридинга?
13. Какое количество активных центров есть у фермента ДНК-полимеразы?
14. В чем принципиальное отличие ферментов РНК-полимераза и ДНК-полимераза?
15. Какую функцию выполняет рестрикционный фермент?
16. Какой фермент точнее копирует информацию ДНК-полимераза δ (Pol δ) или ДНК-полимераза α (Pol α)?
17. Какие преимущества дает «дихотомическая» репликация бактериям?
18. Для чего клетке необходим белок ORC (origin recognition complex)?
19. Что такое *ориджин* репликации?
20. Контроль какого процесса является главным механизмом регуляции репликации ДНК клеток?
21. Какую функцию при репликации выполняет фермент праймаза?
22. Какую функцию при репликации выполняет фермент рибонуклеаза H?

8. РЕПАРАЦИЯ ДНК

Различные факторы, такие как химические вещества и радиация, могут вызвать повреждение ДНК. Наиболее распространенным типом повреждения является депурификация, при которой аденин или гуанин теряются из-за разрушения связей между пуриновыми основаниями и дезоксирибозой. Депурификации происходят со скоростью 5000 – 10 000 раз в день в каждой клетке человека [4, 14] (рис. 63).

Дезаминирование, которое происходит реже (около 100 раз в сутки в каждой клетке человека), является результатом столкновения молекулы воды с аминогруппой цитозина, приводящего к образованию урацила (рис. 64).

Если не исправить, дезаминирование может вызвать мутацию репликации ДНК, изменяя исходную пару C = G на пару U = A. Структура ДНК также может быть нарушена ультрафиолетовым светом и химическими канцерогенами, такими как бензопирен, содержащийся в табачном дыме [4, 14].

Воздействие ультрафиолетового света может привести к тому, что соседние основания тимина образуют димер тимина (рис. 65).

Если не исправить, димер тимина может привести к объемному повреждению, разрушая спираль ДНК и блокируя репликацию.

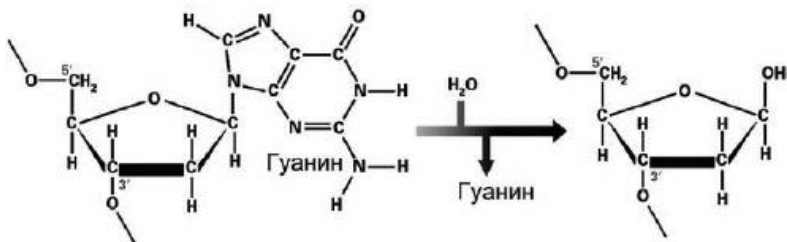


Рис. 63. Депуризация нуклеотида

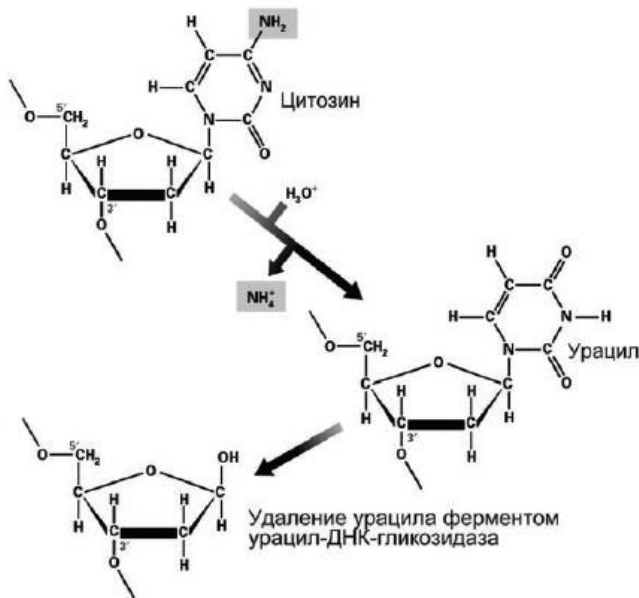


Рис. 64. Дезаминирование ДНК

Репарации ДНК способствуют специализированные ферменты, которые удаляют поврежденные участки и заменяют их неповрежденными.

Этот процесс восстановления основан на двухцепочечной структуре ДНК, при этом ферменты репарации используют неповрежденную цепь в качестве матрицы [4, 14].

Существует два типа восстановления поврежденных фрагментов ДНК:

- 1) замена неправильных нуклеиновых оснований на правильные;
- 2) удаление и замена целых нуклеотидов.

Оба типа включают специализированные ферменты, которые распознают повреждение ДНК и удаляют поврежденный участок. Затем ДНК-полимераза вставляет правильный нуклеотид(ы) на основе базовой последовательности интактной цепи ДНК.

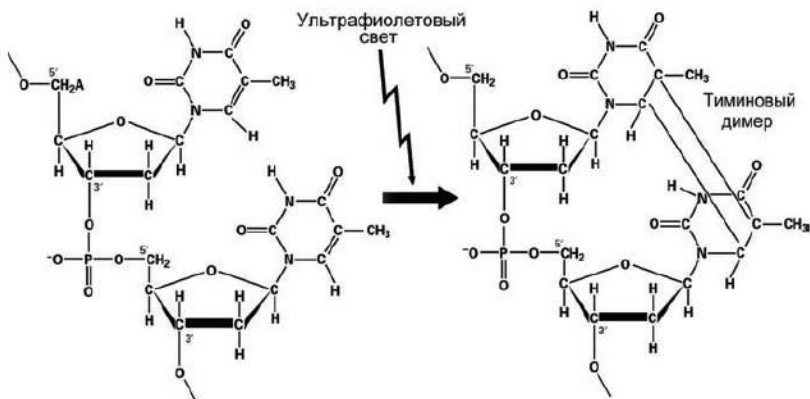


Рис. 65. Образование тиминового димера в ДНК

Наконец, ДНК-лигаза соединяет восстановленный участок ДНК с остальной частью ДНК.

В тех случаях, когда необходимо удалить только нуклеиновые основания, например при депурировании или дезаминировании цитозина до урацила, фермент репарации урацил-ДНК-гликозидаза распознает и удаляет урацил (рис. 64).

Это создает разрыв в ДНК. Вместо того, чтобы напрямую вставлять цитозин на его место, другой фермент, называемый эндонуклеазой AP, распознает разрыв, удаляет дезоксирибозу без азотистого основания и разрезает фосфодиэфирные связи с обеих сторон (рис. 66).

Если ДНК подвергается депурикации, дезоксирибоза, потерявшая пурин, удаляется эндонуклеазой AP. Название фермента «AP» означает «апиримидиновый» (без пиримидина) или «апурин» (без пурина).

Процесс добавления пурина или пиримидина к ДНК во всех случаях одинаков. ДНК-полимераза I вставляет необходимый дезоксирибонуклеотид в разрыв цепи ДНК. В дальнейшем ДНК-лигаза восстанавливает целостность цепи ДНК, катализируя образование фосфодиэфирных связей [4, 14].

