



Молекулярная биология гена

Учебная программа для специальности:
1-31 01 03 Микробиология

2012 г.

СОСТАВИТЕЛЬ:

Максимова Наталья Павловна, заведующая кафедрой генетики Белорусского государственного университета, доктор биологических наук, профессор.

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Виктор Николаевич Леонтьев, заведующий кафедрой биотехнологии и био-экологии Учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет», кандидат химических наук, доцент;

Орел Наталья Михайловна, доцент кафедры биохимии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ В КАЧЕСТВЕ УЧЕБНОЙ:

Кафедрой генетики Белорусского государственного университета (протокол № 12 от 02 марта 2012 г.);

Научно-методическим советом Белорусского государственного университета (протокол № 7 от 14 марта 2012 г.);

Научно-методическим советом Белорусского государственного университета (протокол № 5 от 29 мая 2012 г.).

Ответственная за редакцию: Максимова Наталья Павловна

Ответственный за выпуск: Максимова Наталья Павловна

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Предметом курса «Молекулярная биология гена» является изучение фундаментальных основ молекулярной биологии гена и использование достижений этой науки в современной биологии. В задачу курса входит рассмотрение вопросов структурно-функциональной организации генов и геномов и основных механизмов реализации наследственной информации у организмов разного уровня сложности. Большое внимание уделено знакомству с крупнейшими достижениями молекулярной биологии гена на современном этапе и их использованию для решения теоретических и прикладных вопросов биологии и медицины. В программу курса входит изучение методов молекулярной биологии гена; экспериментальных подходов исследования структуры ДНК и РНК; сравнительный анализ строения генов и геномов про- и эукариот; изучение молекулярно-генетических механизмов матричных процессов: репликации, транскрипции, обратной транскрипции и трансляции; расшифровка генетического кода, а также знакомство с современными методами выделения генов и их использования в генетической инженерии, при создании трансгенных животных и растений, а также в генотерапии. Курс «Молекулярная биология гена» является базовым для большинства биологических дисциплин и необходим для более глубокого понимания современных проблем биологии.

В результате изучения дисциплины обучаемый должен:

знать:

- теоретическую основу возникновения молекулярной биологии гена;
- принципы строения молекул ДНК и РНК и их физико-химические свойства;
- основы структурной организации генов и геномов различных организмов;
- методы изучения структуры и функции ДНК, методы выделения генов и их использования в генетической инженерии;
- механизмы генетических процессов: репликации, транскрипции, обратной транскрипции, трансляции;
- характеристику генетического кода;
- основные подходы генетической инженерии и их использование при создании трансгенных животных и растений, а также в генотерапии.

уметь:

- использовать молекулярно-биологические знания для более глубокого понимания современных проблем биологии;
- связывать достижения в молекулярной биологии гена с успехами современной генетики, иммунологии, геномики и протеомики;
- использовать достижения молекулярной биологии гена в решении задач селекции, медицины, экологии и биотехнологии, а также применять полученные знания в дальнейшей практической деятельности.

Для организации самостоятельной работы студентов по курсу следует использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (про-

грамма, методические указания к лабораторным занятиям, список рекомендуемой литературы и информационных ресурсов, задания в тестовой форме для самоконтроля и др.).

Преподавание курса «Молекулярная биология гена» проводится по блочно-модульному принципу. В курсе выделено 9 модулей, объединяющих основные темы: I – теоретическая основа возникновения молекулярной биологии гена; модуль II – экспериментальные доказательства роли нуклеиновых кислот в передаче наследственных признаков; модуль III – строение, свойства и функции ДНК и РНК; модуль IV – методы изучения молекулярной структуры ДНК и РНК; модуль V – строение генов и геномов у организмов разного уровня организации; модуль VI – строение генов и геномов у организмов разного уровня организации; VII – Молекулярные механизмы генетических процессов; VIII – рекомбинантные ДНК

Эффективность самостоятельной работы студентов целесообразно проверять в ходе текущего и итогового контроля знаний – докладов и презентаций, написания рефератов, тестового компьютерного контроля по темам и разделам курса. Для общей оценки качества усвоения студентами учебного материала рекомендуется использование рейтинговой системы.

Курс является теоретическим, не имеет лабораторных занятий. Программа курса рассчитана на 40 часов, все лекционные.

