

Белорусский государственный университет

**УТВЕРЖДАЮ**

Проректор по учебной работе



А.Л. Толстик

2012 г.

Регистрационный № УД - 8002/уч.

**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 биоэкологии 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-Реевского (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.

**Открытая 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. Отростение 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  $\lambda$ , T<sub>2</sub> и T<sub>4</sub>. 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,  $\phi$ 1 и др.

**РНК-содержащие вирусы.** Одноцепочечная линейная РНК бактериофагов  $\phi$ 2 и  $\phi\beta$ . «+» и «-» цепи РНК. Вирус ВТМ и особенности его строения. Вирус саркомы Рауса. Способ его размножения в клетках животных. Роль обратной транскриптазы. Строение вироидов 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  $\theta$ -структуры,  $\sigma$ -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, инициирующий 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, аминоацил-т-РНК-сиитетаза, ГТФ, АТФ, аминокислоты), их строение и функции.

Строение рибосом у про- и эукариот. Типы рРНК.

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

Механизм трансляции у прокариот. Этапы трансляции и их характеристика. Участие факторов инициации, элонгации и терминации 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, коллинеарность, 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.