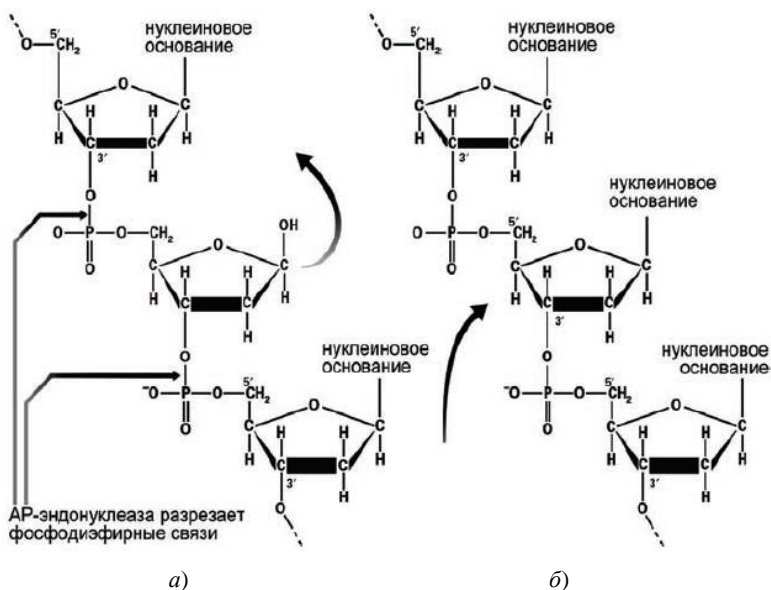


Рис. 66. Репарация ДНК:

а – первый этап: удаление дефектного нуклеотида;

б – второй этап: встраивание нужного нуклеотида ферментом полимеразы I

Если во время репарации ДНК из поврежденной цепи ДНК образуется димер тимина, димер тимина и 30 соседних нуклеотидов вырезаются. Это создает неповрежденный «голый» участок цепи ДНК. Чтобы защитить эту открытую область от нуклеаз, в то время как ДНК-полимераза и ДНК-лигаза восстанавливают повреждения, необходимы несколько специфических белковых факторов.

Вопросы к главе 8

1. Расскажите о процессе повреждения ДНК, который называется депуринизация.
2. Расскажите о процессе повреждения ДНК, который называется дезаминирование.

3. Какой процесс повреждения ДНК чаще наблюдается в клетках человека – дезаминирование или депуринизация?
4. Приведите пример химических или физических воздействий, которые могут вызвать повреждение ДНК.
5. Какой фактор может привести к образованию тиминового димера?
6. Почему ультрафиолетовое излучение обладает сильным бактерицидным действием и широко используется для стерилизации оборудования?
7. Дайте определение термину «репарация».
8. Какие типы репарации ДНК известны?
9. Какую функцию в процессе репарации выполняет фермент урацил-ДНК-гликозидаза?
10. Расскажите о ферменте AP-эндонуклеаза? Что обозначают буквы AP в названии фермента?
11. Расскажите об особенностях удаления тиминового димера.
12. Порассуждайте, к чему может привести дисфункция репарации ДНК.

9. РЕКОМБИНАЦИЯ ДНК

Генетическая рекомбинация включает взаимосвязанные процессы, которые приводят к созданию новых комбинаций генетической информации в клетках или организмах. Во время мейоза рекомбинация между близко расположенными гомологичными хромосомами приводит к смешиванию отцовских и материнских генов, что позволяет тестировать новые комбинации генов у потомства [4, 12].

Как правило, рекомбинационные события, происходящие в соматических клетках либо во время репликации ДНК, либо после нее и проявляющиеся в виде обмена сестринских хроматид (рис. 67), не приводят к изменению генотипа или фенотипа клетки.

Однако они могут привести к различным изменениям в геноме, таким как потеря, приобретение или амплификация генетических элементов, а также перестройка существующих элементов. С молекулярной точки зрения генетическая рекомбинация предполагает связывание нуклеотидных последовательностей из разных участков одной и той же или разных молекул ДНК [4, 12].

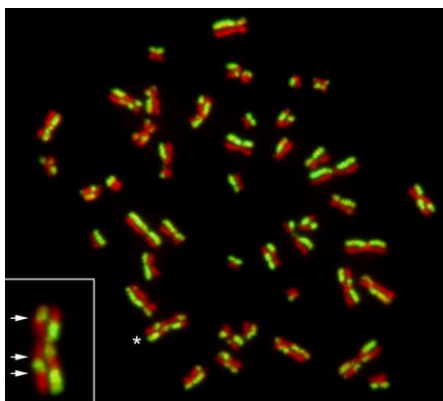


Рис. 67. Обмен сестринских хроматид (<https://upload.wikimedia.org>)

Все клетки и многие вирусы содержат информацию о синтезе ферментов, предназначенных не только для репарации повреждений в собственной ДНК, но и ферментов, осуществляющих рекомбинацию. На самом деле некоторые ферменты, участвующие в репликации и репарации ДНК, играют ключевую роль и при рекомбинации.

Несмотря на то что генетические и морфологические аспекты рекомбинации в эукариотических клетках известны, на молекулярном уровне здесь многое остается неясным.

Типы рекомбинации [4, 12]. Существуют три типа рекомбинации:

- 1) общая, или гомологичная;
- 2) сайт-специфическая и случайная;
- 3) негомологичная.

Общая рекомбинация. Общая рекомбинация, также известная как гомологичная рекомбинация или кроссинговер, обычно происходит между длинными участками идентичных или сходных нуклеотидных последовательностей. В этом процессе два совпадающих участка ДНК разрываются, а их концы соединяются вместе, в результате чего образуются две новые молекулы, содержащие части обоих исходных сегментов ДНК (рис. 68).

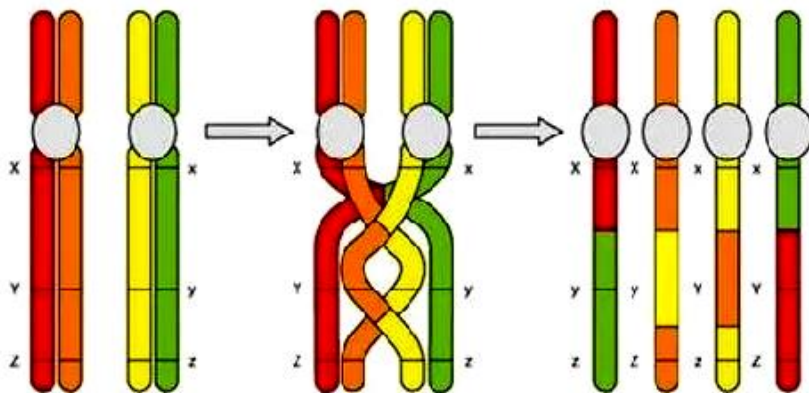


Рис. 68. Кроссинговер

Точки разрыва и повторного соединения двух цепей ДНК часто не совпадают. Рекомбинация обычно происходит между сходными и аллельными участками разных молекул ДНК, но может происходить и между сходными, но неаллельными участками. Это приводит к тому, что один продукт теряет часть своей ДНК, а другой приобретает дополнительный сегмент.