ПРИМЕРНЫЙ ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН

№ разделов и тем	Наименование разделов и тем	Лекционные часы
I.	Введение.	2
II.	Теоретическая основа возникновения молекулярной биологии гена.	4
III.	Экспериментальные доказательства роли нуклеиновых кислот в передаче наследственных признаков.	2
IV.	Строение, свойства и функции ДНК и РНК.	
4.1.-4.2.	Строение и свойства ДНК. Строение и типы РНК.	2
4.3.- 4.4.	Особенности нуклеотидного состава ДНК у организмов разных уровней организации. Локализация ДНК и РНК в клетках про- и эукариот.	2
V.	Методы изучения молекулярной структуры ДНК и РНК.	4
VI.	Строение генов и геномов у организмов разного уровня организации.	4
VII.	Молекулярные механизмы генетических процессов.	
7.1	Репликация ДНК и ее механизм у про- и эукариот.	4

7.2.	Транскрипция ДНК и ее механизм у про- и эукариот.	4
7.3.	Трансляция и ее механизм у про- и эукариот.	4
7.4.	Генетический код и его характеристика.	2
7.5.	Обратная транскрипция.	2
VIII.	Рекомбинантные ДНК.	4
ИТОГО:		40

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

I. ВВЕДЕНИЕ

Предмет и задачи молекулярной биологии гена. Методы, основные этапы развития и достижения.

II. ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ОСНОВА ВОЗНИКНОВЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ ГЕНА

Роль генетики, микробиологии, вирусологии, биохимии, химии нуклеиновых кислот и физики. Роль личности в рождении молекулярной биологии гена.

Открытия в области генетики. Законы наследственности Г. Менделя (1865) и их переоткрытие Э. Корренсом, Г. Де Фризом и Э.Чермаком (1901). Хромосомная теория наследственности Т. Моргана (1911) и ее роль в развитии классической генетики. Открытие индуцированного мутагенеза Г. Меллером. Работы А.С. Серебровского, Н.И. Вавилова, Н.В. Тимофеева-Ресовского (1920-1930) и др. Установление функции гена и создание концепции "один ген - один фермент" Дж. Бидлом и Э.Татумом (1941). Работы Дж. Ледерберга (1946) по генетике бактерий. Нобелевские лауреаты в области генетики.

Открытия в области микробиологии и вирусологии. Открытие Л. Ластером (1857) осуществляемого микроорганизмами брожения, а также бесклеточного ферментативного брожения Э. Бухнером (1897). Открытие вирусов Д.И. Ивановским (1892), бактериофагов Ф. Туортом и Ф. Д'Эреллем (1915). Разработка методов бактериологических исследований Р. Кохом (1895-1905). Открытие явления трансформации пневмококков Ф.Гриффитом (1928). Нобелевские лауреаты в области микробиологии.

Открытия в области биохимии. Разработка методов химического синтеза полисахаридов и азотистых оснований и анализ аминокислотного состава белков Э. Фишером (1884-1902), коферментов А. Гарденом и Х. Эйлер-Хельпином (1906), витаминов и пигментов П. Каррером (1930). Установление пептидной природы ферментов Дж. Самнером (1926) и определение структуры сахаров У. Хоуорсом (1925). Разработка методов выделения в кристаллическом виде пепсина Дж. Нортропом (1930) и белка ВТМ У. Стенли (1932). Разработка методов определения последовательности аминокислот в белке Ф. Сенгером (1956). Нобелевские лауреаты в области биохимии.

Открытия в области химии нуклеиновых кислот. Открытие нук-

леиновых кислот Ф. Мишером (1868) и азотистых оснований А. Косселем (1879 - 1889). Разработка метода дифференциального окрашивания нуклеиновых кислот Р. Фельгеном (1924), определения их молекулярной массы и физической структуры Е. Хаммерштайном, Т. Касперсоном, Р. Синером и Д. Браше (1935-1942). Создали первых рентгенограмм ДНК У. Астбери (1938). Работы в этом направлении М. Уилкинс и Р. Франклин (1952). Изучение химического строения ДНК и РНК Дж. Гулландом (1947), А. Тоддом (1948) и У. Коном (1949). Нобелевские лауреаты в области исследования структуры нуклеиновых кислот.