Такой процесс получил название неравного кроссинговера (рис. 69).

Рекомбинация может также происходить между неаллельными участками одной и той же хромосомы, что приводит к потере участка между сайтами рекомбинации (рис. 70).

Некоторые события рекомбинации не являются взаимными: один продукт идентичен исходной молекуле, а другой отличается от обоих партнеров. Это называется конверсией генов (рис. 71) [12].

Общая рекомбинация включает разрыв и повторное соединение цепей двух спиралей ДНК с образованием расширенных гетеродуплексных областей. Этапы этого процесса изображены в модели, предложенной Робинем Холлидеем (Robin Holliday) (рис. 72, 73).

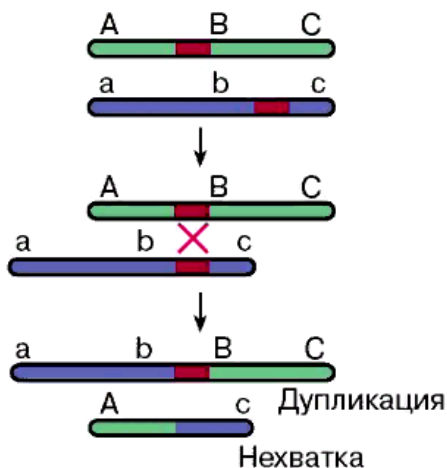


Рис. 69. Неравный кроссинговер

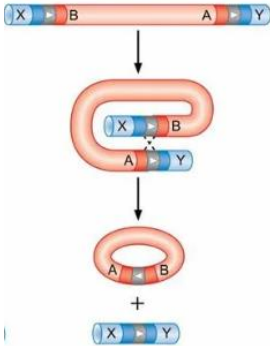


Рис. 70. Внутримолекулярная рекомбинация

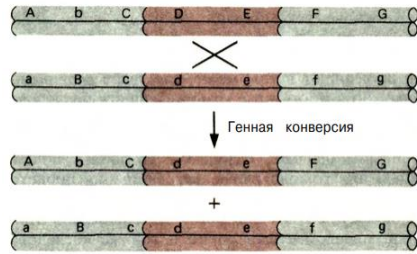


Рис. 71. Нерасцепляющаяся рекомбинация или генная конверсия

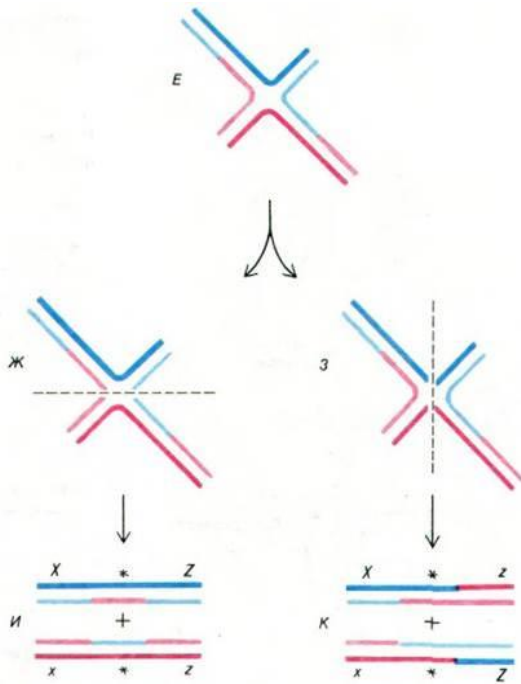
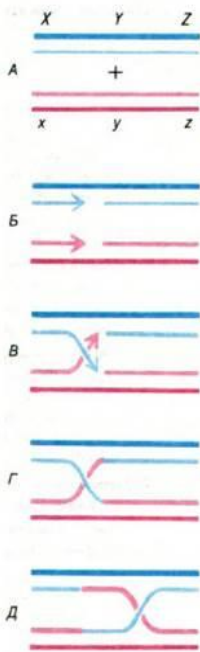


Рис. 72. Модель рекомбинации по Холлидею

Одна из родительских двухцепочечных молекул изображена синим цветом, а другая – красным.

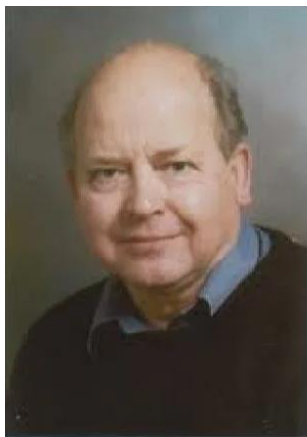


Рис. 73. Робин Холлидей (1932 – 2014) – британский молекулярный биолог

Более темная нить в каждом дуплексе – (+) цепь. Буквами X, Y и Z обозначены три гена; x, y и z – их аллели.

В и Г – ковалентное соединение родительских молекул ДНК.

Е – иное представление комплекса молекул, изображенного на рис. Д.

Структура на рис. Е может быть разрезана по горизонтальной или по вертикальной оси. Воссоединение нитей на рис. Ж и З дает два различных набора рекомбинантов (И и К). Участки, содержащиеся по одной цепи каждого из родительских дуплексов, отмечены звездочками.

Ферменты, участвующие в общей рекомбинации [12]. В общей рекомбинации участвуют несколько ферментов, в том числе два специфических фермента, ответственных за репликацию и репарацию ДНК. Этот процесс в основном изучался на прокариотических организмах, таких как *E. coli* и ее фаги.

Первый фермент, белок RecA, облегчает обмен отдельных цепей ДНК, используя энергию гидролиза АТФ. Он играет решающую роль на начальной стадии рекомбинации. Второй фермент, нуклеаза RecBCD, состоящий из трех субъединиц, действует как эндо-, экзонуклеаза и геликаза. Его точный механизм до конца не ясен, но он вызывает разрывы ДНК и инициирует рекомбинацию в координации с RecA. RecA-зависимое внедрение одноцепочечных ДНК в дуплекс – первый этап рекомбинационного процесса в рамках схемы Холлидея (рис. 72).

Другой идентифицированный фермент разрезает узлы в структурах Холлидея, образуя липкие концы, которые можно соединить лига-

зой. Хеликазы и одноцепочечные ДНК-связывающие белки (SSB) также участвуют в общей рекомбинации, поддерживая процесс миграции ветвей.

Pol I способствует движению цепи во время миграции ветвей, а ДНК-лигаза восстанавливает разорванные цепи.

Топоизомераза I типа и, возможно, гиразы необходимы для устранения топологических ограничений и раскручивания скрученных структур.