Разработка физических методов изучения структуры ДНК. Разработка метода дифракции рентгеновских лучей П. Дебаем и П. Шерром (1916) и применение его для выяснения структуры биологических молекул Дж. Берналом и Д. Кроуфт-Ходжкиным (1938). Разработка методов высокоскоростного центрифугирования Т. Сведбергом (1922). Изобретение электронной микроскопии Руска и Н. Симменсом (1931-1939), хроматографии М.С.Цветом (1906) и распределительной хроматографии А. Мартином и Р. Синтом (1939-1944), электрофореза А. Тизелиусом (1933). Разработка методов радиоизотопного анализа Д. Хевеши (1943).

Роль личности в возникновении молекулярной биологии гена. Исследования У. Астбери, М. Дельбрюка, М. Уилкинса, С. Луриа, Н. Бора, Э. Шредингера, Дж. Уотсона и Ф. Крика.

III. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВА РОЛИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ПЕРЕДАЧЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ

Эксперименты О. Эйвери, К. Мак-Леод и М. Мак-Карти (1944) по трансформации пневмококков очищенными препаратами ДНК. Эксперименты А. Херши и М. Чейз (1952) с использованием бактериофага Т2. Эксперименты Г. Френкель-Конрата и Р. Вильямса (1956) с вирусом табачной мозаики (ВТМ), Опыты по трансформации зависимых по тимидинкиназе эукариотических клеток *in vitro*.

IV. СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ ДНК И РНК

4.1. Строение и свойства ДНК. Пространственное строение и нуклеотидный состав ДНК. Правила Чаргаффа (1950). Эксперименты Дж. Уотсона и Ф. Крика (1953) по расшифровке молекулярной структуры ДНК и предсказание ее функций.

Строение нуклеотидов. Типы химических связей (ковалентные, водородные, гидрофобные) и их роль в поддержании свирельной структуры молекул ДНК. Стэкинг взаимодействия. Полиморфизм структуры ДНК (А, В, С, Д и Е-форма, Z-форма). Биологическая роль Z-формы. Физические свойства ДНК и РНК. Денатурация и ренатурация. Температура плавления ДНК. Гиперхромный и гипохромный эффект. Квенчинг.

4.2. Строение и типы РНК. Типа РНК, их содержание и локализация в клетках про- и эукариот. Малые РНК и их функции.

4.3. Особенности нуклеотидного состава ДНК у организмов разных уровней организации (бактерий, вирусов, простейших, грибов, растений, беспозвоночных, хордовых и млекопитающих). Относительная величина молекул ДНК у представителей различных систематических групп и возможные причины их разнообразия. Избыточность ДНК в клетках эукариот. Повторяющиеся последовательности, их типы (сателлитная ДНК, умеренно повторяющиеся последовательности и уникальная ДНК), участки локализации и функции. Мультигенные семейства, псевдогены и онкогены. Изменение нуклеотидного состава ДНК у организмов в процессе их эволюции. Парадокс.

Кольцевые молекулы ДНК в составе нуклеотидов прокариот и плазмид. Линейная ДНК в составе хромосом эукариот. Митохондриальная и хлоропластная ДНК.

4.4. Локализация ДНК и РНК в клетках про- и эукариот. Локализация ДНК в ядре хлоропластах и митохондриях. Локализация РНК в клетках про- и эукариот.

V. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЫ ДНК И РНК

Методы выделения ДНК и РНК. Методы рестрикционного анализа. Электрофорез в агарозном и полиакриламидном геле. Установление структуры тРНК, Р. Холли (1965). Принципы секвенирования ДНК по Максаму-Гилберту и Сэнгеру. Блот-гибридизация по Саузерну, Нозерн-блот и Вестерн-блот гибридизация, дот и слот-гибридизация. Гибридизация *in situ*. Микроэлектрофорез. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) и ее разновидности. Возможности ПЦР. Методы определения локализации генов с помощью меченых ДНК-зондов.

Использование современных методов анализа структур ДНК в криминалистике, для идентификации; личности, изучения наследственных заболеваний человека и др. Проект «Геном человека», его цели и задачи.