Сайт-специфическая рекомбинация [4, 12]. Сайт-специфическая рекомбинация относится к типу рекомбинации, при котором разрыв и повторное соединение молекул или фрагментов ДНК происходят в пределах определенных, относительно коротких последовательностей нуклеотидов. Обычно эти последовательности не длиннее 25 нуклеотидов.

В этом процессе один (рис. 74) или оба участвующих партнера (рис. 75) могут обладать этими короткими последовательностями.

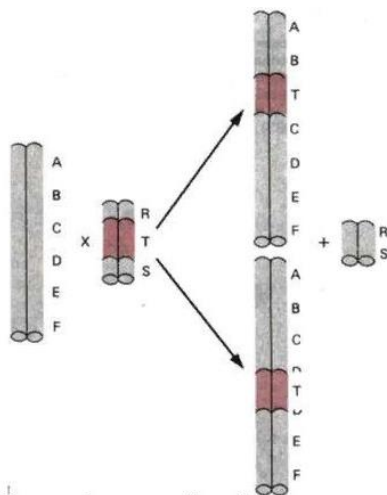
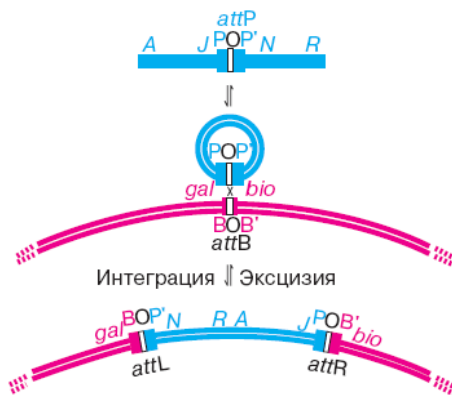


Рис. 74. Специфический сайт есть только в одном участвующем в рекомбинации фрагменте ДНК



**Рис. 75. Специфические сайты
есть в обоих участвующих
в рекомбинации фрагментах ДНК**

Например, транспозиция мобильных элементов у эукариот и прокариот иллюстрирует первый вариант, а интеграция и сегрегация ДНК фага λ из хромосомы *E. coli* иллюстрирует второй вариант.

Процесс сайт-специфической рекомбинации играет решающую роль в запрограммированных перестройках хромосомной ДНК у дрожжей и способствует разнообразию антител. В отличие от общей рекомбинации, которая происходит между любыми гомологичными последовательностями с использованием общего набора ферментов, сайт-специфическая рекомбинация требует для каждого случая определенных наборов ферментов.

Конкретным примером сайт-специфической рекомбинации является интеграция кольцевой ДНК фага λ в хромосому *E. coli* с последующей обратной сегрегацией.

Хотя события интеграции и исключения включают разрыв и повторное соединение двух сегментов ДНК, их механизмы существенно различаются. В этом случае рекомбинация происходит в пределах специфических нуклеотидных последовательностей фага λ (сайт *attP*) и *E.*

coli (сайт *attB*). Сайты *attP* и *attB* имеют разные нуклеотидные последовательности, но имеют общее ядро из 15 пар нуклеотидов.

События рекомбинации, происходящие во время интеграции и исключения ДНК фага λ , изображены на фигуре 76, где представлены линейные структуры фрагментов ДНК. Поскольку нуклеотидные последовательности, фланкирующие сайты *attP* и *attB* слева (*attL*) и справа (*attR*), различны, механизм рекомбинации при отщеплении ДНК фага от ДНК *E. coli* отличается от механизма их интеграции.

Для рекомбинации между *attL* и *attR* во время исключения фаговой ДНК в дополнение к другим факторам необходимы белок *Int*, фаговый белок *xis* и клеточный белок *HF*. Процесс рекомбинационного вырезания имеет некоторое сходство с процессом интеграции, но точная роль этих трех белков, особенно белка *xis*, все еще изучается [12].

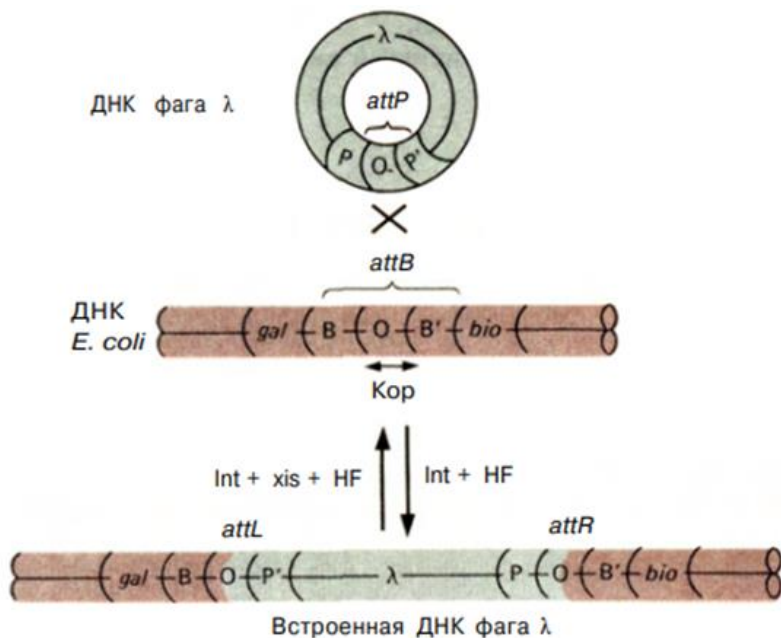


Рис. 76. Встраивание кольцевой ДНК фага λ в хромосому *E. coli* (подробная схема)

Негомологичная рекомбинация [4, 12] Негомологичная рекомбинация нечаста в прокариотических и дрожжевых клетках, но часто встречается в клетках млекопитающих. Он включает случайное встраивание вирусной или плазмидной ДНК в ДНК клеток животных.

Разорванные концы ДНК могут соединяться вместе, даже если они не гомологичны. Иногда рекомбинация происходит между последовательностями с некоторыми гомологичными парами оснований или частично гомологичными областями, но обычно в рекомбинации сегментов участвуют негомологичные последовательности.

Вопросы к главе 9

1. Дайте определение термину рекомбинация.
2. Какие виды рекомбинации известны?
3. Расскажите о различных вариантах гомологичной рекомбинации.
4. Что такое генная конверсия?
5. Расскажите о модели рекомбинации по Холлидею.
6. Для какого вида рекомбинации необходим гесАбелок?
7. Какую функцию в процессе гомологичной рекомбинации выполняет гесVCD-нуклеаза?
8. Какими видами ферментативной активности обладает фермент гесVCD-нуклеаза?
9. Используя дополнительную литературу, дайте определение термину «сайт», который используется в молекулярной биологии.
10. Расскажите об известных видах сайт-специфической рекомбинации.
11. Нарисуйте и прокомментируйте схему интеграции кольцевой ДНК фага λ в хромосому *E. coli*.
12. Дайте определение термину «негомологичная рекомбинация».
13. Для каких клеток главным образом характерна негомологичная рекомбинация?
14. Порассуждайте о плюсах и минусах процесса рекомбинации.

ВОПРОСЫ К ТЕМЕ «ТИПЫ РНК», ИЗУЧАЕМОЙ САМОСТОЯТЕЛЬНО

1. Перечислите основные отличия в строении ДНК и РНК.
2. Какие виды РНК присутствуют в клетках прокариот и эукариот?
3. Расскажите о модифицированных нуклеотидах, которые встречаются в РНК.
4. Используя дополнительные источники информации, расскажите об основной функции РНК в клетке.
5. Расскажите, что из себя представляет первичная, вторичная и третичная структуры РНК.
6. Расскажите об особенностях денатурации РНК.
7. Геномы каких биологических систем представлены молекулами РНК?
8. Используя дополнительные источники информации, расскажите, как нуклеотидные последовательности некоторых РНК применяются для создания современной классификации в биологии.
9. Объясните, почему в клетке присутствует такое огромное количество мРНК.
10. Используя информацию из дополнительной литературы, расскажите о мцРНК.

ВАРИАНТЫ ВОПРОСОВ ДЛЯ ПРОВЕРОЧНОЙ РАБОТЫ

Вариант 1

1. Что такое решетка Пеннета? Дайте определение термину «аллель». Что такое полиморфизм?

2. Дайте определение термину «кроссинговер». Нарисуйте хромосому и опишите ее строение. Какой кариотип характерен для мужчин? Женщин?

3. Почему рентгеновские лучи провоцируют образование мутаций? Расскажите о жизни и научной деятельности ученого Николая Владимировича Тимофеева-Ресовского.

4. Какие взаимодействия вносят главный вклад в стабильность двойной спирали? Сколько водородных связей образуется между А и Т? Какие формы вторичной структуры ДНК известны?

5. Для каких биологических систем характерна репликация РНК?

6. Подумайте и порассуждайте, почему формулирование центральной догмы молекулярной биологии в 1957 году – это выдающееся достижение.

7. Нарисуйте и прокомментируйте схему интеграции кольцевой ДНК фага λ в хромосому *E. coli*. Порассуждайте о плюсах и минусах процесса рекомбинации.

Вариант 2

1. Что такое мутация? Что значит независимое комбинирование признаков? Что значит полное и неполное доминирование признака? Что такое генотип?

2. Что такое эухроматин? Что такое интеркинез? Что такое диплоидный набор хромосом?

3. Расскажите, в чем состоят научные заслуги Макса Дельбрюка? Подумайте, какие физические или химические воздействия на хромосомы могут вызывать образование мутаций.

4. Перечислите основные параметры В-формы молекулы ДНК. Что из себя представляет третичная структура ДНК? Что такое хроматин?

5. В чем состояла суть эксперимента М. Мезельсона и Фрэнка Сталя?

6. Каким ферментом катализируется синтез новой нити ДНК? Что такое праймер? Какая функция у ферментов геликаз?

7. Какими видами ферментативной активности обладает фермент *hesBCD*-нуклеаза? Расскажите об известных видах сайт-специфической рекомбинации.

Вариант 3

1. Какие обозначения используются при описании схемы скрещивания? Что такое доминантный и рецессивный признаки? Какой объект изучал Г. Мендель?

2. В каком виде в бактериальной клетке чаще всего находится наследственный материал? Что такое 1 сантиморган? Опишите синтетическую фазу клеточного цикла.

3. Что обозначает термин «нуклеин»? Какой ученый впервые выделил нуклеин? Перечислите азотистые основания, входящие в состав нуклеотидов ДНК.

4. Дайте определение термину «гистон». Что такое нуклеосома? Что такое метод молекулярной гибридизации?

5. Дайте определение термину «репликация». Для чего в процессе репликации белки РРА связываются с однонитевой молекулой ДНК?

6. Какую функцию при реализации процесса репликации выполняет фермент топоизомераза I? Что такое фрагменты Оказаки? Опишите основную функцию при репликации ДНК фермента лигаза. Что такое репликативная вилка?

7. Расскажите о модели рекомбинации по Холлидею. Для какого вида рекомбинации необходим *hesА* белок? Какую функцию в процессе гомологичной рекомбинации выполняет *hesBCD*-нуклеаза?

Вариант 4

1. Что такое фенотип? Сформулируйте третий закон Менделя. Что обозначает термин «кодоминирование».

2. В чем преимущества *Drosophila melanogaster* как объекта для изучения законов наследования? Расскажите какие выводы сделал Т. Морган после проведения серии своих знаменитых экспериментов.

3. Расскажите, что вам известно о строении нуклеотида ДНК? Расскажите о научных достижениях Ф. Гриффита. Опишите эксперимент А. Херши и М. Чейз.

4. Какие закономерности позволил установить метод молекулярной гибридизации?

5. Какое количество ориджинов репликации содержат эукариотические хромосомные молекулы ДНК? Что такое механизм пружиндинга? Какое количество активных центров есть у фермента ДНК-полимеразы?

6. В чем принципиальное отличие ферментов РНК-полимераза и ДНК-полимераза? Какой фермент точнее копирует информацию ДНК-полимераза δ (Pol δ) или ДНК-полимераза α (Pol α)?

7. Расскажите о различных вариантах гомологичной рекомбинации. Что такое генная конверсия. Дайте определение термину «негомологичная рекомбинация». Для каких клеток главным образом характерна негомологичная рекомбинация?

Вариант 5

1. Опишите эксперимент, выводы из которого позволили сформулировать первый закон Менделя. Рост – это менделирующий признак?

2. Как объяснил отклонения результатов своих экспериментов от результатов классических экспериментов Г. Менделя? Сформулируйте основные положения хромосомной теории наследственности. Что такое тельце Барра?

3. Какой новый метод (для 50-х годов XX века) использовался при проведении эксперимента А. Херши и М. Чейз? Опишите эксперимент Френкеля-Конрата. Используя дополнительную литературу, расскажите о ретровирусах.

4. Нарисуйте схему, описывающую центральную догму молекулярной биологии. Используя определение слова «догма», поясните, почему Ф. Крик некорректно его употребил.

5. Какие преимущества дает «дихотомическая» репликация бактериям? Для чего клетке необходим белок ORC (origin recognition complex)? Что такое ориджин репликации?

6. Контроль какого процесса является главным механизмом регуляции репликации ДНК клеток? Какую функцию при репликации выполняет фермент праймаза? Какую функцию при репликации выполняет фермент рибонуклеаза H?

7. Дайте определение термину «рекомбинация». Какие виды рекомбинации известны?

Вариант 6

1. Расскажите о фазах клеточного цикла. Для каких клеток характерен митоз? Что такое кариотип?

2. Что такое мутация? Дайте определение гена в классической генетике. Дайте современное определение гена.