VI. СТРОЕНИЕ ГЕНОВ И ГЕНОМОВ У ОРГАНИЗМОВ РАЗНОГО УРОВНЯ ОРГАНИЗАЦИИ

Геном прокариот. Размеры и молекулярная масса бактериального генома. Доменная организация нуклеоида. Роль негистоновых белков и РНК в ее поддержании. Относительные размеры генов прокариот и их число. IS-элементы и транспозоны. Плазмиды и их типы. Строение генов.

Геном дрожжей. Хромосомы дрожжей и их размеры. Строение хромосом (ARS-элементы, центромеры, теломеры). Искусственные минихромосомы дрожжей в перспективы их использования в генной инженерии эукариот. Плазмиды дрожжей (2μ и 3μ ДНК).

Геном простейших. Вариабельность генома (числа хромосом, количества ДНК, нуклеотидного состава и др.). Наличие повторяющихся последовательностей в геноме.

Геном животных и растений. Размеры и молекулярная масса ДНК.

Нуклеосомная организация хромосом. Строений генов эукариотических организмов.

Геном вирусов. ДНК-содержащие вирусы. Двухцепочечная кольцевая молекула ДНК и ее переход в линейную форму у бактериофагов λ , T_2 и T_4 . Двухцепочечная кольцевая ДНК вируса $SV40$ и вируса полиомы. Линейная двухцепочечная ДНК вируса герпеса и вируса Эпштейн-Барра. Латентное состояние вирусов в клетках человека (провирусы). Кольцевая одноцепочечная ДНК мелких бактериофагов $\phi X174$, $f1$ и др.

РНК-содержащие вирусы. Одноцепочечная линейная РНК бактериофагов $f2$ и $Q\beta$. «+» и «-» цепи РНК. Вирус ВТМ и особенности его строения. Вирус саркомы Рауса. Способ его размножения в клетках животных. Роль обратной транскриптазы. Строение вирионов и их инфекционность. Прионы.

VII. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Матричные процессы: репликация, транскрипция, трансляция и обратная транскрипция.

7.1. Репликация ДНК и ее механизм у про- и эукариот. Доказательство полуконсервативного способа репликации ДНК М. Мезельсоном и Ф. Сталем (1958).

Открытие процесса репликации *in vitro* и обнаружение фермента ДНК-полимеразы I А. Корнбергом (1959). Обнаружение ДНК-полимеразы II и ДНК-полимеразы III. Характеристика ферментов репликации (ДНК-полимеразы I, II и III, топоизомеразы I и II, хеликаза, РНК-полимераза (праймаза), ДНК-лигаза и др.). Строение репликационной вилки. Ведущая и запаздывающая цепи ДНК и особенности их репликации. Затравки и фрагменты Оказаки. Особенности процесса репликации у про- и эукариот.

Способы репликации ДНК у различных организмов (образование θ -структуры, σ -структуры, D -петли, Y -структуры и др.). Особенности репликации ДНК в хромосомах эукариот. Расшифровка механизма репликации теломерных концов. Открытие теломерных ТТГГГГ-повторов в хромосомах *Tetrahymena* и ТТАГГГ-повторов в хромосомах человека. Обнаружение теломеразы. Активность фермента теломеразы и проблема рака и старения организмов.

Репликация РНК. Характеристика фермента обратная транскриптаза и ее свойства.

7.2. Транскрипция ДНК и ее механизм у про- и эукариот. Эксперименты Ф. Жакоба, С. Бреннера и М. Мезельсона (1961) по установлению роли мРНК в передаче наследственной информации от ДНК к белку. Открытие обратной транскрипции и обратной транскриптазы Х. Теминим и Д. Балтимором (1970). Составляющие элементы процесса транскрипции (ДНК-матрица, РНК-полимераза, регуляторные белки, НТФ, мРНК, ионы Mg^{2+}), их строение и функции.

Строение ДНК-матрицы. Характеристика участков, значимых для процесса транскрипции. Промоторы, операторы и терминаторы. Особенности

строения регуляторных областей генов у про- и эукариот. Работы Ф. Жакоба, Ж. Моно и Л. Львова по изучению механизмов регуляции активности генов (1958).

РНК-полимераза, ее строение и функции. Направление транскрипции. Три типа РНК-полимераз у эукариот (РНК-полимераза I, РНК-полимераза II и РНК-полимераза III) и типы синтезируемых ими РНК.