3. Расскажите о правиле Чаргаффа. Какой экспериментальный метод позволил сделать фотографии молекулы ДНК, которые использовались для определения ее структуры? Что такое нуклеозид?

4. Для какого процесса предпочтительнее форма А молекулы ДНК? Что из себя представляет вторичная структура ДНК? Перечислите основные свойства вторичной структуры ДНК.

5. Дайте определение терминам «обратная транскрипция», «транскрипция» и «трансляция».

6. Расскажите о процессе повреждения ДНК, который называется депуринизация. Какой процесс повреждения ДНК чаще наблюдается в клетках человека – дезаминирование или депуринизация?

7. Расскажите о ферменте AP-эндонуклеаза. Что обозначают буквы AP в названии фермента? Расскажите об особенностях удаления тиминового димера? Порассуждайте, к чему может привести дисфункция репарации ДНК?

Вариант 7

1. Расскажите о ферменте AP-эндонуклеаза. Что обозначают буквы AP в названии фермента? Расскажите об особенностях удаления тиминового димера? Порассуждайте к чему может привести дисфункция репарации ДНК?

2. Кто предложил термин «ген»? Опишите эксперимент, который позволил установить размер гена? Какие новые вопросы появились перед исследователями после определения размера гена?

3. Какими буквами обозначаются нуклеотиды ДНК и РНК? Что из себя представляет первичная структура ДНК? Чем примечательно соотношение $A + T / G + C$?

4. Расскажите о фазах клеточного цикла. Для каких клеток характерен митоз? Что такое кариотип?

5. Расскажите о процессе повреждения ДНК, который называется дезаминирование. Приведите пример химических или физических воздействий, которые могут вызвать повреждение ДНК.

6. Что такое мутация? Дайте определение гена в классической генетике. Дайте современное определение гена.

7. Расскажите о правиле Чаргаффа. Какой экспериментальный метод позволил сделать фотографии молекулы ДНК, которые использовались для определения ее структуры? Что такое нуклеозид?

Вариант 8

1. Что такое лайонизация? Что характерно для профазы митоза? Что такое бивалент?

2. Для какого процесса предпочтительнее форма А молекулы ДНК? Что из себя представляет вторичная структура ДНК? Перечислите основные свойства вторичной структуры ДНК.

3. Дайте определение терминам «обратная транскрипция», «транскрипция» и «трансляция».

4. Расскажите о процессе повреждения ДНК, который называется депуринизация. Какой процесс повреждения ДНК чаще наблюдается в клетках человека – дезаминирование или депуринизация?

5. Расскажите о белках-прионах. Влияет ли существование таких белков на правильность центральной догмы молекулярной биологии?

6. Что такое решетка Пеннета? Дайте определение термину «аллель». Что такое полиморфизм?

7. Дайте определение термину «репарация». Какие типы репарации ДНК известны? Какую функцию в процессе репарации выполняет фермент урацил-ДНК-гликозидаза?

Вариант 9

1. Как объяснил отклонения результатов своих экспериментов от результатов классических экспериментов Г. Менделя? Сформулируйте основные положения хромосомной теории наследственности. Что такое тельце Барра?

2. Нарисуйте схему, описывающую центральную догму молекулярной биологии. Используя определение слова «догма», поясните, почему Ф. Крик некорректно его употребил.

3. Что такое фенотип? Сформулируйте третий закон Менделя. Что обозначает термин кодоминирование?

4. В чем преимущества *Drosophila melanogaster* как объекта для изучения законов наследования? Расскажите, какие выводы сделал Т. Морган после проведения серии своих знаменитых экспериментов.

5. Какие обозначения используются при описании схемы скрещивания? Что такое доминантный и рецессивный признаки? Какой объект изучал Г. Мендель?

6. Какой фактор может привести к образованию тиминового димера? Почему ультрафиолетовое излучение обладает сильным бактерицидным действием и широко используется для стерилизации оборудования?

7. Контроль какого процесса является главным механизмом регуляции репликации ДНК клеток? Какую функцию при репликации выполняет фермент праймаза? Какую функцию при репликации выполняет фермент рибонуклеаза H?

Вариант 10

1. Какой новый метод (для 50-х годов XX века) использовался при проведении эксперимента А. Херши и М. Чейз? Опишите эксперимент Френкеля-Конрата. Используя дополнительную литературу, расскажите о ретровирусах.

2. Опишите эксперимент, выводы из которого позволили сформулировать первый закон Менделя. Рост – это менделирующий признак?

3. Какими буквами обозначаются нуклеотиды ДНК и РНК? Что из себя представляет первичная структура ДНК? Чем примечательно соотношение $A + T / G + C$?

4. Расскажите о белках-прионах. Влияет ли существование таких белков на правильность центральной догмы молекулярной биологии?

5. Расскажите о процессе повреждения ДНК, который называется дезаминирование. Приведите пример химических или физических воздействий, которые могут вызвать повреждение ДНК.

6. Расскажите, что вам известно о строении нуклеотида ДНК. Расскажите о научных достижениях Ф. Гриффита. Опишите эксперимент А. Херши и М. Чейз.

7. Какие закономерности позволил установить метод молекулярной гибридизации?

Вариант 11

1. Какое количество ориджинов репликации содержат эукариотические хромосомные молекулы ДНК? Что такое механизм пруфридинга? Какое количество активных центров есть у фермента ДНК-полимеразы?

2. В чем принципиальное отличие ферментов РНК-полимераза и ДНК-полимераза? Какой фермент точнее копирует информацию ДНК-полимераза δ (Pol δ) или ДНК-полимераза α (Pol α)?

3. Расскажите о различных вариантах гомологичной рекомбинации. Что такое генная конверсия? Дайте определение термину «негомологичная рекомбинация». Для каких клеток главным образом характерна негомологичная рекомбинация?

4. В каком виде в бактериальной клетке чаще всего находится наследственный материал? Что такое 1 сантиморган? Опишите синтетическую фазу клеточного цикла.

5. Что обозначает термин «нуклеин»? Какой ученый впервые выделил нуклеин? Перечислите азотистые основания, входящие в состав нуклеотидов ДНК?

6. Дайте определение термину «гистон». Что такое нуклеосома? Что такое метод молекулярной гибридизации?

7. Дайте определение термину «репликация». Для чего в процессе репликации белки RPA связываются с одонитевой молекулой ДНК?

Вариант 12

1. Какую функцию при реализации процесса репликации выполняет фермент топоизомераза I? Что такое фрагменты Оказаки? Опишите основную функцию при репликации ДНК фермента лигаза? Что такое репликативная вилка?

2. Расскажите о модели рекомбинации по Холлидею. Для какого вида рекомбинации необходим гесАбелок? Какую функцию в процессе гомологичной рекомбинации выполняет гесBCD-нуклеаза?

3. Что такое мутация? Что значит независимое комбинирование признаков? Что значит полное и неполное доминирование признака? Что такое генотип?

4. Что такое эухроматин? Что такое интеркинез? Что такое диплоидный набор хромосом?

5. Расскажите, в чем состоят научные заслуги Макса Дельбрюка. Подумайте, какие физические или химические воздействия на хромосомы могут вызывать образование мутаций.

6. Дайте определение термину «кроссинговер». Нарисуйте хромосому и опишите ее строение. Какой кариотип характерен для мужчин? Женщин?

7. Почему рентгеновские лучи провоцируют образование мутаций? Расскажите о жизни и научной деятельности ученого Николая Владимировича Тимофеева-Ресовского.

Вариант 13

1. Перечислите основные параметры В-формы молекулы ДНК. Что из себя представляет третичная структура ДНК? Что такое хроматин?

2. В чем состояла суть эксперимента М. Мезельсона и Фрэнка Сталя?

3. Каким ферментом катализируется синтез новой нити ДНК? Что такое праймер? Какая функция у ферментов геликаз?

4. Какими видами ферментативной активности обладает фермент *hesBCD*-нуклеаза? Расскажите об известных видах сайт-специфической рекомбинации.

5. Какие взаимодействия вносят главный вклад в стабильность двойной спирали? Сколько водородных связей образуется между А и Т? Какие формы вторичной структуры ДНК известны?

6. Для каких биологических систем характерна репликация РНК?

7. Подумайте и порассуждайте, почему формулирование центральной догмы молекулярной биологии в 1957 году – это выдающееся достижение.

Вариант 14

1. Расскажите о процессе повреждения ДНК, который называется дезаминирование? Приведите пример химических или физических воздействий, которые могут вызвать повреждение ДНК.

2. Дайте определение термину «репарация». Какие типы репарации ДНК известны? Какую функцию в процессе репарации выполняет фермент урацил-ДНК-гликозидаза?

3. Нарисуйте и прокомментируйте схему интеграции кольцевой ДНК фага λ в хромосому *E. coli*. Порассуждайте о плюсах и минусах процесса рекомбинации.

4. Что такое решетка Пеннета? Дайте определение термину «аллель». Что такое полиморфизм?

5. Дайте определение термину «кроссинговер». Нарисуйте хромосому и опишите ее строение. Какой кариотип характерен для мужчин? Женщин?

6. Почему рентгеновские лучи провоцируют образование мутаций. Расскажите о жизни и научной деятельности ученого Николая Владимировича Тимофеева-Ресовского.

7. Какие взаимодействия вносят главный вклад в стабильность двойной спирали? Сколько водородных связей образуется между А и Т? Какие формы вторичной структуры ДНК известны?

Вариант 15

1. Какими буквами обозначаются нуклеотиды ДНК и РНК? Что из себя представляет первичная структура ДНК? Чем примечательно соотношение $A + T / G + C$?

2. Дайте определение термину «репарация». Какие типы репарации ДНК известны? Какую функцию в процессе репарации выполняет фермент урацил-ДНК-гликозидаза?

3. Какие преимущества дает «дихотомическая» репликация бактериям? Для чего клетке необходим белок ORC (origin recognition complex)? Что такое ориджин репликации?

4. Дайте определение термину «рекомбинация». Какие виды рекомбинации известны?

5. Для каких биологических систем характерна репликация РНК?

6. Подумайте и порассуждайте, почему формулирование центральной догмы молекулярной биологии в 1957 году – это выдающееся достижение.

7. Какие взаимодействия вносят главный вклад в стабильность двойной спирали? Сколько водородных связей образуется между А и Т? Какие формы вторичной структуры ДНК известны?

Вариант 16

1. Перечислите основные параметры В-формы молекулы ДНК. Что из себя представляет третичная структура ДНК? Что такое хроматин?

2. В чем состояла суть эксперимента М. Мезельсона и Фрэнка Сталя?

3. Каким ферментом катализируется синтез новой нити ДНК? Что такое праймер? Какая функция у ферментов геликаз?

4. Какими видами ферментативной активности обладает фермент гесBCD-нуклеаза? Расскажите об известных видах сайт-специфической рекомбинации.

5. Опишите эксперимент, выводы из которого позволили сформулировать первый закон Менделя. Рост – это менделирующий признак?

6. Как объяснил отклонения результатов своих экспериментов от результатов классических экспериментов Г. Менделя? Сформулируйте основные положения хромосомной теории наследственности. Что такое тельце Барра?

7. Какой новый метод (для 50-х годов XX века) использовался при проведении эксперимента А. Херши и М. Чейз. Опишите эксперимент Френкеля-Конрата. Используя дополнительную литературу, расскажите о ретровирусах.

Вариант 17

1. Что такое мутация? Что значит независимое комбинирование признаков? Что значит полное и неполное доминирование признака? Что такое генотип?

2. Что такое эухроматин? Что такое интеркинез? Что такое диплоидный набор хромосом?

3. Расскажите, в чем состоят научные заслуги Макса Дельбрюка. Подумайте, какие физические или химические воздействия на хромосомы могут вызывать образование мутаций.

4. Нарисуйте схему, описывающую центральную догму молекулярной биологии. Используя определение слова «догма», поясните, почему Ф. Крик некорректно его употребил.

5. Какие преимущества дает «дихотомическая» репликация бактериям? Для чего клетке необходим белок ORC (origin recognition complex)? Что такое ориджин репликации?

6. Контроль какого процесса является главным механизмом регуляции репликации ДНК клеток? Какую функцию при репликации выполняет фермент праймаза? Какую функцию при репликации выполняет фермент рибонуклеаза H?

7. Дайте определение термину рекомбинация. Какие виды рекомбинации известны?

Вариант 18

1. Подумайте и порассуждайте, почему формулирование центральной догмы молекулярной биологии в 1957 году – это выдающееся достижение.

2. Нарисуйте и прокомментируйте схему интеграции кольцевой ДНК фага λ в хромосому *E. coli*. Порассуждайте о плюсах и минусах процесса рекомбинации.

3. Расскажите о модели рекомбинации по Холлидею. Для какого вида рекомбинации необходим гесАбелок? Какую функцию в процессе гомологичной рекомбинации выполняет гесBCD-нуклеаза?

4. Какие закономерности позволил установить метод молекулярной гибридизации?

5. Какое количество ориджинов репликации содержат эукариотические хромосомные молекулы ДНК? Что такое механизм пруфридинга? Какое количество активных центров есть у фермента ДНК-полимеразы?

6. В чем принципиальное отличие ферментов РНК-полимераза и ДНК-полимераза? Какой фермент точнее копирует информацию ДНК-полимераза δ (Pol δ) или ДНК-полимераза α (Pol α)?

7. Расскажите о различных вариантах гомологичной рекомбинации. Что такое генная конверсия? Дайте определение термину «негомологичная рекомбинация». Для каких клеток главным образом характерна негомологичная рекомбинация?

Вариант 19

1. Дайте определение термину «кроссинговер». Нарисуйте хромосому и опишите ее строение. Какой кариотип характерен для мужчин? Женщин?