мРНК. Строение мРНК у прокариот - лидерная область, Шайн-Дальгарно последовательность, иницирующий АУГ-кодон, кодирующая область, терминатор и их роль в процессе биосинтеза белка. Строение мРНК у эукариот - КЭП, кодирующая область, поли(А)-хвост и их роль в процессе биосинтеза белка.

Механизм транскрипции у прокариот. Этапы транскрипции и их характеристика. Особенности транскрипции у эукариот.

Процессинг и сплайсинг молекул РНК.

7.3. Трансляция и ее механизм у про- и эукариот. Составляющие элементы процесса трансляции (мРНК, рибосомы, тРНК, аминоксил-т-РНК-сиитетаз, ГТФ, АТФ, аминокислоты), их строение и функции.

Строение рибосом у про- и эукариот. Типы рРНК.

Строение тРНК. Значимые для трансляции области. Механизм аминоксилирования тРНК.

Механизм трансляции у прокариот. Этапы трансляции и их характеристика. Участие факторов инициации, элонгации и терминции в трансляции. Роль пептидилтрансферазы в образовании полипептидной цепи. А- и Р- участки рибосом и их функции. Особенности процесса трансляции у эукариот.

Механизм действия антибиотиков и токсинов на процесс трансляции у про- и эукариот.

7.4. Генетический код и его характеристика.

Доказательство триплетности генетического кода Ф. Криком. Эксперименты по расшифровке кода М. Ниренберга, Дж. Матгеи, С. Очоа, Г. Корана и П. Ледера (1961-1965). Свойства генетического кода: вырожденность, универсальность, отсутствие разделительных знаков, неперекрываемость, линейность, координатность, наличие бессмысленных кодонов и т.д.

7.5. Обратная транскрипция. Механизм процесса. Биологическое значение.

VIII. РЕКОМБИНАНТНЫЕ ДНК

Общие принципы и методология генной инженерии. Рестриктазы. Векторы для клонирования в клетках прокариот (плазмиды, бактериофаги, космиды и др.) и эукариот (вирусы, искусственные мини-хромосомы, плазмиды). Особенности клонирования генов в клетках прокариот. Трансгенные растения и животные и методы их получения. Генотерапия и перспективы ее развития.

ИНФОРМАЦИОННАЯ ЧАСТЬ

ЛИТЕРАТУРА

Основная:

1. *Албертс Д., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Роберт К., Уотсон Дж.* Молекулярная биология клетки: В 4 т. / Албертс Д., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Роберт К., Уотсон Дж. М.: Мир, 1987. 2-е изд., перераб. и доп. в 3 т. М.: Мир, 1994.
2. *Уотсон Дж.* Молекулярная биология гена / Уотсон Дж. М.: Мир, 1978.
3. *Стент Г., Кэлидар Р.* Молекулярная генетика / Стент Г., Кэлидар Р. М.: Мир, 1981.
4. *Дэвидсон Дж.* Биохимия нуклеиновых кислот / Дэвидсон Дж. М.: Мир, 1976.
5. *Роллер Э.* Открытие основных законов жизни Роллер Э. М.: Мир, 1978.
6. *Рис Э., Стернберг М.* От клетки к атомам. Иллюстрированное введение в молекулярную биологию / Рис Э., Стернберг М. М.: Мир, 1988.
7. Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот / Под ред. А.С. Спирина. М.; Высшая школа, 1990.
8. *Зенгбуш П.* Молекулярная и клеточная биология. В 3-х т. / Зенгбуш П. М.: Мир, 1982.
9. *Корнберг А.* Синтез ДНК / Корнберг А. М.: Мир, 1977.
10. *Георгиев Г.П.* Гены высших организмов и их экспрессия / Георгиев Г.П. М.: Наука, 1989.

Дополнительная:

1. *Сингер М., Берг П.* Гены и геномы. В 2-х т. / Сингер М., Берг П. М.: Мир, 1998.
2. *Уотсон Дж.* Двойная спираль / Уотсон Дж. М.: Мир, 1969.
3. *Селье Г.* От мечты к открытию / Селье Г. М.: Прогресс, 1987.
4. *Чолаков В.* Ученые и открытия / Чолаков В. М.: Мир, 1986.