2. Почему рентгеновские лучи провоцируют образование мутаций? Расскажите о жизни и научной деятельности ученого Николая Владимировича Тимофеева-Ресовского.

3. Дайте определение термину репликация. Для чего в процессе репликации белки RPA связываются с однонитевой молекулой ДНК?

4. Какую функцию при реализации процесса репликации выполняет фермент топоизомераза I? Что такое фрагменты Оказаки? Опишите основную функцию при репликации ДНК фермента лигаза? Что такое репликативная вилка?

5. Что такое фенотип? Сформулируйте третий закон Менделя. Что обозначает термин «кодоминирование»?

6. В чем преимущества *Drosophila melanogaster* как объекта для изучения законов наследования? Расскажите, какие выводы сделал Т. Морган после проведения серии своих знаменитых экспериментов.

7. Расскажите, что вам известно о строении нуклеотида ДНК. Расскажите о научных достижениях Ф. Гриффита. Опишите эксперимент А. Херши и М. Чейз.

Вариант 20

1. Что такое решетка Пеннета? Дайте определение термину «аллель». Что такое полиморфизм?

2. Какие взаимодействия вносят главный вклад в стабильность двойной спирали? Сколько водородных связей образуется между А и Т? Какие формы вторичной структуры ДНК известны?

3. Для каких биологических систем характерна репликация РНК?

4. Какие обозначения используются при описании схемы скрещивания? Что такое доминантный и рецессивный признаки? Какой объект изучал Г. Мендель?

5. В каком виде в бактериальной клетке чаще всего находится наследственный материал? Что такое 1 сантиморган? Опишите синтетическую фазу клеточного цикла.

6. Что обозначает термин «нуклеин»? Какой ученый впервые выделил нуклеин? Перечислите азотистые основания, входящие в состав нуклеотидов ДНК?

7. Дайте определение термину «гистон». Что такое нуклеосома? Что такое метод молекулярной гибридизации?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Материал в представленном пособии дает базовые представления об истории открытия нуклеиновых кислот, определения их химического состава и структуры в прокариотических и эукариотических клетках.

Авторы искренне надеются, что информация, представленная в данном пособии, структурированная и подобранная с использованием ведущих мировых научных изданий, будет интересна широкому кругу студентов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Горбунова, В. Н.** Генетика человека с основами медицинской генетики : учебник для студентов учреждений среднего профессионального образования, обучающихся по специальностям «Лечебное дело», «Акушерское дело», «Сестринское дело» и «Фармация», по дисциплине «Генетика человека с основами медицинской генетики» / В. Н. Горбунова. – М. : Академия, 2012. – 236.

2. **Уотсон, Дж.** ДНК. История генетической революции / Дж. Уотсон, К. Дэвис, Э. Берри. – СПб. : Питер, 2019.

3. **Тейлор, Д.** Биология : в 3 т. Т. 3 / Д. Тейлор, Н. Грин, У. Стаут ; под ред. Р. Сопера ; пер. Ю. Л. Амченков и др. – 12-е изд. – М. : Лаборатория знаний, 2020. – 451 с.

4. **Дэвид, Н.** Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. Т. 3. Пути передачи информации / Н. Дэвид, М. Кокс ; пер. Т. П. Мосолова и др. ; под ред. А. А. Богданова, С. Н. Кочеткова. – 4-е изд. – М. : Лаборатория знаний, 2020. – 444 с.

5. **Рис, Э.** Введение в молекулярную биологию: От клеток к атомам / Э. Рис, М. Стернберг ; пер. с англ. – М. : Мир, 2002. – 142 с.

6. **Молекулярная биология** клетки : в 3 т. / Б. Альбертс, Д. Брей, Дж. Льюис и др. ; пер. с англ. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Мир, 1994. – 504 с.

7. **Принципы** и методы биохимии и молекулярной биологии / Э. Эйткен, А. Р. Бейдоун, Дж. Файфф и др. ; под ред. К. Уилсон, Дж. Уолкер ; пер. Т. П. Мосолова, Е. Ю. Бозелек-Решетняк. – 3-е изд. – М. : Лаборатория знаний, 2020. – 853 с.

8. **Кольман, Я.** Наглядная биохимия / Я. Кольман, Рем К.-Г. ; пер. Т. П. Мосолова. – 6-е изд. – М. : Лаборатория знаний, 2019. – 512 с.

9. **Дымшиц, Г. М.** Основные начала молекулярной биологии: 25 иллюстрированных лекций : учебное пособие / Г. М. Дымшиц, О. В. Саблина. – Новосибирск : Новосиб. гос. ун-т, 2018. – 180 с.

10. **Тейлор, Д.** Биология : в 3 т. Т. 1 / Д. Тейлор, Н. Грин, У. Стаут ; под ред. Р. Сопера ; пер. Ю. Л. Амченкова и др. – 12-е изд. – М. : Лаборатория знаний, 2020. – 512 с.

11. **Эллиот, В.** Биохимия и молекулярная биология / В. Эллиот, Д. Эллиот. – М. : Изд-во НИИ биомедицинской химии РАМН, 2000. – 372 с.

12. **Сингер, М.** Гены и геномы : в 2-х т. Т. 1. / М. Сингер, П. Берг ; пер. с англ. – М. : Мир, 1998. – 373 с.

13. **URL** : <https://nplus1.ru/blog/2017/09/27/Dogma-is-60>

14. **Огурцов, А. Н.** Основы молекулярной биологии : учебное пособие : в 2 ч. Ч. 2. Молекулярная биология клетки / А. Н. Огурцов. – Харьков : НТУ ХПИ, 2011. – 240 с.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
1. Наследственность	4
2. Хромосомы и теория наследственности	11
3. Понятие гена. Определение размера гена	25
4. Молекулы нуклеиновых кислот – хранители наследственной информации	29
5. Химический состав ДНК. Модель ДНК Крика-Уотсона	38
6. Центральная догма молекулярной биологии	51
7. Репликация ДНК	54
8. Репарация ДНК	67
9. Рекомбинация ДНК	72
Варианты вопросов для проверочной работы	82
Заключение	97
Список литературы	98

Учебное электронное издание

ТЕМНОВ Михаил Сергеевич
ДВОРЕЦКИЙ Дмитрий Станиславович

ВВЕДЕНИЕ В МОЛЕКУЛЯРНУЮ БИОЛОГИЮ

В двух частях

Часть 2

Учебное пособие

Редактор Л. В. Комбарова
Графический и мультимедийный дизайнер Т. Ю. Зотова
Обложка, упаковка, тиражирование Л. В. Комбарово́й

ISBN 978-5-8265-2656-9



9 785826 526569

Подписано к использованию 12.10.2023.

Тираж 50 шт. Заказ № 121

Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ»
392000, г. Тамбов, ул. Советская, д. 106, к. 14
Тел./факс (4752) 63-81-08.
E-mail: izdatelstvo@tstu.ru